

CONDUÇÃO E UTILIZAÇÃO DE BANCOS DE CONSERVAÇÃO GENÉTICA DE ESPÉCIES DE EUCALIPTO

Marcos Deon Vilela de Resende

CNPF/EMBRAPA - Curitiba - Paraná - Brasil

Roland Vencovsky

Depto. Genética ESALQ/USP

Piracicaba - São Paulo - Brasil

RESUMO

Propõe-se uma metodologia de condução e utilização dos bancos de conservação genética de procedências de *Eucalyptus* spp., implantados pelo CNPF/EMBRAPA. Tal metodologia visa à manutenção e monitoramento da variabilidade genética através das gerações, bem como o fornecimento de material genético com determinado grau de melhoramento para serem utilizados nas populações de melhoramento e em programas de híbridos intraespecíficos. A manutenção e o monitoramento da variabilidade genética, através das gerações, deverão ser realizados aplicando-se o conceito de tamanho efetivo populacional e técnicas de genética quantitativa. O método a ser utilizado é apresentado com detalhes em suas várias fases, empregando-se derivações referentes ao tamanho efetivo em populações submetidas à seleção.

ABSTRACT

A methodology is proposed for the management and utilization of CNPF/EMBRAPA's gene conservation banks of *Eucalyptus* spp. provenances. The methodology aims to maintain and to control the genetic variability over generations. It also allows to achieve some degree of improvement of the germplasm to be used in main breeding populations and in intra-specific hybridization programs. The concept of effective population size and techniques of quantitative genetics are applied in the method. Details of the method, based on the derivations of effective size of populations submitted to selection are presented.

* Trabalho apresentado no 6.º Congresso Florestal Brasileiro, realizado em Campos do Jordão — São Paulo — Brasil, de 22 a 27 de setembro de 1990.

1 — INTRODUÇÃO

A redução da variabilidade genética é diretamente proporcional ao grau de melhoramento de uma determinada espécie. A uniformidade genética, decorrente desse elevado melhoramento e eficiência, conduz à vulnerabilidade do germoplasma a condições ambientais estressantes (temperatura, seca, salinidade, complexo de acidez do solo, etc.) e ao aparecimento de novas pragas e doenças. Assim, esforços devem ser somados visando a manutenção do patrimônio genético das espécies, como forma de garantir a utilização futura das mesmas.

Nas espécies florestais exóticas como as de *Eucalyptus*, grande parte do germoplasma nunca foi utilizada. A preservação de todo o germoplasma introduzido, paralelamente aos programas de melhoramento dessas espécies, torna-se então, uma prática altamente recomendada para os programas como o do Brasil. Segundo GULDAGER (1975), a maneira mais eficiente de garantir a obtenção de sementes melhoradas, a longo prazo, é a implantação de populações de base genética ampla para conservação *ex situ*, em países que possuam grandes programas de (re)florestamento.

Em função do exposto, um programa de conservação genética de espécies de *Eucalyptus* foi implantado pela EMBRAPA (SILVEIRA 1986). Tal programa se fundamenta em bancos de conservação, onde várias procedências de diversas espécies estão sendo mantidas individualizadas.

O método originalmente proposto prevê a conservação da variabilidade genética a longo prazo, sem o uso de seleção artificial (SILVEIRA 1986).

Por outro lado, a experiência tem mostrado que, quanto maior for o nível de melhoramento genético atingido por uma espécie, maiores serão as dificuldades práticas e restrições para o emprego de variabilidade genética adicional, por parte dos melhoristas. Isso ocorre, uma vez que a incorporação de material genético estranho, freqüentemente exótico, leva de imediato a um pioramento do material selecionado (PATERNIANI 1988).

Baseando-se nestes antecedentes, o presente trabalho propõe uma metodologia de condução e utilização desses bancos de conservação, visando além da manutenção e monitoramento da variabilidade genética, o fornecimento de material genético com algum grau de melhoramento para as populações em gerações avançadas de melhoramento bem como de indivíduos superiores a serem utilizados em programas de híbridos intraespecíficos.

2 — METODOLOGIA

2.1. Condução dos bancos de conservação através das gerações

De acordo com GULDAGER (1975), a conservação genética "*ex situ*" pode ser: a) estática, objetivando a conservação das freqüências genotípicas e/ou gênicas; b) evolucionária, possibilitando que as freqüências gênicas possam se alterar de acordo com as forças sele-

tivas e c) com seleção, onde as frequências gênicas podem ser alteradas propositalmente pelo homem, a fim de conservar características comercialmente importantes.

No programa de conservação genética de *Eucalyptus* implantado pelo CNPF/EMBRAPA, cada procedência foi instalada em diferentes locais sob a forma de populações repetidas, conforme conceito de BAKER & CURNOW (1969). Foi adotado, originalmente, o tipo b de GULDAGER (1975), ou seja, as procedências seriam mantidas intactas em seus locais por um período suficientemente longo para que as forças seletivas atuassem e, a partir daí, seriam coletadas sementes que provavelmente conteriam a maioria dos genes provenientes dos indivíduos mais aptos. As repetições foram adotadas como forma de garantir a preservação do material introduzido.

O presente trabalho é uma proposta de condução de cada uma dessas repetições dos bancos de conservação através de seleção, em cada avanço de geração, sobre características economicamente importantes. A estratégia prevê, inicialmente, a coleta de sementes de polinização aberta após florescimento abundante em cada banco, para preservação via sementes do material original já recombinado e posteriores seleções para avanço de geração. As sementes provenientes dos indivíduos selecionados nas diferentes repetições (locais), a cada duas gerações, serão reunidas para plantio da próxima geração em cada local. Tal estratégia é similar à de populações múltiplas apresentada por NAMKOONG (1984), em que uma população é sub-dividida em várias subpopulações, as quais sofrem em cada geração seleções recorrentes simples com posterior intercruzamento das subpopulações para gerar novas subpopulações.

Assim, em cada geração, os bancos de conservação serão instalados sob a forma de famílias de meios-irmãos repetidas em blocos com parcelas de uma planta. Deverão ser efetuadas seleções entre e dentro de famílias, sempre orientadas por um tamanho efetivo populacional razoável em relação à geração anterior, de forma a não haver perdas sérias de variabilidade em cada local. Os ambientes, sendo diferenciados, propiciarão diferentes pressões de seleção, conduzindo à seleção, de diferentes alelos de um ambiente para outro. Após a seleção as repetições passarão a ter diferentes frequências gênicas, de forma a constituírem amostras independentes de um mesmo germoplasma, conforme o conceito de VENCOVSKY (1988). A reunião e intercruzamento de material genético proveniente das diferentes repetições de um mesmo germoplasma, após a seleção, propiciará uma ampliação da base genética de tal germoplasma através da recombinação de alelos em diferentes frequências gênicas nas diversas repetições.

O procedimento de reunir amostras iguais em quantidade de sementes e independentes, de um mesmo germoplasma, é altamente recomendável, em termos de tamanho efetivo populacional. Segundo VENCOVSKY (1988), tomando-se A amostras com tamanhos efetivos arbitrários, N_{e1} , N_{e2} , N_{eR} , o tamanho efetivo da amostra composta (N_{et}), é dado por

$$N_{et} = \frac{R^2}{\sum_j \frac{1}{N_{ej}}} = RN_e; \text{ sendo:}$$

N_{ej} : tamanho efetivo de cada amostra;

N_e : média harmônica dos N_{ej} ;

j : 1, 2, ... R.

Tendo-se amostras com tamanho efetivo igual (N_e), todas com o mesmo número de sementes, o tamanho efetivo da amostra composta equivale a $N_{et} = RN_e$.

Assim, na reunião de amostras independentes de germoplasma comum, os tamanhos efetivos individuais se acumulam, sendo que a amostra composta terá tamanho efetivo maximizado quando os das amostras individuais forem iguais ou pelo menos semelhantes em magnitude, que é a situação do presente trabalho. Outra maneira de maximizar N_{et} é tomar quantidades de sementes de cada amostra proporcionais ao respectivo tamanho efetivo delas. Neste caso, tem-se que $N_{et} = \sum_j N_{ej}$.

A estratégia garantirá, assim, a preservação do germoplasma introduzido e um melhoramento gradual das procedências, permitindo, ainda, a seleção de indivíduos superiores em cada geração, os quais poderão ser injetados nas populações principais em gerações avançadas de melhoramento, bem como utilizados em programas de híbridos intraespecíficos. A instalação sob a forma de famílias permitirá que cada indivíduo seja caracterizado quando ao seu potencial genético através de informações a nível familiar e individual, conduzindo a uma utilização mais eficiente do germoplasma disponível.

2.2. Preservação do tamanho efetivo populacional

Do ponto de vista da genética de populações, a conservação da variabilidade genética deve ser fundamentada no conceito do tamanho efetivo populacional. Esse conceito foi introduzido por Sewal Wright e relaciona-se intimamente com a representatividade genética de amostras de sementes e plantas. Segundo VENCOVSKY (1987), tal conceito diz respeito à representatividade genética contida numa amostra, em relação à geração imediatamente anterior. Assim, o tamanho efetivo está relacionado ao tamanho genético da população e não ao número de indivíduos que a compõem. Na situação de um tamanho efetivo pequeno, poucos indivíduos participam efetivamente da geração de intercruzamento, levando à ocorrência de dois eventos: mudança aleatória das frequências gênicas (oscilação genética) e aumento da endogamia na subpopulação ou geração subsequente (FALCONER 1964). Assim, em programas de conservação genética, torna-se essencial o controle do tamanho efetivo populacional na passagem de gerações.

O tamanho efetivo populacional pode ser calculado basicamente de duas formas: em relação à geração imediatamente anterior (N_e) e em relação a uma geração

de referência (N_e) (CANTON 1988). O tamanho efetivo populacional, relativo à geração imediatamente anterior (N_e), pode assumir qualquer valor, porque está relacionado com o número de genótipos de uma determinada geração que efetivamente contribuem com gametas para a formação da geração seguinte. Por outro lado, o tamanho efetivo populacional de cada geração em relação à de referência (N_e), à medida que forem avançando as gerações de seleção, vai assumindo valores cada vez menores, pois refere-se à representatividade genética em relação à população inicial de referência. A redução no N_e ocorre mesmo que seja mantido constante o tamanho da amostra ao longo de gerações sem seleção e não haja perda do poder germinativo das sementes (VENCOVSKY 1988).

PEREIRA (1980) demonstrou que os tamanhos efetivos em relação aos ciclos imediatamente anteriores (N_e) são de maior importância para os programas de melhoramento a médio e a longo prazo, em termos de probabilidade de fixação dos alelos favoráveis. No presente trabalho deverá ser efetuado um acompanhamento rigoroso do tamanho efetivo populacional referente à geração imediatamente anterior (N_e). Os tamanhos efetivos populacionais deverão ser calculados desde a etapa inicial referente à amostragem nas populações naturais, na seguinte seqüência:

a) Amostragem inicial:

Na etapa de coleta de germoplasma foram amostradas por volta de 25 árvores por procedência (SILVEIRA 1986). A expressão do N_e para amostragem controlada (número igual ou aproximadamente igual de sementes por planta mãe) corresponde a (VENCOVSKY 1986):

$$N_e = \frac{n}{\frac{1}{4} \frac{n(1-u)}{F} + \frac{3}{4} \frac{n(1-v)}{M} + \frac{3}{4}}$$

em que:

- n : número de sementes coletadas;
- F : número de plantas-mãe, das quais as sementes foram tomadas;
- M : número de plantas polinizadoras;
- u : F/N , sendo N o número total de plantas da população de onde foram amostradas F para coleta de sementes. Em condições naturais, pode-se admitir N muito grande, de forma que u é praticamente nulo.
- v : M/N , valendo as mesmas considerações feitas para u. Apesar de M ser desconhecido, pode-se considerar $v = 0$ para amostragem em condições naturais.

Sendo M elevado, o termo $\frac{3}{4} \frac{n(1-v)}{M}$ tende a zero, de forma que

$$N_e = \frac{n}{\frac{n}{4F} + \frac{3}{4}}, \text{ equivalendo a aproximadamente } 4F \text{ para } n \text{ muito alto.}$$

A condição de número igual ou aproximadamente igual de sementes por planta mãe foi satisfeita, uma vez que as famílias foram instaladas com o mesmo número de indivíduos em cada local. Assim o tamanho efetivo relativo à população natural é de aproximadamente 100 para cada procedência.

b) Coleta de sementes nos bancos de conservação para armazenamento via sementes:

Neste caso, trata-se de amostragem em povoados pequenos, onde o número total de indivíduos é conhecido, podendo-se admitir N finito. Pode-se, também, considerar $M = N$, de modo que $v = 1$. Como N, em cada local, é igual a aproximadamente 2500 plantas, não serão coletadas sementes de todas as plantas de

modo que $u = \frac{F}{N}$. Uma vez que apenas uma fração

dos N indivíduos do povoamento contribui com gametas femininos para a formação da geração seguinte, deve-se utilizar o conceito de tamanho efetivo adaptado a populações submetidas à seleção artificial, conforme VENCOVSKY (1978). A expressão para determinação do N_e corresponde a (CROW & KIMURA 1970):

$$N_e = \frac{NK}{s^2 k (1+u) + (1-u)} \quad \text{onde:}$$

K: número médio de gametas contribuídos pelas plantas genitoras;

$$s^2 = \frac{N}{k(N-1)} \quad V_k: \text{variância do número de ga-}$$

metas contribuídos pelas plantas genitoras;

a: desvio da população de genitores em relação ao equilíbrio de Hardy-Weinberg;

Por sua vez, V_k equivale a (VENCOVSKY 1978):

$$V_k = u V_{ds} + u(1-u) d_s^2 + v V_{gs} + v(1-v) g_s^2 + 2u(1-v) d_s g_s; \text{ para } u \leq v$$

sendo:

V_{ds} : variância do número de gametas femininos contribuídos pelas F plantas tomadas para coleta de sementes;

V_{gs} : variância do número de gametas masculinos contribuídos pelas M plantas polinizadoras;

d_s : número médio de gametas femininos contribuídos pelas F plantas tomadas para coleta de sementes;

g_s : número médio de gametas masculinos contribuídos pelas M plantas polinizadoras.

Na presente situação, colhendo-se sementes aleatoriamente de 5 plantas em cada uma das 25 famílias, de forma a reconstituir a população de tamanho N tem-se:

$$\begin{aligned} u &= 0,05; & v &= 1,0; \\ g_s &= 1,0; & V_{gs} &= 0,99; \\ K &= 2,0; & d_s &= 20,00; \\ V_{ds} &= 19,84; & V_k &= 20,99 \end{aligned}$$

Considerando o equilíbrio de Hardy-Weinberg na população, antes da coleta de sementes, atinge-se um N_e aproximadamente igual a 435 em relação à população do banco de conservação.

Com controle gamético feminino, isto é, tomando-se número igual de sementes por planta mãe, tem-se $V_{ds} = 0$ e $N_e = 455$. Pelo exposto, observa-se que o controle gamético feminino não é muito compensador quando u é muito baixo. Assim, utilizando-se de qualquer uma das formas de coleta de sementes (com ou sem controle gamético feminino), verifica-se que, no armazenamento via sementes, é possível manter-se um elevado N_e , preservando-se quase que integralmente as amostragens realizadas nas populações naturais. Para comprovar isto, basta calcular o tamanho efetivo em relação à população natural (N_e), o qual é dado por (VENCOVSKY 1988):

$$\frac{1}{N_e} = \frac{1}{N_{e1}} + \frac{1}{N_{e2}}$$

em que N_{e1} é o tamanho efetivo referente à amostragem nas populações naturais (≈ 100) e N_{e2} referente à amostragem nos bancos de conservação para armazenamento via sementes. Com amostragem aleatória de sementes, N_e atingirá o valor de 81, ou seja, bastante próximo à N_{e1} .

O N_e , na realidade, deverá ser bem superior a 81, já que deverão ser reunidas sementes provenientes dos diferentes locais em que foi instalada cada procedência. Com $N_{e2} = 435$ em quatro locais uma amostra composta terá $N_e = 95$.

c) Avanço de gerações através de seleção:

A partir da fase descrita anteriormente, gerações serão avançadas através de seleção. Deverá ser adotado o método de seleção entre e dentro de famílias de meios-irmãos, sendo a seleção entre famílias nos dois sexos. A seleção dentro deverá ser realizada em um sexo apenas visando deixar um maior número de plantas polinizadoras para aumentar a taxa de recombinação. Uma vez que a seleção dentro deverá ser realizada com maior intensidade, a seleção nos dois sexos implicaria em desbaste de um número elevado de indivíduos de forma que poderia haver problemas na polinização.

Por outro lado, a seleção entre famílias deverá ser realizada com baixa intensidade. Conforme RAMALHO (1977) e CANTON (1988), este é um procedimento favorável em termos de tamanho efetivo, contribuindo para mantê-lo em níveis razoáveis através das gerações de seleção.

No primeiro avanço de geração deverão ser mantidas todas as famílias, praticando-se somente a seleção dentro de famílias. Deverão ser selecionados por volta de 3 indivíduos por família gerando 75 famílias que serão avaliadas no ciclo subsequente. Mantendo-se o mesmo tamanho populacional N , cada família deverá ser representada por 33 indivíduos, obtendo-se:

$$\begin{array}{ll} v = 1,0; & u = 0,03; \\ K = 2,0; & d_s = 33,0; \\ V_{ds} = 0,0; & V_{gs} = 0,99; \\ g_s = 1,0; & V_k = 33,33 \end{array}$$

Procedendo-se assim, no primeiro ciclo de seleção, atinge-se um N_e de aproximadamente 283, o qual é razoável, conforme será visto mais adiante.

Nas gerações subsequentes, com um maior número de famílias, deverão ser realizadas seleções também entre famílias. Essas contribuirão para maiores alterações nas frequências alélicas e, conseqüentemente, para maiores progressos. Das 75 famílias, selecionando por exemplo, 2 indivíduos das 40 famílias superiores e desbastando os indivíduos correspondentes às 35 famílias não selecionadas, mantendo N constante, obtém-se:

$$\begin{array}{ll} u = 0,032; & v = 0,53; \\ K = 2; & d_s = 31,0; \\ V_{ds} = 0,0; & V_{gs} = 0,99; \\ g_s = 1,89; & V_k = 33,44 \end{array}$$

Neste caso, $N_e = 282$, praticamente igual ao obtido na fase anterior.

Quanto ao tamanho efetivo ideal que se deve manter, ao longo das gerações, para minimizar o efeito da deriva genética, segundo VENCOVSKY (1987), este depende da segurança como que se quer, ou se pode, trabalhar. O intervalo de confiança associado às frequências alélicas no processo de amostragem pode ser usado visando inferir um tamanho efetivo razoável para preservar alelos que estão presentes na população em determinadas frequências. O mesmo é função do desvio-padrão das frequências dos alelos nas amostras, de valor $\sigma_p = [p(1-p)/(2N_e)]$, sendo p a frequência alélica na geração parental.

Com $p = 0,05$ e $2N_e = 150$, pela tabela de intervalos de confiança para proporções apresentado por STEEL & TORRIE (1960), constata-se que 95% das amostras conterão frequências alélicas entre 0,0211 e 0,0981 e 99% entre 0,0156 e 0,1150. Assim, com $N_e = 75$, pode-se inferir com segurança que estas frequências alélicas amostrais não atingirão o valor zero, o que representaria a perda do alelo.

De acordo com FALCONER (1964), NAM-KOONG (1982) e VENCOVSKY (1987), tamanhos efetivos na casa das centenas já produzem segurança razoável contra a perda de alelos por efeito de deriva genética. Os tamanhos efetivos referentes ao presente trabalho, calculados até aqui, estão de acordo com a recomendação desses autores. No entanto, como a estratégia prevê a reunião e inter cruzamento do material proveniente das seleções nos diferentes locais, visando alargamento da base genética, maiores pressões de seleção e menores N_e poderão ser utilizados. Deve-se, então, no decorrer das gerações, determinar um valor N_e adequado, que associe um bom progresso genético e a manutenção da variabilidade a longo prazo.

As seleções no decorrer das gerações, orientadas por um pedigree, são desejáveis como forma de evitar o incremento da endogamia na população. Entretanto, mantendo-se um N_e adequado (que permite a preservação da diversidade alélica), independentemente da genealogia, já se tem uma proteção segura contra tal efeito.

2.3. Monitoramento da variabilidade genética

O monitoramento da variabilidade genética no decorrer das gerações será realizado utilizando-se de técnicas de genética quantitativa. Deverão ser estimados parâmetros relacionados com a variabilidade genética e efeitos de seleção em alguns caracteres, os quais deverão ser comparados simultaneamente. Para tanto, serão utilizadas as estimativas dos seguintes parâmetros:

a) variância genética aditiva ajustada

Com o objetivo de eliminar a influência das variações do número de plantas por unidade de área, observadas nos ensaios de avaliação dos diferentes ciclos de seleção (diferentes gerações), as estimativas da variância genética aditiva deverão ser ajustadas para o estande final observado em cada geração, conforme utilizado por SUBANDI & COMPTON (1974) e CANTON (1988).

Visando contornar os problemas das variações de produtividade (DAP, volume, altura e etc.) observadas nas diferentes gerações, uma vez que as diferentes médias podem influenciar a estimativa de variância, a variância genética aditiva de cada geração deverá ser ajustada com base na média geral dos ensaios das gerações, conforme apresentado por GHINI & MIRANDA FILHO (1979) e CANTON (1988). Estes procedimentos facilitarão as comparações da variância genética aditiva estimada para os diversos ciclos de seleção.

b) coeficientes de herdabilidade

Os coeficientes de herdabilidade são proporções entre a variabilidade devida a causas genéticas e a variabilidade fenotípica total. Em se tratando de variâncias, ambas podem ser influenciadas pelas médias dos ensaios de forma que a relação entre elas poderá se manter constante nas diferentes gerações (a condição para que isso ocorra é que a variabilidade genética seja preservada e a precisão experimental seja mantida constante). Assim, para o monitoramento da variabilidade, deverão ser utilizados, também, os coeficientes de herdabilidade no sentido restrito, conforme realizado por CANTON (1988).

c) coeficiente de variação genética (b)

Segundo RAMALHO (1977), as estimativas do coeficiente de variação genética "b" são da maior importância porque representam melhor a variabilidade genética livre nos diversos ciclos de seleção uma vez que são independentes das diferenças do valor médio do caráter observadas em cada geração. Os coeficientes de variação genética serão calculados a cada geração através da relação:

$$b = \frac{\sigma_p}{y} \quad \text{onde: } \sigma_p: \text{ estimativa do desvio padrão genético entre progênies}$$

y: média do caráter

d) precisão das estimativas

Através dos desvios padrões das estimativas, deverá ser verificado se as variações nas estimativas da variância genética aditiva ajustada e dos coeficientes de herdabilidade nas diferentes gerações enquadram-se dentro dos erros das estimativas, ou seja, se essas variações podem ser atribuídas apenas a erros de estimativas. Os desvios padrões serão determinados de acordo com VELLO & VENCOVSKY (1974).

e) teste F

A significância do teste "F" relativo aos quadros médios de famílias, segundo SOUZA JÚNIOR (1983) é um indicativo de variabilidade genética. Assim, os testes "F" significativos ao mesmo nível de probabilidade indicam variabilidades genéticas similares. No entanto, para que essas comparações possam ser feitas, recomenda-se que haja pequenas variações no tamanho das parcelas (número de plantas) e no número de repetições entre os ensaios representativos dos diversos ciclos de seleção.

O estudo da evolução da variabilidade genética no decorrer das gerações será realizado através de uma avaliação conjunta do comportamento dos parâmetros supra descritos, através das gerações. Os tamanhos efetivos populacionais, referentes à geração imediatamente anterior (N_c), serão avaliados de forma a verificar se alguma redução na variabilidade genética poderá ser atribuída ao mesmo. Na ausência de qualquer redução da variabilidade, poder-se-á inferir que o tamanho efetivo populacional utilizado não comprometerá a preservação da mesma.

Alternativamente, este monitoramento de variabilidade poderá ser auxiliado mediante técnicas bioquímicas. Através da eletroforese de isoenzimas, poderá ser efetuado um acompanhamento das flutuações das frequências alélicas em determinados locos, através das gerações, conforme procedimento descrito por BROWN & MORAN (1981).

3 — CONSIDERAÇÕES FINAIS

A metodologia proposta representa um novo enfoque à conservação genética. Aplicando-se o conceito de tamanho efetivo populacional, a mesma permite, simultaneamente, a preservação da variabilidade genética e o melhoramento genético do germoplasma, tornando-o mais adaptado às condições brasileiras e, conseqüentemente, de uso imediato e eficiente por parte dos melhoristas.

A pressão de seleção, em cada geração, deverá ser ditada em função dos resultados experimentais, combinando as informações dos progressos genéticos a serem conseguidos para determinados N_c a serem mantidos. Para um N_c mantido constante, o progresso genético poderá ser aumentado, melhorando-se as técnicas experimentais.

A perfeita conservação, via sementes, de todo o material original introduzido é particularmente importante para o programa, como um todo. Assim, esforços são exigidos nesse sentido.

4 — REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BAKER, L.H. & CURNOW, R.N. Choice of population size of variation between replicate populations in plant breeding selection programs. *Crop. Science*. Madison, 9:555-60, 1969.

- BROW, A.H.D. & MORAN, G.F. Isozymes and the genetic resources of forest trees. In: SYMPOSIUM ON ISOSYMES OF NORTH AMERICAN FOREST TREES AND FOREST INSECTS, Berkeley, 1979. *Anais...* Berkeley, 1981, p. 1-10. 1979.
- CANTON, T. *Avaliação de oito ciclos de seleção recorrente na população de milho (Zea Mays L.)* Suwan D.M.R. Piracicaba. ESALQ, 1988. 112p. Tese Mestrado.
- CROW, J.F. & KIMURA, M. *An introduction to population genetics theory*. New York, Harper and Row, 1970. 591 p.
- FALCONER, D.S. *Introduction to quantitative genetics*. New York, Ronald Press, 1964. 365 p.
- GHINI, R. & MIRANDA FILHO, J.B. Herdabilidade da altura da planta e da espiga no segundo ciclo de seleção da população ESALQ-PB1 de milho. *Relatório Científico do Departamento de Genética*, Piracicaba, (13):130-7, 1979.
- GULDAGER, P. *Ex situ* conservation stands in the tropics. In: FAO, Roma, Itália. *The methodology of conservation of forest genetic resources*. Roma, 1975. 127 p.
- NAMKOONG, G. Methods of pollen sampling for gene conservation. In: FRANKLIN, E.C. *Pollen management handbook*. Washington, USDA. Forest Service, 1982. p. 74-76. (USDA, For. Ser. Agric. Handbook, 587).
- NAMKOONG, G. A control concept of gene conservation. *Silvae Genetica*, Frankfurt 33(4/5):160-3, 1984.
- PATERNIANI, E. Diversidade genética em plantas cultivadas. In: ENCONTRO SOBRE RECURSOS GENÉTICOS, Jaboticabal, 1988. *Anais...* Jaboticabal, FCAVJ/UNESP, 1988. p. 75-77.
- PEREIRA, M.B. *Progresso imediato e fixação de genes em um método de seleção*. Piracicaba, ESALQ, 1980. 125 p. Tese Mestrado.
- RAMALHO, M.A.P. *Eficiência relativa de alguns processos de seleção intrapopulacional no milho baseados em famílias não endógamas*. Piracicaba, ESALQ, 1977, 122 p. Tese Doutorado.
- SILVEIRA, R.A. Conservação genética "ex situ" de populações de espécies de *Eucalyptus* L'Her. *Silvicultura*, São Paulo, 41:89-94, 1986.
- SOUZA JUNIOR, C.L. *Variabilidade genética em milho (Zea mays, L.) e relações com a seleção recorrente intra e interpopulacional*. Piracicaba, ESALQ, 1983. 151 p. Tese Doutorado.
- STEEL, R.G.D. & TORRIE, J.H. *Principles and procedures of statistics*. New York, McGraw-Hill Book, 1960. 481 p.
- SUBANDI, W.A. & COMPTON, A. Genetic studies in an exotic population of corn (*Zea mays* L.) grown under two plant densities. *Theoretical and Applied Genetics*, Heidelberg, 44:153-9, 1974.
- VELLO, N.A. & VENCOVSKY, R. Variâncias associadas às estimativas de variâncias genéticas e coeficientes de herdabilidade. *Relatório Científico do Departamento de Genética*, Piracicaba, (8):238-48, 1974.
- VENCOVSKY, R. Effective size of monoecious populations submitted to artificial selection. *Revista Brasileira de Genética*, Ribeirão Preto, 1(3):181-191, 1978.
- VENCOVSKY, R. Amostragem genética em populações naturais. *Silvicultura*, São Paulo, 41:95-6, 1986.
- VENCOVSKY, R. Tamanho efetivo populacional na coleta e preservação de germoplasmas de espécies alógamas. *Revista do Instituto de Pesquisa e Estudos Florestais*, Piracicaba, 35:79-84, 1987.
- VENCOVSKY, R. Preservação e genética de populações. In: ENCONTRO SOBRE RECURSOS GENÉTICOS, Jaboticabal, 1988. *Anais...* Jaboticabal, FCAVJ/UNESP, 1988, p. 67-74.