

# NÚMERO DE ÁRVORES MATRIZES E CONCEITOS GENÉTICOS NA COLETA DE SEMENTES PARA REFLORESTAMENTOS COM ESPÉCIES NATIVAS\*

Alexandre Magno Sebbenn\*\*

## RESUMO

Este trabalho teve por objetivo discutir conceitos relacionados ao sistema de reprodução e à genética de populações de espécies arbóreas e suas implicações nas atividades de coleta de sementes para reflorestamentos de áreas alteradas e degradadas. Com base nesses conceitos e no tamanho efetivo populacional, estimado para dados publicados com espécies arbóreas, procurou-se fazer recomendações sobre o número de árvores necessárias para a coleta de sementes. Como referência, foram usados valores de tamanhos efetivos citados na literatura como adequados para conservação da variabilidade genética em uma simples população. A coleta de grande número de sementes por árvore matriz é preferível a poucas sementes. Recomenda-se coletar sementes em 25 árvores, para o reflorestamento de áreas menores do que 100 hectares, em populações naturais não endogâmicas e em 30 árvores, em populações com indícios de endogamia. Essas árvores podem estar localizadas em um ou mais fragmentos próximos ao local de plantio. O reflorestamento de áreas entre 100 e 500 hectares deve ser realizado a partir da coleta de sementes em 40 e 50 árvores localizadas preferencialmente em mais de um fragmento ou populações da região de plantio. O reflorestamento de áreas superiores a 500 hectares deve ser estabelecido com a coleta de sementes entre 400 a 500 árvores localizadas, obrigatoriamente, em vários fragmentos e ecorregiões de distribuição da espécie alvo.

Palavras-chave: coleta de sementes; número de árvores matrizes; deriva genética; tamanho efetivo populacional, recuperação de áreas alteradas e degradadas.

## 1 INTRODUÇÃO

Em programas de reflorestamento, utilizando espécies nativas, um ponto fundamental é a origem genética das sementes. A origem ou procedência, número de matrizes, número de sementes coletadas e a contribuição gamética têm papel central no sucesso dos programas. A recuperação de áreas depende, em parte, do potencial genético do material utilizado no reflorestamento. Testes de procedências e progênesis vêm há décadas demonstrando que a capacidade de uma espécie em se adaptar a um novo ambiente, depende da variabilidade genética existente entre e dentro das procedências e das características edafoclimática

## ABSTRACT

This work purpose was to discuss genetic concepts related to mating system and genetic population of tree species and their implications toward seed collecting activities for environmental reforestation. Based upon these concepts and effective population size estimated according to available data for tree species, recommendations were made out concerning to the number of trees required to seed collecting. The effective size quoted in the literature as an adequate one for keeping the genetic variability in a single population was used as reference. Rather than collecting only few seeds, a great number of seed collected from mother tree is recommended. For the reforestation of areas smaller than 100 hectares, 25 is the number of trees recommended to have their seeds collected, if the natural population is not inbreed and 30 trees if the populations are inbreed. These trees can be located in one or more fragments near the planting site. Reforestation of areas between 100 and 500 hectares must be carried out from seed collected from 40 to 50 trees, located preferentially in one more fragments or populations in the region of the planting site. As for reforestation in areas greater than 500 hectares it must be established by seed collecting from 400 to 500 tree located necessarily in several fragments in the geographic distribution of the target species.

Key words: seed collecting; number of mother trees; sampling of tree species; genetic drift; effective population size.

e geográfica de origem das sementes e dos locais de plantio. A utilização de material genético de ampla base, coletado em áreas próximas aos locais de reflorestamento, é uma alternativa que pode aumentar a probabilidade de sucesso no estabelecimento do plantio. A utilização de material adaptado à região de plantio pode reduzir a mortalidade e os custos de coleta. Por outro lado, a utilização de sementes coletadas de uma ou poucas árvores pode causar o que se conhece por "gargalo genético", levando à fundação de populações sujeitas aos efeitos da deriva genética, como alterações nas frequências alélicas, perda e fixação de alelos, redução na heterozigiosidade e aumento nos níveis de endogamia.

(\*) Aceito para publicação em novembro de 2002.

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

A utilização de sementes de ampla base genética em reflorestamentos não garante obrigatoriamente a sobrevivência de todas as plantas até a fase reprodutiva. Fatores evolutivos determinísticos como seleção natural, e dispersivos como deriva genética, são prováveis de atuarem em alguma fase de vida das plantas, eliminando parte da população e moldando-a para um ótimo adaptativo (Hedrick, 1999). Indivíduos não adaptados ao ambiente ou portadores de genes recessivos deletérios (letais e semiletais) serão provavelmente eliminados nas fases iniciais do plantio. Contudo, a base ampla aumenta a chance de parte do material se estabelecer. A parte da variabilidade genética não adaptada a um ambiente particular pode ter vantagens adaptativas em outros ambientes. A capacidade de adaptação de uma população ou grupos de indivíduos a um novo ambiente é função das frequências dos alelos que conferem valor adaptativo ao ambiente e da intensidade de seleção atuando contra a permanência destes alelos na população (Crow & Kimura, 1970).

A coleta de sementes para reflorestamentos ambientais requer a retirada de amostras representativas da variabilidade genética de uma ou várias populações, a fim de evitar endogamia nas futuras gerações e conservar o potencial evolutivo das espécies. Deseja-se que os plantios, depois de estabelecidos, mantenham-se por tempo indefinido a partir de sementes originadas dos cruzamentos dos próprios indivíduos da população fundada (plantio). Pequenos tamanhos amostrais podem sofrer a perda de alelos raros por deriva genética, sendo esta perda tanto maior quanto menor for o tamanho amostral (Nei, 1975). Alelos raros podem contribuir para a adaptação em condições de estresse ambiental, ou alterações bruscas do ambiente (Krusche & Geburek, 1991). Por exemplo, se uma população é submetida a uma forte pressão de seleção pelo ataque de uma praga ou pela mudança brusca de clima ou, ainda, pelo excesso de poluição, é possível que pequena parte da população sobreviva por conter alelos raros que conferem resistência a estes fatores. A base genética restrita, aliada à perda de alelos que possam, futuramente, ter valor adaptativo pode reduzir as chances de sucesso na auto-regeneração pelo aumento da endogamia e coancestria da população fundada, tendo como conseqüência a depressão por endogamia.

Em espécies arbóreas esses efeitos podem ser incrementados pela sobreposição de gerações. Assim, para garantir um mínimo de variabilidade genética nos plantios é necessário coletar sementes em um número adequado de árvores.

O conhecimento do sistema de reprodução das espécies é de fundamental importância quando se pensa em coletar sementes de polinização livre, dado que este é o responsável pela transferência das informações genéticas de uma geração para outra. Bawa *et al.* (1985) observaram, nas florestas tropicais da América Central, que aproximadamente 65% das espécies eram hermafroditas com flores bissexuais, 11% eram monóicas com flores masculinas e femininas em cada planta e 23% eram dióicas com flores masculinas e femininas em plantas separadas, unissexuais. Também foi observado que muitas das espécies com flores bissexuais eram auto-incompatíveis, mas, em muitas dessas, as barreiras para auto-incompatibilidade eram fracas e existia a possibilidade de ocorrer autofecundação em alguma fase do florescimento (Bawa, 1974, Bawa *et al.*, 1985). Estimativas da taxa de cruzamento média em espécies arbóreas aproximam-se de 0,8, com tendência a maiores valores. Em espécies arbóreas tropicais, os mais baixos valores foram observados em *Cavallinesia platanifolia* (variando de 0,213 a 0,569) e *Ceiba pentandra* (0,689) na Ilha de Barro Colorado (Murawski & Hamrick, 1991). Em espécies arbóreas, de modo geral, as características reprodutivas favorecem a manutenção de altos níveis de variabilidade genética.

Nas florestas tropicais, as espécies arbóreas são em sua grande maioria polinizadas por insetos e pequenos animais, sendo o vento exceção, diferente das florestas temperadas, onde o inverso é verdadeiro (Boshier, 2000). Estudos do sistema de reprodução em populações naturais têm, também, observado que a correlação de paternidade ( $r_p$ ) dentro de árvores é mais alta do que a esperada pelo modelo de cruzamentos mistos (cruzamentos aleatórios + autofecundações). Isso significa que parte das sementes produzidas por uma simples árvore é originada de pólen de poucos genitores e as sementes podem incluir diferentes graus de parentescos, como meios-irmãos, irmãos-completos e irmãos de autofecundação.

Este trabalho teve por objetivo determinar o número adequado de árvores matrizes para a coleta de sementes em populações naturais visando reflorestamentos de áreas alteradas e degradadas. Também foram discutidos conceitos relacionados ao sistema de reprodução e a genética de populações de espécies arbóreas e suas implicações nas atividades de coleta de sementes para fins de reflorestamentos.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

Os dados utilizados para determinar o número de árvores para a coleta de sementes foram obtidos de 19 trabalhos publicados durante o período de 1990 a 2002 (TABELA 1), nos quais eram apresentadas as estimativas da taxa de cruzamento multiloco ( $t_m$ ), correlação de cruzamentos ( $r_s$ ) e correlação de paternidade ( $r_p$ ). Esses parâmetros foram estimados pelos autores a partir do programa MLTR de Ritland (1994), com base em dados de marcadores genéticos codominantes (isoenzimas, microssatélites), avaliados em estruturas de progênies. Quando eram reportadas estimativas para várias populações de uma espécie, calculou-se a média entre populações. Estimativas para a mesma espécie por diferentes autores foram também agrupadas e calculadas a média dos parâmetros. Foram calculadas a média e o erro padrão da estimativa da taxa de cruzamento multiloco ( $\hat{t}_m$ ), correlação de paternidade ( $\hat{r}_p$ ), proporção de progênies de irmãos de autofecundação ( $\hat{P}_{[IA]} = \hat{s}$ , sendo  $\hat{s}$  a taxa de autofecundação =  $1 - \hat{t}_m$ ), irmãos-completos ( $\hat{P}_{[IC]} = \hat{t}_m \hat{r}_p$ ) e meios-irmãos [ $\hat{P}_{[IM]} = \hat{t}_m (1 - \hat{r}_p)$ ].

O número de matrizes ( $\hat{m}$ ) para coleta de sementes foi estimado da relação entre o tamanho efetivo de uma simples progênie ( $\hat{N}_{e(1)}$ ) e valores teóricos de tamanho efetivo ( $N_e$ ) referenciados na literatura como adequados para a conservação da variabilidade genética de uma população no curto (10 gerações) e longo prazo (> 100 gerações),

$$\hat{m} = \frac{N_e}{\hat{N}_{e(1)}} \quad [1]$$

sendo,

$$\hat{N}_{e(1)} = \frac{0,5}{\hat{\theta} \left( \frac{n-1}{n} \right) + \frac{1+\hat{F}}{2n}} \quad (\text{Cockerham, 1969})$$

em que,  $n$  é o número total de progênies na população, assumido como infinito ( $n > 1.000$ );  $\hat{F}$  é o coeficiente de endogamia da população ou do conjunto de progênies, assumindo para fins de estimativa como zero. Logo, o tamanho efetivo de uma simples progênie pode ser estimado por  $\hat{N}_{e(1)} = 0,5 / \hat{\theta}$ , em que,  $\hat{\theta} = \hat{r}_{xy} / 2$ , é o coeficiente de parentesco entre plantas dentro de progênies e  $\hat{r}_{xy}$  é a correlação intraclasses entre plantas dentro de progênies, proposta por Ritland (1989) para espécies de reprodução mista:

$$\hat{r}_{xy} = \frac{1}{4} (1 + \hat{F}_p) [4\hat{s} + (\hat{t}^2 + \hat{s}\hat{t}\hat{r}_s)(1 + \hat{r}_p)] \quad [2]$$

sendo,  $\hat{F}_p$  o coeficiente de endogamia na geração parental;  $\hat{s}$  a taxa de autofecundação ( $1 - \hat{t}_m$ );  $\hat{t}_m$  a taxa de cruzamento multiloco ( $1 - \hat{s}$ );  $\hat{r}_s$  a correlação de autofecundação entre dois irmãos [ $COV_{sF}/s(1-s)$ ,  $COV_{sF}$  é a covariância de autofecundação];  $\hat{r}_p$  a correlação de paternidade [ $\hat{r}_p = 2f / (1 + F_p)$ , em que  $f$  é a correlação de gametas paternos;  $F_p$  é o coeficiente de endogamia da geração parental]. Como  $\hat{r}_p$  pode assumir o valor máximo de 1,0,  $f$  tem o valor máximo de  $(1 + F_p)/2$  (Ritland, 1989). Esse estimador de  $\hat{r}_{xy}$  traz a vantagem de considerar as variações na taxa de cruzamento entre árvores de uma população, a partir da correlação de autofecundação ( $r_s$ ). Para fins de estimativas, assumiu-se  $F_p = 0$ , e quando  $r_s$  não era apresentado no trabalho original, assumiu-se  $r_s = 0,1$ . Utilizou-se como referência para determinar o número de árvores para a coleta de sementes, valores teóricos de  $N_e$ , 50 (Frankel & Soulé, 1981), 100 (Nunney & Campbell, 1993) e 1.000 (Lynch, 1996), determinados como adequados para a conservação da variabilidade genética no curto prazo,

ou 10 gerações ( $N_e = 50$  e 100), e longo prazo, ou 100 gerações ( $N_e = 1.000$ ). Para fins de estimativa admitiu-se que: (i) um grande e mesmo número de sementes é coletado em cada árvore; (ii) as frequências gênicas e genotípicas das populações encontram-se nas proporções de equilíbrio de endogamia, podendo-se atribuir toda a endogamia ao sistema de reprodução.

A eficiência amostral do número de árvores determinadas para a coleta de sementes, foi avaliada pelo intervalo de confiança (IC) a 95% ( $\alpha = 0,05$ ) de probabilidade do erro da estimativa da frequência de um alelo raro  $\hat{p}_i = 0,05$

(Brown & Weir, 1983):  $IC = \hat{p}_i \pm 1,96\sqrt{\hat{\sigma}_{p_i}^2}$ .

A variância amostral da frequência de um alelo  $\hat{p}_i$  ( $\hat{\sigma}_{p_i}^2$ ), para um conjunto de  $m$  progênies de reprodução mista foi dada, segundo Brown & Weir (1983), por:

$$\hat{\sigma}_{p_i}^2 = \left[ 1 + \frac{(n-1)(1+\hat{s})^2}{4} \right] \cdot \left[ \frac{\hat{p}_i(1-\hat{p}_i)}{mn(2-\hat{s})} \right] \quad [3]$$

em que,  $n$  é o número de sementes coletadas por planta, assumido como infinito ( $n > 1.000$ ).

O número esperado de plantas maternas representadas em uma amostra retirada de um conjunto de sementes foi calculado, considerando o caso em que são coletadas sementes em  $m$  árvores matrizes (Hammond & Gardner, 1974). Para  $i = 1, 2, \dots, m$  matrizes incluídas na amostra, sendo  $x_i = 1$  se o parente  $i$  está representado na amostra e  $x_i = 0$  se o parente  $i$  não está representado na amostra. Então,  $n_m = x_1 + x_2 + x_3 + \dots + x_m$  é o número de parentes representados na amostra de  $n$  sementes. Assim,  $E(n_m)$  é o número de parentais femininos (matrizes) que se espera estar representado na amostra. A probabilidade da matriz  $i$  estar representada na amostra é  $P_{(x_i=1)} = 1 - P_{(x_i=0)}$ . Sendo,  $P_{(x_i=0)} = (1 - 1/m)^n$ , em que,  $(1 - 1/m)^n$  representa o número de vezes que a matriz  $i$  não ocorre na amostra de  $n$  sementes, logo,  $P_{(x_i=1)} = E(x_i) = [1 - (1 - 1/m)^n]$ , e o número de matrizes esperados na amostra é,

$$E(m) = m \left[ 1 - \left( 1 - \frac{1}{m} \right)^n \right] \quad (\text{Hammond \& Gardner, 1974}) \quad [4].$$

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 3.1 Número de Árvores para a Coleta de Sementes

As espécies arbóreas avaliadas na TABELA 1 evidenciaram desvios de cruzamentos aleatórios e a existência de grandes variações nas diferentes proporções de progênies entre as diferentes espécies. *Prosopis nigra* (Bessega *et al.*, 2000), por exemplo, apresentou taxa de cruzamento multilocos ( $\hat{t}_m$ ) igual à unidade, mas suas progênies foram geradas por combinações de cruzamentos aleatórios e biparentais, resultando em misturas de meios-irmãos (39,2%) e irmãos-completos (60,8%). Tais resultados tornam difícil assumir o modelo aleatório para descrever o comportamento genotípico da descendência em espécies arbóreas e, portanto, para estimar o número de árvores adequadas para a coleta de sementes para reflorestamentos. Por exemplo, caso uma espécie se reproduzir por cruzamentos aleatórios e um número infinito de sementes for coletado em cada árvore ( $n > 1.000$ ), a coleta em 13 árvores seria suficiente para reter o tamanho efetivo de 50. Por outro lado, se ocorrerem misturas de cruzamentos aleatórios e cruzamentos biparentais, como por exemplo, o caso de *Prosopis nigra*, seria necessária a coleta de sementes em 20 árvores, ou seja, em 7 árvores a mais do que se os cruzamentos fossem aleatórios. Desvios de cruzamentos aleatórios são comuns em espécies arbóreas e os cruzamentos biparentais parecem ser mais generalizados em espécies polinizadas por animais (Sampson, 1998). As prováveis causas são autocompatibilidade, assincronismo no florescimento, comportamento forrageiro sistemático dos polinizadores visitando árvores próximas, populações subdivididas em estruturas de famílias, pequeno tamanho das populações, diferença na função masculina e feminina entre árvores, depósito de múltiplos grãos de pólen (poliandria) de mesmo parental paterno nas flores de uma mesma árvore, etc. Dessa forma, a estimativa do número de árvores para a coleta de sementes com base na pressuposição de cruzamentos aleatórios é insuficiente, podendo, em função da magnitude dos desvios, levar a erros graves no tamanho estimado e comprometer o potencial evolutivo das novas populações fundadas.

SEBBENN, A. M. Número de árvores matrizes e conceitos genéticos na coleta de sementes para reflorestamentos com espécies nativas.

TABELA 1 - Número de populações ( $np$ ), número de locos ( $nl$ ), taxa de cruzamento multiloco ( $\hat{t}_m$ ), correlação de cruzamento ( $\hat{r}_s$ ), correlação de paternidade ( $\hat{r}_p$ ), proporção de irmãos de autofecundação ( $P_{[IA]}$ ), irmãos-completos ( $P_{[IC]}$ ), meios-irmãos ( $P_{[MI]}$ ), coeficiente de parentesco ( $\hat{\theta}$ ) e número de matrizes para a coleta de sementes em algumas espécies arbóreas.

Espécie	$np$	$nl$	$\hat{t}_m$	$\hat{r}_s$	$\hat{r}_p$	$P_{[IA]}$	$P_{[IC]}$	$P_{[MI]}$	$\hat{\theta}$	Tamanho efetivo			
										$m=1$	50	100	1.000
Meios-irmãos	-	-	1	0	0	0	0	1	0,125	4,0	13	25	250
Irmãos-completos	-	-	1	0	1	0	1	0	0,250	2,0	25	50	500
Irmãos de autofecundação	-	-	0	0	0	1	0	0	0,500	1,0	50	100	1.000
<i>Picea mariana</i> <sup>1</sup>	2	8	0,991	0,100*	0,149	0,009	0,148	0,843	0,146	3,4	15	29	291
<i>Hymenaea courbaril</i> <sup>2</sup>	1	4	0,991	0,006	0,146	0,009	0,145	0,846	0,145	3,4	15	29	290
<i>Prosopis juliflora</i> <sup>3</sup>	3	12	0,974	0,122	0,131	0,026	0,128	0,846	0,148	3,4	15	30	295
<i>Cariniana legalis</i> <sup>4</sup>	3	14	0,956	0,090	0,277	0,044	0,265	0,691	0,168	3,0	17	34	337
<i>Pinus washoensis</i> <sup>5</sup>	4	4	0,862	0,100*	0,070	0,138	0,060	0,802	0,170	2,9	17	34	340
<i>Parapitadenia rigida</i> <sup>6</sup>	2	4	0,973	0,191	0,358	0,027	0,348	0,625	0,175	2,9	18	35	350
<i>Pinus pineana</i> <sup>7</sup>	3	13	0,870	0,100*	0,187	0,130	0,163	0,707	0,179	2,8	18	36	358
<i>Eucalyptus rameliana</i> <sup>8</sup>	1	6	0,890	0,100*	0,260	0,110	0,231	0,659	0,181	2,8	18	36	363
<i>Enterolobium cyclocarpum</i> <sup>9</sup>	4	5	0,887	0,168	0,320	0,113	0,284	0,603	0,189	2,6	19	38	378
<i>Prosopis nigra</i> <sup>10</sup>	1	4	1,000	0,870	0,620	0,000	0,620	0,380	0,203	2,5	20	41	405
<i>Cryptocarya moschata</i> <sup>11</sup>	1	7	0,862	0,369	0,369	0,138	0,318	0,544	0,204	2,5	20	41	407
<i>Tabebuia cassinoideis</i> <sup>12</sup>	2	12	0,839	0,061	0,421	0,161	0,353	0,486	0,207	2,4	21	41	414
<i>Myracrodon urundeuva</i> <sup>13</sup>	5	6	0,889	0,106	0,531	0,111	0,472	0,417	0,209	2,4	21	42	417
<i>Chorisia speciosa</i> <sup>14, 15</sup>	2	7	0,895	0,122	0,604	0,105	0,541	0,354	0,215	2,3	22	43	431
<i>Genipa americana</i> <sup>16A</sup>	1	4	0,984	0,108	0,785	0,016	0,772	0,212	0,224	2,2	22	45	449
<i>Esenbeckia letocarpa</i> <sup>17</sup>	2	8	0,961	0,101	0,868	0,039	0,834	0,127	0,236	2,1	24	47	472
<i>Acacia melanoxylon</i> <sup>18</sup>	3	12	0,870	0,100*	0,910	0,130	0,792	0,078	0,248	2,0	25	50	497
<i>Eucalyptus marginata</i> <sup>19</sup>	4	4	0,810	0,360	0,750	0,190	0,608	0,203	0,251	2,0	25	50	501
<i>Prosopis chilensis</i> <sup>10</sup>	1	5	0,809	0,398	0,964	0,191	0,780	0,029	0,271	1,8	27	54	543
<i>Prosopis alba</i> <sup>10</sup>	1	4	0,781	0,866	0,805	0,219	0,629	0,152	0,281	1,8	28	56	561
Média - 20 espécies	46	-	0,905	0,263	0,476	0,095	0,425	0,480	0,203	2,6	21	41	406
Erro padrão			0,015	0,060	0,065	0,015	0,057	0,060	0,009	0,1	0,9	1,8	18,0

Ref. = Referência; 1: Perry & Bousquet (2001); 2: Santos (2002); 3: Oliveira (1999); 4: Sebbenn *et al.* (2000); 5: Mitton *et al.* (1997); 6: Ribas (1999); 7: Ledig *et al.* (2001); 8: Sampson (1998); 9: Rocha & Aguilar (2001); 10: Bessega *et al.* (2000); 11: Moraes (1997); 12: Sebbenn *et al.* (2001b); 13: Moraes *et al.* (2002); 14: Souza *et al.* (2002); 15: Luca *et al.* (2002); 16: Sebbenn *et al.* (1998); 17: Seane *et al.* (2001); 18: Muona *et al.* (1991); 19: Millar *et al.* (2000).

( ) Desvio padrão. A: Reanalisado pelo método de "maximization expectation" Ritland (1994).

(\*) Valor assumido para fim de estimativa.

A estimativa do número de árvores para a coleta de sementes com base na média das estimativas da taxa de cruzamento multiloco ( $t_m$ ) e correlação de paternidade ( $r_p$ ) apresentadas na TABELA 1, indicam a necessidade de coletar sementes em pelo menos 21 árvores, para se reter o tamanho efetivo de 50, se a população onde será feita a coleta de sementes não for endogâmica. Também se observa que a coleta em 25 árvores seria suficiente para cobrir boa parte das variações na taxa de cruzamento e correlação de paternidade apresentadas pelas espécies listadas na referida tabela. O número de 25 árvores é também o tamanho amostral recomendado internacionalmente para a coleta de sementes para fins de conservação genética (Graudal *et al.*, 1997).

A estimativa do intervalo de confiança para um alelo de frequência 0,05, considerando os tamanhos amostrais determinados em função dos tamanhos efetivos de 50, 100 e 1.000, variaram de 0,017 a 0,022, 0,012 a 0,016 e 0,004 a 0,012, respectivamente, indicando que este alelo não será perdido ou fixado para nenhum dos tamanhos amostrais determinados, sendo estes, portanto, adequados para reflorestamento de áreas alteradas e degradadas.

### 3.2 Paternidade Entre e Dentro de Frutos

Estudos objetivando entender como é a relação de parentesco entre e dentro de frutos de mesma árvore, têm revelado que esta correlação é maior dentro de frutos do que entre frutos. Em *Eucalyptus rameliana*, Sampson (1998) observou que a correlação de paternidade dentro de frutos era de 26% e entre frutos de 9%. Estudo semelhante realizado em uma espécie anual, *Mimulus guttatus*, Ritland (1989) detectou resultados similares, com correlações de paternidade dentro de frutos na ordem de 37% e entre frutos de 21%. Esses dois trabalhos mostram que existe maior probabilidade de se amostrar indivíduos irmãos-completos quando sementes são coletadas do mesmo fruto, do que se estas forem coletadas de diferentes frutos. Para reduzir o grau de parentesco nas sementes é então desejável que estas sejam retiradas de diferentes frutos. Isso é particularmente importante na implantação de testes de progênies de polinização livre, para fins de melhoramento genético.

Uma das pressuposições básicas, nesse caso, é a de cruzamentos aleatórios, ou seja, que a relação de parentesco entre plantas dentro de progênies é de meios-irmãos. Desvios dessa pressuposição levam a vícios nas estimativas de parâmetros genéticos (Namkoong, 1966; Squillace, 1974). A coleta de sementes em diferentes frutos pode reduzir esses vícios.

Em plantios de recuperação esse resultado implica na necessidade de se coletar muitos frutos por árvore ( $> 100$ ), procedendo-se posteriormente à mistura de suas sementes. Se grande número de frutos for tomado de uma árvore e muitas árvores incluídas na amostra final (conjunto gênico), a probabilidade de incluir sementes aparentadas no grau de irmãos-completos diminui.

### 3.3 Posição dos Frutos na Copa

Outro aspecto importante na coleta de sementes é a posição na copa onde é feita a coleta das sementes. Em *Eucalyptus globulos* L., Patterson *et al.* (2001) detectaram que em indivíduos autocompatíveis, a taxa de cruzamento era menor em sementes coletadas na parte inferior da copa, relativamente à parte superior. A taxa de cruzamento foi 63% a 33% menor na parte inferior da copa. Comportamento semelhante já havia sido relatado em espécies do gênero *Pinus* por Fowler (1965). Isso indica que a taxa de endogamia e o potencial para combinações homozigóticas de genes deletérios e a expressão da depressão por endogamia aumentam em sementes coletadas na parte inferior da copa. Em concordância, Patterson *et al.* (2001) observaram redução no número de sementes produzidas na parte inferior da copa, o que pode ser o reflexo da expressão de genes letais na fase prezigótica. A provável explicação para isso é a queda ou chuva de pólen da parte superior da copa, aumentando a taxa de autofecundação das flores localizadas na parte inferior.

Em termos gerais, verifica-se nesses trabalhos que não é possível considerar que o processo de polinização ocorra de forma homogênea em toda a copa de uma árvore. Contudo, esses poucos estudos são insuficientes para se entender com clareza este processo, sendo preciso repeti-los em outras espécies. Até que isso não seja devidamente esclarecido seria desejável coletar as sementes na parte superior da copa, o que poderia aumentar a qualidade e viabilidade das sementes e a qualidade e a eficiência dos plantios.

O problema é que muitas espécies arbóreas tropicais apresentam alturas superiores a 15 metros, dificultando juntamente com as condições de campo (cipós, alta densidade vegetal, topografia, etc.) a coleta de sementes nessa parte da copa, sendo a coleta realizada muitas vezes nos frutos localizados na parte inferior ou no solo, abaixo da copa. Quando possível, deve-se procurar coletar na parte superior e em condições onde isto não é viável, procurar coletar a maior quantidade possível de sementes e eliminar sementes ou mudas com indícios de endogamia, como plântulas com deficiência em clorofila.

### 3.4 Número de Parentes Representados na Amostra

O número de parentes representados em uma amostra é uma questão fundamental quando sementes são coletadas de várias árvores e misturadas em quantidades iguais por árvore matriz (controle gamético), formando um conjunto do qual serão retiradas amostras para posterior comercialização ou reflorestamento. Nesse caso, a noção do número de matrizes ou parentais femininos representados em um lote de sementes é relevante para estimar o tamanho efetivo e conhecer o potencial do material para auto-regeneração. Por exemplo, a coleta de 1.000 sementes por árvore, em 20 árvores, resulta no tamanho amostral total de 20.000 sementes. Se após a mistura das sementes, forem retiradas subamostras de 50 sementes, qual será o número de matrizes representadas na amostra? Utilizando-se a expressão 4, estima-se que 18,5 exemplares estejam representados nas subamostras de 50 sementes. Por outro lado, se o tamanho das subamostras for de 20 sementes, espera-se que apenas 12,8 matrizes estejam representadas. Portanto, quando o número de sementes na subamostra é pequeno, a probabilidade de representar genótipos maternos diminui, indicando que quando pequeno número de plantas de uma espécie for utilizado em plantios, seria preferível que as sementes, depois de coletadas, não fossem misturadas, e sim, uma semente fosse tomada de cada amostra de cada árvore. Dessa forma, o tamanho efetivo seria maximizado na nova população. Por outro lado, quando o número de sementes subamostradas aumenta, torna-se maior a chance de um maior número de matrizes serem representadas e as sementes podem ser misturadas em quantidades iguais por árvore matriz.

O limite superior na representatividade é o número de matrizes incluídas na amostra e se este for baixo, as subamostras serão sempre deficientes. Logo, reforça-se a indicação de utilizar-se grande número de matrizes na atividade de coleta de sementes. Essa recomendação está de acordo com a de Vencovsky (1987) que sugeriu, para a conservação genética, a coleta de sementes do maior número possível de indivíduos e em quantidade igual ou aproximadamente igual, de cada um.

### 3.5 Apomixia

A reprodução por apomixia é também outro fator importante a ser considerado no processo de coleta de sementes. Existem várias formas de reprodução apomítica, uma forma comum é a reprodução partenogênica na qual um indivíduo é gerado a partir de um óvulo não fertilizado ou de uma célula somática, sem contribuição genética paterna, o que resulta em um indivíduo de genótipo idêntico ao genótipo materno (Raven *et al.*, 1978). Essa forma de reprodução pode ser mais generalizada em espécies arbóreas tropicais do que se imagina (Kaur *et al.*, 1978). Segundo Spurr & Barnes (1984), a maior parte das espécies arbóreas tem alguma forma de reprodução assexual ou apomítica, o que dá ao indivíduo a capacidade de adaptação imediata ao ambiente de origem. A apomixia facultativa é o meio que, de um lado, permite a produção maciça de sementes de genótipos semelhantes e, de outro, preserva um estoque de variabilidade potencial que, mais tarde, pode ser liberado através da produção ocasional de sementes sexuadas (Swanson *et al.*, 1969).

A redução no tamanho populacional pode favorecer a depressão endogâmica e o aparecimento de apomixia, sendo que, neste caso, a agamospermia parece ser uma estratégia populacional para manutenção da variabilidade genética existente. Ela aumenta a proporção dos genótipos já existentes, ou seja, a apomixia facultativa pode conter o efeito da depressão endogâmica e deriva genética através do prolongamento e aumento do número de genótipos e, conseqüentemente, conservar a heterozigiosidade advinda da reprodução sexuada (Murawski, 1995). A apomixia por si só não aumenta a endogamia, isto só acontece se a planta materna for endogâmica.

Contudo, plantios com sementes apomíticas de mesma planta materna, terão conseqüências indesejáveis já na primeira geração, como, por exemplo, o aumento da endogamia, dado que o cruzamento entre indivíduos idênticos (rametes), pode ser traduzido como autofecundação. A coleta de grande quantidade de sementes, em várias árvores e posterior mistura destas, podem reduzir a probabilidade de se estabelecer grandes número de indivíduos apomíticos próximos entre si nos plantios.

### 3.6 Endogamia

Endogamia ( $F$ ) é a probabilidade de dois alelos em um determinado loco de um indivíduo serem idênticos por descendência. Alguns estudos em espécies arbóreas têm evidenciado a ocorrência de endogamia em populações naturais (Comps *et al.*, 1990; Khasa *et al.*, 1994; Pérez-Nasser *et al.*, 1993; Alvarez-Buylla & Garay, 1994; Lee & Lee, 1997; Lin *et al.*, 1997; Raja *et al.*, 1997; Chung *et al.*, 2002; Jorgensen *et al.*, 2002). Entretanto, nesses casos dificilmente a endogamia supera a faixa de 10%. Em geral, o que se observa é baixa endogamia ( $F \approx 0$ ) ou excesso de heterozigotos ( $F < 0$ ) na fase adulta das árvores e excesso de endogamia na fase de plântula ( $F > 0$ ), sugerindo a existência de forte seleção contra endogâmicos e, em alguns casos, seleção para heterozigotos entre a fase de semente e a fase adulta, favorecendo a preservação de alelos e a variabilidade genética (heterozigosidade) nas populações. Esse quadro é altamente favorável à coleta de sementes em populações naturais, por garantir variabilidade genética nas sementes coletadas. Contudo, apesar da presença de variabilidade, parte das sementes conterà combinações gênicas desfavoráveis, devido as autofecundações e cruzamentos entre parentes. A parte da endogamia atribuída a genes letais será eliminada praticamente toda antes da formação das mudas, e boa parte restante, durante a fase de viveiro. No entanto, o maior problema refere-se à endogamia atribuída a genes semiletais. Se a seleção não atuar de forma efetiva, muitos indivíduos endogâmicos podem sobreviver por um certo período de tempo ou chegar à fase adulta, estéreis, reduzindo o tamanho efetivo, a fecundidade e a produtividade das populações fundadas (depressão por endogamia).

Em situações onde a nova população é pequena, isto poderá ser problemático. Entretanto, o que realmente se espera, é que a seleção atue eliminando os indivíduos endogâmicos, causando uma certa taxa de mortalidade nos plantios. Se for assumido que todos os indivíduos gerados por autofecundação e cruzamentos entre aparentados serão eliminados e que a taxa de autofecundação e de cruzamento entre parentes em espécies arbóreas é em média de 15% e 5%, respectivamente, poder-se-ia esperar 20% de mortalidade nos plantios de recuperação, excluindo eventos casuais como, por exemplo, predação e ataque de pragas.

A depressão por endogamia é fato em espécies arbóreas. Ela é o resultado da endogamia e da expressão de genes deletérios (letais e semiletais) em combinações homozigóticas, advindas principalmente de autofecundações e cruzamentos entre parentes. Suas conseqüências são a perda de vigor, redução na produtividade, fertilidade, etc. (Allard, 1971; Ritland, 1996; Falconer & Mackay, 1997). Estudos comparando progênies de autofecundação com a de cruzamento, em coníferas e folhosas arbóreas, têm exibido drástica depressão para produção de sementes, floração, germinação, sobrevivência e crescimento (Geburek, 1986; Griffin & Cotterrill, 1988; Hardner & Potts, 1995; Sorensen, 1997; Wu *et al.*, 1998; Sebbenn *et al.*, 2001a, entre outros). Em plantios, suas principais conseqüências são o aumento da mortalidade, redução na capacidade adaptativa e na produtividade média. Sorensen & Miles (1974) observaram depressão para crescimento em *Pseudotsuga menziensis* e *Pinus ponderosa* na ordem de 18% e 21%, respectivamente, nos primeiros anos de experimentação e mortalidade na ordem de 11% e 9%, respectivamente. Outras conseqüências seriam a redução na viabilidade das sementes e geração de plantas estéreis, o que em circunstâncias de pequenas populações, poderia implicar na incapacidade da população em se auto-regenerar (promover a regeneração da população a partir de indivíduos advindos de cruzamentos da própria população), comprometendo as futuras gerações. É, portanto, essencial reduzir a probabilidade de incluir progênies endogâmicas no material genético utilizado nos plantios ambientais, a fim de maximizar as chances de sucesso no estabelecimento dos mesmos reduzir a mortalidade e os custos de replantio.

A recomendação da coleta de sementes em 25 matrizes ( $\hat{m}$ ) é adequada para o caso de populações não endogâmicas (TABELA 1). Em populações endogâmicas esse número não é suficiente. Assumindo o equilíbrio de endogamia, taxas de autofecundação ( $s$ ) variando de 5% a 30%, e a correlação de autofecundação ( $r_s$ ) e correlação de paternidade ( $r_p$ ) média estimadas para as espécies listadas na TABELA 1 (0,263 e 0,476, respectivamente),

verifica-se a necessidade de coletar sementes entre 20 e 29 árvores para reter o tamanho efetivo de 50 (TABELA 2). Se considerarmos o intervalo de confiança a 95% de probabilidade do número de matrizes ( $\hat{m}$ ), este número se encontra entre 19 e 30 árvores para as situações apresentadas na TABELA 2. Portanto, em casos de coleta de sementes em populações onde existem indícios de endogamia, recomenda-se a amostragem de sementes em 30 árvores ao invés de 25.

TABELA 2 - Estimativa do número de árvores matrizes ( $\hat{m}$ ) e do intervalo de confiança (95% de probabilidade), para reter diversos tamanhos efetivos de referência ( $N_e$ ), em populações hipotéticas em equilíbrio de endogamia para diferentes taxas de autofecundação ( $s$ ) e índice de fixação ( $f = s/2 - s$ ), assumindo correlação de autofecundação ( $r_s$ ) igual a  $0,263 \pm 0,060$  e correlação de paternidade ( $r_p$ ) igual  $0,476 \pm 0,065$ .

$s$	$f$	$N_e = 50$	$N_e = 100$	$N_e = 1.000$
0,05	0,03	19,6 (18,2 a 21,3)	39,3 (36,3 a 42,6)	393,0 (363,4 a 426,5)
0,10	0,05	21,0 (19,6 a 22,6)	42,0 (39,3 a 45,2)	420,4 (393,0 a 451,5)
0,15	0,08	22,6 (21,3 a 24,0)	45,2 (42,6 a 48,1)	451,7 (426,1 a 480,6)
0,20	0,11	24,4 (23,2 a 25,7)	48,7 (46,3 a 51,4)	487,0 (463,2 a 514,1)
0,25	0,14	26,3 (25,2 a 27,6)	52,7 (50,4 a 55,2)	526,9 (504,5 a 552,4)
0,30	0,18	28,6 (27,5 a 29,8)	57,2 (55,0 a 59,6)	571,7 (550,4 a 596,1)

### 3.7 Tamanho Efetivo

Para reduzir os efeitos da endogamia em uma população, o tamanho efetivo de 50 é suficiente (Frankel & Soulé, 1981). Esse tamanho conserva muitos dos genes de uma população e pode ser suficiente para evitar os danos da depressão por endogamia, mas não é suficiente para manter por longo tempo grande proporção da variação genética de uma população. Para esse propósito, Franklin (1980) sugeriu o tamanho efetivo de 500. Com esse tamanho a entrada de nova variação pela mutação é comparável à perda devido à deriva genética (Lande & Barrowclough, 1987). Lande (1995) estimou que o tamanho efetivo de 5.000, em vez de 500, seria necessário para manter uma alta variação genética nas populações. Lynch (1996), por sua vez, determinou que seria necessário o tamanho efetivo de 1.000 para manter o potencial adaptativo normal de uma população, para caracteres quantitativos sob efeito do balanço entre deriva genética e mutação.

Os valores de 50 e 500 foram derivados para populações de gerações discretas (não sobrepostas), de cruzamentos aleatórios e assumindo

que a taxa de endogamia em um loco com dois alelos não deveria ser superior a 1% por geração. Essas condições normalmente não são válidas em populações naturais de espécies arbóreas. O tamanho efetivo pode ser muito menor do que o tamanho senso ou número de indivíduos que compõe a população. A causa pode ter várias origens, como, por exemplo, cruzamentos não aleatórios, sobreposição de geração, diferenças na fertilidade entre os indivíduos, desigual número de plantas masculinas e femininas em espécies dióicas e flutuações no tamanho da população de uma geração para outra (Crow & Denniston, 1988). Assim, Nunney & Campbell (1993), têm sugerido utilizar como referência os tamanhos de 50 e 500 multiplicados por duas a quatro vezes, e para algumas espécies possivelmente por mais, para compensar as diferenças genéticas, reprodutivas e demográficas das populações naturais em relação à população ideal hipotetizada para derivações dos tamanhos efetivos de 50 e 500. Esse princípio pode compensar, em alguns casos, a sobreposição de gerações, locos com mais de dois alelos e a exclusão de forças evolutivas prováveis de atuarem em populações naturais como seleção natural, deriva genética, mutação e suas combinações.

### 3.8 Estrutura Genética Espacial

As populações de espécies arbóreas são muitas vezes estruturadas em famílias, formando subpopulações ou demes em forma de manchas, onde as frequências alélicas tendem a ser homogêneas dentro das subdivisões e o parentesco interno está acima do esperado pelas suposições de cruzamentos aleatórios. A causa é a dispersão de sementes próximas à árvore matriz, aumentando a probabilidade de estabelecimento de filhos próximos a esta. São muitos os estudos relatando populações estruturadas, na sua maioria, tem-se verificado que o raio da mancha não é superior a 100 metros, em geral, encontra-se entre 20 a 50 metros. Em *Quercus margaretta* (Berg & Hamrick, 1994), *Rhus trichocarpa* (Chung *et al.*, 1999), *Eurya japonica* (Chung & Epperson, 2000), *Pinus strobus* (Epperson & Chung, 2001) e *Machaerium villosum* (Giudice Neto & Kageyama, 2000), o raio da mancha não excedeu a 30 metros. Em *Alnus glutinosa* (Gömöry & Paule, 2002), *Abies balsamiae* (Shea & Furnier, 2002) e *Myracrodruon urundeuva* (Moraes *et al.*, 2002), a distância das manchas foi um pouco maior, chegando a 100 metros no caso da primeira espécie. A dispersão de sementes por gravidade (autocoria) e vento (anemocoria) pode ser a responsável pelo tamanho da mancha. Essas formas de dispersão de sementes são comuns em espécies arbóreas.

A hipótese de que as populações naturais poderiam ser estruturadas levou à recomendação geral para teste de progênies e procedências, que sementes de polinização livre deveriam ser coletadas respeitando-se a distância mínima de 100 metros entre árvores (Shimizu *et al.*, 1982; Eldridge *et al.*, 1993), ou pelo menos duas vezes a altura das árvores (Eldridge *et al.*, 1993), isto evitaria que árvores maternas aparentadas fossem amostradas nos testes. Com os resultados atuais verifica-se que essa hipótese estava aparentemente correta. Portanto, continua válida essa regra que deve ser respeitada também no caso da coleta para reflorestamentos de áreas alteradas e degradadas.

Vale ressaltar que essa recomendação baseou-se na pressuposição de que as espécies que ocorrem em uma área têm distribuição homogênea. Isso pode ser verdadeiro para algumas espécies de florestas semidecíduais, mas pouco provável de ser verdadeiro para todas as espécies desses ecossistemas.

No caso do cerrado, tem-se observado que muitas espécies têm distribuição agregada e descontínua (Prof. Dr. Mario Luiz Teixeira de Moraes, informação verbal). A distância de 100 metros pode, em casos de pequenas populações, ser reduzida a fim de se incluir um número mínimo de 25 árvores na amostra. É importante saber que essa recomendação reduz a probabilidade de se coletar sementes de matrizes aparentadas, mas não evita que sementes endogâmicas originadas do cruzamento entre parentes maternos e paternos dentro das manchas sejam incluídas na amostra, um outro bom motivo para sua adoção.

### 3.9 Fluxo Gênico

O fluxo gênico é a troca de material genético (sementes e pólen) entre populações de uma espécie. Ele mantém as populações coesas, em termos de frequências gênicas (Crow & Kimura, 1970; Hedrick, 1999). Dependendo de sua magnitude e intensidade, pode se opor a seleção natural e barrar efeitos negativos da deriva genética, como perda de alelos e heterozigosidade. Estudos indicam que o fluxo gênico é fortemente afetado pela distância que separa as populações. Populações próximas tendem a manter maior troca gênica do que populações distantes, em concordância com o modelo de isolamento por distância proposto por Wright (1943). De acordo com esse modelo o fluxo gênico ocorreria com maior intensidade entre populações vizinhas. Para a coleta de sementes o fluxo deve ser visto como um fator altamente favorável, promovendo aumento de variabilidade genética no material coletado. Intuitivamente, em pequenas populações, o fluxo gênico intenso pode reduzir a correlação de paternidade dentro do conjunto de sementes de uma árvore, pelo aumento do número de parentais paternos contribuindo para as descendências. Contudo, o avançado estado de fragmentação em que se encontra a grande maioria das florestas naturais brasileiras, reduz o potencial de fluxo gênico, em especial das espécies que dependem de vetores de dispersão como mamíferos, os quais se encontram praticamente impedidos de percorrer as longas distâncias que separam os fragmentos, dada a ocupação por aglomerados urbanos, estradas, monocultura intensiva, etc. Portanto, a escolha do fragmento onde será feita a coleta se torna importante, devendo-se dar preferência a fragmentos grandes e não isolados.

### 3.10 Tamanho da Área

O reflorestamento de áreas iguais ou menores do que 100 hectares podem ser feitos a partir da coleta de sementes em 25 árvores. Estas podem estar localizadas em um mesmo fragmento ou população ou, ainda, em diferentes populações. Porém, o número e a densidade de exemplares da espécie na população é importante. O tamanho da população deve ser de preferência grande, diz-se maior do que 150 indivíduos (Graudal *et al.*, 1997). Estudos do sistema de reprodução em espécies arbóreas têm mostrado que árvores isoladas (Burrows, 2000) e populações de baixa densidade populacional (Murawski & Hamrick, 1991; Young & Brown, 1998) são mais propícias a receberem pólen de poucos indivíduos e à autofecundação do que árvores em populações grandes e adensadas. Além disso, intuitivamente, em pequenas populações aumenta a probabilidade de ocorrerem cruzamentos biparentais, mesmo que mecanismos como assincronismo no florescimento (protandria e protoginia) estejam ausentes. Por exemplo, se uma população ou grupo de árvores isoladas em um fragmento é composto por 10 exemplares de uma espécie e cada árvore produzir 100 sementes, poderiam existir no máximo nove diferentes potenciais polinizadores para cada árvore (excluindo o fluxo gênico), ou seja, o tamanho da população menos o indivíduo considerado, assumindo ausência de autofecundações e máximo de aleatoriedade nos cruzamentos. Assim, em cada árvore, aproximadamente 11 sementes teriam o mesmo parental materno e paterno, sendo sua relação de parentesco de irmãos-completos. As sementes originadas de pólen de diferentes árvores seriam aparentadas no grau de meios-irmãos maternos (mãe comum e pai diferente) e as sementes originadas de diferentes árvores, mas de mesmo polinizador seriam aparentadas no grau de meios-irmãos paternos (pai comum e mãe diferente). A proporção de cada tipo de progênie dependerá do número de polinizadores envolvidos nos cruzamentos. Quanto maior for esse número, maior será a proporção de meios-irmãos. Esse exemplo representa um caso possivelmente comum em espécies arbóreas tropicais polinizadas por insetos e animais. Os fragmentos costumam ser pequenos (< 100 ha) e as espécies arbóreas tropicais são, em sua grande maioria,

de baixa densidade populacional (< 1 indivíduo por hectare), sendo difícil encontrar populações grandes (> 500 indivíduos). Além disso, a polinização por insetos, comum nessas espécies (Bawa *et al.*, 1985), pode implicar no comportamento forrageiro sistemático dos polinizadores, visitando consecutivamente árvores próximas, depositando múltiplos grãos de pólen sobre as flores, o que, combinado com o assincronismo no florescimento, leva a desvios de cruzamentos aleatórios. Isso reforça a necessidade de considerar desvios de cruzamentos aleatórios na determinação de tamanhos amostrais para reflorestamentos. Em situações em que não há a disponibilidade de fragmentos grandes ou florestas contínuas, deve-se procurar coletar sementes em vários pequenos fragmentos simultaneamente. Contudo, fragmentos onde o número de exemplares é muito baixo (< 5) devem ser evitados pelo aumento expressivo da probabilidade de irmãos-completos e irmãos de autofecundação serem coletados e incluídos na amostra, a não ser que a espécie alvo seja extremamente rara e não exista disponibilidade de material genético próximo. Nesse caso, é importante que o coletor, pelo menos, tenha noção do provável parentesco do material utilizado nos plantios e das conseqüências prováveis dessa prática nas futuras gerações.

Para o reflorestamento de áreas maiores do que 100 hectares, o tamanho efetivo referencial de 50 para determinar o tamanho amostral é insuficiente. Adotando-se um maior tamanho efetivo de referência, evita-se repetir populações provenientes de mesma base genética, e conseqüentemente problemas futuros, como os efeitos da deriva genética e aumento de parentesco e endogamia. O reflorestamento de grandes áreas com material proveniente de poucas matrizes pode vir a comprometer o potencial evolutivo das espécies, aumentando os níveis de endogamia e parentesco e reduzindo as chances desta se adaptar e de auto-regenerar-se em todas as áreas de plantio. Assim, sugere-se que se adote o tamanho efetivo de 100 (Nunney & Campbell, 1993), para o reflorestamento de áreas entre 100 a 500 hectares, e o tamanho efetivo de 1.000 (Vencovsky, 1987; Lynch, 1996) em áreas superiores a 500 hectares, como suficiente para manter a taxa de endogamia na faixa de 1% por geração e evitar futuros problemas de deriva genética.

Em populações não endogâmicas, considerando a estimativa média da taxa de cruzamento ( $t_m$ ) e da correlação de paternidade ( $r_p$ ) apresentadas na TABELA 1, seria necessário coletar sementes em pelo menos 40 a 50 árvores e 410 a 500 árvores para reter os tamanhos efetivos de 100 e 1.000, respectivamente. A coleta em 20 a 25 árvores em duas diferentes zonas de produção de sementes (áreas ecogeograficamente diferentes) já satisfaria a necessidade do tamanho efetivo de 100. Para o caso de grandes áreas (> 500) poder-se-ia coletar sementes em 20 a 25 árvores em 20 diferentes zonas de produção de sementes, representando amplas regiões ecogeográficas da espécie. Deve-se dar preferência, nesse caso, a fragmentos ou populações grandes, localizados em áreas ecologicamente divergentes em termos de clima, topografia, altitude e solo e representando boa parte da distribuição geográfica das espécies. Essa recomendação se baseia no fato de que a diferenciação genética entre populações dentro de uma espécie é promovida principalmente por três diferentes forças evolutivas: seleção natural, deriva genética e mutação. Em um dado ambiente, a seleção natural é geralmente a força mais importante, considerando caracteres como sobrevivência e crescimento, sob diferentes condições (Gradual *et al.*, 1997). Essas forças possibilitam que nas populações de uma espécie existam quatro diferentes tipos de classes de alelos: (i) alelos comuns, amplamente dispersos; (ii) alelos comuns, localizados; (iii) alelos raros, amplamente dispersos, e (iv) alelos raros, localizados (Marshall & Brown, 1975). Das quatro classes, os alelos comuns amplamente dispersos são os mais fáceis de amostrar, sendo representados em pequenos tamanhos amostrais, independente da estratégia de coleta adotada, ou seja, amostra de uma ou várias populações. Os alelos que são comuns e localizados são mais difíceis de amostrar do que os da primeira classe porque dependem da divergência genética entre as populações e, o número de populações passa a ser um fator importante no tamanho final da amostra. Segundo Marshall & Brown (1975), essa classe de alelos deveria ser priorizada na amostragem, porque provavelmente inclui alelos que

conferem adaptação para condições ambientais específicas. Os alelos da terceira classe, ou alelos raros amplamente dispersos, ocorrem em muitas populações, portanto, sua captura depende mais do tamanho final da amostra do que do número de populações amostradas. A última categoria, alelos raros e localizados, é a mais difícil de amostrar, porque depende simultaneamente do número de indivíduos amostrados dentro das populações e do número de populações, esta implica na amostragem de toda a espécie, o que é, na maioria das vezes, impraticável em termos de manejo de recursos genéticos. A amostragem da segunda classe, alelos comuns localizados, é, portanto, o alvo da amostragem para a coleta de sementes para a recuperação de grandes áreas geográficas. Dessa forma, aumentam as chances de ampliar a base genética no conjunto de sementes, pela inclusão de genes com diferentes frequências nas populações da espécie alvo.

No caso de populações endogâmicas (TABELA 2), em equilíbrio de endogamia e considerando a taxa de autofecundação ( $s$ ) variando de 5% a 30%, e a correlação de autofecundação ( $r_s$ ) e correlação de paternidade ( $r_p$ ) média estimadas para as espécies listadas na TABELA 1 (0,263 e 0,476, respectivamente), seria necessário coletar sementes entre 40 a 58 árvores e 393 a 572 árvores para reter os tamanhos efetivos de 100 e 1.000, respectivamente. Se considerarmos o intervalo de confiança a 95% de probabilidade do número de matrizes ( $\hat{m}$ ), o número de matrizes para reter os tamanhos efetivos de 100 e 1.000 encontra-se entre 37 a 60 árvores e 364 a 597 árvores, respectivamente. Com base no maior valor do intervalo de confiança, 60 e 597, para os tamanhos efetivos de 100 e 1.000, a coleta de sementes em 30 matrizes em duas populações ou fragmentos, ou 20 populações, garantem a retenção destes dois tamanhos efetivos. Ressalta-se, igualmente, como no caso de populações não endogâmicas, a necessidade de que estas populações ou fragmentos, em situações de reflorestamentos de áreas iguais ou maiores do que 100 e 500 hectares, representem diferentes ecorregiões de ocorrência das espécies.

### 3.11 Zoneamento Ecológico para a Coleta de Sementes

O zoneamento ecológico para coleta de sementes é primordialmente importante quando se pensa no desenvolvimento de programas de reflorestamentos com espécies nativas em grandes áreas como, por exemplo, um estado ou país. O zoneamento é importante para reduzir os custos de coleta e aumentar a eficiência do processo de reflorestamento. Uma zona ecológica de coleta de sementes pode ser definida como uma área em que existe suficiente uniformidade nas condições ecológicas que permitam assumir similaridade fenotípica ou genética para os caracteres quantitativos de uma espécie (Graudal *et al.*, 1997). Em outros termos, significa uma área em que as condições como topografia, altitude, tipo de solo e clima são semelhantes, a ponto de poder-se assumir que as populações que a compõe apresentam baixa divergência genética entre si (< 5%), ou seja, assume-se que a similaridade de condições ecológicas implica similaridade na constituição genética (Frankel, 1970). Tal fato baseia-se na suposição de que a adaptação local, determinada pela seleção natural, é a principal força atuando no processo de diferenciação genética entre populações.

A comparação da distribuição da variabilidade genética de uma espécie em zonas ecológicas bem definidas promove a base para a amostragem de sementes para o reflorestamento com espécies nativas. A zona de coleta não pode ser muito pequena, dado que o fluxo de pólen entre zonas vizinhas pode prevenir o desenvolvimento de diferenciação genética entre populações de diferentes zonas, logo, não seriam zonas diferentes. Por outro lado, a zona de coleta não pode ser muito grande, porque importantes diferenças genéticas podem existir entre populações dentro da zona (Graudal *et al.*, 1997), as quais não seriam amostradas e o potencial para adaptação poderia ser reduzido. Definindo zonas de coleta de sementes desta forma, espera-se que dentro da zona exista baixa diferenciação entre populações (< 5%) e a coleta de sementes implique na amostragem de mesmo conjunto gênico, com potencial particular para a adaptação a locais da própria zona ou com características ecológicas similares. Entre zonas, espera-se que a divergência genética entre populações seja média (5% a 15%) ou grande (> 5%) e assim as novas populações fundadas nas diferentes zonas respeitarão os padrões de estrutura observados na natureza.

Por outro lado, quando o reflorestamento for realizado fora das zonas de coleta, deve-se procurar incluir amostras de sementes de todas as zonas, a fim de aumentar a probabilidade de sucesso no plantio.

### 3.12 Considerações Finais

Para atenuar os efeitos da correlação de paternidade, apomixia, endogamia e variações na taxa de cruzamento entre frutos em diferentes posições na copa deve-se coletar grande quantidade de sementes por árvore e misturá-las em quantidades iguais ou aproximadamente iguais por árvore (controle gamético).

Os estudos do sistema de reprodução, distribuição da diversidade genética entre e dentro de populações, fluxo gênico entre populações e distribuição espacial de genótipos dentro de populações, podem ajudar em muito a definir populações, número adequado de árvores para a coleta de sementes e o zoneamento de áreas para a coleta de sementes. Entretanto, é praticamente impossível estudar todas as espécies, sendo necessário definir prioridades como, por exemplo, espécies em risco de extinção, espécies de valor econômico e espécies medicinais. Comparativamente à grande diversidade de espécies arbóreas tropicais brasileiras, poucas foram as estudadas para alguns desses aspectos. Ainda, a maioria destas foi estudada para um número limitado de populações (< 10), representando pouco a estrutura genética real das espécies. Enquanto um maior volume de tais informações não for obtido, pode-se fazer uso das recomendações aqui sugeridas.

Finalmente, o reflorestamento de áreas alteradas e degradadas, combinando inúmeras espécies simultaneamente, pode ser uma das formas mais eficientes de conservação genética *ex situ*, se a base genética utilizada nos plantios for adequada. O reflorestamento com espécies arbóreas nativas implica em fundar novas populações com base genética ampla, onde os indivíduos mais adaptados a cada ambiente sobrevivem para dar origem às futuras gerações. Com o tempo, as novas populações fundadas de uma mesma base genética vão divergir por seleção natural e/ou deriva genética e uma nova fonte de variação será criada entre populações. Intuitivamente, isso parece ser mais eficiente, em termos de conservação genética evolutiva, do que manter plantios de espécies em risco de extinção, restritas a delineamentos experimentais, repetidos em dois ou três locais, sujeitos igualmente às forças de seleção e deriva genética e à extinção por catástrofes como incêndios, pragas, ventos, etc.

#### 4 SUGESTÕES PARA A COLETA DE SEMENTES

1. Coletar grande quantidade de sementes por árvore e misturá-las em quantidades iguais ou aproximadamente iguais por matriz.
2. Coletar sementes preferencialmente na parte superior da copa.
3. Marcar matrizes distanciadas entre si em pelo menos 100 metros, ou duas vezes a altura da árvore.
4. O reflorestamento de áreas menores que 100 hectares pode ser feito a partir da coleta de sementes em 25 árvores, localizadas em um ou mais fragmentos ou populações. Em caso de populações endogâmicas esse número deve ser de 30 árvores matrizes.
5. O reflorestamento de áreas entre 100 e 500 hectares deve ser feito a partir da coleta de sementes em 40 a 50 árvores, localizadas preferencialmente em vários fragmentos ou populações. Se as populações onde serão feitas as coletas de sementes forem endogâmicas é preferível aumentar esse número para 60 árvores matrizes.
6. O reflorestamento de áreas superiores a 500 hectares deve ser realizado com coleta de sementes entre 400 a 500 árvores, pelo menos, localizadas obrigatoriamente em vários fragmentos e ecorregiões de distribuição de uma espécie. Se as populações onde serão feitas as coletas de sementes forem endogâmicas esse número deve ser de 597 árvores matrizes.

#### 5 AGRADECIMENTOS

O autor é grato ao engenheiro florestal Msc. Girlei Costa da Cunha e aos Professores Doutores Mario Luiz Teixeira de Moraes e Maurício Sadrez dos Reis pela revisão do manuscrito e valiosas sugestões. O autor também agradece à assistente técnica de pesquisa científica e tecnológica Yara Cristina Marcondes pela revisão da língua portuguesa, incorporando maior clareza e qualidade ao artigo.

#### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALLARD, R. W. **Princípios do melhoramento genético das plantas**. São Paulo: Edgard Blucher, 1971. 381 p.
- ALVAREZ-BUYLLA, E. R.; GARAY, A. A. Population genetic structure of *Cecropia obtusifolia*, a tropical pioneer species. **Evolution**, Lawrence, v. 48, n. 2, p. 437-453, 1994.

BAWA, K. S. Breeding systems of tree species for a lowland tropical community. **Evolution**, Lawrence, v. 28, p. 85-92, 1974.

\_\_\_\_\_; PERRY, D. R.; BEACH, J. H. Reproductive biology of tropical lowland rain forest trees. 1. Sexual systems and incompatibility mechanisms. **American Journal of Botany**, Oklahoma, v. 72, n. 3, p. 331-45, 1985.

BERG, E. E.; HAMRICK, J. L. Spatial and genetic structure of two sandhills oaks: *Quercus laevis* and *Quercus margaretta* (Fabaceae). **American Journal of Botany**, Oklahoma, v. 81, p. 7-14, 1994.

BESSEGA, C. *et al.* Mating system parameters in species of genus *Prosopis* (Leguminosae). **Hereditas**, Oxford, v. 132, p. 19-27, 2000.

BOSHIER, D. H. Mating systems. In: YOUNG, A.; BOSHIER D. H.; BOYLE T. **Forest conservation genetics: principles and practice**. Australia: CSIRO Publishing, 2000. p. 63-79.

BROWN, A. H. D.; WEIR, S. B. Measuring genetic variability in plant populations. In: TANKSLEY, S. D.; ORTON, T. J. **Isozymes in plant genetics and breeding**. Amsterdam: Elsevier Science Publishers, 1983. part A, p. 219-239.

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.

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 population of *Eurya japonica* (Theaceae). **Silvae Genetica**, Frankfurt, v. 49, n. 1, p. 1-4, 2000.

CHUNG, M. Y. *et al.* Landscape-level spatial genetic structure in *Quercus acutissima* (Fagaceae). **American Journal of Botany**, Oklahoma, v. 89, n. 8, p. 1229-1236, 2002.

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

SEBBENN, A. M. Número de árvores matrizes e conceitos genéticos na coleta de sementes para reflorestamentos com espécies nativas.

COMPS, B. *et al.* Allozymic variability in beechwoods (*Fagus sylvatica* L.) over central Europe: spatial differentiation among and within populations. **Heredity**, Lund, n. 65, p. 407-417, 1990.

CROW, J. F.; DENNISTON, C. Inbreeding and variance effective population numbers. **Evolution**, Lawrence, v. 42, p. 482-495, 1988.

\_\_\_\_\_; KIMURA, M. A. **An introduction to population genetics theory**. London: Harper & Row, 1970. 591 p.

ELDRIDGE, K. *et al.* **Eucalypt domestication and breeding**. Oxford: Clarendon Press, 1993. 288 p.

EPPERSON, B. K.; CHUNG, M. G. Spatial genetic structure of allozyme polymorphisms within populations of *Pinus strobus* (Pinaceae). **American Journal of Botany**, Oklahoma, v. 88, n. 6, p. 1006-1010, 2001.

FALCONER, D. S.; MACKAY, T. F. C. **Introduction to quantitative genetics**. Harlow: Longman, 1997. 463 p.

FOWLER, D. P. Effects of inbreeding in red pine, *Pinus resinosa*. **Silvae Genetica**, Frankfurt, v. 14, p. 38-46, 1965.

FRANKEL, O. H. Genetic conservation in perspective. In: FRANKEL, O. H.; BENNETT, E. **Genetic resources in plants: their exploration and conservation**. Oxford: Blackwell, 1970. p. 469-489. (IBP Handbook, 11).

\_\_\_\_\_; SOULÉ, M. S. **Conservation and evolution**. London: 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.

GEBUREK, T. Some results of inbreeding depression in Serbian Spruce [*Picea omorica* (Panc.) Purk.]. **Silvae Genetica**, Frankfurt, v. 35, p. 169-172, 1986.

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. **Rev. Bras. de Bot.**, 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 Centre, 1997. 58 p. (Technical Note, 48).

GRIFFIN, A. R.; COTTERILL, P. P. Genetic variation in growth of outcrossed, selfed and open-pollinated progenies of *Eucalyptus regnans* end some implications for breeding strategy. **Silvae Genetica**, Frankfurt, v. 37, p. 124-131, 1988.

HAMMOND, J. J.; GARDNER, C. O. Effect of genetic sampling technique on variation within populations derived by crossing, selfing, or random-mating others populations. **Crop Science**, Madison, v. 74, p. 63-66, 1974.

HARDNER, C. M.; POTTS, B. M. Inbreeding depression and changes in variation after selfing in *Eucalyptus globulus* ssp. *globulus*. **Silvae Genetica**, Frankfurt, v. 44, n. 1, p. 46-54, 1995.

HEDRICK, P. W. **Genetics of populations**. Sudbury: Jones and Bartlett Publishers, 1999. 552 p.

JORGENSEN, S.; HAMRICK, J. L.; WELLS, P. V. Regional patterns of genetic diversity in *Pinus flexilis* (Pinaceae) reveal complex species history. **American Journal of Botany**, Oklahoma, v. 89, n. 8, p. 792-800, 2002.

KAUR, A. *et al.* Apomixis may be widespread among tree of the climax rain forest. **Nature**, London, v. 271, p. 440-442, 1978.

KHASA, P. D.; CHELIAK, W. M.; BOUSQUET, J. Genetic variation in 26 populations of *Racosperma auriculiformes* and *Racosperma mangium* using allozymes. **Canadian Journal Forestry Research**, Edmonton, v. 24, p. 1123-1132, 1994.

- KRUSCHE, D.; GEBUREK, T. Conservation of forest gene resources as related to sample size. **Forest Ecology and Management**, Amsterdam, v. 40, p. 145-150, 1991.
- LANDE, R.; BARROCLOUGH, C. F. Effective populations size, genetic variation and their use in population management. In: SOULÉ, M. E. **Viable population for conservation**. London: Cambridge University Press, 1987. p. 87-123.
- LANDE, R. Mutation and conservation. **Conservation Biology**, San Francisco, v. 9, p. 782-791, 1995.
- LEDIG, F. T. 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.
- LEE, S. W.; LEE, M. H. Genetic variation of *Juglans sinensis* in Korea. **Silvae Genetica**, Frankfurt, v. 46, p. 102-107, 1997.
- LIN, T. P.; CHENG, Y. P.; HUANG, S. G. Allozyme variation in four geographic areas of *Cinnamomum kanehirae*. **Journal of Heredity**, Cary, v. 88, p. 433-438, 1997.
- LUCA, A. Q. *et al.* Sistema de reprodução e diversidade genética em plantio de *Chorisia speciosa* St. Hil (Bombacaceae). **Rev. Inst. Flor.**, São Paulo, v. 14, n. 2, p. 105-113, 2002. (No prelo).
- LYNCH, M. A quantitative-genetic perspective on conservation issues. In: AVISE J. C.; HAMRICK, J. L. **Conservation genetics: case studies from nature**. New York: Chapman & Hall, 1996. p. 471-501.
- MARSHALL, D. R.; BROWN, A. H. D. Optimum sampling strategies in genetic conservation. In: FRANKEL, O. H.; HAWKES, J. G. **Crop genetic resources for today and tomorrow**. London: Cambridge University Press, 1975. p. 53-80.
- 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 inbred 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. Mating system in natural populations of *Myracrodruon urundeuva* F.F. & M.F. Alemão from Brazil. **Forest Genetics**, Zvolen, 2002. 21 p. (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. Reproductive biology and genetics of tropical trees from canopy perspective. In: LOWMAN, M. D.; NADKARNI, N. M. **Forest canopies**. New York: Academic Press, 1995. p. 457-493.
- \_\_\_\_\_; HAMRICK, J. L. The effect of the density of flowering individuals on the mating systems of nine tropical tree species. **Heredity**, Lund, v. 67, p. 167-174, 1991.
- NAMKOONG, G. Inbreed effects on estimation of genetic additive variance. **Forest Science**, Washington, D.C., v. 12, p. 8-13, 1966.
- NEI, M. Molecular population genetics and evolution. In: NEUBERGER, A.; TATUM, E. L. **Frontiers of Biology**. New York: Elsevier Science Publishers, 1975. p. 40-89.
- NUNNEY, L.; CAMPBELL, K. A. Assessing minimum viable population size: Demography meets population genetics. **Tree**, Victoria, v. 8, n. 7, p. 234-239, 1993.
- 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.
- PATTERSON, B. VAILLANCOURT, R. E.; POTTS, B. M. Eucalypts seed collectors: beware of sampling seedlots from low in the canopy! **Australian Forestry**, Melbourne, v. 64, n. 3, p. 139-142, 2001.

PÉREZ-NASSER, N.; EGUIARTE, L.; PIÑERO, D. Mating system and genetic structure of the distylous tropical tree *Psychotria faxlucens* (Rubiaceae). **American Journal of Botany**, Oklahoma, n. 80, v. 1, p. 45-52, 1993.

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 Forest Research**, Edmonton, v. 31, p. 32-40, 2001.

RAJA, R. G. *et al.* Isoenzyme variation and genetic structure in natural populations of shortleaf pine (*Pinus echinata*). **Canadian Journal Forestry Research**, Edmonton, v. 27, p. 740-749, 1997.

RAVEN, P. H.; EVERT, R. F.; CURTIS, H. **Biologia vegetal**. Rio de Janeiro: Guanabara Dois, 1978. 724 p.

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.

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

\_\_\_\_\_. **Multilocus mating system program MLTR: version 1.1**. Canada: University of British Columbia, 1994. Disponível em: <<http://genetics.forestry.ubc.ca/ritland/programs.html>>. Acesso em: 18 abr. 1997.

\_\_\_\_\_. Inferring the genetic basis of inbreeding depression in plants. **Genome**, Ottawa, v. 39, p. 1-8, 1996.

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.

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, n. 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, n. 58, p. 25-40, 2000.

SEBBENN, A. M. *et al.* Depressão por endogamia em populações de jequitibá-rosa. **Rev. Inst. Flor.**, São Paulo, v. 13, n. 1, p. 61-81, 2001a.

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, 2001b.

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.

SHIMIZU, J. Y.; KAGEYAMA, P. Y.; HIGA, A. R. **Procedimentos e recomendações para estudos com progênies de essências florestais**. Curitiba: EMBRAPA-URPFCS, 1982. 34 p. (Documentos EMBRAPA-URPFCS, 11).

SORENSEN, F. C. Effects of sib mating and wind pollination on nursery seedling size, growth components, and phenology of Douglas-Fir seed-orchard progenies. **Canadian Journal Forestry Research**, Edmonton, v. 27, p. 557-566, 1997.

SORENSEN, F. C.; MILES, R. Self-pollination effects on Douglas-Fir and Ponderosa pine seeds and seedlings. **Silvae Genetica**, Frankfurt, v. 23, n. 5, p. 135-138, 1974.

SOUZA, L. M. I.; SEBBENN, A. M.; KAGEYAMA, P. Y. Sistema de reprodução em *Chorisia speciosa*. **Rev. Bras. de Bot.**, São Paulo, 2002. 20 p. (Submetido).

SPURR, S. H.; BARNES, B. V. **Ecologia florestal**. São Paulo: AGT Editora, 1984. p. 12-97.

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

SWANSON, C. P.; MERZ, T.; YOUNG, W. J. **Citogenética**. São Paulo: Polígono, Editora da Universidade de São Paulo, 1969. 244 p.

VENCOVSKY, R. Tamanho efetivo populacional na coleta e preservação de germoplasmas de espécies alógamias. **IPEF**, Piracicaba, v. 35, p. 79-84, 1987.

WRIGHT, S. Isolation by distance. **Genetics**, Baltimore, v. 28, n. 2, p. 114-138, 1943.

WU, H. X.; MATHESON, A. C.; SPENCER, D. Inbreeding in *Pinus radiata*. 1. The effect of inbreeding on growth, survival and variance. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 97, p. 1256-1268, 1998.

YOUNG, A. G.; BROWN, A. D. H. Comparative analysis of the mating system of the rare woodland shrub *Daviesia suaveolens* and its common congener *D. mimosoides*. **Heredity**, Lund, v. 80, p. 374-381, 1998.