

AMOSTRAGEM DE FAMÍLIAS E POPULAÇÕES DE ERVA-MATE (*Ilex paraguariensis* ST. HIL.) E IMPLICAÇÕES PARA O MELHORAMENTO GENÉTICO E A CONSERVAÇÃO

Rosangela Maria Simeão¹
Marcos Deon Vilela de Resende²
José Alfredo Sturion²
José Sebastião Cunha Fernandes³
Dalnei Dalzoto Neiverth⁴
Afonso Oliszeski⁵

RESUMO

O tamanho efetivo populacional é um parâmetro relevante para programas de conservação e melhoramento genético. Os objetivos deste trabalho foram quantificar o tamanho efetivo de amostras de famílias de erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.) e, avaliar suas implicações no melhoramento genético. Foram avaliadas 164 famílias de oito procedências, em três locais de experimentação (Ivaí-PR, Guarapuava-PR e Rio Azul-PR), que fazem parte do programa de melhoramento genético da erva-mate coordenado pela Embrapa Florestas. Foram estimados o tamanho efetivo das populações (N_e), o número efetivo de famílias (N_{ef}), o tamanho efetivo da amostra composta (N_{et}), o tamanho efetivo da população selecionada com progênie não identificada pelo sexo e a frequência mínima dos alelos retidos (F.A.R.) nas amostras. O N_{et} variou de 395 a 603 entre os locais de experimentação e mostrou-se adequado para constituir as populações base de melhoramento e de conservação da espécie. A F.A.R. variou de 0,04 a 0,11 entre populações, indicando que não foram amostrados alelos

¹ Bióloga, Doutora, Pesquisadora da Embrapa Gado de Corte. rosangela@cnpqc.embrapa.br

² Engenheiros-agrônomos, Doutores, Pesquisadores da Embrapa Florestas. deon@cnpf.embrapa.br
sturion@cnpf.embrapa.br

³ Engenheiro-agrônomo. Universidade Federal do Paraná. cunha@bio.ufpr.br

⁴ Engenheiro-agrônomo, Bacharel, Chimarrão Bitumirim. bitu@interponta.com.br

⁵ Sócio-Diretor da Chimarrão Bitumirim. bitu@interponta.com.br

raros. A seleção de 60 indivíduos em Ivaí e, de 52 em Guarapuava e Rio Azul, maximizou o limite inferior do intervalo de confiança do ganho com seleção, permitindo atingir um N_e maior do que 50, adequado para constituir as populações de melhoramento nestes locais.

PALAVRAS-CHAVE: teste de progênie, tamanho efetivo, seleção.

SAMPLING OF FAMILIES AND POPULATIONS OF *Ilex paraguariensis* ST. HIL. AND IMPLICATIONS FOR GENETIC IMPROVEMENT AND CONSERVATION

ABSTRACT

Effective populations size is a relevant parameter in conservation and breeding programs. The aim of this paper were to estimate the effective population size associated to samples of families and to evaluate its impacts for the genetic improvement of *Ilex paraguariensis*. Eight provenances with 164 families were evaluated at three sites (Ivaí-PR, Guarapuava-PR and Rio Azul-PR), from the *Ilex paraguariensis* breeding program developed by Embrapa Florestas. Effective number of the populations (N_e), family effective number (N_{ef}), effective number of the total sample (N_{et}), effective number of the selected population with progeny not identified by sex and the minimum frequency of the retained alleles (F.A.R), were computed. The N_{et} ranged from 395 to 603 along with the sites, revealing adequate values for breeding and conservation purposes. The F.A.R. ranged from 0.04 to 0.11 among the populations showing that the rare alleles weren't sampled. The selection of 52 individuals in Ivaí and 52 in Guarapuava and Rio Azul maximised the inferior limit of the confidence range of the genetic gain, providing a N_e above 50, which is suitable for the long term breeding populations in these sites.

KEY-WORDS: progeny test, effective number, selection.

1. INTRODUÇÃO

Em erva-mate, grande parte do germoplasma jamais foi avaliado ou utilizado, uma vez que os programas de melhoramento genético iniciaram-se apenas, recentemente (Resende et al. 1995). Considerando que grande parte da exploração econômica da espécie baseia-se no extrativismo e que as áreas de ocorrência natural vêm sendo devastadas, os programas de conservação genética, realizados em conjunto com os programas de melhoramento genético, são prioritários como forma de garantir a utilização futura da mesma. Tecnicamente, ações de conservação genética, bem como de melhoramento genético, devem basear-se em sólidos princípios de genética de populações (Resende & Rosa Perez, 1999). A determinação do tamanho efetivo populacional de amostras, a avaliação da endogamia potencial e a definição de estratégias adequadas de ação visando o melhoramento a curto e longo prazos, bem como a conservação dos recursos genéticos ao longo de várias gerações, são essenciais na tentativa de manutenção da diversidade dentro de espécies ameaçadas, como a erva-mate.

A primeira etapa de um programa de melhoramento genético refere-se à identificação do germoplasma para a formação da população base de melhoramento. Esta etapa comumente baseia-se na realização de testes de procedências (para inferir sobre a média populacional) ou em testes de procedências e progênies (para inferir sobre a média populacional e a variabilidade genética) (Kageyama & Dias, 1985). A repetição dos ensaios em diferentes ambientes é importante para avaliar também uma possível interação genótipos x ambientes (Kanashiro, 1992).

Após definido o germoplasma a ser melhorado, torna-se necessário dimensionar o tamanho da população base amostrada, em termos de tamanho efetivo (N_e). O tamanho efetivo, em sua definição básica, mede a representatividade genética contida numa amostra, em relação à geração imediatamente anterior (N_e) ou em relação a uma geração inicial de referência (N_e).

Um tamanho efetivo da ordem de 300 a 400 nas populações de melhoramento tem sido recomendado para início de um programa de melhoramento (Kang & Nienstadt, 1987; Namkoong, 1984; Namkoong et al., 1989). Em cada ciclo de seleção, sugere-se a restrição do tamanho efetivo no máximo a 50, para não comprometer a intensidade de seleção (Mahalovich & Bridgwater, 1989; Resende & Bertolucci, 1995; Resende, 1999).

Resende & Vencovsky (1990) relataram que a amostragem de cerca de 20 famílias de polinização aberta não aparentadas, com 100 indivíduos por família, é suficiente para representar adequadamente uma população. Estes números conduzem a um tamanho efetivo de aproximadamente 80, em espécies dióicas. Esse valor é maior do que o sugerido por Frankham (1995) ($N_e = 50$) para evitar depressão endogâmica no curto prazo.

Aproximadamente 78% da diversidade genética total em erva-mate, encontra-se dentro de populações (Winge et al., 1995). Segundo Hamrick (1992), para espécies que apresentam esse padrão de distribuição de variabilidade, uma amostragem de 5 populações seria suficiente para conter 99% da diversidade total. Resende & Rosa Perez (1999) sugeriram que uma amostragem adequada mínima de uma espécie envolveria entre 300 indivíduos (5 populações, 60 famílias por população e 1 indivíduo por família) a 1000 indivíduos (5 populações, 20 famílias por população e 10 indivíduos por família).

Em programas de melhoramento genético, o N_e está diretamente relacionado à obtenção do limite seletivo. Para obter progresso genético a longo prazo deve-se manter a variabilidade genética potencial em cada ciclo seletivo, a qual é liberada nos ciclos subseqüentes através da recombinação genética (Resende & Rosa Perez, 1999).

Segundo Frankham (1995), a manutenção do potencial evolutivo pode ser determinada pela heterozigose ou pela retenção de diversidade alélica. Embora a diversidade alélica e a heterozigose estejam relacionadas, a heterozigose é menos afetada por afinamentos (ou amostragem) em populações do que é a diversidade alélica.

A conservação genética *ex situ* baseia-se nos critérios de prevenção da depressão endogâmica e na manutenção da diversidade alélica. Para prevenção da depressão endogâmica um N_e de 50 (Resende & Rosa Perez, 1999) seria suficiente e permitiria reter alelos com frequência $\geq 6\%$. Na manutenção da diversidade alélica da população indefinidamente, um N_e da ordem de 500 seria suficiente, considerando um balanço entre deriva e mutação (Frankham, 1995).

Este trabalho teve como objetivos avaliar a amostragem realizada nas populações naturais de erva-mate em termos de tamanho efetivo em nível de populações, famílias e indivíduos e determinar as suas implicações no melhoramento genético e na conservação.

2. MATERIAL E MÉTODOS

As populações e famílias avaliadas, neste estudo, fazem parte do programa de melhoramento genético da erva-mate coordenado pela *Embrapa Florestas* (PROMEGEM / EMBRAPA). Foi realizada uma amostragem em oito procedências de erva-mate, denominadas de acordo com o local de coleta Ivaí (PR); Colombo (PR); Barão de Cotegipe (RS); Quedas do Iguaçu (PR); Antônio Olinto (PR); Pinhão (PR); Cascavel (PR) e São Mateus do Sul (PR). O número de famílias por procedência, o número total de indivíduos avaliados por local e o número médio de indivíduos por família são apresentados pela Tabela 1.

Tabela 1. Coordenadas geográficas, número de famílias, número total de indivíduos vivos avaliados por procedência (nb) e número médio de indivíduos (\bar{n}) por família em cada local de experimentação.

Procedência	LAT. (SUL)	LOCAIS DOS ENSAIOS								
		Ivaí			Guarapuava			Rio Azul		
		Famílias	nb	\bar{n}	Famílias	nb	\bar{n}	Famílias	nb	\bar{n}
Ivaí	25° 01'	25	1457	58	24	693	29	25	718	29
Colombo	25° 20'	18	971	54	10	286	28	20	508	25
Barão de Cotegipe	27° 38'	21	1	58	16	465	29	21	607	29
Quedas do Iguaçu	25° 25'	24	1424	59	17	496	29	25	724	29
Pinhão	25° 41'	22	1271	58	11	305	28	24	687	29
Antônio Olinto	25° 59'	5	294	59	5	143	29	17	474	28
Cascavel	24° 57'	25	1474	59	19	559	29	24	696	29
São Mateus do Sul	25° 51'	1	55	55	0	0	0	0	0	0
Totais		141	8172		102	2947		156	4414	

Os testes de procedências e progênies foram instalados no delineamento de blocos ao acaso, nos seguintes locais: Ivaí-PR com dez repetições, Guarapuava-PR e em Rio Azul-PR, ambos com cinco repetições. Todos os experimentos com parcelas lineares de seis plantas e espaçamento 3m x 2m. As famílias foram aleatorizadas independentemente das procedências.

a) Tamanho efetivo das populações amostradas (N_e)

Para erva-mate, que é uma espécie dióica, a expressão geral para determinação do tamanho efetivo (N_e) equivale a $N_e = \frac{4N_f \cdot N_m}{(N_f + N_m)}$, onde: N_f e N_m são o número de fêmeas e o número de machos amostrados. Como, em condições naturais, o número de machos é desconhecido, foi assumido um número alto, com N_m tendendo ao infinito. Assim, o N_e tem como limite $4N_f$. Por outro lado, o número de machos que participa de uma amostragem depende do número de indivíduos ou sementes obtidos de cada genitora. Tomando-se n indivíduos por genitora, pode-se considerar que o número máximo de machos amostrados quando se amostra uma genitora é igual a n .

Pressupondo que a polinização em cada genitora ocorreu de maneira aleatória, com mistura de pólen da população, o N_e foi estimado, segundo Resende et al. (1995):

$$N_e = \frac{4N_f \cdot n}{(1 + n)}$$

A relação entre o N_e obtido pela expressão anterior e o N_e obtido a partir de um número infinito de indivíduos por família ($N_{e\text{máx.}} \cong 4N_f$), forneceu a porcentagem do N_e máximo atingida com a amostragem.

b) Número efetivo de famílias selecionadas (N_{ef})

Estimado conforme Robertson (1961):

$$N_{ef} = \frac{(\sum K_{fi})^2}{\sum K_{fi}^2} \quad \text{onde } K_{fi} \text{ é o número de indivíduos selecionados na família } i.$$

A diversidade genética ou número de famílias selecionadas em relação ao número original de famílias (N_{f0}) é dado por: $D = \frac{N_{ef}}{N_{f0}}$ e $0 < D \leq 1$. Assim, D próximo

de zero indica a quase extinção da variabilidade genética contida na população formada por N_{f0} famílias e D próximo de um (1) indica a quase manutenção da variabilidade total da população de referência (Resende & Rosa Perez, 1999).

c) Tamanho efetivo da amostra composta (N_{et})

Outro conceito aplicado de tamanho efetivo refere-se ao caso em que são reunidas R amostras independentes e iguais em quantidades de propágulos ou indivíduos, cada uma com tamanhos efetivos arbitrários N_{e1} , N_{e2} , ... N_{eR} , o tamanho efetivo da amostra composta (N_{et}) foi estimado, segundo Vencovsky (1988):

$$N_{et} = \frac{R^2}{\sum_i \frac{1}{N_{ei}}} = R\bar{N}_e$$

N_{ei} : tamanho efetivo de cada amostra

\bar{N}_e : média harmônica de N_{ei}

i: 1, 2, ... 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

$$N_{et} = \sum_i N_{ei} .$$

d) Tamanho efetivo para espécies dióicas com progênie não identificada por sexo (N_e^*)

A expressão geral do N_e de endogamia para espécies monóicas para números observados equivale a:

$$N_e^* = \frac{(N\bar{K} - 1)}{\left(\frac{S_K^2}{\bar{K}} + \bar{K} - 1\right)} .$$

Sabendo-se que $N = N_f + N_m$, onde N_f e N_m são número de fêmeas e número de machos, respectivamente, esta expressão pode ser empregada para espécies dióicas quando s_K^2 e \bar{K} são assumidos como os mesmos para os genitores masculinos e femininos e supondo-se $N_f = N_m$ (Resende & Rosa-Perez, 1999).

e) Freqüência de alelos retidos (F.A.R.)

A determinação da freqüência de alelos retidos em uma amostra foi realizada com base no conceito de variância das freqüências alélicas entre várias amostras. Segundo Vencovsky (1986) a variância das freqüências dos alelos nas amostras é dada por:

$$\hat{s}_{p_1}^2 = \frac{[p_0(1-p_0)]}{[2N_e]}$$

$\hat{s}_{p_1}^2$: variância da freqüência de um alelo, entre amostras de tamanho $2N_e$;

p_0 : freqüência alélica na população original

Assim, um intervalo de confiança (I.C.) para a freqüência alélica em uma dada amostra é dado pela expressão, segundo Resende & Rosa Perez (1999):

$$I.C. = p_0 \pm Z \{ [p_0(1-p_0)]/[2N_e] \}^{1/2} = p_0 \pm 1,96 \{ [p_0(1-p_0)]/[2N_e] \}^{1/2}$$

em que: Z: valor tabelado da distribuição normal padrão associado a determinado grau de confiança, equivalendo a 1,96 para um intervalo construído com 95% de confiança.

A freqüência de alelos retidos para um determinado valor de tamanho efetivo foi inferido com base no limite inferior do intervalo de confiança.

Os valores genéticos das genitoras e indivíduos foram preditos, utilizando o procedimento REML/BLUP (máxima verossimilhança restrita/melhor predição linear não viciada), empregando-se o programa DFREML (Meyer, 1998).

O intervalo de confiança do ganho genético com seleção foi calculado conforme metodologia indicada por Resende & Bertolucci (1995).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os valores do tamanho efetivo (N_e) quantificado em relação à população natural na geração anterior, do número efetivo de famílias (N_{ef}); da frequência de alelos retidos na amostra (F.A.R.); da endogamia potencial (E), da proporção do tamanho efetivo em relação ao tamanho efetivo máximo (obtido com $n = \infty$ indivíduos por progênie) ($N_{e\text{máx.}}$) e do número efetivo da amostra composta (N_{et}) foram calculados para todas as populações em cada local e são apresentados na Tabela 2.

TABELA 2. Amostragem genética em populações de erva-mate avaliadas em três locais.

Local	Procedência	N_e	N_{ef}	F.A.R.	E%	% $N_{e\text{máx.}}$
Ivaí	Ivaí	99	25	0,04	0,5	99,0
	Colombo	71	18	0,05	0,7	98,6
	Barão de Cotegipe	83	21	0,04	0,6	98,8
	Quedas do Iguaçu	94	24	0,04	0,5	97,9
	Pinhão	87	22	0,04	0,6	98,9
	Antônio Olinto	20	5	0,11	2,6	100,0
	Cascavel	98	25	0,04	0,5	98,0
	São Mateus	3,9**	1	-	16,7	97,5
N_{et} ponderada		556				
Guarapuava	Ivaí	93	24	0,04	0,5	96,9
	Colombo	39	10	0,07	1,3	97,5
	Barão de Cotegipe	62	16	0,05	0,8	96,9
	Quedas do Iguaçu	66	17	0,05	0,8	97,1
	Pinhão	42	11	0,07	1,2	95,5
	Antônio Olinto	19	5	0,11	2,6	95,0
	Cascavel	74	19	0,05	0,7	97,4
	N_{et} ponderada		395			
Rio Azul	Ivaí	97	25	0,04	0,5	97,0
	Colombo	77	20	0,05	0,6	96,3
	Barão de Cotegipe	81	21	0,05	0,6	96,4
	Quedas do Iguaçu	97	25	0,04	0,5	97,0
	Pinhão	93	24	0,04	0,5	96,9
	Antônio Olinto	66	17	0,05	0,8	97,1
	Cascavel	93	24	0,04	0,5	96,9
	N_{et} ponderada		603			

N_e : tamanho efetivo; N_{ef} : número efetivo de famílias; F.A.R.: frequência de alelos retidos (95% de confiança); $E\% = 1/2N_e \times 100$: endogamia potencial; $\%N_{e\text{máx.}}$: proporção do tamanho efetivo em relação ao tamanho efetivo máximo; N_{et} ponderada: número efetivo da amostra composta ponderada; **apenas uma progênie.

Em termos de representatividade de famílias e quando se considerou a frequência dos alelos retidos em cada população, verificou-se que a amostragem foi inadequada (F.A.R. maior que 0,05) para as populações de Antônio Olinto e São Mateus do Sul avaliadas em Ivaí e para as populações de Colombo, Pinhão e Antônio Olinto avaliadas em Guarapuava. Em Rio Azul, todas as populações foram amostradas adequadamente.

Deve-se salientar que a amostragem dentro de progênies foi adequada para todas as populações amostradas, uma vez que se atingiu acima de 95% do N_e máximo possível em cada uma delas. Verificou-se ainda que o número efetivo de famílias (N_{ef}), que depende do número de famílias e do número de indivíduos por família, foi igual ao número de genitoras amostradas, reforçando a adequação da amostragem dentro de famílias. Esse resultado foi obtido já considerando a taxa de mortalidade evidenciada nos experimentos.

Em termos de diversidade alélica, a amostragem realizada nas populações de erva-mate não capturou alelos raros (frequência de 1%), mas apenas os que apresentavam frequência entre 4 a 11%, com 95% de confiança (F.A.R.).

Esses resultados apresentam implicações tanto na conservação genética quanto no melhoramento da erva-mate, baseado nestas populações. Para prevenção da depressão endogâmica, a amostragem realizada na maioria das populações de erva-mate foi adequada.

Para manutenção da diversidade alélica da população indefinidamente, um N_e maior do que 500 foi obtido quando calculado com base na amostra composta das várias populações amostradas de forma independente, formando uma população base única de melhoramento. Verificou-se que os tamanhos efetivos das amostras compostas foram elevados, demonstrando que a reunião de amostras de germoplasmas permitiu que os tamanhos efetivos individuais se acumulassem.

Nada pode ser inferido sobre a frequência dos alelos retidos nessa amostra composta. Espera-se, apenas, que a endogamia não seja relevante para a amostragem total obtida por local.

Para fins de melhoramento, verificou-se que a amostragem realizada em erva-mate foi bastante adequada. O tamanho efetivo, obtido através da reunião das várias

populações, permitirá altas intensidades de seleção já nas primeiras gerações e, simultaneamente, deverá manter o tamanho efetivo adequado para o melhoramento a longo prazo.

Em termos de método de seleção, há um conflito entre ganho genético no curto e no longo prazos quando são utilizadas metodologias como índices de seleção e BLUP, que incluem informações de parentes. Essas metodologias apresentam propriedades ótimas com respeito ao ganho genético a curto prazo, mas não conduzem a um ganho genético máximo a longo prazo, principalmente, se a seleção for irrestrita quanto ao tamanho efetivo (Resende & Bertolucci, 1995). Uma estratégia a ser adotada, para contornar esta questão, seria restringir o número máximo de indivíduos selecionados por família.

Baseado neste critério, foram estimados os ganhos com seleção e seus intervalos de confiança, bem como o número de indivíduos a serem selecionados e respectivos tamanhos efetivos quando a seleção restringiu o número de indivíduos por família a 1, 2 ou 3, ou ainda, sem nenhuma restrição, para fins de comparação (Tabela 3). A seleção baseou-se no mérito genético total dos indivíduos, excluindo-se as genitoras, ordenados por local de experimentação.

Tabela 3. Ganhos com seleção (gs), com base no mérito genético total, e intervalos de confiança (i.c.) em populações de melhoramento, por local, com restrição ao tamanho efetivo (n_e) e no número de indivíduos selecionados por família (n máx.).

N	Nf	Np	N_e	$\frac{n \text{ máx.}}{l_{vai}}$	Gs	I.C.
50*	17	4	14	Irrestrito	0,5347	0,4835 - 0,5859
58	58	4	58	1	0,4433	0,3957 - 0,4909
60	30	4	59	2	0,4755	0,4287 - 0,5223
120	40	4	59	3	0,4081	0,4081 - 0,4743
Guarapuava						
50*	25	6	50	irrestrito	0,5474	0,5205 - 0,5743
51	51	7	51	1	0,4651	0,4385 - 0,4917
52	26	7	51	2	0,4849	0,4585 - 0,5113
102	34	7	51	3	0,4412	0,3718 - 0,4094
Rio Azul						
50*	27	5	50	irrestrito	0,2740	0,2487 - 0,2993
51	51	6	51	1	0,2430	0,2180 - 0,2680
52	26	5	51	2	0,2549	0,2301 - 0,2797
102	34	5	51	3	0,2202	0,2025 - 0,2379

* : supondo variância do número de indivíduos contribuídos (S_k^2) como sendo igual nos dois sexos; N, Nf e Np: número de indivíduos, número de famílias e número de procedências, respectivamente.

Verificou-se, com base na Tabela 3, que em Ivai, a seleção dos 50 indivíduos superiores conduziu a um tamanho efetivo baixo ($N_e = 14$), inadequado para fins de melhoramento ao longo prazo e que, certamente, conduziria a uma endogamia elevada, pois dos 50 indivíduos selecionados, 30 pertenciam a 2 famílias. A restrição de 2 indivíduos por família resultou no maior limite inferior do intervalo de confiança do ganho (L.I.I.C. = 0,43), com um tamanho efetivo da ordem de 59, com um total de 60 indivíduos selecionados, pertencentes às procedências Barão de Cotegipe, Quedas do Iguaçu, Ivai e Cascavel.

Em Guarapuava, a seleção dos 50 indivíduos superiores, sem restrição ao número máximo de indivíduos por família, conduziu a um tamanho efetivo da ordem de 50 e maximizou o limite inferior do intervalo de confiança do ganho com seleção (L.I.I.C. = 0,52). Verificou-se, entretanto, que 11 das 25 famílias selecionadas,

foram representadas por meios irmãos, com um número de indivíduos por família variando de 2 a 5. Esse resultado pode conduzir à endogamia já na primeira geração de cruzamentos. Neste local, indicou-se como adequada a restrição do número de indivíduos por família a apenas um (1). Dessa forma, selecionam-se 51 famílias de 7 procedências, com um limite inferior do ganho que atinge 95% do obtido, selecionando-se com restrição de 2 indivíduos por família.

Um segundo procedimento a ser adotado, visando à obtenção de ganhos com seleção a curto e longo prazos, é o de estrutura de populações. Em melhoramento genético, estrutura de populações, refere-se à subdivisão das populações de melhoramento, permitindo enfatizar o uso dos indivíduos com os maiores valores genéticos e o gerenciamento da endogamia (Resende & Rosa Perez, 1999).

Resende et al. (1997) propuseram uma estrutura de melhoramento para erva-mate constituída por uma população de produção e núcleo elite numa mesma unidade física, uma subpopulação principal e uma população de conservação genética (Figura 1). A população de produção e o núcleo elite, na estrutura proposta, seriam constituídos por 20 a 25 indivíduos num pomar de sementes clonal e de um pomar heptaclonal, respectivamente.

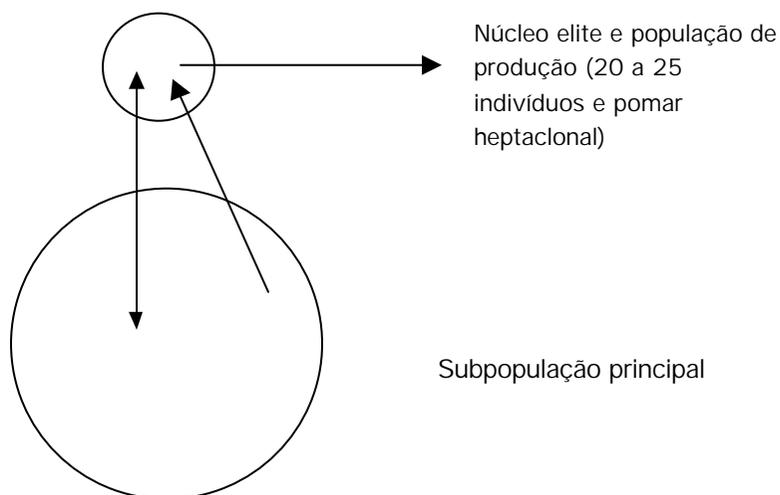


Fig. 1. Estrutura de populações para o melhoramento da erva-mate (Resende et al., 1997).

Dessa forma, os ganhos com seleção e respectivos intervalos de confiança foram estimados, para cada local, considerando três situações, apresentadas na Tabela 4:

- i. pomar biclonal constituído pela melhor genitora e pelo melhor macho do teste de progênes (desde que não seja filho da genitora selecionada);
- ii. pomar heptaclonal constituído pela seleção das 3 melhores genitoras e dos 4 melhores machos no teste de progênes (desde que não sejam filhos das genitoras selecionadas);
- iii. seleção das 10 melhores genitoras e dos 10 melhores machos no teste de progênes (com a mesma restrição anterior).

Tabela 4. Ganhos genéticos (gs) associados a diferentes combinações de números de fêmeas (f) e de machos (m) selecionados por local de experimentação, para constituir a população de produção e núcleo elite.

F	M	r_A	N_e	G_f	G_m	Gs	I.C.
1	1	0,645	2,0	0,470	0,435	0,453	0,225 - 0,681
3	4	0,645	6,9	0,404	0,391	0,398	0,275 - 0,521
10	10	0,645	20,0	0,323	0,365	0,344	0,271 - 0,417
Guarapuava							
1	1	0,840	2,0	0,385	0,494	0,439	0,314 - 0,564
3	4	0,840	6,9	0,329	0,439	0,384	0,317 - 0,451
10	10	0,840	20,0	0,256	0,404	0,330	0,291 - 0,369
Rio Azul							
1	1	0,630	2,0	0,220	0,230	0,225	0,107 - 0,343
3	4	0,630	6,9	0,189	0,200	0,195	0,132 - 0,258
10	10	0,630	20,0	0,151	0,188	0,169	0,132 - 0,206

r_A : acurácia seletiva média; N_e : tamanho efetivo; G_f , G_m : ganho com seleção de fêmeas e de machos, respectivamente; I.C.: intervalo de confiança do ganho com seleção com base no valor genético aditivo.

Evidenciou-se, com base nos resultados apresentados na Tabela 4 que, nos três locais, o pomar heptaclonal maximizou o limite inferior do intervalo de confiança do ganho em relação ao pomar biclonal, corroborando o resultado obtido através

de simulações por Resende et al. (1997). O pomar heptaclonal apresentou uma vantagem pequena, em termos de limite inferior do intervalo de confiança do ganho, em relação ao pomar de sementes clonal com 20 indivíduos, em Ivaí, e nenhuma vantagem, em Rio Azul.

As vantagens de utilizar-se um pomar clonal com 20 indivíduos na população de produção, refere-se ao maior tamanho efetivo obtido. Esse número também permite a realização de maior número de cruzamentos controlados (delineamentos de cruzamentos) neste nível da estrutura de populações, aumentando a eficiência do melhoramento.

A subpopulação principal seria constituída pelos indivíduos do pomar de sementes por mudas, como sugerido por Resende et al. (1997), entretanto, o número de indivíduos a ser selecionado é pequeno para os três locais, mesmo com restrição ($N_e = 50$) (Tabela 3). Tal procedimento pode dificultar os cruzamentos sob polinização aberta, em função da distância de migração do grão de pólen. Pode ser necessário, neste caso, a constituição de um pomar de sementes clonal, também para a subpopulação principal.

Segundo Resende et al. (1997), a população de conservação deveria ser estabelecida, selecionando-se o melhor indivíduo de cada família. A adoção desse procedimento tem como objetivo prevenir os efeitos adversos do BLUP em termos de diversidade genética, mantendo-se a viabilidade da estratégia de melhoramento no longo prazo.

Considerando a dioécia em erva-mate, poderia ser mantida uma mesma proporção de machos e fêmeas na população, amostrando um indivíduo por família para se atingir um tamanho efetivo igual ao número de famílias por local de experimentação, como demonstrado na Tabela 5. Uma outra alternativa seria a manutenção de um macho e uma fêmea por família, duplicando-se o número total de indivíduos amostrados e o tamanho efetivo.

Deve-se considerar que, com esse número de indivíduos (N na Tabela 5) nos pomares de sementes por mudas, poderiam ocorrer problemas de polinização. Sugere-se então manter um indivíduo por parcela e, realizar a colheita de sementes apenas da melhor fêmea de cada família (Tabela 5). Esse procedimento maximiza o tamanho efetivo.

Tabela 5. Número físico (n) de indivíduos selecionados; número de machos (n_m); número de fêmeas (n_f); número efetivo (n_e); número efetivo de famílias (n_{ef}) selecionadas; diversidade genética (d) e tamanho efetivo em relação à população original de referência (n_e') na população de conservação, supondo proporção de sexo 1:1.

Local	N	N_m	N_f	N_e	N_{ef}	D	N_e'
Ivaí	141	70	71	141	141	1	224
	282	141	141	282	141	1	374
	1410	705	141	470	141	1	509
Guarapuava	102	51	51	102	102	1	162
	204	102	102	204	102	1	269
	510	255	102	291	102	1	335
Rio Azul	156	78	78	156	156	1	247
	312	156	156	312	156	1	411
	780	390	156	445	156	1	512

Em termos de diversidade genética de famílias (D), verificou-se que foi mantida a diversidade máxima, ou seja, 100% da diversidade original. Quando se considerou o tamanho efetivo em relação à geração inicial de referência, verificou-se uma redução, já esperada, ao se amostrar um indivíduo por família. Mesmo assim, o tamanho efetivo estimado é considerável e, certamente, permitirá atingir o teto seletivo das populações, com reduzida endogamia.

Na estrutura proposta por Resende et al. (1997), em cada geração, indivíduos do núcleo poderão ser incorporados à subpopulação principal e vice-versa. A população de conservação fornecerá indivíduos à subpopulação principal e ao núcleo, mas não receberá indivíduos de qualquer uma delas. Evita-se assim o aumento da endogamia na população de conservação e, permite-se o monitoramento do parentesco na população principal e no núcleo elite.

4. CONCLUSÕES

A amostragem de populações, de famílias dentro de populações e indivíduos dentro de famílias está de acordo, em termos de tamanho efetivo, para constituição de populações base de melhoramento e de conservação de erva-mate.

A utilização de estrutura de populações, associada aos conceitos de tamanho efetivo, permitiu a elaboração de uma estratégia de melhoramento, para obtenção de ganhos com seleção a curto, médio e longo prazos em erva-mate.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

FRANKHAM, R. Conservation genetics. **Annual Review of Genetics**, Palo Alto, v. 29, p. 305-327, 1995.

HAMRICK, J. L. Distribution of genetic diversity in tropical tree populations: implications for the conservation of genetic resources. In: LAMBETH, C. C.; DVORAK, W. (Ed.) **Resolving tropical forest resource concerns through tree improvement gene conservation and domestication of new species**. Raleigh: North Carolina State University Press, 1992. p.74-82.

KAGEYAMA, P. Y.; DIAS, I. S. Aplicación de conceptos genéticos a espécies florestais nativas en Brasil. **Información sobre Recursos Genéticos Forestales**, Roma, v. 13, p. 2-10, 1985.

KANASHIRO, M. Genética e melhoramento de essências florestais nativas: aspectos conceituais e práticos. In: CONGRESSO NACIONAL SOBRE ESSÊNCIAS NATIVAS, 2., 1992, São Paulo. **Anais...** São Paulo: Instituto Florestal, 1992. p. 1168-1178.

KANG, H.; NIENSTAEDT, H. Managing long-term tree breeding stock. **Silvae Genetica**, Frankfurt, v. 36, n. 1, p. 30-39, 1987.

MAHALOVICH, M. F.; BRIDGEWATER, F. E. Modeling elite populations and positive assortative mating in recurrent selection programs for general combining ability. In: SOUTHERN FOREST TREE IMPROVEMENT CONFERENCE, 20., 1989, Charleston. **Proceedings...** Charleston: SFTIC, 1989. p. 43-49.

MEYER, K. **DFREML**: version 3.0b: user notes. Armidale: Institute of Animal Genetics of Edinburgh: Animal Genetics and Breeding Unit of the University of New England, 1998. 31 p.

NAMKOONG, G. A control concept of gene conservation. **Silvae Genetica**, Frankfurt, v. 33, n. 4/5, p. 160-163, 1984.

NAMKOONG, G.; KANG, H. C.; BROVARD, J. S. **Tree breeding**: principles and strategies. New York: Springer Verlag, 1989. 180 p.

RESENDE, M. D. V. de. **Predição de valores genéticos, componentes de variância, delineamentos de cruzamento e estrutura de populações no melhoramento florestal**. 1999. 420 f. Tese (Doutorado em Genética) – Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná, Curitiba.

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, 1990. p. 434-439.

RESENDE, M. D. V. de; STURION, J. A.; MENDES, S. **Genética e melhoramento da erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.)**. Curitiba: Embrapa-CNPQ, 1995. 33 p. (Embrapa-CNPQ. Documentos, 25).

RESENDE, M. D. V. de; BERTOLUCCI, F. L. G. Maximization of genetic gain with restriction on effective population size and inbreeding in *Eucalyptus grandis*. In: CRCTHF-IUFRO CONFERENCE HOBART, 1995, Hobart. **Eucalypt plantations: improving fibre yield and quality: proceedings**. Hobart: [s.n], 1995. p. 167-170.

RESENDE, M. D. V. de; STURION, J. A.; SIMEÃO, R. M. Estratégias para o melhoramento genético da erva-mate. In: CONGRESSO SUL-AMERICANO DA ERVA-MATE, 1.; REUNIÃO TÉCNICA DO CONE SUL SOBRE A CULTURA DA ERVA-MATE, 2., 1997, Curitiba. **Anais...** Colombo: Embrapa-CNPQ, 1997. p. 243-266. (Embrapa-CNPQ. Documentos, 33).

RESENDE, M. D. V. de; ROSA PEREZ, J. R. H. **Genética quantitativa e estatística no melhoramento animal**. Curitiba: Ed. da UFPR, 1999. 315 p.

RESENDE, M. D. V. de. **Predição de valores genéticos, componentes de variância, delineamentos de cruzamento e estrutura de populações no melhoramento florestal**. 1999. 420 f. Tese (Doutorado em Genética) – Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná, Curitiba.,

ROBERTSON, A. Inbreeding in artificial selection programmes. **Genetical Research**, Cambridge, v. 2, n. 40, p. 189-194, 1961.

VENCOVSKY, R. **Tamanho efetivo populacional na coleta e preservação de germoplasma de espécies alógamas**. Brasília: Embrapa-CENARGEN, 1986. 15 p. (Embrapa-CENARGEN. Boletim de Pesquisa, 1).

VENCOVSKY, R. Preservação e genética de populações. In: ENCONTRO SOBRE RECURSOS GENÉTICOS, 1988, Jaboticabal. **Anais...** Jaboticabal: Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias: Embrapa-CENARGEN, 1988. p. 67-74.

WINGE, H.; WOLLHEIM, C.; CAVALLI-MOLINA, S.; ASSMANN, E. N.; BASSANI, K. L. L.; AMARAL, M. B.; COELHO, G. C.; FREITAS-SACCHET, A. M. O.; BUTZKE, A.; VALDUGA, A. F.; MARIATH, J. E. A. Variabilidade genética em populações nativas de erva-mate e a implantação de bancos de germoplasma. In: WINGE, H.; FERREIRA, A. G.; MARIATH, J. E. A.; TARASCONI, L. C. (Org.). **Erva-mate: biologia e cultura no Cone Sul**. Porto Alegre: Ed. da UFRGS, 1995. p. 323-345.

