

FUNDAMENTOS DE GENÉTICA DE POPULAÇÕES PARA CONSERVAÇÃO DE GERMOPLASMA DA ERVA-MATE (*Ilex paraguariensis* ST. HIL.)

Marcos Deon Vilela de Resende¹, Rosângela Maria Simeão²
e José Alfredo Sturion³

RESUMO

O presente trabalho aborda alguns conceitos em genética de populações, relevantes à conservação genética tais quais: tamanho efetivo populacional e deriva genética, endogamia e depressão endogâmica, mutação e carga genética, polimorfismo e variabilidade genética, migração e fluxo gênico, subdivisão e estrutura de populações, seleção. São apresentadas metodologias e estratégias para amostragem e conservação de germoplasma de erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.).

Palavras-chave: conservação biológica, diversidade genética, extinção, heterozigose.

SUMMARY

Concepts in population genetics such as effective population size and genetic drift, inbreeding and inbreeding depression, mutation and genetic load, polymorphism and genetic variation, migration and gene flow, subdivision and genetical structure and selection are discussed with reference to conservation genetics of erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.). Strategies and methodologies of sampling and germplasm conservation of this species are presented.

Key Words: conservation biology, genetic diversity, extinction, heterozygosity.

-
- 1 Eng. Agrônomo, Mestre, CREA nº 50602/D, Pesquisador da EMBRAPA - Centro Nacional de Pesquisa de Florestas. Estrada da Ribeira, km 111, CEP 83411-000, Caixa Postal, 319; Colombo-PR; Fone: (041) 766-1313; Fax (041) 766-1276.
 - 2 Bióloga, Mestre, CRB nº 1271803/B, Doutoranda do Departamento de Genética da Universidade Federal do Paraná.
 - 3 Eng. Florestal, Doutor, CREA nº 47.263, Pesquisador da EMBRAPA - Centro Nacional de Pesquisa de Florestas. Estrada da Ribeira, km 111, CEP 83411-000, Caixa Postal, 319; Colombo-PR; Fone: (041) 766-1313; Fax: (041) 766-1276.

1. INTRODUÇÃO

Em erva-mate, grande parte do germoplasma da espécie jamais foi avaliado ou utilizado, tendo em vista que os programas de melhoramento genético iniciaram-se

recentemente e que grande parte da exploração econômica da mesma baseia-se no extrativismo. Este fato aliado à grande devastação que vem sofrendo as florestas naturais que constituem a área de ocorrência natural de *Ilex paraguariensis* faz com que programas de conservação de recursos genéticos da espécie sejam prioritários como forma de garantir a utilização futura da mesma.

Do ponto de vista técnico, ações de conservação genética devem ser fundamentadas em sólidos princípios de genética de populações. Neste contexto são relevantes os conceitos de tamanho efetivo populacional e deriva genética, endogamia e depressão endogâmica, mutação e carga genética, polimorfismo e variabilidade genética, migração e fluxo gênico, subdivisão e estrutura de populações, seleção.

O presente artigo tem como objetivos elucidar os fundamentos de genética de populações necessários ao delineamento de eficientes metodologias e estratégias de amostragem e conservação de germoplasma de erva-mate.

2. GENÉTICA DE POPULAÇÕES E CONSERVAÇÃO BIOLÓGICA

A diversidade biológica do planeta vem sendo reduzida drasticamente como conseqüência direta ou indireta das ações humanas, de forma que várias espécies tornaram-se extintas e muitas outras tiveram o seu tamanho populacional reduzido e encontram-se em perigo de extinção. Atualmente grandes esforços vem sendo realizados com vistas a manutenção da biodiversidade, com as seguintes justificativas: valor econômico dos biorecursos, benefícios ecológicos e ambientais, estética e direito de existência dos seres vivos. Neste sentido existe a necessidade de conservação da biodiversidade em três níveis: diversidade genética dentro de espécies, diversidade de espécies e diversidade do ecossistema (FRANKHAM, 1995a). A genética de populações está diretamente relacionada aos dois primeiros níveis de biodiversidade e indiretamente relacionada ao terceiro.

Os principais fatores que contribuem para a extinção são a perda de habitat, a exploração desregulada, a introdução de espécies e a poluição. Estes

fatores geralmente reduzem o tamanho populacional das espécies, fato que as tornam susceptíveis a efeitos estocásticos (com variações aleatórias) tais como variações ambientais e demográficas, catástrofes e efeitos genéticos (depressão endogâmica, perda de variação genética e acúmulo de mutações deletérias) (FRANKHAM, 1995a). Está explícito então que o fator decisivo para a extinção é o pequeno tamanho populacional, que é em essência um problema de genética de populações.

A conservação biológica é uma ciência multidisciplinar baseada principalmente nas áreas de ecologia e genética. Segundo FRANKHAM (1995a) existem sete principais aspectos genéticos envolvidos na conservação biológica: depressão endogâmica; acúmulo e perda de mutações deletérias; perda de variação genética em pequenas populações; adaptação genética “ex-situ” e efeitos no sucesso de reintrodução; depressão por alogamia; subdivisão de populações e redução na migração; introgressão.

Este artigo tratará em tópico específico, em termos genéticos, alguns (exceto adaptação genética “ex-situ”, depressão por alogamia e introgressão) destes aspectos. A depressão por alogamia refere-se à redução no valor adaptativo dos indivíduos como consequência da hibridação entre populações muito distintas dentro de espécies e essa redução é atribuída à quebra de complexos gênicos coadaptados. Por outro lado, a adaptação genética “ex-situ” refere-se a melhoramento genético para algum caráter de forma que a população não se torne mais apta a sobreviver por si só (sem a ação do homem) no ambiente natural (relevante para populações animais). A introgressão refere-se ao cruzamento entre espécies afins de forma a causar distúrbios genéticos nas populações naturais. A ocorrência destes três fatores não tem sido relatada em erva-mate e portanto, parecem não se aplicar diretamente à conservação desta espécie.

3. FUNDAMENTOS DE GENÉTICA DE POPULAÇÕES RELEVANTES A CONSERVAÇÃO GENÉTICA

3.1. Tamanho Efetivo Populacional e Deriva Genética

3.1.1. Introdução

O conceito de tamanho efetivo populacional (N_e) foi introduzido por Wright em 1931. Este autor denomina “população ideal” uma população composta

por N indivíduos diplóides, reconstituída a cada geração através de uma amostra aleatória de $2N$ gametas. Definiu-se então o N_e como sendo o tamanho da população ideal que apresenta a mesma taxa de aumento na homozigose ou deriva genética, apresentada pela população real em consideração. Uma definição minuciosa do N_e é dada por FREIRE-MAIA (1974): “corresponde a uma população ideal de tamanho invariável, com número igual de machos e fêmeas, destituída de endocruzamento em taxa apreciável e em que cada indivíduo tem a mesma probabilidade de deixar progênie de tamanho igual, de tal forma que o número de descendentes por parental, se distribui segundo a série de Poisson”. Esta última consideração implica em que $N_e = N = Nr$, onde Nr é a população reprodutora, conforme será mostrado a seguir.

Em termos genéricos pode-se dizer que o tamanho efetivo populacional refere-se ao tamanho genético de uma população reprodutiva e não ao número de indivíduos que a compõe. Assim, diz respeito à representatividade genética de amostras de animais, plantas e sementes. Conforme implícito no próprio conceito de Wright, na situação de um tamanho efetivo pequeno, um reduzido número de indivíduos participa efetivamente do intercruzamento com vistas à regeneração da nova população, conduzindo à ocorrência de dois eventos: mudança aleatória das frequências alélicas (oscilação ou deriva genética); aumento da endogamia na nova população.

3.1.2. Deriva genética devida ao pequeno tamanho populacional

A deriva genética pode ser definida como o processo dispersivo que surge em pequenas populações em consequência da amostragem.

Considere uma população com frequência p_o para um alelo neutral à seleção. Tomando-se várias amostras aleatórias desta população, a frequência desse alelo em cada amostra, distribui-se aleatoriamente ao redor de \bar{p}_1 , a frequência alélica média nas amostras.

Tem-se que:

$$E(\bar{p}_1) = p_o$$

$$\sigma_{p_1}^2 = \frac{p_o(1-p_o)}{2N} = \text{variância de uma proporção, sendo } 2N \text{ o tamanho da amostra de alelos da população base diplóide, ou seja, } 2N_e \text{ (variância de amostragem da distribuição binomial).}$$

Assim, embora $\bar{p}_1 = p_o$, uma particular amostra poderá apresentar frequência alélica diferente de p_o . Pela expressão da variância das frequências alélicas, verifica-se que quanto menor o tamanho da amostra (menor N_e), maiores serão os desvios em relação à frequência original e uma amostra representará provavelmente a população.

A deriva genética causa mudanças nas frequências alélicas e essas mudanças podem ser preditas apenas em termos de quantificação, através da variância das frequências alélicas, mas não em termos de direção. Isto porque as alterações que ocorrem nas frequências alélicas são totalmente aleatórias, exatamente por causa da amostragem de gametas para a formação da nova geração. A deriva conduz então, a fixação e perdas de alelos, a uma taxa de $1/(4N_e)$ fixações e $1/(4N_e)$ perdas por geração, ou seja, a uma redução da variabilidade de $1/(2N_e)$.

Verifica-se também, em função da deriva, que amostragens repetidas e independentes realizadas na população base levam a uma diferenciação das subpopulações, já que as frequências alélicas variarão entre as mesmas. Este fato é de particular importância para a conservação genética, pois significa que a reunião de amostras independentes de germoplasmas, em uma amostra composta, propiciará uma ampliação do N_e e da variabilidade genética disponível (VENCOVSKY, 1988).

A partir da amostragem inicial, amostragens adicionais em cada subpopulação, contribuem para aumentar a diferenciação entre as subpopulações. Isto ocorre em função da dispersão adicional sobre a frequência alélica p_1 , particular a cada subpopulação e portanto diferente de p_o e \bar{p}_1 .

Assim, em cada geração n de amostragem, a variância da frequência alélica entre as subpopulações, equivale (FALCONER, 1989):

$$\sigma_{pn}^2 = p_o(1 - p_o) \left[1 - (1 - 1/(2N_e))^n \right]$$

A diferenciação progressiva entre subpopulações é também importante para a conservação genética. O melhoramento genético conduzido por vários ciclos em subpopulações fechadas, conduz também à diferenciação destas. Assim, o inter cruzamento entre subpopulações melhoradas conduz a aumento no N_e e na variabilidade genética.

3.1.3. Conceito matemático do N_e

A teoria matemática do N_e postula que uma população é composta por N

indivíduos, os quais contribuem com variáveis números (\mathbf{K}) de gametas para a geração seguinte, dentre um total de $2\mathbf{N}$. Nesta situação tem-se:

- Número médio de gametas contribuído por indivíduo: $\bar{K} = 2$
- Variância do número de gametas contribuído pelos \mathbf{N} indivíduos:

$$\sigma_K^2 = \left[\sum_{i=1}^N (K_i - 2)^2 \right] / N$$

- Expressão clássica do tamanho efetivo: $N_e = \frac{4N - 2}{\sigma_K^2 + 2}$

Observa-se pela expressão do N_e , que o fator que geralmente o torna menor que o número absoluto de indivíduos da população é exatamente σ_K^2 , ou seja, a variância do número de gametas contribuídos pelos parentais. Com $\sigma_K^2 = 0$ (igual tamanho de família) e dois indivíduos sobreviventes por parental $N_e = 2N - 1$, ou seja, o tamanho efetivo praticamente duplica em relação ao original. Percebe-se então, que a contribuição equitativa de indivíduos por parental é sempre desejável, quando se procura maximizar o N_e .

Assumindo que os parentais tem iguais probabilidades de contribuir para a próxima geração (distribuição de Poisson), $\sigma_K^2 = \bar{K} = 2$ e $N_e = N + 1/2$, ou seja, praticamente como na população idealizada. Supondo tamanhos constantes das populações reprodutoras ao longo das gerações, implica-se que $\mathbf{K} = 2$ e a expressão clássica pode ser usada de forma generalizada, sendo que \mathbf{N} equivalerá ao número de parentais selecionados para espécies monóicas e $\mathbf{N} = \mathbf{N}_r + \mathbf{N}_m = 2 \mathbf{N}_r$ para espécies dióicas, quando $\mathbf{N}_r = \mathbf{N}_m$ e σ_K^2 é o mesmo para os dois sexos.

A expressão clássica pode ser rearranjada em termos mais genéricos (para qualquer \bar{K}) e em função de amostras (correção Gaussiana) e não da população total como:

$$N_e = \frac{N\bar{K}(\bar{K} - 1)}{(N - 1)\sigma_K^2 + N\bar{K}(\bar{K} - 1)}$$

desprezando-se a correção para tamanho de amostra finito, ou seja, assumindo:

$$[(N - 1)/N] = 1, \text{ tem-se: } N_e = (N\bar{K} - 1) / (\sigma_K^2 / \bar{K} + \bar{K} - 1) = (N\bar{K}^2 - \bar{K}) / (\sigma_K^2 + \bar{K}^2 - \bar{K}).$$

Esta é a expressão geral do N_e para espécies monóicas, a qual pode ser utilizada para derivar as expressões adequadas às espécies dióicas.

3.1.4. Diferentes tipos de N_e

CROW & DENNISTON (1988) relatam a existência de vários tipos de N_e , os quais conduzem às vezes, à expressões de cálculo bastante diferenciadas. Basicamente três tipos são descritos:

Tamanho efetivo de endogamia: é o próprio conceito de Wright, baseado na probabilidade de homozigose devido à ancestralia comum. Portanto, fornece uma medida da taxa de perda de indivíduos heterozigotos na população.

Tamanho efetivo de variância: baseado na deriva alélica, ou seja, na variância das frequências alélicas por geração de amostragem. Portanto, fornece uma medida da taxa de perda de variância genética na população.

Tamanho efetivo de extinção (ou de autovalores): baseado na taxa assintótica de decréscimo de locos segregantes (definido inicialmente por EWENS, 1979).

O tamanho efetivo de variância é mais útil em conservação genética pois está relacionado à conservação da variabilidade genética. Por outro lado, o tamanho efetivo de endogamia é mais apropriado no cômputo de coeficientes de endogamia, apresentando também utilidade à conservação genética. Por sua vez, o tamanho efetivo de extinção é menos usado, podendo entretanto, ser maximizado em estratégias de conservação delineadas para resgatar espécies, através da maximização do número de equivalentes fundadores (TEMPLETON & READ, 1994). Neste trabalho serão considerados apenas os tamanhos efetivos de variância e de endogamia.

3.1.5. Conceitos aplicados do N_e

Em termos aplicados, o tamanho efetivo populacional pode ser calculado de duas maneiras: em relação à geração imediatamente anterior, sendo denominado N_e ; em relação a uma geração inicial de referência, sendo denominado N'_e .

O N_e pode assumir quaisquer valores, tendo o ∞ como limite superior. Por outro lado, o N'_e assume valores cada vez menores com o decorrer das gerações, tendo como limite superior o próprio N_e .

O N_e é particularmente importante para populações de melhoramento. Isto, porque trabalha-se com a probabilidade de fixação dos alelos favoráveis e portanto, o N_e deve ser mantido em um nível seguro a cada passagem

de geração, visando evitar a perda desses alelos em cada passo de amostragem.

Por outro lado, o N'_e deve ser empregado em populações de conservação de germoplasmas, pois nesse caso, objetiva-se manter todo ou pelo menos grande parte do conjunto gênico original.

Neste contexto, é importante relatar, que a redução em N'_e , ocorre mesmo que seja mantido constante o tamanho da amostra ao longo de gerações sem seleção (VENCOVSKY, 1988). Isto pode ser constatado pela própria expressão adequada ao cálculo de N'_e , o qual equivale à média harmônica dos N_e observados em cada passo amostral n (VENCOVSKY, 1988):

$$\frac{1}{N'_e} = \left[\frac{1}{N_{e_1}} + \dots + \frac{1}{N_{e_n}} \right] \frac{1}{n}$$

Neste caso, N'_e depende mais dos valores mais baixos de N_{e_i} .

Outro conceito aplicado de tamanho efetivo, refere-se àquele aplicável à amostras compostas por subpopulações amostradas independentemente em uma população base. Conforme relatado por VENCOVSKY (1988), reunindo R amostras independentes e iguais em quantidades de propágulos ou indivíduos, cada uma com tamanhos efetivos arbitrários N_{e_1} , N_{e_2} , ..., N_{e_R} , o tamanho efetivo da amostra composta (N_{et}) é dado por:

$$N_{et} = \frac{R^2}{\sum_j \frac{1}{N_{ej}}} = R \bar{N}_e, \text{ onde:}$$

N_{ej} = tamanho efetivo de cada amostra.

\bar{N}_e = média harmônica de N_{ej} .

$j = 1, 2, \dots R$.

Outra maneira de maximizar N_{et} , apresentada por RESENDE & VENCOVSKY (1990), refere-se à tomada de quantidades de propágulos ou indivíduos de cada amostra, proporcionais ao respectivo tamanho efetivo delas. Neste caso tem-se que

$$N_{et} = \sum_j N_{ej}.$$

O cômputo de N'_e e $N_{e\alpha}$, para quaisquer situações e sistemas reprodutivos, é dependente apenas do conhecimento do N_e , cujas expressões de cálculo serão particularizadas em tópico seguinte.

3.1.6. Expressões para cálculo do N_e em espécies dióicas

(a) Tamanho efetivo de endogamia

A expressão geral do N_e de endogamia para espécies monóicas (item 3.1.3.) equivale a $N_e = N\bar{K} / (\sigma_K^2 / \bar{K} + \bar{K})$ (para números esperados) (1)
 ou $N_e = (N\bar{K} - 1) / (\sigma_K^2 / \bar{K} + \bar{K} - 1)$ (para números observados) (2).

Pela expressão (1) verifica-se que N_e é sempre menor ou igual a N , sendo igual a N quando $\sigma_K^2 = 0$. Considerando $\bar{K} = 2$ e $\sigma_K^2 = 0$, o N_e para números observados equivale a $N_e = 2N - 1$ e tende a Y quando \bar{K} tende a 1 e $\sigma_K^2 = 0$.

(a.1.) Progênie não identificada por sexo

Sabendo-se que $N = N_f + N_m$, a expressão (2) pode ser empregada quando σ_K^2 e \bar{K} podem ser assumidos como os mesmos para os parentais masculinos e femininos e $N_f = N_m$.

Com $N_f \neq N_m$, deve-se encontrar a média harmônica entre N_f e N_m computando-se um número intermediário N_{fm} . Assim, $N_{fm} = \frac{2N_m N_f}{N_f + N_m}$.

Assumindo-se $\sigma_K^2 = 0$, na expressão (1) e considerando que $N = 2N_{fm}$,

tem-se que $N_e = N = 2N_{fm}$ e portanto $N_e = 4 N_m N_f / (N_m + N_f)$ (3)

que é uma expressão clássica. Assim, o tamanho efetivo para espécies dióicas pode ser derivado a partir da expressão para monóicas, tratando cada sexo separadamente. Na realidade, o N_e para espécies dióicas equivale ao N_e para monóicas com autofecundação proibida. A expressão (3) supõe $\sigma_{Kf}^2 = \sigma_{Km}^2 = 0$, mas \bar{K}_f pode ser diferente de \bar{K}_m .

Na amostragem em populações naturais, o número de machos é desconhecido, mas pode-se supor $N_m = N_f \bar{K}_f$. Neste caso tem-se $\bar{K}_m = 1$ e tomando-se o mesmo número de descendentes por matriz tem-se $\sigma_{Kf}^2 = \sigma_{Km}^2 = 0$. Empregando-se a expressão (1) e tratando cada sexo em separado tem-se:

$$N_e = \frac{(N_f K_f)K_m + N_f K_f}{\frac{1}{2} \left(\frac{\sigma_{K_m}^2}{K_m} + \bar{K}_m + \frac{\sigma_{K_f}^2}{K_f} + \bar{K}_f \right)} = \frac{4N_f K_f}{K_f + 1} \cong 4 K_f \quad (4)$$

expressões idênticas àquela utilizada por RESENDE et al. (1995).

(a.2.) Progênie identificada por sexo

Neste caso é possível obter estimativas de N_e sem a necessidade de muitas pressuposições. CROW & DENNISTON (1988) fornecem expressões para obtenção destas estimativas.

(b) Tamanho efetivo de variância

CROW & DENNISTON (1988) apresentam a seguinte expressão para o N_e de variância quando a progênie não é identificada por sexo:

$$\frac{1}{N_e} = \frac{1}{4N_m} \left(f + m \frac{\sigma_{K_m}^2}{K_m} \right) + \frac{1}{4N_f} \left(f + m \frac{\sigma_{K_f}^2}{K_f} \right) \quad (5)$$

Assumindo distribuição de Poisson para gametas masculinos e femininos, (5) torna-se igual à (3).

A expressão (5) pode ser aplicada à situações de seleção de indivíduos em testes de progênies. Nesta situação maiores detalhes relativos à estruturação do N_e podem ser encontrados em VENCOVSKY (1978) e HIGA et al. (1992).

(c) Tamanho efetivo com sobreposição de gerações

Para uma população com tamanho e proporção de sexo constantes e com estável distribuição de idade, o tamanho efetivo com sobreposição de geração equivale àquela para gerações discretas com tamanho populacional constante e mesma variância do número de indivíduos coetâneos (HILL, 1979).

Uma vez que os indivíduos diferem em tempo de vida, alguns tem a chance de se reproduzirem mais vezes que outros, conduzindo a aumento da variância do tamanho de família e conseqüentemente reduzindo o N_e . O problema de estimação do N_e nesta situação refere-se à determinação de N na equação (1). Desde que a população tenha uma estável estrutura de idade, N pode ser encontrado conforme descrito a seguir:

- Deve-se conhecer o número (N_e) de indivíduos nascidos em dado intervalo de tempo, o qual é dado por $N_e = N_T/E$, onde N_T é o número sobrevivente a qualquer tempo e E é a expectativa de vida ou idade de morte.
- Deve-se conhecer também o intervalo de geração L , que equivale à idade média de reprodução.
- Tem-se então: $N = N_e L$ e pela expressão (1) com $\bar{K} = 2$ tem-se $N_e = 4N_e L / (\sigma_K^2 + 2)$, aproximadamente, onde σ_K^2 é a variância do tamanho de família devido à várias causas.

Na natureza, a maior dificuldade refere-se ao cômputo de σ_K^2 . Nesta situação, N_e pode ser estimado mais precisamente empregando-se marcadores genéticos conforme será descrito em outro tópico. Maiores detalhes relativos à estimação de N_e podem ser encontrados em CABALLERO (1994).

3.1.7. N_e e probabilidade de extinção

A estocasticidade genética, isto é, a endogamia e a deriva genética em pequenas populações resulta em perda de variabilidade genética, fato que diminui a viabilidade da população. Tanto a endogamia quanto a deriva reduzem a heterozigose na população, sendo que a endogamia tende (exceto se alelos deletérios tenham sido eliminados da população por endogamia prévia) a reduzir a adaptação média da população, via depressão endogâmica e conseqüentemente aumentar a probabilidade de extinção.

Por outro lado, a deriva causa a perda ou fixação de alelos em pequenas populações. A perda necessariamente aumenta a homozigose mas a adaptação pode aumentar ou diminuir, dependendo se ocorreu perda de alelos deletérios ou vantajosos. A fixação de alelos deletérios por sua vez, quando medida sobre uma série de pequenas populações derivadas da mesma população parental, conduz a redução na adaptação média da população. Assim, tanto a endogamia verdadeira (medida dentro das populações) quanto a deriva genética (entre populações) aumentam de fato a probabilidade de extinção (NEWMAN & PILSON, 1997; ELLSTRAND & ELAM, 1993; FRANKHAM, 1995b). Extinções tem sido observadas com extremamente baixas taxas de endogamia devido a tamanho populacional finito, tais como a extinção de populações de *Drosophila melanogaster* com $N_e = 50$ em 210 gerações (LATTER et al., 1995).

Um tratamento matemático relacionando N_e e tempo médio para extinção em populações dióicas com sobreposição de gerações é apresentado por POLLAK (1980).

3.1.8. Estratégias para aumento do N_e e manutenção da variação genética

Em conservação genética é desejável a minimização da endogamia e da perda de variação genética no processo de gerenciamento genético das populações a serem conservadas. E este processo baseia-se na retenção da heterozigose (que representa potencial evolutivo) e da diversidade alélica, que são freqüentemente relacionados, embora a heterozigose seja menos afetada por severo afinilamento devido a pequeno tamanho populacional (FRANKHAM, 1995a).

A proporção esperada de variação genética neutral (heterozigose H_t) retida em uma dada população após t gerações é dada por:

$$H_t / H_0 = [1 - 1 / (2N_e)]^t = 1 - F, \text{ onde:}$$

H_0 - heterozigose inicial;

F - coeficiente de endogamia.

Por esta expressão verifica-se que a retenção de heterozigose é maximizada por:

- Maximização da heterozigose inicial, trabalhando com populações com maiores variabilidades genéticas e com maiores números de fundadores não aparentados. A imigração também é uma forma efetiva de ampliação de variabilidade e aumento da adaptação reprodutiva.
- Maximização do intervalo entre gerações, ou seja, minimização do número de gerações. Conforme visto no item 3.1.5. existe uma perda de representatividade genética em relação à população inicial, a cada passagem de geração, mesmo que o N_e seja mantido constante em cada geração. Assim, a conservação via armazenamento de sementes por longos períodos é também desejável.
- Maximização do tamanho efetivo populacional.

Conforme visto anteriormente, o N_e depende do número (N) total de indivíduos da população reprodutora, da variação no tamanho de família, da desigual proporção de sexo, da flutuação de N através das gerações e da seleção na progênie (afetando \bar{K} e σ_K^2).

Assim, as seguintes ações contribuem para maximizar o N_e .

- a) Maximizar N e simultaneamente a relação N_e/N . N_e/N não deve ser maximizado apenas às custas de um baixo N .
- b) Manter igual tamanho de família ($\sigma_K^2 = 0$). Este procedimento praticamente duplica o N_e .
- c) Manter a proporção de sexo próxima de 1:1. Quanto maior a discrepância entre número de machos e de fêmeas, menor o N_e , conforme pode ser visto pela expressão (3).
- d) Manter um N_e desejável e constante através das gerações, já que o N'_e em uma determinada geração corresponde à média harmônica dos N_e mantidos nas gerações anteriores, a qual depende sobretudo dos valores baixos de N_e .
- e) Quanto a seleção, deve-se evitar a seleção entre famílias, a qual reduz N . Na seleção dentro de famílias esta deve ser praticada em intensidades iguais dentro de famílias ($\sigma_K^2 = 0$). Quanto à intensidade de seleção dentro de progênies os seguintes resultados foram obtidos por HIGA et al. (1992):

- mesmo que a proporção de sexo não seja 1:1, deve-se manter esta proporção após a seleção;
- deve-se manter no mínimo 10 indivíduos de cada sexo por família.
- não se justifica manter mais de 50 indivíduos de cada sexo por família.
- devem ser utilizadas parcelas com poucas plantas e muitas repetições. Apenas plantas (várias) femininas ou masculinas devem ser mantidas em cada parcela. Se parcelas grandes forem utilizadas, este fato pode prejudicar a polinização devido ao aumento do isolamento de plantas masculinas e femininas.

Adicionalmente deve-se evitar o cruzamento entre indivíduos aparentados e os cruzamentos polígamos, os quais reduzem o N_e .

As estratégias apresentadas são mais adequadas à conservação genética “ex-situ”.

3.1.9. Proporção N_e/N em populações silvestres

Resultados experimentais tem revelado que as estimativas de N_e/N na natureza equivalem em média a 0,11, valor que é muito mais baixo do que geralmente suposto (FRANKHAM, 1995c).

O gerenciamento genético destas populações naturais pode potencialmente aumentar o N_e , através de intervenções humanas visando manter a proporção de sexo em 1:1 e N constante nas diferentes gerações. Adicionalmente a manutenção do mesmo tamanho de família seria interessante não apenas por praticamente duplicar o N_e , mas também por remover a seleção natural entre famílias. Mas na natureza esta última prática é bastante dificultada.

Uma vez que N_e/N na natureza é baixo, o tamanho da população (N) para conservação/preservação “in-situ” deve ser muito maior do que geralmente descrito. Outro fator muito importante a ser considerado na conservação “in-situ” refere-se ao fluxo gênico via bancos de sementes no solo (MARTINS, 1987). Maiores detalhes referentes à conservação “in-situ” podem ser encontrados em KAGEYAMA (1987, 1990).

3.1.10. Valores de N_e adequados à conservação genética

Os valores adequados de N_e a serem adotados para conservação genética são determinados em função, principalmente, de dois critérios: prevenção de depressão endogâmica e manutenção do potencial evolutivo.

Para prevenção de depressão endogâmica um N_e de 50 é suficiente. Por outro lado, para manutenção do potencial evolutivo da população indefinidamente, um N_e da ordem de 500 é suficiente, considerando o balanço entre deriva e mutação (FRANKHAM, 1995a). Entretanto, LANDE (1995) sugere que um N_e de 5.000 é necessário para reter o potencial evolutivo para o caráter adaptação reprodutiva após ajustar a taxa total de mutação omitindo as mutações severamente deletérias. Estes resultados estão sumarizados na Tabela 1, com base em ALVAREZ-BUYLLA et al. (1996).

Tabela 1. Tamanhos efetivos (N_e) adequados à conservação genética considerando um ou combinação de três tipos de fatores genéticos: segregação de alelos deletérios recessivos (parcialmente), perda de variação adaptativa e fixação de mutações deletérias por deriva genética.

N_e	Efeito Genético	Força Evolutiva	Tipo de Variação Genética
50*	segregação	endogamia	alelos recessivos deletérios (principalmente dominância)
500**	perda de variação	mutação, deriva	quantitativa, todas as mutações
5000**	perda de variação	mutação, deriva	quantitativa, mutações quasi-neutrais (somente 10% de todas as mutações)

* Considerando 1% de aumento no coeficiente de endogamia por geração.

** Considerando o N_e na geração em que a variação genética gerada por mutação é igual à variação genética perdida por deriva genética.

Na prática a conservação biológica enfatiza três formas de atuação (LOESCHCKE et al., 1994):

- a) Proteção de habitats em reservas, na qual a seleção de sítios e delineamentos requerem poucas informações genéticas.
- b) Áreas de reservas ótimas baseadas em análise de viabilidade populacional requerendo muitas informações genéticas e demográficas (LANDE, 1988).
- c) Conservação genética “ex-situ” de espécies.

Assim, a preservação “in-situ” se encaixa no item (b) e portanto seria necessário manter um N_e de 500-5.000 nesta situação. Por outro lado, a preservação “ex-situ” (item c), demandaria um N_e da ordem de 50. Entretanto com N_e da ordem de 50 somente se consegue reter alelos com frequência $\geq 6\%$. Para a retenção de alelos com frequência $\geq 1\%$ um N_e da ordem de 150 deve ser utilizado (VENCOVSKY, 1987). Este número pode ser atingido amostrando-se cerca de 40 matrizes na natureza.

3.2. Endogamia e Depressão Endogâmica

3.2.1. Conceitos de endogamia e relações com a estrutura genética de populações e sistemas reprodutivos

Conforme relatado por Malecot, os genes em uma população podem ser semelhantes por duas razões mutuamente exclusivas: replicação do DNA de

um único alelo existente previamente em um ancestral, portanto um é cópia do outro e surgiu através de processo reprodutivo; meramente por serem semelhantes no sentido de ambos serem A . Os primeiros são denominados idênticos por descendência e os indivíduos que os possuem são autozigóticos e os últimos são chamados idênticos em estado e os indivíduos que os possuem são denominados alozigóticos.

O coeficiente de endogamia foi definido inicialmente por Wright como correlação entre gametas que se unem, e Malecot o definiu como a probabilidade de que os dois alelos de um loco em um indivíduo, sejam idênticos por descendência. Logo, está implícito que o termo endogamia refere-se ao processo de cruzamento entre indivíduos mais aparentados entre si do que são membros aleatórios da população (KEMPTHORNE, 1957) e que tem por conseqüência um aumento da homozigose da população. Dessa forma, é um conceito relativo à população ancestral que também possui indivíduos homozigóticos, porém alozigóticos e não autozigóticos.

A endogamia em populações naturais pode ocorrer, principalmente, através de: cruzamentos entre indivíduos aparentados em espécies dióicas; cruzamentos entre indivíduos aparentados e autofecundações em espécies monóicas alógamas ou com sistema reprodutivo misto; autofecundações em espécies monóicas autógamas; pequeno tamanho populacional em espécies alógamas e com sistema reprodutivo misto, fato que aumenta a probabilidade de cruzamentos entre parentes e/ou autofecundação. A estrutura genética destas populações, em termos do coeficiente de endogamia e freqüências genótípicas equivale a $(p^2 + Fpq) AA + 2pq(1-F) Aa + (q^2 + Fpq) aa$, onde AA , aa e Aa , são os genótipos homozigoto favorável, homozigoto desfavorável e heterozigotos, respectivamente; F é o coeficiente de endogamia e p e q são as freqüências dos alelos favorável (A) e desfavorável (a), respectivamente.

Pela expressão apresentada, constata-se que para populações alógamas ($F=0$) tem-se $p^2 AA + 2pq Aa + q^2 aa$, ou seja, as proporções esperadas para populações em equilíbrio de Hardy-Weinberg. É importante relatar que, neste caso, sendo ($F=0$), os indivíduos homozigotos são alozigóticos. Para espécies autógamas tem-se ($F=1$) e portanto $p AA + q aa$, enquanto que para espécies com sistema reprodutivo misto, a estrutura é dependente da taxa de autofecundação (S) praticada por cada população, pois $F = S/(2-S)$, conforme definido por LI (1955).

Comparando-se com a população base não endógama, tem-se então como decorrência da endogamia, o acréscimo de uma fração Fpq à frequência de cada classe de homozigotos e um decréscimo de $2Fpq$ na frequência dos heterozigotos.

A derivação da expressão apresentada é bastante simples. Uma população qualquer não endógama, possui estrutura genotípica $(\sum p_i A_i)^2$, onde p_i é a probabilidade de um alelo qualquer desta população ser A_i . Sendo F a probabilidade de que os alelos em um indivíduo sejam idênticos por descendência, tem-se que a probabilidade de que ambos sejam A_i é Fp_i . A probabilidade de que dois alelos sejam não idênticos é $(1-F)$ e a probabilidade de que dois alelos tomados ao acaso sejam A_i e A_j é $p_i p_j$. Assim a população com estrutura $(\sum p_i A_i)^2$ submetida a endogamia mediada pelo coeficiente F , apresenta estrutura genotípica:

$$F(\sum p_i A_i A_i) + (1-F)(\sum p_i A_i)^2 \quad (\text{KEMPTHORNE, 1957})$$

Considerando os alelos A e a , a população genotípica resultante, será:

$$[F_p + (1-F)p^2] AA + [2(1-F)pq] Aa + [Fq + (1-F)q^2] aa,$$

que equivale à expressão apresentada anteriormente e corresponde ao que é denominado “equilíbrio de Wright”, ou seja equilíbrio para um valor estável de F . Observa-se por esta expressão que do homozigoto AA , a fração $(1-F)p^2$ corresponde à alozigotia e a fração Fp à autozigotia ou endogamia propriamente dita. Está explícito então, que o conceito F , no que diz respeito à homozigose é relativo à uma população base não endógama, mas que possui indivíduos homozigotos para determinados locos.

Assim como o tamanho efetivo, a endogamia apresenta vários conceitos e significados (JACQUARD, 1975; TEMPLETON & READ, 1994). TEMPLETON & READ (1994) destacam os significados: (1) endogamia como medida de ancestralia comum; (2) endogamia como medida de deriva genética; (3) endogamia como medida do sistema de cruzamento em uma população reprodutora.

Os dois primeiros significados estão associados aos conceitos de tamanho efetivo de endogamia e de variância, respectivamente. O terceiro significado refere-se ao coeficiente denominado índice panmítico (f), que é uma medida de endogamia como desvio de uma população de referência que possui sistema de cruzamentos totalmente aleatórios. O índice panmítico mede o sistema de cruzamento da população como um desvio da frequência

de heterozigose esperada (H_e) sob cruzamentos aleatórios, através da expressão $f = 1 - H_o/H_e = 1 - F$, onde H_o é a heterozigose observada. Assim, se $f = 0$ a população está sob cruzamentos aleatórios, se $f > 0$ a população está experimentando um sistema endógamo de cruzamentos e se $f < 0$ a população está sob um sistema de cruzamento com prevenção de endogamia.

3.2.2. Endogamia devida ao pequeno N_e

Considere-se uma população de referência sendo diplóide, monóica (com autofecundação permitida) e não endógama. Todos os genes em um loco são não idênticos por descendência, de forma que numa população de N indivíduos, cada loco produz, aleatoriamente, $2N$ diferentes tipos de gametas igualmente, com frequência $1/2N$, para produzir os indivíduos da próxima geração.

Percebe-se então, que a probabilidade de um indivíduo ser fecundado, a partir de um gameta oriundo dele mesmo é $1/2N$. Assim, quanto menor for tamanho N da população reprodutiva, maior será a endogamia na geração subsequente.

O coeficiente de endogamia devido ao pequeno tamanho populacional, quantificado em termos de aumento da homozigose ou perda de heterozigose equívale a $F = 1/2N$, em que N refere-se a indivíduos não aparentados na população ideal de referência, ou seja, N refere-se ao número efetivo de indivíduos que participam da reprodução. Assim, de maneira generalizada é melhor definir $F = 1/2N_e$, onde N_e é o tamanho efetivo populacional. Outra maneira de se obter $F = 1/2N$ é baseada na probabilidade de dois gametas idênticos se unirem, ou seja, $F = 2N(1/2N)^2 = 1/2N$.

A população reprodutiva da geração 1 (oriunda da população original-geração 0) novamente é finita e nova endogamia será acrescida à prévia, na 2ª geração. Esta endogamia nova ocorre outra vez na proporção $1/2N_e$, sendo que a proporção restante $(1 - 1/2N_e)$ em parte é endógama devido à endogamia F_1 precedente, ou seja, devido à alelos idênticos a partir da origem 0 e não 1. Assim, a endogamia da geração 2 será

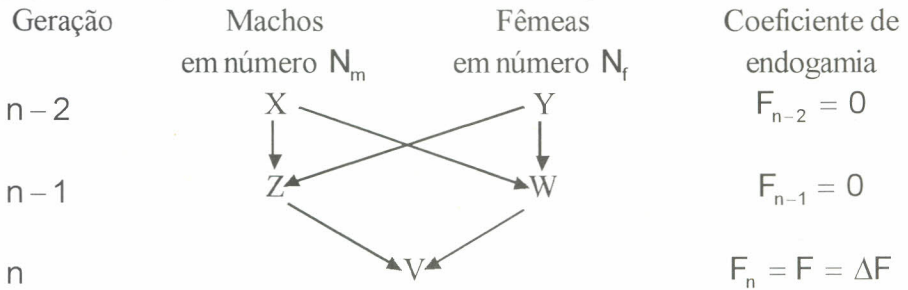
$$F_2 = \frac{1}{2N_e} + \left(1 - \frac{1}{2N_e}\right)F_1, \text{ ou seja a soma das probabilidades dos dois eventos mutuamente exclusivos.}$$

tos mutuamente exclusivos.

Por extensão pode-se obter o coeficiente de endogamia em uma geração qualquer $F_n = \frac{1}{2N_e} + \left(1 - \frac{1}{2N_e}\right)F_{n-1}$, ou de maneira mais geral $F_n = \Delta F + (1 - \Delta F)F_{n-1}$, onde $\Delta F = \frac{1}{2N_e} = \frac{F_n - F_{n-1}}{1 - F_{n-1}}$ é o acréscimo na endogamia a partir de uma geração de cruzamentos aleatórios em uma população finita.

Por esta expressão verifica-se que se não existe endogamia em determinada geração, ou seja, se o tamanho populacional for aumentado substancialmente, não existe ΔF , mas toda a endogamia obtida previamente (F_{n-1}) permanece.

Para espécies dióicas, a situação de endogamia decorrente do tamanho populacional pode ser visualizada através do diagrama:



Percebe-se que em uma população dióica, a endogamia devido ao tamanho populacional, depende apenas da probabilidade de cruzamento entre indivíduos aparentados. Iniciando com dois indivíduos não aparentados X e Y, existe a probabilidade de que um indivíduo V tomado aleatoriamente na população de 2ª geração após a origem contenha os dois alelos idênticos por descendência que estavam contidos em X ou Y. A probabilidade de V ser endogâmico em função de alelos que estavam em X equivale ao coeficiente de endogamia de V tendo X como ancestral comum $(1/2)^3 = 1/8$, multiplicado pela probabilidade de X contribuir com gametas para Z e W que equivale a $N_m \cdot 1/N_m \cdot 1/N_m = 1/N_m$. Assim, a contribuição dos machos para endogamia é $1/8 \cdot 1/N_m$. As fêmeas contribuem de modo similar para a endogamia, donde tem-se que $F = \frac{1}{8N_m} + \frac{1}{8N_f} = \frac{1}{2N_e} = \Delta F$. Com número igual de machos e fêmeas e $N = N_m + N_f$, $F = 1/(2N)$.

É importante notar que a igualdade $F = 1/2N_c$ neste caso, só se verifica se o N_c se referir à geração **n-2**. Por exemplo, tomando-se dois indivíduos aleatoriamente de uma população grande, sendo 1 de cada sexo tem-se um tamanho efetivo de 2 e a endogamia resultante do cruzamento desses indivíduos muito provavelmente será 0 e não 1/4, conforme dado pela expressão. A igualdade é verdadeira só se for considerado N_m e N_f da geração anterior à atual.

Assim, algumas situações de confusão devem ser evitadas.

Por exemplo, progênes de irmãos germanos advém de dois parentais não endógamos, os quais tem $N_e = 2$. Entretanto, o coeficiente de endogamia de irmãos germanos não é $1/(2N_c) = 1/4$ e sim zero. Os descendentes dos cruzamentos entre irmãos germanos é que apresentam endogamia 1/4. O mesmo é válido para progênes de meios-irmãos que apresentam endogamia zero e apenas os seus descendentes é que apresentam endogamia 1/8. Em suma, para computar o **F** em uma geração **n**, via sistemas com prevenção de autofecundação (sistemas dióicos), deve-se computar o N_c via N_f e N_m na geração **n-2**.

Outra questão que deve ser mencionada é que a expressão $F = 1/2N_c$ é válida somente para cruzamentos aleatórios entre os indivíduos recombinados. Com cruzamentos preferenciais ou desbalanceados a igualdade não se verifica.

3.2.3. Efeito da endogamia na média populacional - depressão endogâmica

A média genotípica populacional com $F = 0$ equivale a $M_o = (p-q) a + 2 p q d$ e a média com endogamia **F** equivale $M_F = M_o - 2 p q d F$ (FALCONER, 1989).

Assim, com endogamia **F**, a média altera-se na fração **-2 p q d F**, ou seja, a mesma é sempre reduzida desde que haja variabilidade (**p** ou **q** não sejam iguais a zero) e que haja alguma dominância alélica (**d**). O fenômeno associado à redução na média é denominado depressão endogâmica, o qual resulta da mudança das frequências genotípicas da população, após a mesma sofrer endogamia.

O termo depressão endogâmica caracteriza-se pelos efeitos da perda de heterozigose, comparando-se a população não endógama (com $F = 0$) com a população totalmente endogâmica (com $F = 1$). Assim, com uma geração

de autofecundação em uma população não endógama tem-se $F = 1/2$ e consequentemente metade da depressão endogâmica (**D**).

A depressão endogâmica pode ser utilizada para cálculo da taxa (**S**) de autofecundação em espécies monóicas. Considerando que a diferença entre a média de progênies de polinização cruzada (**PC**) e a média de progênies de polinização aberta (**PA**) estima $(S/2)D$ e que a diferença entre **PC** e a média de progênies de autofecundação (**AF**) estima $(1/2)D$ tem-se que $S = (PC - PA)/(PC - AF)$.

3.2.4. Efeito da endogamia na variância populacional - perda de variação genética

Considerando uma população como um todo, a endogamia aumenta a variância genética total, embora diminua a diversidade alélica dentro de indivíduos. Entretanto, subdividindo a população em várias subpopulações através de amostragem aleatória tem-se que a variância genética dentro de subpopulações equivale a $(1-F)$ vezes a variância genética original. E esta redução na variação genética é o que ocorre em populações com tamanho efetivo baixo (que são amostras de uma população base).

Por outro lado, a variação genética entre subpopulações aumenta, podendo conduzir a uma diferenciação entre as mesmas. Maiores detalhes são descritos no item subdivisão e estrutura de populações.

3.2.5. Depressão endogâmica em populações silvestres e populações florestais

Em animais e plantas domésticas é sabida a existência de depressão endogâmica para o caráter adaptação (FALCONER, 1989). Para populações silvestres, espera-se que a depressão endogâmica seja mais severa do que em populações cativas devido à predominância de ambientes desfavoráveis e isto tem sido confirmado em vários estudos (FRANKHAM, 1995a), ao contrário do que se pregava anteriormente.

A endogamia em populações silvestres ocorre como consequência dos efeitos do tamanho populacional finito ao longo de muitas gerações. Em populações de plantas pode ocorrer também devido ao cruzamento entre indivíduos aparentados que tendem a se estabelecer proximamente (endogamia de vizinhança). Conforme FRANKHAM (1995a) as estimativas de depressão endogâmica para caracteres componentes da adaptação (por

exemplo crescimento) subestimam a depressão para adaptação propriamente dita, a qual é, via de regra, três vezes maior. Dessa forma, os reais impactos da depressão tem sido subestimados.

Em espécies florestais tem sido observada severa depressão por endogamia em muitos estágios de vida especialmente em coníferas, as quais apresentam depressão superior aquela verificada para muitas plantas de ciclo curto, para *Drosophila* e para a espécie humana, conforme estimativas transformadas em números de equivalentes letais (SAVOLAINEN, 1994; WILLIAMS & SAVOLAINEN, 1995).

3.2.6. Minimização da depressão endogâmica

A depressão endogâmica pode ser minimizada principalmente através da imigração, ou seja, através do cruzamento entre diferentes populações de plantas. O outro fator que pode diminuir o impacto da depressão endogâmica refere-se à eliminação de alelos deletérios através da endogamia prévia nas populações, seguida por seleção natural.

3.3. Polimorfismo e Variação Genética

A mutação é o processo fundamental na geração de variabilidade genética pois conduz à geração de novos alelos na população. Esses novos alelos conduzem ao aparecimento do polimorfismo genético nas populações.

O polimorfismo genético pode ser definido como sendo a ocorrência de dois ou mais alelos na população em frequências consideráveis, ou seja, a frequência de cada um de pelo menos dois alelos deve ser superior a 1%. E logicamente este polimorfismo alélico implica também em polimorfismo genotípico. Assim o polimorfismo implica na própria variabilidade genética. Locos com polimorfismo alélico são denominados locos polimórficos ao passo que locos sem polimorfismo alélico são denominados monomórficos. Por outro lado, alelos (raros) com frequência menor que 1% são denominados idiomorfos.

O polimorfismo genético (alélico e genotípico) pode ser avaliado principalmente através de medidas de diversidade genética dentro de populações e medidas de identidade e distância genética entre populações. É importante relatar que identidade neste contexto, significa alelos com efeitos indistinguíveis e não alelos idênticos por descendência (HARTL & CLARK (1989). Na Tabela a seguir são listados alguns principais estimadores de diversidade,

identidade e distâncias genéticas segundo HARTL & CLARK (1989) e FUTUYMA (1992).

Medidas	Estimadores*
---------	--------------

Diversidade

• Proporção de locos polimórficos (PLP)	$PLP = NLP/NTL$
• Número de alelos por loco polimórfico (NALP)	$NALP = NTA/NLP$
• Índice de diversidade de Nei ao nível de subpopulação (população (H_s))	$H_s = 1 - \sum_{i=1}^m p_{is}^2$
• Índice de diversidade de Nei ao nível de população total (espécie) (H_T)	$H_T = 1 - \sum_{i=1}^m \bar{p}_i^2$
• Diversidade genética entre subpopulações (H_b)	$H_b = H_T - H_s$
• Índice de fixação de Wright ou redução de heterozigose (diversidade) na subpopulação	$F_{ST} = \frac{H_T - \bar{H}_s}{H_T}$

Identidade ou Similaridade

• Índice de similaridade genética de Nei (I_N)	$I_N = \frac{\sum_{i=1}^m (p_{ix} p_{iy})}{\left[\left(\sum_{i=1}^m p_{ix}^2 \right) \left(\sum_{i=1}^m p_{iy}^2 \right) \right]^{1/2}}$
• Índice de similaridade genética de Rogers (I_R)	$I_R = 1 - \left[1/2 \sum_{i=1}^m (p_{ix} - p_{iy})^2 \right]^{1/2}$
• Identidade fenotípica de Hedrick (I_H)	$I_H = \frac{\sum_{g=1}^n (p_{gx} p_{gy})}{(1/2) \left(\sum_{g=1}^n p_{gx}^2 + \sum_{g=1}^n p_{gy}^2 \right)}$

Distância Genética

• Distância genética Nei	$D_N = -\log_e I_N$
• Distância Genética de Rogers	$D_R = 1 - I_R$
• Distância Genética de Hedrick	$D_H = 1 - I_H$

* NLP - número de locos polimórficos; NTL - número total de locos; NTA - número total de alelos nos locos polimórficos; p_i - freqüência do alelo i na subpopulação; \bar{p}_i - freqüência média do alelo i através das subpopulações; p_{ix} - freqüência do alelo i na subpopulação x ; p_{gx} - freqüência do genótipo g na população x ; m e n - números de alelos por loco e de genótipos.

O termo **H** na Tabela refere-se à heterozigose que é uma medida de diversidade baseada em frequência alélicas e não genotípicas, podendo assim ser aplicada a populações com qualquer sistema reprodutivo, sexuado ou assexuado. Para populações alógamas em equilíbrio de Hardy-Weinberg, **H** equivale à frequência de heterozigotos. As frequências alélicas e genotípicas necessárias aos estudos de diversidade e distância genética podem ser obtidas a partir da análise de marcadores genéticos ou bioquímicos. Estudos de diversidade genética em populações florestais usando marcadores tem sido comuns (ADAMS et al., 1992).

A análise da variabilidade genética via estudos de características quantitativas é extremamente útil na conservação genética, especialmente em espécies nativas (KAGEYAMA & DIAS, 1985), fornecendo bases sólidas para inferências sobre a distribuição da variabilidade entre e dentro de populações. Para manutenção da variabilidade entre e dentro de populações, NAMKOONG (1997) relata que deve-se trabalhar com pelo menos uma dezena de populações com tamanho efetivo adequado. Considerando que, mais de 80% da diversidade genética total em espécies tropicais ocorre dentro de populações, HAMRICK (1992) sugere que 5 populações, adequadamente amostradas, manteriam 99% da diversidade genética total das espécies.

Baixos níveis de variação genética, geralmente decorrentes de pequenos tamanhos efetivos populacionais e altos níveis de endogamia, tornam as populações vulneráveis à fatores ambientais adversos, predispondo-as à extinção.

3.4. Mutação e Carga Genética

3.4.1. Carga genética

A mutação é um fenômeno raro e aleatório, geralmente levando ao aparecimento de alelos desfavoráveis e por isso recessivos. Isto gera (desde que os alelos não sejam neutros) nas populações, o que é denominado carga genética. Carga genética refere-se à redução do valor adaptativo da população ou indivíduo, como consequência da presença nas populações, de alelos desfavoráveis gerados por mutação.

O conceito de carga genética foi criado por Haldane e uma série de fontes de carga podem ser enumeradas (FREIRE-MAIA, 1974). A seguir serão

descritas sucintamente algumas fontes de carga, mais relevantes em melhoramento genético.

Carga Mutacional: composta por alelos deletérios ou desfavoráveis que estão sendo mantidos em equilíbrio nas populações.

Carga do Intercruzamento: gerada pelo fluxo gênico (migração) de alelos desfavoráveis.

Carga de Deriva Genética: gerada quando a deriva reduz a frequência dos alelos favoráveis.

3.4.2. Mutação e manutenção da variabilidade genética

Na natureza, as taxas de mutação são baixas, ocorrendo na faixa de 10^{-4} a 10^{-8} por geração, o que significa um em dez mil a um em 100 milhões de gametas. Assim, a mutação por si só produz mudanças muito lentas (gerando alelos idiomorfos) nas frequências alélicas. E isto tende a ocorrer somente quando a mutação é recorrente, ou seja, para mutações que ocorrem repetidas vezes para o mesmo alelo.

A “mutação recorrente” previne a perda do alelo mutante por amostragem, já que contribui para aumentar a sua frequência. A taxa de mutação recorrente é denominada de “pressão de mutação” e pode ser denominada de u , de forma que as frequências alélicas para os genes selvagem **B** e mutante **b** passam a ser dados por $p_0 - \mu p_0$ e μp_0 respectivamente, onde p_0 é a frequência inicial do alelo **B**.

Entretanto, existe uma taxa de “mutação reversa” (de **b** para **B**) que pode ser denominada v , de forma que a cada geração existe uma redução na frequência de **b** dada por vq_0 , onde q_0 é a frequência anterior de **b**. Assim, a mudança na frequência alélica em uma geração é dada por: $Dq = mp_0 - vq_0$.

O “equilíbrio ($Dq = 0$) de mutação” ocorre quando $mp - vq = 0$, ou seja para $q = m/(m + v)$.

Para a conservação genética, a mutação desempenha papel fundamental, principalmente em dois aspectos: a geração e a manutenção da variabilidade genética.

A mutação vista como um fator mantenedor de variabilidade genética e creditada como um fator que não pode ser negligenciado pelos geneticistas de populações, foi relatada apenas recentemente (FALCONER, 1989).

A teoria de como a mutação afeta a seleção em caracteres quantitativos foi desenvolvida por HILL (1982). Variação é continuamente produzida por

mutação em cada geração na taxa de $1/2N$, onde N é o tamanho da população. Com baixas frequências os alelos pouco contribuem para a variação genética, mas, através da seleção as frequências desses alelos podem ser aumentadas continuamente a ponto de contribuírem efetivamente para a variação genética e para a resposta à seleção. Entretanto, podem ser necessárias 20 gerações para que a mutação possa contribuir efetivamente para a seleção (evolução).

A taxa de ganho genético (evolução), devido à mutação, depende da intensidade de seleção (K), do tamanho efetivo populacional (N_e), do desvio padrão fenotípico (s_f) e da variância genética aditiva resultante de novos mutantes em cada geração (σ_{Am}^2), e o ganho genético por geração (assumindo ausência de dominância) é dado por $G = 2N_e K \sigma_{Am}^2 / \sigma_F$.

Assim, o ganho é maior em populações maiores, gastando entretanto, mais tempo para atingir o valor máximo, pois em grandes populações os alelos mutantes iniciam-se em frequências mais baixas.

Dessa forma, a mutação pode explicar a manutenção de variabilidade genética indefinidamente nas populações. Em princípio, o ganho genético advém de variabilidade genética aditiva presente na população. Posteriormente, a taxa de ganho diminui gradualmente devido à redução na variabilidade genética aditiva. Depois, após talvez 20 gerações, nova variação advinda de alelos mutantes começa a contribuir para o ganho genético, o qual começa a decrescer mais lentamente. Quando os alelos da população inicial estiverem fixados, o ganho genético passa a depender exclusivamente da variância mutacional e a taxa de ganho passará a ser constante indefinidamente. Em outras palavras, com mutação não ocorrerá limites seletivos (FALCONER, 1989).

Estudos experimentais tem estimado σ_m^2 (variabilidade genética mutacional total) como aproximadamente $10^{-3} \sigma_E^2$, onde σ_E^2 é a variância ambiental (FALCONER, 1989). Sendo $2N_e \sigma_m^2 + \sigma_E^2$ a variância fenotípica, a herdabilidade no sentido amplo associada à variabilidade mutacional equivale a

$$h^2 = \frac{2N_e \sigma_m^2}{2N_e \sigma_m^2 + \sigma_E^2} = \frac{0,002N_e}{1 + 0,002N_e} \quad (\text{assumindo } \sigma_m^2 = 10^{-3} \sigma_E^2).$$

Assim, tem-se os seguintes valores para h^2 em função do tamanho populacional (FALCONER, 1989).

$N_e = 10$	$N_e = 25$	$N_e = 50$	$N_e = 100$	$N_e = 500$	$N_e = 1.000$	$N_e = 10.000$
$h^2 = 0,02$	$h^2 = 0,05$	$h^2 = 0,09$	$h^2 = 0,17$	$h^2 = 0,50$	$h^2 = 0,67$	$h^2 = 0,95$

Conclui-se a partir destes valores que a mutação não é importante para a manutenção de variabilidade genética e do ganho com seleção, somente em populações extremamente pequenas.

3.4.3. Acumulação e perda de mutações deletérias

LANDE (1994), relata que o acúmulo de mutações semi-deletérias em populações com tamanho efetivo maior que 1000 pode ser a causa mais importante de extinção. Com relação à possível eliminação desses alelos deletérios através de endogamia forçada, FRANKHAM (1995a) conclui que esta prática pode apenas reduzir a depressão endogâmica, mas não eliminá-la.

3.5. Migração e Fluxo Gênico

A migração (entre populações) de alelos ou de indivíduos seguida por cruzamentos, caracteriza o que é denominado fluxo gênico ou alélico, o qual contribui para a alteração das freqüências alélicas.

Considerando uma população com freqüência alélica q_o que recebe uma fração m de imigrantes, advindos de uma outra população com freqüência alélica q_m , a freqüência alélica nesta população na próxima geração é dada por:

$q_1 = mq_m + (1 - m)q_o = m(q_m - q_o) + q_o$. A alteração (Dq) na freqüência alélica pode ser quantificada por $Dq = q_1 - q_o = m(q_m - q_o)$.

Assim, a alteração na freqüência alélica é dependente da taxa de migração e da diversidade alélica entre as populações envolvidas. Torna-se claro então que a migração só é efetiva quando, simultaneamente, a taxa de migração e a divergência alélica são consideráveis.

Em populações com base genética restrita, a migração efetiva pode atuar como um importante fator de ampliação de variabilidade genética e o seu conceito está sendo utilizado quando se formam compostos e populações híbridas para fins de conservação. Em conservação de germoplasma, a reunião de amostras de diferentes populações (RESENDE & VENCOVSKY, 1990), é também uma forma de se ampliar a variabilidade genética total de uma espécie, constituindo também uma forma de migração.

Em espécies arbóreas tropicais, o fluxo gênico em populações naturais é restrito, fato que demanda a amostragem de um maior número de indivíduos por sítio, do que em espécies temperadas (HAMRICK, 1992).

No tópico a seguir, a migração é discutida no contexto da estrutura populacional.

3.6. Subdivisão e Estrutura de Populações

Populações que não se enquadram na definição teórica de panmíticas (grandes e sob cruzamentos aleatórios) são ditas populações estruturadas. A estruturação pode se dar através de subpopulações com limitada migração e fluxo gênico entre elas até subpopulações totalmente isoladas. Estas subpopulações são geralmente denominadas “isolados”. A subdivisão das populações provoca um excesso de homozigose ou seja um efeito de endogamia.

WRIGHT (1951) introduziu os parâmetros (denominados “estatísticas F hierárquicas”) F_{ST} , F_{IT} e F_{IS} para descrever estrutura genética, onde:

F_{ST} - é a correlação de alelos entre indivíduos dentro de subpopulações. Refere-se, portanto, ao próprio F ou coeficiente de endocruzamento (de Wright) dentro das subpopulações, provocado pela própria deriva genética associada à subdivisão.

F_{IT} - é a correlação entre alelos dentro de indivíduos. Refere-se ao coeficiente de endocruzamento abrangendo a espécie (população) como um todo.

F_{IS} - é a correlação entre alelos dentro de indivíduos dentro de subpopulações. Refere-se a um coeficiente de endocruzamento de um indivíduo devido a cruzamentos não aleatórios dentro de subpopulações.

$$F_{ST} = (F_{IT} - F_{IS}) / (1 - F_{IS})$$

O coeficiente F_{IT} resulta da endogamia (cruzamentos não aleatórios) dentro da subpopulação (F_{IS}) e da endogamia devida à subdivisão (F_{ST}).

Sendo \bar{p} a frequência alélica média sobre várias subpopulações e σ_p^2 a variância da frequência alélica média, $F_{ST} = \sigma_p^2 / [\bar{p}(1-\bar{p})]$. Sendo $F_{ST} = 1/(2N_e)$, o N_e é estimado através de $\sigma_p^2 = \bar{p}(1-\bar{p}) / (2N_e)$.

Assumindo equilíbrio nas subpopulações, $F_{ST} \cong 1/(1+4N_e m)$, onde m é a taxa de migração em cada subpopulação em cada geração e N_e é o tamanho efetivo assumindo valor igual para todas as subpopulações. Tendo-se estimado F_{ST} , pode-se estimar $N_e m$ [$N_e m = (1-F_{ST}) / 4F_{ST}$], o qual, assumindo valor <1 , significa que a deriva conduzirá a substancial diferenciação. Esta abordagem de F_{ST} fornece um outro estimador para a variância das frequências alélicas, ou seja, $\sigma_p^2 = [\bar{p}(1-\bar{p})] / (1+4N_e m)$, mostrando que a variação entre subpopulações diminui à medida que $N_e m$ aumenta.

Os parâmetros mencionados podem ser estimados através da avaliação de marcadores alélicos obtidos da estrutura hierárquica: genes dentro de indivíduos (**G**), indivíduos dentro de progênies (**I**), progênies (**F**) dentro de populações e populações (**P**) ou subpopulações. Neste esquema a variância da frequência alélica pode ser estimada via análise de variância da variável aleatória discreta **X**, assumindo o valor **1** para presença do alelo e **0** para ausência (WEIR, 1990; VENCOVSKY, 1992). Trata-se, portanto, de uma distribuição Bernoulli com média **p** e variância **p(1-p)**.

Assim, a variância total (σ_T^2) da frequência do alelo é dada por $\sigma_T^2 = p(1-p) = \sigma_P^2 + \sigma_F^2 + \sigma_I^2 + \sigma_G^2$. Tem-se também as seguintes relações entre estes componentes de variância e os parâmetros descritivos da estrutura de populações:

$$\begin{aligned} \sigma_P^2 &= p(1-p) F_{IS} \\ \sigma_F^2 &= p(1-p) (r - F_{IS}) \\ \sigma_I^2 &= p(1-p) (F_{IT} - r) \\ \sigma_G^2 &= p(1-p) (1 - F_{IT}), \end{aligned}$$

onde **r** é o coeficiente de coancestria entre os indivíduos nas progênies.

Com equilíbrio de Wright (equilíbrio de endocruzamento) a taxa de autofecundação pode ser estimada a partir de $F_{ST} = S/(2-S) = (1-t)/(1+t)$ onde **t** é a taxa de cruzamento. Assim, podem ser derivados os seguintes estimadores:

$$\begin{aligned} \hat{F}_{IS} &= \hat{\sigma}_P^2 / \hat{\sigma}_I^2; \quad \hat{r} - \hat{F}_{IS} = \hat{\sigma}_F^2 / \hat{\sigma}_I^2 \\ \hat{F}_{IS} - \hat{r} &= \hat{\sigma}_I^2 / \hat{\sigma}_T^2; \quad 1 - \hat{F}_{IT} = \hat{\sigma}_G^2 / \hat{\sigma}_T^2 \end{aligned}$$

$$\hat{F}_{ST} = \frac{\hat{F}_{IT} - \hat{F}_{IS}}{1 - \hat{F}_{IS}} = \frac{\hat{\sigma}_F^2 + \hat{\sigma}_G^2}{\hat{\sigma}_F^2 + \hat{\sigma}_I^2 + \hat{\sigma}_G^2}; \quad \hat{S} = \frac{2\hat{F}_{ST}}{1 + \hat{F}_{ST}} \quad \hat{t} = 1 - \hat{S}$$

Os componentes de variância são obtidos via esperança de quadrados médios da análise de variância no esquema hierárquico.

Pode-se observar que, em equilíbrio de **F**, $r = (1+S)^2/4(2-S)$, de forma que o coeficiente de coancestria pode ser estimado via estimação de **S**.

O tamanho efetivo populacional associado ao total de indivíduos pode ser estimado via:

$$\sigma_p^2 = \frac{p(1-p)}{2N_e} = \sigma_p^2 / s + \sigma_F^2 / os + \sigma_I^2 / nos + \sigma_G^2 / 2nos,$$

onde *s*, *o* e *n*, referem-se ao número de populações, progênies e indivíduos, respectivamente.

Sendo a probabilidade de que dois alelos tomados ao acaso de duas subpopulações sejam idênticos por descendência, F_{ST} fornece também uma medida da variação ou diversidade genética entre as populações, provocada, principalmente, por deriva genética, excluindo mutação e migração. F_{ST} representa a endogamia (homozigose) na subpopulação em relação à população total e é denominado ‘índice de fixação’ de Wright (entre subpopulações), representando a redução na heterozigose da subpopulação devido à deriva genética aleatória.

Em espécies tropicais a subdivisão ou fragmentação representa um problema especial para a conservação da diversidade genética. A fragmentação de uma floresta inicialmente contínua, não conduzirá por si só à perda de variação genética. Uma vez que a maioria da diversidade está presente dentro de populações, fragmentos de tamanho moderado contendo de 15 a 20 indivíduos deverão conter a maioria da diversidade das espécies. Entretanto, estes fragmentos estarão sujeitos à novas derivas e a variação genética diminuirá gradativamente. Com a perda destes fragmentos, a diversidade geral da espécie estará sendo perdida (HAMRICK, 1992). Este é um problema típico da erva-mate.

Se a subdivisão provoca aumento da homozigose, a quebra dos isolados, ou seja a reunião das subpopulações provocará uma redução na frequência média de homozigotos em relação a frequência média antes da fusão. Este efeito é denominado ‘Efeito ou Princípio de Wahlund’ e afeta apenas as frequências genotípicas e não as frequências alélicas. A seguir este efeito é descrito matematicamente, com base em FREIRE-MAIA (1974).

Sendo *X* e *Y* dois isolados ou subpopulações de tamanhos iguais tem-se que as frequências genotípicas são p^2 , $2pq$ e q^2 e r^2 , $2rs$ e s^2 para os genótipos **BB**, **Bb** e **bb**, respectivamente, para as subpopulações *X* e *Y*, respectivamente. *p*, *q* e *r*, *s* são as frequências alélicas em *X* e *Y*, respectivamente.

Na população formada pelo conjunto das subpopulações (ainda isoladas) as frequências alélicas médias são $(p+r)/2$ para **B** e $(q+s)/2$ para **b** e as frequências genotípicas médias são $(p^2 + r^2)/2$, $(2pq + 2rs)/2$ e $(q^2 + s^2)/2$ para **BB**, **Bb** e **bb**, respectivamente.

Com a fusão, as freqüências alélicas continuam as mesmas mas as freqüências genotípicas serão $[(p + r)/2]^2$, $[(2pq + 2rs)/2]^2$ e $[(q + s)/2]^2$ para **BB**, **Bb** e **bb**, respectivamente, num total de $[(p + r)/2 + (q + s)/2]^2$. O decréscimo na freqüência dos homozigotos é dada por $(p^2 + r^2)/2 - [(p + r)/2]^2$. Esta redução equívale exatamente à variância da freqüência do alelo B entre as subpopulações, que, de modo genérico equívale a

$$\sigma_p^2 = \sum_{i=1}^n p_i^2 / n - \left(\frac{\sum_{i=1}^n p_i}{n} \right)^2$$

onde **n** é o número de subpopulações.

Em espécies tropicais, o fluxo gênico é essencial na manutenção dos fragmentos através da própria quebra dos isolados. Conforme HAMRICK (1992), se o fluxo gênico ocorre à distâncias de 2 km, a diversidade genética dentro de fragmentos pode ser mantida e conseqüentemente, poucos fragmentos dentro de uma região geográfica serão necessários para preservar a diversidade da espécie.

3.7. Seleção

Em conservação genética, duas modalidades de seleção podem ser consideradas associadas à reprodução nas passagens de geração: a seleção massal ou individual e a seleção dentro de famílias (NAGYLAKI, 1992).

A seleção massal atua no conjunto total de descendentes e pode conduzir à seleção (eliminação) de famílias. Por outro lado, a seleção dentro de famílias mantendo-se igual número de indivíduos/famílias, elimina o componente de seleção entre famílias e praticamente duplica o tamanho efetivo populacional. Embora a seleção dentro de famílias seja favorável por aumentar o N_e , a mesma conduz também a um aumento da carga de mutação em decorrência do aumento do N_e . Entretanto, provavelmente seja mais importante e praticável maximizar o N_e do que reduzir a carga genética.

Na conservação genética "ex-situ" associada a testes de progênies e programas de melhoramento, outras modalidades de seleção podem ser enunciadas como a seleção combinada (usando informação do indivíduo e da família) e a seleção entre famílias, as quais tendem a reduzir drasticamente o N_e .

Nesta situação, os métodos mais favoráveis em termos de conservação da variabilidade genética são pela ordem: seleção dentro de famílias, seleção massal, seleção combinada e seleção entre famílias. Via de regra estes métodos conduzem à menores ganhos genéticos obedecendo a mesma ordem.

4. CONCLUSÕES

As seguintes estratégias e ações podem ser adotadas visando a conservação genética da erva-mate:

- a) trabalhar com populações mais variáveis geneticamente;
- b) maximizar o intervalo entre gerações;
- c) maximizar a relação N_e/N ;
- d) manter igual tamanho de família;
- e) manter a proporção de sexo próxima de 1:1;
- f) manter um valor de N_e desejável e constante através das gerações;
- g) utilizar parcelas com poucas plantas e muitas repetições;
- h) adotar N_e na faixa de 500-5000 para conservação "in situ" e N_e de 150 (40 famílias) por população para conservação "ex situ";
- i) trabalhar com pelo menos uma dezena de populações;
- j) praticar intercruzamento entre populações em gerações avançadas de conservação;
- k) para a conservação associada a programas de melhoramento, dar preferência aos métodos de seleção dentro de progênies e seleção massal, em detrimento da seleção combinada e entre famílias.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADAMS, W.T.; STRAUSS, S.H.; COPEL, D.L.; GRIFFIN, A.R. Population genetics of forest trees. Kluwer, Dordrecht, The Netherlands. 1992. p.
- ALVAREZ-BUYLLA, E.R.; GARCIA-BARRIOS, R.; LARA-MORENO, C.; MARTÍNEZ-RAMOS, M. Demographic and genetic models in conservation biology. Annual Review of Ecology and Systematics, v.27, p.387-421. 1996.
- CABALLERO, A. Developments in the prediction of effective population size. Heredity, v.73, p.657-679. 1994.
- CROW, J.F.; DENNISTON, C. Inbreeding and variance effective population numbers. Evolution, v.42, n.3, p.482-495. 1988.

- ELLSTRAND, N.C.; ELAM, D.R. Population genetic consequences of small population size: implications for plant conservation. Annual Review of Ecology and Systematics, v.24, p.217-242. 1993.
- EWENS, W.J. Mathematical population genetics. Springer-Verlag, Berlin, W.Ger. 1979.
- FALCONER, D.S. Introduction to quantitative genetics. Harlow: Longman. 3^a. ed. 438p. 1989.
- FRANKHAM, R. Conservation genetics. Annual Review of Genetics, v.29, p.305-327. 1995a.
- FRANKHAM, R. Inbreeding and extinction: a threshold effect. Conservation Biology, v.9, p.792-799. 1995b.
- FRANKHAM, R. Effective population sizes/adult population size ratios in wildlife: a review. Genetical Research, 1995e.
- FREIRE-MAIA, N. Genética de populações humanas. HUCITEC e EDUSP, São Paulo. 1974.
- FUTUYAMA, D.J. Biologia evolutiva. 2.ed. Sociedade Brasileira de Genética. Ribeirão Preto. 1992. 646p.
- HANRICK, J.L. Distribution of genetic diversity in tropical tree populations: implications for the conservation of genetic resources. In: Resolving Tropical Forest Resource Concerns Through Tree Improvement Gene Conservation and Domestication of New Species, C.C. LAMBETH, DVO-RAK, W. (ed.) p.74-82. 1992. Raleigh: NC State University Press.
- HARTL, L.D.; CLARK, A.G. Principles of population genetics. 2.ed. Sinauer Associates, Inc. Publishers, Sunderland, Massachusetts. 1989. 681p.
- HIGA, A.R.; RESENDE, M.D.V. de. Pomar de sementes por mudas: um método para conservação genética "ex-situ" de *Araucaria angustifolia* (Bert) O. Ktze. In: CONGRESSO NACIONAL SOBRE ESSÊNCIAS NATIVAS, 2. 1992. São Paulo. Anais. São Paulo. Instituto Florestal, v.4, p.1.217-1.224.
- HILL, W.G. A note on effective population size with overlapping generations. Genetics, v.92, p.317-322. 1979.
- HILL, W.G. Predictions of response to artificial selection from new mutations. Genetical Research, v.40, p.255-278. 1982.
- JACQUARD, A. Inbreeding: one word, several meanings. Theoretical Population Biology, v.7, p.338-363. 1975.

- KAGEYAMA, P.Y.; DIAS, I.S. Aplicación de conceptos genéticos a espécies florestais nativas en Brasil. Informação sobre Recursos Genéticos Forestales, v.13, p.2-10. 1985.
- KAGEYAMA, P.Y. Conservação “in situ” de recursos genéticos de plantas. IPEF, Piracicaba, v.35, p.7-37. 1987.
- KAGEYAMA, P.Y. Genetic structure of tropical tree species of Brazil. In: Bawa, K.S.; Hadley, M. (eds.), Reproductive ecology of tropical forest plants. Unesco, Paris. 1990.
- KEMPTHORNE, O. An introduction to genetic statistics. Wiley, New York. 1957.
- LANDE, R. Genetics and demography in biological conservation. Science, v.241, p.1.455-1.460. 1988.
- LANDE, R. Risk of populations extinction from fixation of new deleterious mutations. Evolution, v.48, p.1.460-1.469. 1994.
- LANDE, R. Mutation and conservation. Conservation Biology, v.9, p.782-791. 1995.
- LATTER, B.D.H.; MULLEY, J.C.; REID, D.; PASCOE, L. Reduced genetic load revealed by slow inbreeding in Drosophila melanogaster. Genetics, v.139, p.287-297. 1995.
- LI, C.C. First course in population genetics. Boxwood Press, Pacific Grove, California. 1976.
- LOESCHCKE, V.; TOMIUK, J.; JAIN, S.K. Introductory remarks: genetics and conservation biology. In: LOESCHCKE, V.; TOMIUK, J.; JAIN, S.K. Conservation Genetics. Birkhäuser, Verlag, Basel. 1994. P.3-8.
- MARTINS, P.S. Estrutura populacional, fluxo gênico e conservação “in situ”. IPEF, v.35, p.71-78. 1987.
- NAGYLAKE, T. Introduction to theoretical population genetics. Springer-Verlag, Berlin-New York. 1992.
- NAMKOONG, G. A gene conservation plan for loblolly pine. Canadian Journal of Forest Research, v.27, p.433-437. 1997.
- NEWMAN, D.; PILSON, D. Increased probability of extinction due to decrease genetic effective population size: experimental populations of Clarkia pulchella. Evolution, v.51, n.2, p.354-362. 1997.
- POLLAK, E. Effective population numbers and mean times to extinction in dioecious populations with overlapping generations. Mathematical Bioscience, v.52, p.1-25. 1980.

- RESENDE, M.D.V. de.; VENCOVSKY, R. Condução e utilização de bancos de conservação genética de espécies de eucalipto. In: CONGRESSO FLORESTAL BRASILEIRO, 6. 1990. Campos do Jordão. Anais. São Paulo: Sociedade Brasileira de Silvicultura, p.434-439. 1990.
- RESENDE, M.D.V. de.; STURION, J.A.; MENDES, S. Genética e melhoramento da erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hill). EMBRAPA-CNPQ. Colombo, 1995. 33p. (Documentos, n.25).
- SAVOLAINEN, O. Genetic variation and fitness: conservation lessons from pines. In: LOESCHCKE, V. TOMIUK, J.; JAIN, S.K. (eds.) Conservation Genetics. Birkhäuser Verlag. Basel. p.27-36, 1994.
- TEMPLETON, A.R.; READ, B. Inbreeding: one word, several meanings, much confusion. In: LOESCHCKE, V. TOMIUK, J.; JAIN, S.K. (eds.) Conservation Genetics. Birkhäuser Verlag. Basel. p.91-105, 1994.
- VENCOVSKY, R. Tamanho efetivo em populações submetidas à seleção. Sexos separados. Relatório Científico do Departamento de Genética, Piracicaba, n.12, p.282-287. 1978.
- VENCOVSKY, R. Tamanho efetivo populacional na coleta e preservação de germoplasma de espécies alógamas. IPEF, n.35, p.79-84. 1987.
- VENCOVSKY, R. Preservação e genética de populações. In: ENCONTRO SOBRE RECURSOS GENÉTICOS, 1988. Jaboticabal. Anais. Jaboticabal: FCAVJ/UNESP. 1988, p.67-74.
- VENCOVSKY, R. Análise da variância de frequências alélicas. Revista Brasileira de Genética - Suplemento, p.53-60. 1992.
- WEIR, B.S. Genetic data analysis. Sinauer Associates, Inc. Sunderland, Massachusetts, 1990. 377p.
- WILLIAMS, C.G.; SAVOLAINEN, O. Inbreeding depression in conifers. Forest Science, v.41, n.2, p.1-20. 1996.
- WRIGHT, S. The genetical structure of populations. Annals of Eugenics, London, v.15, p.323-54. 1951.