

NÚMERO DE POPULAÇÕES PARA CONSERVAÇÃO GENÉTICA *IN SITU* DE ESPÉCIES ARBÓREAS*

Alexandre Magno SEBBENN**

RESUMO

Este trabalho determina o número necessário de populações para a conservação *in situ* de espécies arbóreas. As estimativas dos tamanhos amostrais foram calculadas com base em medidas probabilísticas, assumindo populações em Equilíbrio de Hardy-Weinberg - EHW. Foram consideradas diferentes frequências alélicas e suas proporções de ocorrência nas populações de uma espécie, como alelos comuns de ocorrência ampla, alelos comuns de ocorrência localizada, alelos raros de distribuição ampla e alelos raros localizados nas populações. A amostragem de alelos comuns ($q > 0,05$) de ocorrência ampla nas populações de uma espécie (ocorrem em pelo menos 25% das populações) depende, principalmente, da intensidade amostral adotada dentro das populações. Em populações em EHW, se 30 árvores forem mantidas em cada população, alelos comuns ($q > 0,05$) que ocorrem 50% a 75% das populações podem ser conservados, com 95% de probabilidade, em amostras de cinco a três populações, respectivamente. A amostragem de alelos comuns ($q > 0,05$) de ocorrência localizada (ocorrem em menos de 25% das populações) depende do número de populações e da intensidade amostral dentro das populações. Em populações em EHW, esses alelos podem ser retidos, com 95% de probabilidade, com a conservação de 14 populações, se pelo menos 30 indivíduos forem amostrados. Para conservar alelos muito raros ($p = 0,01$), de ocorrência localizada, por exemplo, que ocorrem em 20% das populações, são necessárias 32 populações.

Palavras-chave: amostragem de populações; espécies arbóreas; alelos raros; conservação genética; tamanho efetivo.

1 INTRODUÇÃO

As florestas são um reservatório imenso de matéria-prima para as indústrias madeireira, química e farmacêutica. A devastação florestal, decorrente da abertura de campos para a agropecuária e extração de madeira, vem ocasionando a extinção de espécies de reconhecido valor comercial (Kageyama & Dias, 1982; Nogueira *et al.*, 1986; Siqueira *et al.*, 1993). A importância econômica e social dessas florestas para a humanidade leva à necessidade de desenvolver estratégias para sua conservação. A conservação genética de uma espécie requer a preservação de

ABSTRACT

This work aims to recommend the population number for genetic conservation of forest tree species. Admitting populations in Hardy-Weinberg Equilibrium - HWE, sampling size estimations were calculated based on probabilistic measures. They were considered different allelic frequencies and their proportion of occurrences in populations of a species, at common, widespread alleles; common, local; rare, widespread, and rare, local. The sampling of the common alleles ($q > 0.05$) and wide occurrence in populations of species (occurring at least 25% of populations) depends on within populations sampling intensity. Five to three populations sampling in HWE can conserve, at 95% of probability, common alleles ($q > 0.05$) that occurring in 50% to 75% of populations of a species, if 30 individuals were maintained per population. Sampling of common alleles ($q > 0.05$) of restrict occurrence in populations (occurring in less 25% of populations) depends on number of populations sampled and sampling intensity within populations. Fourteen populations sampled can conserve these alleles, at 95% of probability, if 30 individuals were maintained per population. To conserve very rare alleles ($p = 0.01$), of localized occurrence, for example, occurring in 20% of populations, 32 populations are necessary.

Key words: sampling; forest tree species; rare alleles; genetic conservation; effective size.

amostras de várias populações com níveis mínimos de variabilidade genética que garantam sua sobrevivência em casos de mudanças ambientais, ataques de pragas e poluição. As florestas tropicais caracterizam-se pela alta diversidade de espécies arbóreas, sendo que cada espécie, em sua área de distribuição natural, é formada pelo conjunto de suas populações. Para conservar a variabilidade genética natural de essências florestais é necessário que o processo amostral considere sua distribuição geográfica total. Em espécies de ampla distribuição geográfica, o ideal é que a amostragem seja estratificada por ecorregiões, abrangendo todos os seus diferentes habitats.

(*) Aceito para publicação em junho de 2003.

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

A habilidade para amostrar um alelo depende de sua presença e frequência na população (Marshall & Brown, 1975; Brown & Hardner, 2000). A distribuição de um alelo pode ser descrita por duas variáveis: frequência e ocorrência. Em relação à frequência, os alelos podem ser divididos em comuns ($\geq 0,05$) e raros ($< 0,05$). Potencialmente, um loco em uma população pode manter muitos alelos. Contudo, o número de alelos comuns em um loco, em uma população, é usualmente menor do que quatro e os alelos remanescentes são raros. Em relação à ocorrência, os alelos podem ser categorizados como alelos amplamente dispersos ou localizados em poucas populações (Brown & Hardner, 2000). Adams (1981) definiu que qualquer alelo que ocorre em pelo menos 25% das populações é amplamente disperso e em menos de 25% é localizado. Essas duas classificações resultam em quatro classes conceituais de alelos: a) comuns, amplamente dispersos; b) comuns, locais; c) raros, amplamente dispersos, e d) raros, locais (Marshall & Brown, 1975; Brown & Hardner, 2000).

Das quatro classes, os alelos comuns amplamente dispersos são os mais fáceis de amostrar, sendo representados em tamanhos amostrais pequenos, independente da estratégia de coleta adotada. Os alelos que são comuns e localizados são mais difíceis de amostrar do que os da primeira classe porque dependem da divergência genética entre as populações e o número de populações passa a ser um fator importante no tamanho final da amostra. Esta classe de alelos deveria ser prioridade na amostragem porque, provavelmente, inclui alelos que conferem adaptação para condições específicas. Os alelos da terceira classe, ou alelos raros amplamente dispersos, ocorrem em muitas populações, portanto sua captura depende mais do tamanho final da amostra do que do número de populações amostradas. A última categoria, alelos raros e localizados, é a mais difícil de amostrar porque depende, simultaneamente, do número de indivíduos amostrados dentro das populações e do número de populações avaliadas (Brown & Hardner, 2000).

Essas quatro categorias de alelos representam diferentes objetivos de conservação e, para cada uma, diferentes número de populações e número de indivíduos por população podem ser requeridos. Assim, objetiva-se neste trabalho determinar o número de populações necessárias à conservação genética *in situ*, com base na frequência e proporção de ocorrência de um alelo-alvo nas populações de uma espécie.

2 MATERIAL E MÉTODOS

O número de populações necessárias para conservar uma espécie foi determinado assumindo populações em Equilíbrio de Hardy-Weinberg - EHW. Populações em EHW caracterizam-se por cruzamentos aleatórios, tamanho infinito, ausência de seleção, deriva genética e mutação e, por isso, as frequências gênicas e genotípicas não se alteram com o passar das gerações (Falconer, 1987; Caballero, 1994).

Em populações em EHW, a probabilidade (\hat{P}) de amostrar um alelo de determinada frequência (q), que ocorre com certa proporção (p) nas populações de uma espécie, quando S populações e n árvores/população são consideradas é, segundo Namkoong (1988):

$$\hat{P} = [(1 - p) + p(1 - q)^{2n}]^S \quad [1]$$

Assim, isolando-se S , obtém-se a expressão que determina o número de populações necessárias para reter um alelo de frequência q , que ocorre com frequência p , nas populações,

$$\hat{S} = \frac{\ln P}{\ln[(1 - p) + p(1 - q)^{2n}]} \quad [2]$$

O número de populações para a conservação genética *in situ* de uma espécie foi determinado simulando diversas frequência alélicas e proporção de ocorrência do alelo-alvo nas populações da espécie e assumindo que as populações encontram-se em EHW. A probabilidade (P) de 95% ($\alpha = 0,05$) foi adotada arbitrariamente como referência. Foram consideradas três frequências alélicas, alelos muito raros ($q = 0,01$), alelos raros ($q = 0,05$) e alelos comuns ($q > 0,05$), quatro tamanhos amostrais (n) intrapopulacionais, 15, 30, 50 e 100 e cinco proporções (p) de ocorrência dos alelos nas populações, 0,2, 0,25, 0,5, 0,75 e 1,0. Assim, para cada número de indivíduos amostrados dentro das populações estimou-se o número de populações necessárias para reter alelos de diferentes frequências que ocorrem com diferentes proporções nas populações de uma espécie. Por exemplo, quantas populações são necessárias conservar para reter, com 95% de probabilidade, um alelo de frequência 0,05, que ocorre em 50% das populações de uma espécie?

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Assumindo populações em EHW e a probabilidade de 95%, são apresentadas na TABELA 1 as estimativas do número de populações (\hat{S}) necessárias para reter as diferentes classes de alelos, que ocorrem em diferentes proporções nas populações de uma espécie qualquer.

Quanto maior o número de indivíduos (n) amostrados por população, menor tende a ser o número de populações necessárias para reter as diferentes classes de alelos. O aumento no esforço amostral de 15 para 50 indivíduos/população reduz, substancialmente, o número de populações a amostrar, especialmente no caso de alelos muito raros (0,01). Por exemplo, se o objetivo for amostrar alelos de frequência 0,01, que ocorrem em

25% das populações de uma espécie (amostragem de alelos raros, de ocorrência comum), se 15 árvores forem mantidas em cada população, será necessário conservar 45 populações, ou 17 populações, caso 50 árvores sejam mantidas por população, ou ainda, 13 populações quando 100 indivíduos por população são amostrados. No caso de alelos de frequência 0,05, que ocorrem igualmente em 25% das populações, o aumento no esforço amostral intrapopulacional de 15 para 30 indivíduos, reduz em 21,4% o número de populações a amostrar. Acima desse número de indivíduos, não se verifica nenhuma grande vantagem amostral na retenção do alelo. Portanto, justifica-se aumentar o tamanho amostral dentro das populações, somente em casos nos quais o objetivo é conservar alelos muito raros ($q = 0,01$).

TABELA 1 – Número de populações (\hat{S}) necessárias para amostrar, com 95% de probabilidade ($\alpha = 0,05$), um alelo de frequência q , que ocorre em p populações de uma espécie, quando são amostrados n (15, 30, 50 e 100) indivíduos/população.

p	$n = 15$			$n = 30$		
	$q = 0,01$	$q = 0,05$	$q > 0,05$	$q = 0,01$	$q = 0,05$	$q > 0,05$
0,20	56	18	17	32	15	14
0,25	45	14	13	25	11	11
0,50	22	6	6	12	5	5
0,75	14	4	3	8	3	3
1,00	10	2	2	5	1	1

p	$n = 50$			$n = 100$		
	$q = 0,01$	$q = 0,05$	$q > 0,05$	$q = 0,01$	$q = 0,05$	$q > 0,05$
0,20	23	14	14	16	14	14
0,25	18	11	11	13	11	11
0,50	8	5	5	6	5	5
0,75	5	3	3	3	3	3
1,00	3	1	1	2	1	1

Para conservar alelos comuns ($> 0,05$) de ocorrência localizada que, por exemplo, acontecem em 20% das populações, se 15 indivíduos/população forem mantidos, será necessário amostrar pelo menos 17 populações. Se o tamanho amostral for ampliado para 30 indivíduos/população, 14 populações já serão suficientes, e acima

deste número de indivíduos nenhum ganho na eficiência amostral é observado. Para o caso de alelos comuns ($q > 0,05$), de ocorrência ampla nas populações ($p \geq 0,25$), se o alelo ocorrer em 75% das populações e 30 indivíduos/população forem amostrados, três populações já serão suficientes para a sua conservação.

Alelos comuns de ocorrência localizada são importantes para a conservação de uma espécie porque, supostamente, garantem a adaptação à ambientes específicos, podendo ter grande valor em casos de mudanças ambientais bruscas ou mesmo como fonte de variabilidade genética para resistência ao ataque de pragas e doenças. A adoção dessa classe de alelos, como referência para determinar o número de populações para conservar uma espécie, como sugerida por Brown & Hardner (2000), implica em uma alta intensidade amostral, podendo garantir também a retenção de outras classes de alelos, como os alelos raros de ocorrência comum nas populações. Assim, sugere-se para a conservação genética *in situ* de uma espécie arbórea a preservação de pelo menos 14 populações para reter alelos de frequência 0,05, que ocorrem localizados nas populações de uma espécie.

Os resultados apresentados na TABELA 1 também evidenciam que o número de populações necessárias para a conservação genética depende, primeiro, da proporção de ocorrência dos alelos nas populações, segundo, da sua frequência alélica, e terceiro, do tamanho amostral retido em cada população. Por exemplo, considerando o caso do tamanho amostral de 15 indivíduos por população, o número de populações necessárias para reter um alelo de frequência 0,01, que ocorre em 20% ($p = 0,2$) das populações, é de 56. Se o alelo ocorrer em 100% das populações, ou seja, um aumento em 5 vezes na sua proporção de ocorrência, serão necessárias 10 populações, logo, o tamanho amostral é 82,1% menor. Considerando ainda, o caso do tamanho amostral de 15 indivíduos por população, para alelos que ocorrem em 100% ($p = 1,0$) das populações (situação de maior redução no tamanho amostral), a opção de utilizar como alelo-alvo um com frequência de 0,05, em vez de um alelo com frequência 0,01, reduz o tamanho amostral em 80% (10 para 2 populações), ou seja, reduz menos o tamanho amostral do que a frequência de ocorrência do alelo-alvo. Considerando agora o caso de um alelo de frequência 0,01 que ocorre em 20% das populações, aumentando o tamanho amostral de 15 para 75 indivíduos por população, ou seja, aumentando em 5 vezes o tamanho amostral (n), o número de populações necessário para reter o alelo cai de 56 para 27, portanto, reduz o número de populações a amostrar em apenas 51,7%.

Constatou-se que a conservação de 14 populações, garante com 95% de probabilidade, a retenção de uma simples cópia de um alelo de frequência 0,05, que ocorre localizado em 20% das populações de uma espécie. Mas, para que a espécie seja efetivamente conservada, é importante que cada população mantenha um certo potencial evolutivo próprio, que possa fazer frente às possíveis mudanças ambientais que, por ventura, venham ocorrer, bem como tenha um tamanho mínimo que garanta sua sobrevivência diante de pressões sistemáticas e perturbações estocásticas. Shaffer (1981) cita quatro origens de incertezas pelas quais uma população pode estar sujeita: *i*) estocasticidade demográfica, que surge de eventos probabilísticos da sobrevivência e sucesso reprodutivo de um número finito de indivíduos; *ii*) estocasticidade ambiental, devido à variação temporal de parâmetros do habitat e a população de competidores, predadores, parasitas e doenças; *iii*) catástrofes naturais, tais como dilúvios, fogos, seca, etc., que podem ocorrer em intervalos aleatórios de tempo, e *iv*) estocasticidade genética, resultante de mudanças nas frequências alélicas devido ao efeito fundador, fixação aleatória ou endogamia. Desses quatro fatores que podem levar uma população à extinção, apenas o último será discutido.

Se o tamanho das populações for muito pequeno (< 100), alelos e heterozigiosidade (variabilidade genética) podem ser perdidos, as frequências alélicas podem mudar de geração para geração (Frankel & Soulé, 1981; Ericksson, 1996) e a endogamia e a coancestria podem aumentar por deriva genética, com o passar das gerações (Lindgren *et al.*, 1996), podendo levar as populações à extinção. O potencial evolutivo intrapopulacional está diretamente associado ao tamanho efetivo de cada população (N_e). O tamanho efetivo é definido como o tamanho de uma população idealizada (população infinita, de cruzamentos aleatórios, onde a seleção, deriva genética, mutação e migração são excluídas) que teria a mesma quantidade de endogamia ou variância nas frequências alélicas que a população sob consideração (Kimura & Crow, 1963). Frankel & Soulé (1981) determinaram que, para uma população de cruzamentos aleatórios sem sobreposição de geração não perder alelos e heterozigiosidade, por deriva genética, a curto prazo (até 10 gerações), em locos com dois alelos, é necessário manter-se o tamanho efetivo na ordem de 50, por geração.

Se o objetivo for a conservação a longo prazo (100 gerações), segundo os autores, o tamanho das populações deve ser de 500. Esses valores têm sido criticados na literatura, por sua abordagem simplificada dos processos genéticos que podem ocorrer nas populações (Shaffer, 1981), e outros tamanhos têm sido sugeridos (Lande, 1995; Lynch, 1996; Yanchuk, 2001). Espécies arbóreas diferenciam da população ideal hipotetizada por vários aspectos; tais espécies muitas vezes admitem autofecundação e/ou reproduzem-se por misturas de cruzamentos aleatórios e biparentais, podendo as progênies comporem-se por misturas de irmãos de autofecundação, irmãos-completos e meios-irmãos (El-Kassaby & Jaquish, 1996; Mitton *et al.*, 1997; Ledig *et al.*, 1999; Burrows, 2000; Millar *et al.*, 2000; Sebbenn *et al.*, 2000; Butcher & Williams, 2002). O longo ciclo de vida dessas espécies permite que suas gerações se sobreponham e, aliado aos seus mecanismos de dispersão de sementes, próximas às matrizes, geram, algumas vezes, populações espacialmente estruturadas em famílias (Coles & Fowler, 1976; Chung *et al.*, 1999; Chung & Epperson, 2000; Giudice Neto & Kageyama, 2000; Epperson & Chung, 2001). Devido a essas características, Nunney & Campbell (1993) têm sugerido multiplicar os tamanhos efetivos de 50 e 500, determinado por Frankel & Soulé (1981), por duas a três vezes, o que corresponde ao tamanho efetivo de 100 a 150, para a conservação no curto prazo, e de 1.000 a 1.500, para a conservação no longo prazo. Estes últimos valores agregam-se ao tamanho efetivo de 1.000 definido por Lynch (1996) para manter o potencial adaptativo normal de uma população, para caracteres quantitativos sob efeito do balanço entre deriva genética e mutação, mas ainda são menores do que o tamanho efetivo de 5.000, determinado por Lande (1995), como necessário para manter por longo prazo uma alta variação genética nas populações de uma espécie.

Se as populações sob consideração encontram-se nas proporções do Equilíbrio de Hardy-Weinberg, o tamanho efetivo é igual ao número censo de indivíduos (N), pois não existe endogamia e nem parentesco; logo, 100, 150, 1.000 e 1.500 árvores adultas reprodutivas não endogâmicas e sem parentesco correspondem a igual tamanho efetivo. Mas, como anteriormente comentado, a sobreposição de gerações reduz o tamanho efetivo e 100, 150, 1.000 e 1.500 árvores podem, na prática, deter tamanho efetivo inferior a estes números.

Devido a isso, sugere-se como tamanho amostral para a conservação genética de alelos comuns ($q > 0,05$), de ocorrência localizada, a manutenção de pelo menos 14 populações de uma espécie arbórea, cada uma com pelo menos 150 árvores adultas reprodutivas, para conservação no curto prazo, e 1.500 árvores para conservação no longo prazo.

Uma das peculiaridades das espécies arbóreas é seu longo ciclo de vida que, em geral, dura de 20 a mais de 100 anos. Se tomarmos como referência uma espécie que vive 100 anos, e supondo que um indivíduo leve 20 anos para entrar em plena fase reprodutiva, portanto, no final de seu ciclo de vida, cinco gerações poderiam ter sido sobrepostas, 10 e 100 gerações correspondem a 200 e 2.000 anos, respectivamente.

É importante ressaltar que não basta conservar 14 populações localizadas em apenas uma pequena parte da distribuição natural da espécie sob consideração, porque se reduzem as chances de amostrar alelos adaptados às condições específicas de sua ocorrência. É necessário que as 14 populações sejam distribuídas de modo a cobrirem toda área de ocorrência da espécie, incluindo diferentes tipos climáticos, altitudinais e edáficos. Também, atenta-se para o fato de que este tamanho amostral é adequado às condições predefinidas nas estimativas, ou seja, que as populações encontram-se em Equilíbrio de Hardy-Weinberg e que o alvo da conservação é somente de uma cópia de um alelo raro de frequência 0,05. Desvios destes princípios devem requerer outros tamanhos amostrais.

4 CONCLUSÕES

1. O número de populações para reter alelos raros localizados depende, em primeiro lugar, da proporção de ocorrência dos alelos nas populações da espécie alvo da conservação, em segundo, da frequência do alelo-alvo da amostragem e, em terceiro, do tamanho amostral dentro de cada população.
2. Se as populações de uma espécie qualquer forem compostas por, pelo menos, 30 árvores e as frequências gênicas e genotípicas estiverem nas proporções do Equilíbrio de Hardy-Weinberg, alelos comuns ($q > 0,05$) de ocorrência localizada (ocorrem em 20% das populações) podem ser retidos em uma amostra de, pelo menos, 14 populações.

5 AGRADECIMENTOS

O autor é extremamente grato ao M.Sc. João Del Giudice Neto e ao Prof. Dr. Maurício Sadrez dos Reis pela leitura e valiosas correções e sugestões no prévio manuscrito deste trabalho. O autor também agradece à Assistente Técnica de Pesquisa Científica e Tecnológica Yara Cristina Marcondes, pela revisão do manuscrito.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADAMS, W. T. Population genetics and gene conservation in Pacific Northwest conifers. In: SCUDDER, G. G. E.; REVEAL, J. L. (Ed.). **Evolution today**. Pittsburgh: Carnegie-Mellon University, Hunt Institute for Botanical Documentation, 1981. p. 401-415. (Proceedings of the Second International Congress of Systematic Evolution Biology).
- BROWN, A. H. D.; HARDNER, C. M. Sampling the gene pools of forest trees for *ex situ* conservation. In: YOUNG, A.; BOSHIER, D.; BOYLE, T. (Ed.). **Forest conservation genetics: principles and practice**. Australia: CSIRO Publishing, 2000. 352 p.
- BURROWS, G. E. Seed production in woodland and isolated trees of *Eucalyptus melliodora* (yellow box, Myrtaceae) in the South Western slopes of New South Wales. **Australian Journal of Botany**, Melbourne, v. 48, p. 681-685, 2000.
- BUTCHER, P. A.; WILLIAMS, E. R. Variation in outcrossing rates and growth in *Eucalyptus camaldulensis* from the Petford Region, Queensland: evidence of outbreeding depression. **Silvae Genetica**, Frankfurt, v. 51, p. 65-72, 2002.
- CABALLERO, A. Developments in the prediction of effective population size. **Heredity**, Oxford, v. 73, p. 657-679, 1994.
- CHUNG, M. G.; CHUNG, J. M.; EPPERSON, B. K. Spatial structure of allozyme polymorphisms within populations of *Rhus trichocarpa* (Anacardiaceae). **Silvae Genetica**, Frankfurt, v. 48, n. 5, p. 223-227, 1999.
- _____.; EPPERSON, B. K. Spatial structure of allozyme polymorphisms in a populations of *Eurya japonica* (Theaceae). **Silvae Genetica**, Frankfurt, v. 49, n. 1, p. 1-4, 2000.
- COLES, J. F.; FOWLER, D. P. Inbreeding in neighboring trees in two White Spruce populations. **Silvae Genetica**, Frankfurt, v. 25, n. 1, p. 29-34, 1976.
- EL-KASSABY, Y. A.; JAQUISH, B. Population density and mating pattern in Western Larch. **Journal of Heredity**, Cary, v. 87, p. 438-443, 1996.
- EPPERSON, B. K.; CHUNG, M. G. Spatial genetic structure of allozyme polymorphisms within populations of *Pinus strobus* (Pinaceae). **American Journal of Botany**, Oklahoma, v. 88, n. 6, p. 1006-1010, 2001.
- ERIKSSON, G. A policy suggestion for conservation of Noble Hardwoods genetic resources in Sweden. In: TUTOCK, J. *et al.* **Noble Hardwoods network**. Rome: International Plant Genetic Resources Institute – IPIGRI, 1996. p. 147-154. (Report of the first meeting 24-27 March, 1966. Escherode, Germany).
- FALCONER, D. S. **Introdução à genética quantitativa**. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 1987. 279 p.
- FRANKEL, O. H.; SOULÉ, M. S. **Conservation and evolution**. Cambridge: Cambridge University Press, 1981. 327 p.
- GIUDICE NETO, J. D.; KAGEYAMA, P. Y. Estrutura genética espacial em populações naturais de *Machaerium villosum* Vog. (Leguminosae) na região de Moji-Guaçu, SP, Brasil. **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v. 23, n. 2, p. 207-215, 2000.
- KAGEYAMA, P. Y.; DIAS, I. de S. Aplicação da genética em espécies florestais nativas. In: CONGRESSO NACIONAL SOBRE ESSÊNCIAS NATIVAS, 1982, Campos do Jordão. **Anais...** São Paulo: UNIPRESS, 1982. p. 782-791. (Silvic. S. Paulo, São Paulo, v. 16-A, pt. 2, Edição especial).
- KIMURA, M.; CROW, J. F. The measurement of effective population number. **Evolution**, Lawrence, v. 17, p. 279-288, 1963.
- LANDE, R.; BARROCLOUGH, C. F. Effective populations size, genetic variation and their use in population management. In: SOULÉ, M. E. **Viable population for conservation**. Cambridge: Cambridge University Press, 1987. p. 87-123.

SEBBENN, A. M. Número de populações para conservação genética *in situ* de espécies arbóreas.

LANDE, R. Mutation and conservation. **Conservation Biology**, San Francisco, v. 9, p. 782-791, 1995.

LEDIG, F. T. *et al.* Evidence for an extreme bottleneck in a rare Mexican pinion genetic diversity, disequilibrium and the mating system in *Pinus maximartinezii*. **Evolution**, Lawrence, v. 53, n. 1, p. 91-99, 1999.

LINDGREN, D.; GEA, L.; JEFFERSON, P. Loss of genetic diversity by status number. **Silvae Genetica**, Frankfurt, v. 45, p. 52-59, 1996.

LYNCH, M. A quantitative-genetic perspective on conservation issues. In: AVISE J. C.; HAMRICK, J. L. **Conservation genetics: case studies from nature**. New York: Chapman & Hall, 1996. p. 471-501.

MARSHALL, D. R.; BROWN, A. H. D. 1975. Optimum sampling strategies in genetic conservation. In: FRANKEL, O. H.; HAWKES, J. G. (Ed.). **Crop genetic resources for today and tomorrow**. Cambridge: Cambridge University Press, 1975. p. 53-80.

MILLAR, M. A. *et al.* Mating system studies in jarrah, *Eucalyptus marginata* (Myrtaceae). **Australian Journal of Botany**, Melbourne, v. 48, p. 475-479, 2000.

MITTON, J. B.; LATTA, R. G.; REHFELDT, G. E. The pattern of inbreeding in washoe pine and survival of inbred progeny under optional environmental conditions. **Silvae Genetica**, Frankfurt, v. 46, n. 4, p. 215-219, 1997.

NAMKOONG, G. Sampling for germoplasm collections. **Hortscience**, Alexandria, v. 23, p. 79-81, 1988.

NOGUEIRA, J. C. *et al.* Estudo de Progênies e Procedências de *Pterogyne nitens* Tul. **Bol. Técn. IF**, São Paulo, v. 40-A, pt. 2, p. 357-366, 1986, Edição especial.

NUNNEY, L.; CAMPBELL, K. A. Assessing minimum viable population size: Demography meets population genetics. **Tree**, Victoria, v. 8, n. 7, p. 234-239, 1993.

SEBBENN, A. M. *et al.* Taxa de cruzamento em populações de *Cariniana legalis* (Mart.) O. Ktze.: implicações para a conservação e o melhoramento genético. **Scientia Forestalis**, Piracicaba, v. 58, p. 15-24, 2000.

SHAFFER, M. L. Minimum population sizes for species conservation. **Bioscience**, Baltimore, v. 31, n. 2, p. 131-134, 1981.

SIQUEIRA, A. C. M. de F.; NOGUEIRA, J. C. B.; KAGEYAMA, P. Y. Conservação de recursos genéticos *ex situ* de cumbaru (*Dipteryx alata*) Vog. Leguminosae. **Rev. Inst. Flor.**, São Paulo, v. 5, n. 2, p. 231-43, 1993.

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