

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PÓS-GRADUAÇÃO EM RECURSOS GENÉTICOS VEGETAIS**

Ricardo Bittencourt

**DISTRIBUIÇÃO DA DIVERSIDADE GENÉTICA E
ESTRATÉGIAS PARA CONSERVAÇÃO DE QUATRO
ESPÉCIES DA FLORESTA OMBRÓFILA MISTA AMEAÇADAS
NO ESTADO DE SANTA CATARINA**

Tese de Doutorado submetida ao Programa de Pós Graduação em Recursos Genéticos Vegetais da Universidade Federal de Santa Catarina para obtenção do título de doutor em Ciências - Área de concentração: Recursos Genéticos Vegetais.

Orientador: Prof. Dr. Maurício Sedrez dos Reis

Florianópolis
2012

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC.

Bittencourt, Ricardo
DISTRIBUIÇÃO DA DIVERSIDADE GENÉTICA E ESTRATÉGIAS PARA
CONSERVAÇÃO DE QUATRO ESPÉCIES DA FLORESTA OMBRÓFILA MISTA
AMEAÇADAS NO ESTADO DE SANTA CATARINA [tese] / Ricardo
Bittencourt ; orientador, Maurício Sedrez dos Reis -
Florianópolis, SC, 2011.
124 p. ; 21cm

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Santa
Catarina, Centro de Ciências Agrárias. Programa de Pós-
Graduação em Recursos Genéticos Vegetais.

Inclui referências

1. Recursos Genéticos Vegetais. 2. Espécies Ameaçadas de
Extinção. 3. Conservação in situ. 4. Diversidade Genética.
I. Reis, Maurício Sedrez dos. II. Universidade Federal de
Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação em Recursos
Genéticos Vegetais. III. Título.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a todos que, de alguma forma, auxiliaram-me na execução deste trabalho. Em especial:

Ao Prof. Dr. Maurício Sedrez dos Reis, pela orientação neste trabalho e pela dedicação despendida à minha formação profissional e pessoal;

Aos meus pais e irmãs, pelo amor, confiança e apoio em todos os momentos;

À Cristina Silva Sant'Anna, minha namorada, pela contribuição no trabalho e principalmente pelo carinho e incentivo;

Ao Prof. Dr. Adelar Mantovani e ao Dr. Alexandre Mariot, pela orientação, pelo incentivo dado durante a realização do trabalho e pela amizade;

Ao Prof. Dr. Alexandre Magno Sebbenn pela fundamental contribuição ao trabalho e pelas horas disponibilizadas para discussão;

Ao pessoal do Núcleo de Pesquisas em Florestas Tropicais (NPFT) pela cooperação, auxílio no campo, no laboratório e nas discussões;

Ao NPFT e ao Laboratório de Fisiologia do Desenvolvimento e Genética Vegetal (LFDGV) pela infraestrutura disponibilizada para o desenvolvimento deste trabalho;

Aos meus amigos, principalmente ao Felipe do Nascimento Vieira e Diogo Klock Ferreira pela amizade e pelo apoio;

Aos professores e colegas do Programa de Pós-Graduação em Recursos Genéticos Vegetais;

À Berna pela atenção e atendimento;

À FAPESC pelo apoio financeiro do Projeto Inventário Florístico-Florestal de Santa Catarina;

À CAPES pela concessão da bolsa e ao CNPq pelo apoio financeiro.

“Como não se pode propor o replantio da imbuia porque essa essência em 200 anos ainda não estaria em condições de suceder, para a indústria, os formidáveis e preciosos exemplares da sua espécie atualmente abatidos, o projeto para ela mantém o imposto criado, sem a vantagem que para as demais espécies proporciona. [...] Uma imbuia abatida e remetida para fora do Estado é um valor, como o do ouro, que jamais se reproduz na sua jazida.”

(Romário Martins, 1926)

RESUMO

A Mata Atlântica é, provavelmente, o ecossistema mais devastado e mais seriamente ameaçado do planeta, sendo reconhecido como um dos 25 Hotspots de biodiversidade do mundo. Em Santa Catarina as estimativas apontam que existe cerca de 22,4% de remanescentes de Mata Atlântica. Esse quadro de ameaça deve-se principalmente a forte pressão que as florestas tropicais têm sofrido devido ao processo de extrativismo e a substituição da cobertura vegetal original por áreas agrícolas e urbanizadas. Os remanescentes normalmente se encontram na forma de fragmentos de diferentes tamanhos e as populações presentes nestes podem apresentar uma redução do potencial evolutivo e sofrer incremento na taxa de extinção devido ao aumento da depressão endogâmica e perda de diversidade genética. Diante disso, o Governo do Estado de Santa Catarina incluiu nas Metas do Projeto Inventário Florístico Florestal de Santa Catarina (IFF-SC) a avaliação da diversidade genética de espécies da flora ameaçadas de extinção, visando maior fundamentação as estratégias de conservação que serão delineadas após a conclusão do Projeto. Assim, o presente trabalho apresenta os dados de diversidade e estrutura genética obtidos para quatro espécies da Floresta Ombrófila Mista do Estado de Santa Catarina e discute áreas prioritárias para conservação e elementos importantes para a elaboração de estratégias de conservação. Para a caracterização da diversidade genética foi utilizada a técnica de eletroforese de isoenzimas em gel de amido. Foram coletadas e genotipadas 86 populações naturais das quatro espécies elencadas para o trabalho, sendo 13 de *Ocotea porosa*, 31 de *Araucaria angustifolia*, 30 de *Dicksonia sellowiana* e 12 de *Podocarpos lambertii*. Foram encontrados níveis altos de diversidade genética para *A. angustifolia*, *D. sellowiana* e *O. porosa* e baixos para *P. lambertii*. Estes níveis de diversidade encontrados para as populações destas espécies, mostram grande potencial para conservação *in situ*, pois as populações possuem diversidade genética potencial para a continuidade do processo evolutivo. Os níveis de divergência genética encontrados entre as populações foram moderados para *A. angustifolia* e elevados para as outras espécies. As altas divergências genéticas encontradas em *D. sellowiana*, *O. porosa* e *P. lambertii* indicam que uma parte significativa da diversidade genética é encontrada entre as populações. Isso também indica falta de conectividade histórica entre as populações e também

pode ser reflexo da expansão da Floresta Ombrófila Mista sobre os campos. Em um enfoque de conservação *in situ*, fica clara a necessidade de estabelecimento de um grande número de populações das espécies estudadas para a conservação no longo prazo dos níveis de diversidade genética. Também é imprescindível medidas para aumentar a conectividade entre os remanescentes florestais, pois com o atual quadro de fragmentação e seus efeitos sobre as populações, o risco dessa divergência entre populações aumentar ainda mais é alto. Os resultados obtidos para as espécies avaliadas também apontam a necessidade de uma política estadual para a produção de mudas de espécies florestais nativas em função das altas divergências genéticas encontradas e da grande variação nos níveis de diversidade genética e nos índices de fixação para todas as espécies. É importante ressaltar que neste trabalho foram utilizados indivíduos adultos e os resultados obtidos são de acontecimentos históricos. Desse modo, os resultados obtidos são reflexos de eventos reprodutivos ocorridos, em alguns casos antes e em outros casos poucas décadas após, o início do processo exploratório de madeira e da terra. Levando isso em consideração além do atual quadro de conservação dos remanescentes florestais no estado, as gerações que estão sendo geradas atualmente tendem a apresentar um estado mais crítico do que os indivíduos adultos analisados. Diante disso, ressalta-se a importância da continuidade dos trabalhos com genética de populações das espécies ameaçadas no Estado de Santa Catarina.

ABSTRACT

The Atlantic Rain Forest (ARF) is probably the most devastated and seriously threatened ecosystem on Earth, and it is recognized as one of the 25 World Hotspot of Biodiversity. In Santa Catarina State, statistics show that there is about 22.4% of ARF remnants left. This level of threat is primarily due to the great pressure tropical forests have been suffering by means of the wood logging and the replacement of original vegetation for agricultural and urbanized areas. The remnants are usually in the form of fragments of different sizes and the remain populations inserted in them may have reduced evolutionary potential, which may facilitate the increment in the extinction rate due to the increase of the inbreeding depression and loss of genetic diversity. Thus, the Government of Santa Catarina supported the assessment of genetic diversity of threatened plant species in the scope of the project “Inventário Florístico Florestal de Santa Catarina (IFF-SC)”, with the aim of having a greater grounding in the conservation strategies that will be outlined after completion of the project. Hence, this Thesis presents the data on genetic structure and diversity obtained from four species of the “Floresta Ombrófila Mista” of the State of Santa Catarina, and discusses priority areas for conservation and important elements for drawing up conservation strategies. In order to characterize the genetic diversity, the allozymes electrophoresis in starch gel technique was used. Eighty-six natural populations of the four species chosen were collected and genotyped: 13 of *Ocotea porosa*, 31 of *Araucaria angustifolia*, 30 of *Dicksonia sellowiana*, and 12 of *Podocarpus lambertii*. We found high genetic diversity levels for *A. angustifolia*, *D. sellowiana* and *O. porosa* and low levels for *P. lambertii*. These levels of diversity found in the populations of these species show great potentiality for *in situ* conservation, because populations have potential genetic diversity for the continuity of the evolutionary process. The levels of genetic divergence found between the populations were moderate in *A. angustifolia*, and high in the other species. The high genetic divergences found in *D. sellowiana*, *O. porosa*, and *P. lambertii* indicate that a significant portion of the genetic diversity is found among populations. This also implies lack of historical connectivity among the populations, and it may also be the reflection of the expansion of the “Floresta Ombrófila Mista” over the “Campos”. Under the *in situ* long-term conservation approach, it is clearly necessary to establish a large number of populations of the studied species to conserve the current

levels of genetic diversity. It is also essential to take measures to increase the connectivity between the forest remnants, because with the current situation of fragmentation and its effects on populations, the risk of divergence between populations is even higher. The results obtained from the assessed species also point out the necessity for a state policy for producing seedlings of native forest species due to the high genetic divergences found, and the great variation in the levels of genetic diversity, and in the fixation indexes to all the species. It is important to emphasize that mature individuals were used in this study, and the results obtained reflect historical events. Therefore, the outcomes achieved are a result of reproductive events that happened, in some cases, before and, in other cases, a few decades after the beginning of the wood and land exploratory process. Taking this into consideration, besides the current situation for conservation of the remaining forest in the state, the generations that are currently being generated tend to have a more critical condition than the adult individuals analyzed. Consequently, the importance to keep working with population genetics of endangered species in the state of Santa Catarina must be highlighted.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1: Mapa do Estado de Santa Catarina com remanescentes florestais e as divisões das suas microrregiões. IFFSC, 2012. 42
- Figura 2: Mapa do Estado de Santa Catarina com remanescentes florestais e as divisões utilizadas das bacias hidrográficas . IFFSC, 2012. 43
- Figura 3: Locais de coleta de *Ocotea porosa* para a caracterização da diversidade e estrutura genética no Estado de Santa Catarina. UFSC, 2011. 50
- Figura 4: Dendrograma de distâncias genéticas de Nei (1972) e proporção de réplicas similares por reamostragem *bootstrap* (10.000 repetições) em cada nó para 13 populações de *Ocotea porosa* no Estado de Santa Catarina. UFSC, 2011. 59
- Figura 5: Correlação de Mantel entre o logaritmo natural da distância geográfica e o $F_{ST}/(1-F_{ST})$ par a par para 13 populações de *Ocotea porosa* no Estado de Santa Catarina. UFSC, 2011. 60
- Figura 6: Análise de Componentes Principais para os índices de diversidade genética e fixação para 11 populações naturais de *Ocotea porosa* no Estado de Santa Catarina. UFSC, 2011. 61
- Figura 7: Locais de coleta de *Araucaria angustifolia* para a caracterização da diversidade e estrutura genética no Estado de Santa Catarina. UFSC, 2011. 65
- Figura 8: Correlação de Mantel entre o logaritmo natural da distância geográfica e o $F_{ST}/(1-F_{ST})$ par a par para 31 populações de *Araucaria angustifolia* no Estado de Santa Catarina. UFSC, 2011. 79
- Figura 9: Dendrograma de distâncias genéticas de Nei (1972) e proporção de réplicas similares por reamostragem *bootstrap* (10.000 repetições) em cada nó para 31 populações de *Araucaria angustifolia* no Estado de Santa Catarina. UFSC, 2011. 80
- Figura 10: Análise de Componentes Principais para os índices de diversidade genética e fixação para 31 populações naturais de *Araucaria angustifolia* no Estado de Santa Catarina. UFSC, 2011. 81
- Figura 11: Locais de coleta de *Dicksonia sellowiana* para a caracterização da diversidade e estrutura genética no Estado de Santa Catarina. UFSC, 2011. 85
- Figura 12: Correlação de Mantel entre o logaritmo natural da distância geográfica e o $F_{ST}/(1-F_{ST})$ par a par para 30

populações de <i>Dicksonia sellowiana</i> no Estado de Santa Catarina. UFSC, 2011.	95
Figura 13: Dendrograma de distâncias genéticas de Nei (1972) e proporção de réplicas similares por reamostragem <i>bootstrap</i> (10.000 repetições) em cada nó para 30 populações de <i>Dicksonia sellowiana</i> no Estado de Santa Catarina. UFSC, 2011.	96
Figura 14: Análise de Componentes Principais para os índices de diversidade genética e fixação para 30 populações naturais de <i>Dicksonia sellowiana</i> no Estado de Santa Catarina. UFSC, 2011.	97
Figura 15: Locais de coleta de <i>Podocarpus lambertii</i> para a caracterização da diversidade e estrutura genética no Estado de Santa Catarina. UFSC, 2011.	100
Figura 16: Correlação de Mantel entre o logaritmo natural da distância geográfica e o $F_{ST}/(1-F_{ST})$ par a par para 12 populações de <i>Podocarpus lambertii</i> no Estado de Santa Catarina. UFSC, 2011.	107
Figura 17: Dendrograma de distâncias genéticas de Nei (1972) e proporção de réplicas similares por reamostragem <i>bootstrap</i> (10.000 repetições) em cada nó para 12 populações de <i>Podocarpus lambertii</i> no Estado de Santa Catarina. UFSC, 2011.	108
Figura 18: Análise de Componentes Principais para os índices de diversidade genética e fixação para 12 populações naturais de <i>Podocarpus lambertii</i> no Estado de Santa Catarina. UFSC, 2011.	109

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Sistemas isoenzimáticos testados, código e sigla das enzimas. Florianópolis, NPFT – UFSC, 2011.	45
Tabela 2: Número da Unidade Amostral de referência do IFF-SC, nome da população e características do fragmento onde foi realizada a coleta de 13 populações de <i>Ocotea porosa</i> . UFSC, 2011.	50
Tabela 3: Frequências alélicas de 15 locos alozímicos para 13 populações de <i>Ocotea porosa</i> avaliadas no Estado de Santa Catarina. UFSC, 2011.	51
Tabela 4: Índices de diversidade genética (n - tamanho amostral, P - porcentagem de locos polimórficos, A - número de alelos por loco, H_o - heterozigosidade observada, H_e - diversidade genética, f - índice de fixação, AR - número de alelos raros, AE - número de alelos exclusivos) para 13 populações, e suas respectivas microrregiões, de <i>Ocotea porosa</i> no Estado de Santa Catarina. UFSC, 2011.	53
Tabela 5: Tabela de índices F de Wright obtidos pelo método de variância (Weir & Cockerham, 1984) e G_{ST}' (Hedrick, 2005) para 13 populações de <i>Ocotea porosa</i> no Estado de Santa Catarina, por Microrregião e Bacia Hidrográfica. UFSC, 2011.	56
Tabela 6: Correlações entre os autovalores e os cinco primeiros componentes principais para <i>Ocotea porosa</i> . UFSC, 2011.	61
Tabela 7: Número da Unidade Amostral de referência do IFF-SC, nome da população e características do fragmento onde foi realizada a coleta de 31 populações de <i>Araucaria angustifolia</i> . UFSC, 2011.	66
Tabela 8: Frequências alélicas para 31 populações de <i>Araucaria angustifolia</i> avaliadas no Estado de Santa Catarina. UFSC, 2011.	67
Tabela 9: : Índices de diversidade genética (P - porcentagem de locos polimórficos, A - número de alelos por loco, AR - número de alelos efetivos, H_o - heterozigosidade observada, H_e - diversidade genética, f - índice de fixação, AR - número de alelos raros, AE - número de alelos exclusivos) para 31 populações, e suas respectivas microrregiões, de <i>Araucaria angustifolia</i> no Estado de Santa Catarina. UFSC, 2011.	73
Tabela 10: Tabela de índices F de Wright, obtidos pelo método de variância (Weir & Cockerham, 1984) e G_{ST}' (Hedrick, 2005) para 31 populações de <i>Araucaria angustifolia</i> no Estado de	

Santa Catarina, por Microrregião e Bacia Hidrográfica. UFSC, 2011.....	76
Tabela 11: Correlações entre os autovalores e os cinco primeiros componentes principais para <i>Araucaria angustifolia</i> . UFSC, 2011.....	82
Tabela 12: Número da Unidade Amostral de referência do IFF-SC, nome da população e características do fragmento onde foi realizada a coleta de 30 populações de <i>Dicksonia sellowiana</i> . UFSC, 2011.....	85
Tabela 13: Frequências alélicas para 30 populações de <i>Dicksonia sellowiana</i> avaliadas no Estado de Santa Catarina. UFSC, 2011.....	87
Tabela 14: : Índices de diversidade genética (n - tamanho amostral, P - porcentagem de locos polimórficos, A - número de alelos por loco, H_o - heterozigiosidade observada, H_e - diversidade genética, f - índice de fixação, AR- número de alelos raros) para 30 populações, e suas respectivas microrregiões, de <i>Dicksonia sellowiana</i> no Estado de Santa Catarina. UFSC, 2011.	90
Tabela 15: Tabela de índices F de Wright, obtidos pelo método de variância (Weir & Cockerham, 1984) e G_{ST}' (Hedrick, 2005) para 29 populações de <i>Dicksonia sellowiana</i> no Estado de Santa Catarina, por Microrregião e Bacia Hidrográfica. UFSC, 2011.	93
Tabela 16: Estimativa das estatísticas F de Wright de espécies de pteridófitas homosporadas.	94
Tabela 17: Correlações entre os autovalores e os cinco primeiros componentes principais para <i>Dicksonia sellowiana</i> . UFSC, 2011.....	98
Tabela 18: Número da Unidade Amostral de referência do IFF-SC, nome da população e características do fragmento onde foi realizada a coleta de 12 populações de <i>Podocarpus lambertii</i> . UFSC, 2011.....	101
Tabela 19: Frequências alélicas para 12 populações de <i>Podocarpus lambertii</i> avaliadas no Estado de Santa Catarina. UFSC, 2011.	102
Tabela 20: : Índices de diversidade genética (P - porcentagem de locos polimórficos, A - número de alelos por loco, H_o - heterozigiosidade observada, H_e - diversidade genética, f - índice de fixação, AR- número de alelos raros, AE- número de alelos exclusivos) para 12 populações, e suas respectivas microrregiões, de <i>Podocarpus lambertii</i> no Estado de Santa Catarina. UFSC, 2011.	103

Tabela 21: Tabela de índices F de Wright, obtidos pelo método de variância (Weir & Cockerham, 1984) e G_{ST}' (Hedrick, 2005) para 12 populações de <i>Podocarpus lambertii</i> no Estado de Santa Catarina, por Microrregião e Bacia Hidrográfica. UFSC, 2011.	105
Tabela 22: Correlações entre os autovalores e os cinco primeiros componentes principais para <i>Podocarpus lambertii</i> . UFSC, 2011.	110

SUMÁRIO

1.	Justificativa	19
2.	Objetivos	23
3.	Objetivos Específicos	23
4.	Revisão Bibliográfica.....	25
5.	Metodologia	35
5.1.	Espécies selecionadas.....	35
5.1.1.	<i>Ocotea porosa</i>	35
5.1.2.	<i>Araucaria angustifolia</i>	36
5.1.3.	<i>Dicksonia sellowiana</i>	38
5.1.4.	<i>Podocarpus lambertii</i>	40
5.2.	Amostragem	41
5.3.	Coleta.....	43
5.4.	Eletroforese de Isoenzimas	44
6.	Resultados e Discussão.....	49
6.1.	<i>Ocotea porosa</i>	49
6.2.	<i>Araucaria angustifolia</i>	65
6.3.	<i>Dicksonia sellowiana</i>	84
6.4.	<i>Podocarpus lambertii</i>	100
7.	Implicações para a Conservação	113
8.	Referências	119
9.	Anexos	133

1. JUSTIFICATIVA

Apesar do crescente interesse sobre a redução da biodiversidade em florestas tropicais e dos esforços locais e internacionais para encontrar soluções para esta questão, a taxa de desmatamento nos trópicos continua a aumentar levando a perda e fragmentação de habitats, principais causas da perda de biodiversidade (Bawa & Seidler, 1998; Aguilar *et al*., 2006).

No caso do Brasil, que possui a mais rica flora, com mais de 56.000 espécies e é considerado um país megadiverso, o “status” de conservação da Mata Atlântica, um dos Biomas de maior diversidade de espécies vegetais por área, é preocupante (Giulietti *et al*., 2005, Mittermeier *et al*., 2005).

A Mata Atlântica é um dos ecossistemas mais ameaçados do planeta, sendo reconhecido como um dos 25 Hotspots de biodiversidade do mundo (Myers *et al*., 2000). Apesar de ter grande parte de seus habitats drasticamente reduzidos, restando cerca de 17% da sua cobertura florestal original, a Mata Atlântica abriga mais de 8000 espécies endêmicas de plantas vasculares além de anfíbios, répteis, pássaros e mamíferos (Myers *et al*., 2000; Fundação SOS Mata Atlântica, 2010).

O Estado de Santa Catarina era, originalmente, totalmente coberto pela Mata Atlântica, sendo que dentro deste bioma, a área de domínio da Floresta Ombrófila Mista engloba 42,5% do território estadual. No estado as estimativas apontam que existe cerca de 22,4% de remanescentes de Mata Atlântica, o estado com o maior percentual de remanescentes, porém, Santa Catarina também é apontado como o estado com o maior índice de desflorestamento, cerca de 1,19% dos remanescentes foram perdidos de 2008 até 2010 (Fundação SOS Mata Atlântica, 2010).

Esse quadro de ameaça observado na Mata Atlântica deve-se principalmente à forte pressão que as florestas tropicais têm sofrido em sua estrutura e composição devido ao processo de extrativismo e a substituição da cobertura vegetal original por áreas agrícolas e urbanizadas (Reis *et al.*, 1992, Guerra *et al.*, 2002, Fundação SOS Mata Atlântica, 2010).

A substituição da floresta por atividades antrópicas, levando a redução do tamanho das populações, causa um gargalo genético devido ao fato que os indivíduos remanescentes contêm apenas uma pequena

amostra do *pool* gênico original. Com as populações permanecendo pequenas e isoladas umas das outras, a deriva genética passa a ter uma influência dominante na estrutura genética das mesmas, podendo levar a perda de variabilidade genética (Barret & Khon, 1991, Young & Brown, 1999).

Além disso, após a fragmentação há, em geral, uma redução no número de indivíduos reprodutivos, podendo levar a um aumento na taxa de cruzamento entre aparentados e, como resultado do isolamento ao qual as populações são submetidas após a fragmentação, pode haver uma grande redução do fluxo gênico entre estas (Dudash & Fenster, 2000, Barret & Khon, 1991). Considerando os processos que resultam da fragmentação, as populações presentes nos fragmentos podem apresentar uma redução do potencial evolutivo e sofrer incremento na taxa de extinção devido ao aumento da depressão endogâmica, perda de diversidade genética e maiores probabilidades de fixação de alelos deletérios quando comparados com a estrutura populacional pré-fragmentação (Dudash & Fenster, 2000; Frankham, 2005).

Dado o enorme impacto que a fragmentação pode ter na estrutura genética e nas dinâmicas ecológicas e evolutivas e, desse modo, na persistência das populações, é de fundamental importância que se faça uma integração das informações genéticas e de auto-ecologia na tentativa de definir estratégias efetivas de conservação, a fim de garantir a sobrevivência de espécies e populações a longo prazo (Clarke & Young, 2000, Thrall, Burdon & Murray, 2000). Do mesmo modo, Kageyama *et al.* (1998) julgam ser fundamental a junção de conceitos de ecologia e genética de populações de forma a orientar as ações a serem efetuadas e definir parâmetros adequados para o monitoramento das mesmas. Martins (1987) também afirma que os programas de conservação de recursos genéticos *in situ* devem levar em consideração as características genéticas e demográficas das espécies, tendo em vista que este tipo de conservação implica na possibilidade de evolução contínua, e desenvolvimento de novas estratégias adaptativas.

Levando em consideração a grande diversidade existente nos biomas tropicais, juntamente com as taxas de degradação e de fragmentação de habitats sofridas por estes e o conseqüente aumento dos riscos de extinção de populações e espécies, é imprescindível que conhecimento acerca dos efeitos da fragmentação, e conseqüentemente da redução do tamanho populacional e isolamento dos remanescentes, sejam gerados. Essa geração de conhecimento deve ser focada na

produção de informações que venham a auxiliar a criação de estratégias efetivas de conservação.

No caso das florestas tropicais, onde há alta diversidade de espécies, é praticamente impossível estudar todas elas do ponto de vista genético. Levando-se isso em consideração, a escolha das espécies a serem estudadas passa a ter cada vez mais importância. Desse modo, deve-se levar em conta para a seleção das espécies, aquelas com alta prioridade, como espécies ameaçadas de extinção, e/ou espécies-modelo que possam representar parte da comunidade de espécies florestais tropicais e cujos resultados possam ser extrapolados para espécies com características semelhantes (Kjær & Graudal, 2000, Kageyama *et al.* 2003).

Diante disso, o Governo do Estado de Santa Catarina incluiu nas Metas do Projeto Inventário Florístico Florestal de Santa Catarina (IFF-SC) a avaliação da diversidade genética de espécies da flora nativa ameaçadas de extinção, visando dar uma maior fundamentação às estratégias de conservação que serão delineadas após a conclusão do Projeto. Assim, o presente trabalho apresenta os dados de diversidade e estrutura genética obtidos para quatro espécies da Floresta Ombrófila Mista do Estado de Santa Catarina que foram elencadas para os estudos de caracterização da diversidade genética no Projeto IFF-SC, sendo elas: *Araucaria angustifolia* (Bertol.) Kuntze, *Ocotea porosa* (Nees et Martius ex Nees) Angely, *Dicksonia sellowiana* (Pres.) Hook. e *Podocarpus lambertii* Klotzsch ex Endl. A partir dos dados da caracterização da diversidade e estrutura genética de populações naturais destas espécies, são discutidas áreas prioritárias para conservação e elementos importantes para a elaboração de estratégias de conservação para as espécies.

2. OBJETIVOS

Caracterizar a diversidade e a estrutura genética de quatro espécies ameaçadas de extinção, buscando gerar informações úteis nas definições de estratégias de conservação para remanescentes florestais da Floresta Ombrófila Mista no Estado de Santa Catarina.

3. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- a) Caracterizar a diversidade e estrutura genética de populações naturais de *Araucaria angustifolia*, *Ocotea porosa*, *Dicksonia sellowiana* e *Podocarpus lambertii* em remanescentes florestais da Floresta Ombrófila Mista no estado de Santa Catarina e em suas microrregiões;
- b) Sugerir estratégias, indicadores e áreas prioritárias para a conservação a longo prazo de *Araucaria angustifolia*, *Ocotea porosa*, *Dicksonia sellowiana* e *Podocarpus lambertii* no estado de Santa Catarina.

4. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

A Mata Atlântica é a segunda maior floresta pluvial tropical do continente americano, que, originalmente, estendia-se de forma contínua ao longo do litoral brasileiro, penetrando até o leste do Paraguai e nordeste da Argentina em sua porção sul. Cobria, no passado, mais de 1,5 milhões de km² – sendo que 92% desta área situava-se no Brasil (Fundação SOS Mata Atlântica, 2010; GalindoLeal & Câmara, 2005). Este Bioma é um dos 25 hotspots de biodiversidade reconhecidos no mundo, áreas que perderam pelo menos 70% de sua cobertura original, mas que juntas abrigam mais de 60% de todas as espécies terrestres do planeta (Myers *et al*, 2000).

Dentro do estado de Santa Catarina, 42,5% de todo o território é ocupado pela Floresta Ombrófila Mista, uma das formações florestais da Mata Atlântica. A Floresta Ombrófila Mista é reconhecida como uma formação florestal com fisionomia marcada pela presença da *Araucaria angustifolia*, recebendo denominações diversas: floresta de pinheiros, pinhais, mata de araucária, entre outras. Atualmente emprega-se a terminologia Floresta Ombrófila Mista, proposta pelo IBGE, que é adequada a um sistema de classificação da vegetação intertropical (Guerra *et al* , 2002).

Segundo Guerra *et al* (2002), a origem do termo Floresta Ombrófila Mista vem, em parte, da mistura de duas floras distintas: a tropical afro-brasileira e a temperada austro-brasileira, cada qual com elementos característicos. Essa mistura ocorre devido a condições peculiares observadas no Planalto Meridional Brasileiro, onde fatores associados à latitude e às altitudes planálticas criam uma situação única na região Neotropical.

A Floresta Ombrófila Mista, ocupava até o final do século XIX cerca de 20 milhões de hectares, distribuídos pelos estados do Paraná (40%), Santa Catarina (31%), Rio Grande do Sul (25%) tendo algumas manchas esparsas no Sul de São Paulo (3%), internando-se até o Sul de Minas Gerais e Rio de Janeiro em áreas de altitude elevada (1%), além da província de Misiones, na Argentina . Essas áreas geralmente se localizam em altitudes entre 500 e 1200m nos planaltos do Sul e em altitudes ainda mais elevadas na Serra da Mantiqueira, onde as temperaturas baixas, associadas às condições de alta pluviosidade favorecem esse tipo de vegetação bastante peculiar (Guerra *et al*, 2002).

A presença *Araucaria angustifolia*, que sobressai acima da altura média do dossel da floresta, caracteriza a fitofisionomia que é inconfundível a essa formação florestal. Além da Araucária, espécies como a Imbuia (*Ocotea porosa*), a Canela lageana (*Ocotea pulchella*), a Erva mate (*Ilex paraguariensis*), o Butiá (*Butia eriospatha*), a Bracatinga (*Mimosa scabrella*), o Xaxim (*Dicksonia sellowiana*) e tantas outras contribuem para a caracterização dessa formação florestal (Castella & Britez, 2004).

Porém, a Mata Atlântica é, um dos ecossistemas mais devastados e mais seriamente ameaçados do planeta. É nesse hotspot em que o ritmo das mudanças está entre os mais rápidos, e, conseqüentemente, a necessidade de ações para conservação é mais urgente (GalindoLeal & Câmara, 2005). Restam, atualmente, cerca de 17% da cobertura original da Mata Atlântica no Brasil, Paraguai e Argentina, a maior parte distribuída em pequenos fragmentos, na sua maior parte em estágios iniciais e secundários de sucessão (Fundação SOS Mata Atlântica, 2010).

No Sul do Brasil, o extrativismo e expansão das fronteiras agrícolas tiveram auge entre 1915 e 1970. Entre 1915 e 1960, o Brasil exportou 18,5 bilhões de m³ de madeira, em sua quase totalidade das Florestas de Araucária (Koch & Correia, 2002). A devastação da Floresta Ombrófila Mista seguiu um ritmo semelhante por toda a sua área de ocorrência, tendo iniciado de forma lenta entre os séculos XVIII e XIX, para se intensificar durante a 1ª Guerra Mundial, quando os mercados nacional e internacional se viram privados do “pinho-de-riça”, madeira produzida na Europa, voltando-se então para o “pinheiro-brasileiro”. A exploração da araucária foi mais intensa a partir de 1934, atingindo seu auge no período de 1950 a 1970 (Carvalho, 2006).

No estado de Santa Catarina, segundo Nascimento (2009), no período de 1904 a 1942, a madeira foi o principal produto da exportação e a principal atividade econômica catarinense. Nesse período as necessidades doméstica do país, por madeira, e a demanda internacional com os desdobramentos da segunda guerra mundial, então em curso, impulsionaram uma frenética e gigantesca corrida pelo “ouro” da Serra Catarinense, já que as reservas de araucária do Rio Grande do Sul estavam se exaurindo, e o preço da madeira no mercado nacional e internacional havia sido valorizado sensivelmente. Goulart-Filho (2002) afirma que a evolução do valor exportado de madeira no estado de Santa Catarina entre os anos de 1915 e 1929 aumentou 22 vezes. A madeira chegou a representar mais de 20% do valor total das exportações do

início da década de 40 do Estado, gerando muitos empregos diretos e indiretos e possibilitando o “desenvolvimento” de muitos municípios (Thomé, 1995).

Goulart-Filho (2002) também defende que a exploração da madeira de araucária, da imbuia (*Ocotea porosa*) e de folhas de erva-mate, ocorrida no primeiro terço do século XX principalmente no Planalto Norte e no Oeste de Santa Catarina, teria financiado a implantação de parques industriais nas regiões atualmente conhecidas como as mais desenvolvidas do Estado. Já na década de 50, a madeira representou 50% do volume exportado no estado de Santa Catarina (Reitz *et al.*, 1978).

Em Santa Catarina, no ano de 1949, existiam 1547 estabelecimentos madeireiros e, em 1953, 2167 (Nascimento, 2009). Ainda, de acordo com o IBDF, existiam no Sul do Brasil em 1967, 3.247 estabelecimentos exportadores de pinho, que exportaram 1.053.900 m³ de madeira. Por outro lado, todas as outras serrarias exportadoras de madeira do país, incluindo as que existiam no Sul mas que trabalhavam exclusivamente com “outras madeiras”, exportaram apenas 73.828 m³. Desse montante, 10.401 m³ eram de Imbuia (Carvalho 2006).

Esse histórico de exploração ajuda a entender o atual quadro de conservação das florestas na região da Floresta Ombrófila Mista no Brasil, caracterizada hoje por fragmentos em estágios sucessionais iniciais.

O efeito mais claro desse processo de sobre-exploração e fragmentação é a perda de habitats. Adicionalmente a isso, a fragmentação resulta em três outros efeitos: aumento do número de fragmentos, diminuição do tamanho dos fragmentos e aumento no isolamento dos fragmentos (Fahrig, 2003). Esses efeitos podem provocar uma redução populacional a níveis tão baixos que culminam em extinção local de diversas espécies (Gaines *et al.*, 1997).

Fahrig (2003) afirma que os efeitos negativos da fragmentação são normalmente resultantes de duas causas principais. Primeiramente, a fragmentação implica em um maior número de fragmentos menores. Em determinado ponto, os fragmentos podem se tornar menores que o mínimo necessário para sustentar uma população ou um território. Espécies incapazes de atravessar a porção não florestal da paisagem (“matriz”) estarão confinadas em fragmentos pequenos demais, reduzindo seu tamanho populacional e provavelmente sua probabilidade

de persistência. A segunda causa principal dos efeitos negativos da fragmentação é o efeito de borda; paisagens mais fragmentadas possuem mais bordas por área de habitat. Dependendo da configuração espacial da fragmentação, a área de influência da borda poderá ser o componente dominante na matriz da paisagem. Os efeitos diretos da criação de bordas incluem distúrbios físicos na vegetação e no solo, mudanças em atributos abióticos como incidência de luz, aumento de temperatura e exposição ao vento e o aumento na entrada de organismos, material (pólen, sementes, poluentes) e energia (Harper *et al.* , 2005). Devido às mudanças bióticas e abióticas decorrentes do aumento do efeito de borda que acompanha a fragmentação, os remanescentes podem não conter habitats adequados para espécies de interior da floresta (Holsinger, 2000), resultando em uma mortalidade massiva de plantas (Oyama, 1993).

Juntamente com as mudanças ambientais, as interações com a fauna também podem ser drasticamente afetadas pelo processo de fragmentação. Esses ambientes não favorecem a dispersão e o estabelecimento da fauna, que é responsável pela maior parte do fluxo gênico entre populações de plantas. Populações pequenas podem ser insuficientemente atrativas para polinizadores e dispersores ou até mesmo podem não apresentar condições de manter populações viáveis dos mesmos (Santos, 1995; Holsinger, 2000). Uma série de relações intrínsecas e complexas que ocorrem entre sementes, seus agentes dispersores e predadores, também podem ser rompidas pelo processo de fragmentação e a destruição de habitats. A extinção local de aves e grandes mamíferos igualmente pode influenciar os padrões de distribuição e a estrutura populacional de plantas tropicais (Oyama, 1993).

O isolamento espacial e a redução das populações naturais também afetam negativamente o sucesso reprodutivo de muitas espécies arbóreas tropicais devido ao fato de que reduções no número de indivíduos de uma população podem diminuir o número de flores por unidade de área e podem afetar a fenologia reprodutiva das mesmas, assim como a eficiência e atividade dos polinizadores (Herrerías-Diego *et al.* , 2006).

Resultados de estudos empíricos mostram claramente que a fragmentação de habitats também traz conseqüências genéticas para populações de plantas. No entanto, estas conseqüências parecem ser mais variadas que as previstas por simples modelos de genética de populações (Young, Boyle & Brown, 1996). Estudos genéticos em

espécies representativas, tanto em florestas não perturbadas como em matas secundárias, que vêm mostrando esses efeitos da ação antrópica em suas populações, têm auxiliado na definição dos parâmetros genéticos mais adequados para orientar e monitorar as ações nesses ecossistemas (Kageyama *et al.*, 1998).

Oyama (1993) chama a atenção de que ações efetivas de conservação de florestas tropicais são limitadas, sendo que dois aspectos básicos da biologia populacional devem ser estudados para fundamentar essas ações, sendo eles a estrutura demográfica e a estrutura genética, para que sejam minimizados os prejuízos causados pela destruição e fragmentação das populações naturais, que tem levado à extinção de espécies. Clarke & Young (2000) também afirmam que ambas, a estrutura demográfica assim como a genética e suas interações, são importantes nos processos de extinção e somente pela integração destas duas áreas podemos buscar atingir estratégias efetivas de conservação e sobrevivência das espécies a longo prazo.

Segundo Valois *et al.* (1996), conservação é o conjunto de atividades e políticas que asseguram a contínua disponibilidade e existência de um recurso. Os autores também definem conservação *in situ* como a ação de conservar organismos em suas comunidades naturais. Desse modo, as populações destes organismos se mantêm sob influência direta das forças seletivas da natureza e, portanto, em contínua evolução e adaptação ao ambiente. Enquanto isso, a conservação *ex situ* é a ação de conservar a variação genética das espécies fora de suas comunidades naturais e desdobra-se em várias modalidades.

A degradação contínua dos recursos biológicos é de interesse majoritário, demandando a conservação da biodiversidade em todos os níveis (genes, espécies e ecossistemas). Contudo, a diversidade de espécies é normalmente o principal parâmetro considerado em programas de conservação (Geburek & Konrad, 2008). Diante disso, os mesmos autores afirmam que a diversidade genética, que é essencial para manutenção da adaptabilidade e do potencial evolutivo de uma população ou de uma espécie em um ambiente em constante transformação (Reed & Frankham, 2003), também deve ser levada em consideração. Por conseguinte, a conservação da diversidade genética de espécies arbóreas florestais, como componentes principais do ecossistema, merece atenção especial (Geburek & Konrad, 2008).

Como as mudanças sofridas atualmente pelo ambiente são cada vez maiores e mais abruptas, as populações têm sido forçadas ao limite e

cada vez mais adaptabilidade genética é exigida para a sobrevivência das espécies. Embora as espécies tropicais arbóreas apresentem várias estratégias para manter os altos níveis de variabilidade genética, a erosão da diversidade genética decorrente da fragmentação além ter significantes conseqüências evolutivas de longo prazo, é de interesse imediato visto que as mudanças genéticas afetam diretamente o valor adaptativo (*fitness*) individual e a viabilidade a curto-prazo dos remanescentes populacionais, podendo também levar espécies à extinção (Geburek, 1997).

Para plantas, os efeitos genéticos da fragmentação de habitats geralmente apresentam grande complexidade pelo hábito sésstil, diferenças de longevidade entre espécies, quantidade de gerações pós-fragmentação, abundância pré-fragmentação, grande variedade de sistemas reprodutivos sexuais e assexuais, a possibilidade de fluxo gênico por pólen e por semente, a possibilidade de conservar material genético como sementes e as interações com animais polinizadores e vetores de dispersão, que por si só são afetados pela fragmentação (Young, Boyle & Brown, 1996).

Estudos sugerem que a redução na diversidade genética pode afetar a estrutura demográfica suficientemente para ocasionar efeitos notáveis em nível populacional (Sherwin & Moritz, 2000). Porém a perda da diversidade genética em populações pequenas deve ser um sintoma e não a causa do risco. Ainda, nenhuma população pode sobreviver se cada vez menos indivíduos novos nascem em cada geração. Mesmo populações que aumentam a cada geração podem sofrer risco de extinção se sua taxa de crescimento varia substancialmente de um ano para o outro. A destruição de habitats é a causa principal do declínio de populações e a mais difícil de ser revertida. Devido às mudanças bióticas e abióticas decorrentes do aumento do efeito de borda que acompanha a fragmentação, os remanescentes podem não conter habitats adequados para abrigar uma população com um tamanho efetivo mínimo viável de espécies de interior da floresta (Holsinger, 2000).

O tamanho efetivo populacional comumente não é equivalente ao número de indivíduos em uma população. O motivo é que o número de indivíduos reprodutivamente ativos é raramente igual ao número total de indivíduos na população. Os fatores que causam essa disparidade incluem flutuações temporais no número de indivíduos, cruzamentos preferenciais, diferentes níveis de fertilidade, diferentes razões sexuais,

estrutura etária e fluxo gênico entre as populações (Barret & Khon, 1991).

Duas conseqüências genéticas do reduzido tamanho populacional são o aumento dos efeitos da endogamia e da deriva genética. A deriva genética é a mudança aleatória nas freqüências alélicas que ocorre quando os gametas transmitidos de uma geração para a próxima levam somente uma parte dos alelos presentes na geração parental. A deriva genética muda a distribuição da variabilidade genética de duas formas: a perda de variação de populações e o aumento da divergência genética entre populações. Toda população finita sofre efeitos de deriva genética, mas os efeitos se tornam mais pronunciados conforme o tamanho populacional diminui. (Ellstrand & Elam, 1993). Quando populações se tornam pequenas, a deriva genética pode levar a uma redução na variabilidade genética que pode ser medida de diferentes modos. Conforme alelos são perdidos, locos se tornam monomórficos e diferentes freqüências alélicas nos locos polimórficos remanescentes devem reduzir a heterozigosidade esperada. O isolamento dos indivíduos remanescentes, também pode levar a um a redução nos níveis de heterozigosidade observada e a aumentos na taxa de endogamia (Cole, 2003). De acordo com Young, Boyle & Brown (1996), a perda de variabilidade está normalmente ligada mais fortemente à formação de gargalos genéticos no momento da fragmentação e à subsequente endogamia nas populações pequenas, do que aos efeitos de contínua deriva genética. Essa perda de diversidade genética em populações pequenas é responsável pelo aumento no risco de extinção por afetar adversamente a capacidade das populações de evoluir frente às mudanças ambientais (potencial evolutivo) (Frankham, 2005).

A endogamia normalmente ocorre quando populações são pequenas ou quando elas apresentam estrutura genética espacial. A estrutura genética normalmente ocorre quando a dispersão de genes via pólen ou sementes é espacialmente restrita (Ellstrand & Elam, 1993). A fragmentação reduz o número de indivíduos reprodutivos em uma população e, conseqüentemente, os cruzamentos em populações fragmentadas normalmente se dão por auto-fecundação (se possível) e/ou por cruzamentos entre aparentados, resultando em uma progênie endogâmica. A continuidade de cruzamentos endogâmicos, associados ao pequeno tamanho populacional devem resultar na perda de diversidade genética intrapopulacional, aumentando a homozigose nas populações (Ellstrand & Elam, 1993, Dudash & Fenster, 2000). Em populações que sofrerão endogamia contínua, a freqüência dos

heterozigotos tende a se aproximar de zero (Ellstrand & Elam, 1993). Em plantas alógamas, que são a maioria nas florestas tropicais, a endogamia pode originar a depressão endogâmica, que é a expressão dos genes deletérios em estado de homozigose, caracterizada pela redução da fertilidade, viabilidade das sementes, vigor e adaptabilidade (Allard, 1971). Dudash & Fenster (2000) reforçam que, na tentativa de determinar as conseqüências da fragmentação na viabilidade populacional, pesquisadores que planejam investigar a depressão endogâmica devem quantificar seus efeitos no maior número de estágios da vida possível, verificando desse modo como a população está reagindo ao longo das gerações a continuidade dos cruzamentos endogâmicos.

Para melhor compreender as causas e conseqüências dos processos genéticos e demográficos em nível intra-populacional, é necessário levar em conta as demes vizinhas por causa do fluxo gênico. Enquanto a fragmentação tem certamente contribuído para aumentar as taxas de extinção em populações pequenas, a teoria de metapopulações nos diz que mesmo em sistemas fragmentados muitas espécies apresentam a habilidade de persistência a longo prazo se há conectividade entre os fragmentos (Thrall, Burdon & Murray, 2000). O fluxo gênico em plantas é o movimento efetivo de genes entre populações por cruzamentos ou por migração de propágulos. O fluxo gênico age homogeneizando a estrutura populacional, atuando contra os efeitos de deriva, endogamia e seleção. A importância do fluxo gênico deve aumentar conforme diminui o tamanho da população (Ellstrand & Elam, 1993; Ellstrand, 1992). Herrerías-Diego *et al* (2006) reforçam a importância de populações perturbadas como “stepping stones” para o fluxo gênico entre os fragmentos florestais e habitats não perturbados.

Segundo Reis (1996), a integração das informações relativas em níveis de diversidade, distribuição da variabilidade, taxa de cruzamento e fluxo gênico obtidas em diferentes populações (espaço) e em diferentes anos (tempo) permite uma caracterização efetiva da movimentação dos alelos em populações naturais. Tal caracterização mostra-se mais adequada para o estabelecimento de estratégias de conservação e/ou manejo de populações naturais em plantas, uma vez que permitem projeções mais realistas de eventos no espaço e no tempo (Reis, 1996).

O entendimento do modo como a variabilidade genética está distribuída entre as populações é de importância primária para a conservação da diversidade genética (e conseqüentemente do potencial

evolutivo) das espécies (Hamrick & Godt, 1989). Uma das principais metas nos programas de conservação, adicionalmente a preservação de habitats, é a manutenção dos níveis existentes de diversidade genética em espécies raras, ameaçadas ou que estão inseridas em biomas ameaçados. A perda da variabilidade tende a reduzir a habilidade das populações de se adaptarem às mudanças ambientais e aumentar a sua susceptibilidade a pressões de pestes e doenças (Barret & Khon, 1991). Os estudos baseados em marcadores alozímicos fornecem dados cruciais para o estabelecimento de estratégias que visam a preservação da diversidade genética (Hamrick & Godt, 1989).

Tendo começado no final da década de 60, a aplicação da eletroforese para caracterizar a variação genética em locos enzimáticos iniciou uma explosão de estudos com populações naturais. Desde então, os marcadores alozímicos têm sido uma grande fonte de informação a respeito da diversidade genética em populações naturais (Hamrick e Godt 1989). Esses dados podem ser utilizados para melhor compreender a dinâmica dos alelos nas populações de uma determinada espécie, fornecendo subsídios para o maior entendimento dos processos microevolutivos que estão atuando na diferenciação destas populações (Reis 1996).

Os locos alozímicos são ferramentas eficientes para estudos de diversidade genética por apresentarem herança mendeliana, expressão codominante (heterozigotos podem ser identificados diretamente), completa penetrância e ausência de interações pleiotrópicas e epistáticas (Weeden & Wendel, 1990; Berg & Hamrick, 1997). Através destes é possível estimar parâmetros tais como frequências alélicas, diversidade genética intrapopulacional, índices de fixação (F_{IS} , F_{ST} , F_{IT}), entre outros, com um esforço relativamente pequeno (Reis, 1996).

Outra característica importante destes estudos é o fato de que os marcadores alozímicos são considerados neutros do ponto de vista evolutivo, sendo este um pressuposto básico em algumas análises de divergência entre populações, apesar da controvérsia existente sobre a neutralidade de alguns sistemas enzimáticos (Sunnucks, 2000).

Segundo Hedrick (1999), até o fim do século passado as isoenzimas foram os principais marcadores genéticos utilizados em estudos populacionais. Porém, o número de marcadores moleculares cresceu significativamente nos últimos anos e os marcadores microsatélites são atualmente a ferramenta mais popular nos trabalhos de genética de populações (Conte *et al* ., 2008). Apesar disso, os marcadores isoenzimáticos continuam sendo amplamente utilizados

(Cuevas *et al.* , 2006; Haag *et al.* , 2006; Mantovani *et al.* , 2006; Mathiasen *et al.* , 2007; Quiroga & Premoli, 2007; Ruiz *et al.* , 2007; Albaladejo *et al.* , 2009; Quiroga & Premoli, 2010; Tarazi *et al.* , 2010; Hmeljevski *et al.* , 2011).

5. METODOLOGIA

5.1. ESPÉCIES SELECIONADAS

5.1.1. *Ocotea porosa* .

A *Ocotea porosa* (Nees et Martius ex Nees) Angely (Lauraceae), conhecida popularmente como imbuia, é a espécie arbórea símbolo do estado de Santa Catarina, assim reconhecida pela Lei Estadual n.4.984, de 07/12/1983. É uma árvore que comumente atinge 15 a 20 metros de altura com diâmetro a altura do peito (DAP) entre 50 a 150 cm (Reitz *et al.* , 1978), podendo atingir 320 cm ou mais de DAP (Carvalho, 1994). Segundo Inoue *et al.* (1984), a espécie apresenta troncos geralmente grossos e inclinados com ramificação pesada a baixa altura (entre 3 e 6 metros), formando copa ampla e alta, ocupando o dossel superior da floresta. Sua folhagem é pouco densa, apresentando coloração verde-clara muito característica. As folhas são simples, alternas, inteiras e oblongo-lanceoladas, comumente medindo 6 – 10 cm de comprimento por 1,5 – 2 cm de largura.

Possui inflorescências em racemos simples ou subracemosos, com 2 -4 cm. As flores são hermafroditas, amareladas e pequenas, florescendo no estado de Santa Catarina principalmente durante os meses de outubro a dezembro (Reitz *et al.* , 1978). No Estado do Paraná o florescimento ocorre principalmente entre outubro e novembro e a ocorrência de frutos maduros a partir de fevereiro. Os frutos gerados são do tipo baga globosa de 13 a 17 mm de diâmetro com superfície parda e alveolada (Reitz *et al.* , 1978). Segundo Carvalho (1994) é, possivelmente, a espécie mais longeva da “mata de araucária”, podendo ultrapassar os 500 anos.

Ocorre do estado de São Paulo ao Rio Grande do Sul (Rizzini, 1971), em áreas de tipologia florestal típica da Floresta Ombrófila Mista. Apresenta uma frequência elevada em virtude de sua distribuição bastante uniforme através das diversas condições climáticas. Nas sub-matas dos pinhais constitui a árvore mais abundante, tendo sido encontradas comumente 6 a 20 imbuias bem desenvolvidas por hectare (Reitz *et al.* , 1978). Inoue *et al.* (1984) classificaram a imbuia como a segunda espécie em volume de madeira explorada em função da grande quantidade existente e dos grandes diâmetros dos seus troncos. Estes mesmos autores relataram a ocorrência de grande frequência de tocos

carbonizados em campos e capoeiras abandonados, cuja madeira não foi aproveitada, sendo criminosamente queimados após a derrubada da floresta, tal era a abundância das imbuías.

A espécie possui intensa regeneração natural no interior da floresta, justificada pela sua abundante frutificação. As mudas novas desenvolvem-se satisfatoriamente no ambiente pouco iluminado, porém, são poucos os indivíduos que sobrevivem, pois é raro encontrar indivíduos maiores (acima de 1 metro), o que indica uma possível mudança de comportamento com relação à luminosidade (Inoue *et al.* , 1984).

A madeira proveniente da imbuía é moderadamente pesada, de coloração muito variável, indo do pardo-claro-amarelo ao pardo-escuro-avermelhado, geralmente com veios paralelos finos de manchas escuras ou ainda onduladas. Sua superfície é irregularmente lustrosa e lisa. Possui odor característico, resinoso e agradável e sua durabilidade natural é alta (Reitz *et al.* , 1978).

Pela sua durabilidade e sobretudo pela beleza de sua madeira foi, depois do pinheiro-do-paraná, a espécie mais procurada e transformada pela indústria, principalmente para a fabricação de móveis finos e de luxo (Backes & Irgang, 2002). Devido a abundância de indivíduos de grandes dimensões era muito empregada na construção civil, em pontes, dormentes, assoalhos e móveis rústicos (Inoue *et al.* , 1984).

Devido à essa procura e à intensa exploração predatória, a imbuía consta da Lista Oficial de Espécies da Flora Brasileira Ameaçadas de Extinção (IN 06/MMA/2008) que inclui aquelas espécies com alto risco de desaparecimento na natureza em futuro próximo, assim reconhecidas pelo Ministério do Meio Ambiente, com base em documentação científica disponível. A espécie também foi indicada no II Workshop sobre Espécies Vegetais Ameaçadas de Extinção em Santa Catarina (realizado em 6 e 7 de outubro/2011) na categoria “em perigo crítico – CR”.

5.1.2. *Araucaria angustifolia*

A espécie *Araucaria angustifolia* (Bertol.) Kuntze pertence a família Araucariaceae e é conhecida popularmente como Araucária, pinho, pinheiro do Paraná, além dos nomes indígenas de Curri ou Curi e Curiúva dentre outros nomes. O gênero *Araucaria* conta com 19

espécies somente no hemisfério sul, das quais duas são oriundas da América do Sul e o restante da Oceania (Setoguchi *et al.* 1998 Guerra *et al.*, 2002). É uma espécie arbórea que alcança entre 20 e 50 m de altura, 1-2 m ou mais de diâmetro, o tronco é cilíndrico, com casca de até 15 cm. As árvores novas apresentam copa cônica e as velhas copa em forma de umbela terminal. É dióica, com raros casos de plantas monóicas, por trauma ou doença, com flores unissexuadas (Reitz & Klein, 1966). Já constituiu o principal item da economia florestal do país. Além da madeira essa espécie produz resina e o pinhão para a alimentação humana e fauna nativa (Reitz *et al.*, 1978).

A espécie é componente marcante da fitofisionomia da Floresta Ombrófila Mista, que se estende pelo Planalto Meridional Brasileiro, formando povoamentos puros ou mistos com espécies folhosas e, por vezes, separados por extensões variadas de campos naturais (Reitz & Klein 1966). Sua área de ocorrência mais concentrada ocupava cerca de 20 milhões de ha, principalmente nos estados do Paraná (40%), Santa Catarina (31%) e Rio Grande do Sul (25%), com manchas esparsas em São Paulo (3%), internando-se até o Sul de Minas Gerais e Rio de Janeiro, em áreas de altitude elevadas (1%). Relato de Ruschi (1950) indica como área de ocorrência a Serra do Caparaó no Espírito Santo, a 1700m de altitude, com uma pequena população. Fora do Brasil ocorre a leste da Província de Misiones na Argentina e no leste do Paraguai, no Alto Paraná (Cozzo 1980, Carvalho 1994, Mattos 1994).

A *A. angustifolia* se presta para ornamentação, fornece sementes que servem de importante alimento (pinhão), com alto valor nutritivo, para a fauna e para o homem, mas o uso histórico mais importante foi o da madeira, usualmente denominada de pinho (Inoue *et al.* 1984). A madeira da araucária foi de importância básica na economia do país. Em muitos anos, como o de 1964, a madeira ocupou o quarto lugar na pauta dos produtos de exportação e cerca de 90% desta madeira era araucária (Reitz *et al.* 1978).

O papel produzido com araucária é considerado de ótima qualidade (Carvalho, 1994) e sua resina serve de base para fabricação de vernizes, terebintina, acetona, ácido pirilenhoso e outros produtos químicos (Reitz *et al.* 1978, Inoue *et al.* 1984).

A exploração de madeira e a abertura da fronteira agrícola, iniciadas a partir de 1895 levaram a uma rápida destruição da cobertura florestal ocupada em grande parte pela Floresta de Araucária. Segundo Backes & Irgang (2002) foi a espécie mais procurada pela indústria madeireira no Sul do país. Preocupações com a preservação da espécie

típica desta tipologia, a *A. angustifolia*, são antigas. Documento alertando sobre a velocidade de exploração desta espécie foi elaborado por Laboriau & Mattos Filho (1948). Outro exemplo disso é uma das conclusões do trabalho realizado por Klein (1960) que menciona “*é de máximo interesse para a nação brasileira, dispensar maiores cuidados a uma espécie de tão alto valor econômico, já que se encontra seriamente ameaçada, não só pela intensa exploração por parte do homem, como também pelo ambiente climático atual. Urge, pois sejam feitos estudos mais profundos e empregados meios adequados, a fim de salvar o Pinheiro do extermínio completo*”. Em decorrência dessa forte exploração sofrida, a espécie está presente na Lista Oficial de Espécies da Flora Brasileira Ameaçadas de Extinção (IN 06/MMA/2008) que inclui aquelas espécies com alto risco de desaparecimento na natureza em futuro próximo. Também está presente na “The IUCN Red List of Threatened Species” na categoria Criticamente em Perigo (Farjon, 2006).

Estudos relacionados aos aspectos silviculturais têm ressaltado o grande potencial econômico da araucária, sendo que algumas empresas investiram em reflorestamentos com esta espécie (EMBRAPA, 1988). À parte os trabalhos silviculturais, importantes trabalhos relacionados à ecologia da araucária têm contribuído para o conhecimento desta espécie, entre eles, aqueles que abordam o ambiente de ocorrência (Klein, 1960; Reitz & Klein, 1966; Backes, 1983; Backes, 1999), regeneração natural (Duarte & Dillenburg, 2000; Backes 2001; Duarte *et al.*, 2002, Paludo *et al.* 2009), ciclo biológico (Burlingame, 1913; 1914; 1915; Shimoya, 1962), sementes e germinação (Vernalha *et al.*, 1972; Ferreira & Handro, 1979; Ferreira, 1981), demografia e ecologia (Solórzano-Filho, 2001; Mantovani, 2003; Paludo *et al.* 2009), embriogênese somática (Santos *et al.*, 2002) e genética de populações (Mazza, 1997; Shimizu *et al.*, 2000; Souza, 2000; Auler *et al.*, 2002; Mantovani *et al.* , 2006, Bittencourt & Sebbenn, 2007; Stefenon *et al.* , 2007; Bittencourt & Sebbenn, 2008; Bittencourt & Sebbenn, 2009; Patreze & Tsai, 2010). Embora, os vários trabalhos, citados acima, tenham contribuído para o entendimento da auto-ecologia da espécie, a literatura ainda é carente de informações que possam garantir a utilização deste recurso florestal de maneira sustentável e a conservação no longo prazo da espécie.

5.1.3. *Dicksonia sellowiana*

O Xaxim (*Dicksonia sellowiana* (Pres.) Hook.) pertence à divisão *Pteridophyta* é um feto arborescente, com caule geralmente ereto, atingindo até 10 m de altura, com densos tricomas e muitas raízes fibrosas que ocorrem da base até próximo do ápice, onde se inserem as folhas bi-pinadas de 1m até 3,5m (Tryon & Tryon, 1982). Os indivíduos da espécie crescem preferencialmente em lugares pantanosos nas serras, mas também em encostas serranas e excepcionalmente em banhados das baixadas (Sehnm, 1978).

No estado de Santa Catarina, Klein (1978) relatou a espécie associada à Araucária na submata baixa e pouco densa da Floresta dos Faxinais, onde predominam Mirtáceas e Aquifoliáceas entremeadas por taquarais e carazais, estando presente na Serra do Tabuleiro e no extremo Noroeste Catarinense.

Em condições naturais o xaxim apresenta um comportamento de secundária tardia ou clímax, necessitando da floresta para desenvolvimento nas formações florestais primárias (Klein, 1978). Contudo, os estudos sobre a ecologia da espécie quanto à propagação e adaptação são escassos (ou inexistentes), de forma que há necessidade da geração deste conhecimento para o estabelecimento de estratégias de uso sustentável e conservação.

Apesar de ter ocorrido originalmente em alta frequência e densidade na Floresta Ombrófila Mista (Sehnm, 1978), a exploração intensiva do Xaxim (*Dicksonia sellowiana*), principalmente para a fabricação de vasos e substratos para o cultivo de plantas ornamentais causou uma redução expressiva de suas populações naturais em praticamente toda sua área de ocorrência. Além disso, seu habitat natural encontra-se bastante reduzido e fragmentado em decorrência, principalmente, da exploração madeireira de espécies como *Araucaria angustifolia* e *Ocotea porosa*. O estrativismo, juntamente com a destruição do seu habitat natural e a escassez de dados sobre o comportamento de suas populações, fizeram com que a espécie fosse incluída no apêndice II da CITES (Convenção Internacional das Espécies da Flora e da Fauna Selvagens em Perigo de Extinção; Brasil, 1998) além de figurar na Lista Oficial de Espécies da Flora Brasileira Ameaçadas de Extinção (IN 06/MMA/2008) que inclui aquelas espécies da Flora Brasileira com alto risco de desaparecimento na natureza em futuro próximo.

5.1.4. *Podocarpus lambertii*

O *Podocarpus lambertii*, também conhecido como pinho-bravo ou pinheiro-bravo, é uma árvore perenifólia de altura variável, medindo de 1 a 4 m de altura na zona campestre e alcançando até 27 m de altura e 120 cm ou mais de DAP, na idade adulta, na Floresta com Araucária, onde comumente ocorre com 10 m de altura e 20 a 40 cm de DAP. Apresenta tronco geralmente tortuoso, inclinado e curto, podendo apresentar-se reto na floresta, onde atinge fustes de até 10 m de comprimento (Carvalho, 1994).

A ocorrência da espécie vai desde o estado do Rio Grande do Sul até a Bahia, sendo encontrada também no nordeste da Argentina. A espécie é característica da Floresta Ombrófila Mista, onde se apresenta associado com a *A. angustifolia*, *Sebastiania commersoniana* (branquilha), *Cedrela fissilis* (cedro), dentre outras (Ribeiro *et al.*, 2007). Porém, a espécie é também encontrada na Floresta Estacional Decidual, na Floresta Estacional Decidual Montana, e nos Campos (Carvalho, 1994).

Segundo Longhi (1995) o *P. lambertii* é uma espécie dióica, polinizada principalmente por abelhas e pequenos insetos. Sua identificação é facilmente realizada por ser uma árvore perene, foliada, mediana, de copa alongada ou arredondada, quando em campo aberto, densifoliada, com folhas pequenas e lineares, apresentando, quando jovem, o formato de cone. Longhi *et al.* (2009) afirmam que o *P. lambertii* prefere locais pouco pedregosos, pouco inclinados, relativamente úmidos, com alta frequência de indivíduos e alta densidade do sub-bosque, indicando ser esta uma espécie secundária tardia tolerante a sombra. De acordo com Carvalho (1994) a espécie é encontrada com excelente regeneração natural em capoeirões e vegetação secundária mais evoluídas ou mesmo em capões.

Sua madeira apresenta baixa resistência ao apodrecimento quando exposta ao tempo e ao ataque de cupins. A diferenciação entre cerne e alborno é indistinta, e apresenta características físico mecânicas que indicam, por vezes, qualidade superior ao pinheiro-do-paraná (Carvalho, 2003). Em decorrência desse fato, foi, segundo Milani (2010), juntamente com a *A. angustifolia* e o *P. sellowii*, únicas espécies arbóreas de gimnospermas nativas do Brasil, intensamente explorada, resultando na sua quase extinção. Em função dessa

exploração a espécie está presente na categoria “Quase Ameaçada” da “The IUCN Red List of Threatened Species” (Bachman *et al.*, 2007).

5.2. AMOSTRAGEM

As populações das espécies selecionadas foram amostradas na área de ocorrência da Floresta Ombrófila Mista no estado de Santa Catarina. Tendo por base as informações levantadas na Meta 2 do Inventário Florístico-Florestal de Estado de Santa Catarina, foram pré-selecionadas populações das espécies elencadas.

A seleção foi feita baseada nas informações referentes à densidade demográfica das espécies nos pontos amostrais. Essas informações foram fundamentais pois havia a necessidade que nos pontos selecionados houvessem no mínimo 50 indivíduos, sendo que estes deveriam apresentar distâncias mínimas de 50 metros entre si para que estivessem aptos a serem coletados. Outro critério adotado na seleção das populações foi a localização geográfica das populações, sendo que buscou-se coletar no mínimo três populações de cada espécie em cada Microrregião (Figura 1) e em cada Bacia Hidrográfica do Estado onde ocorre cada uma das espécies. Procurou-se também selecionar pontos onde houvesse a presença de populações aptas a serem coletadas do máximo possível de espécies elencadas.

INVENTÁRIO FLORÍSTICO-FLORESTAL DE SANTA CATARINA (IFFSC)

Plano Amostral

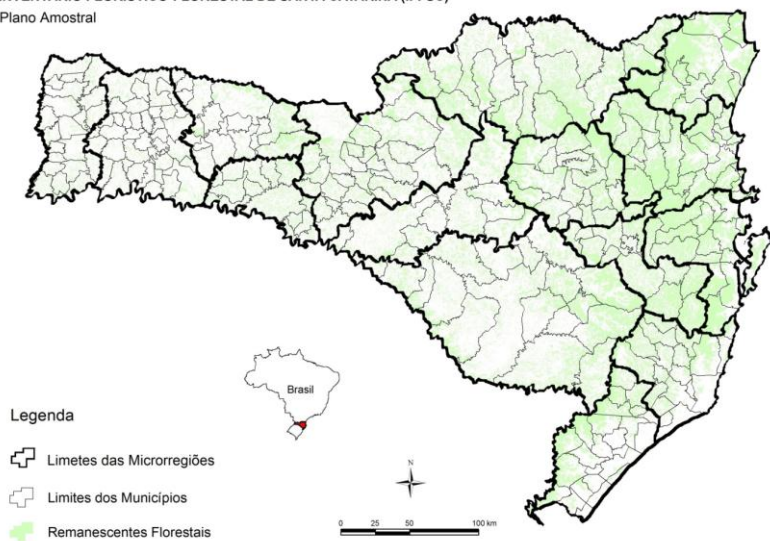


Figura 1: Mapa do Estado de Santa Catarina com remanescentes florestais e as divisões das suas microrregiões. IFFSC, 2012.

INVENTÁRIO FLORÍSTICO-FLORESTAL DE SANTA CATARINA (IFFSC)
Plano Amostral

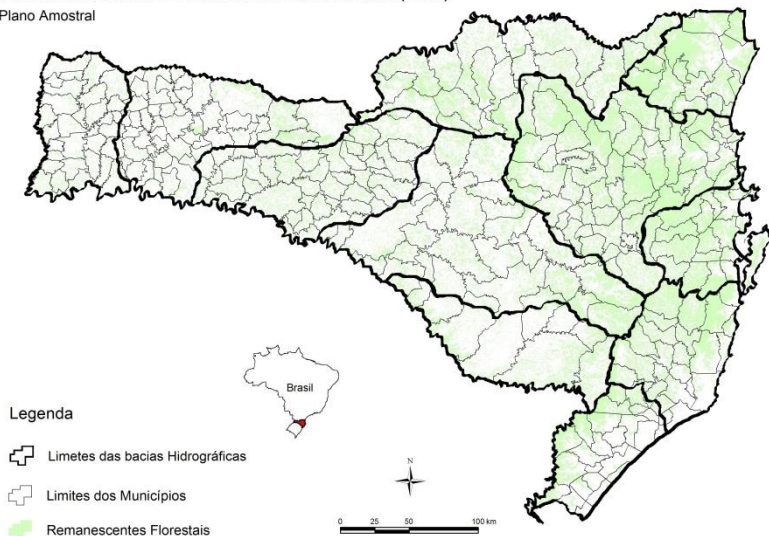


Figura 2: Mapa do Estado de Santa Catarina com remanescentes florestais e as divisões utilizadas das bacias hidrográficas . IFFSC, 2012.

A espécie *O. porosa* foi coletada em quatro microrregiões, sendo que em uma só foi possível coletar uma população, e em três bacias hidrográficas. *A. angustifolia* e *D. sellowiana* tiveram populações coletadas em sete microrregiões e em seis bacias hidrográficas enquanto que foram coletadas populações de *P. lambertii* em quatro microrregiões e em duas bacias hidrográficas.

5.3. COLETA

A coleta das plantas foi realizada aleatoriamente, abrangendo apenas os indivíduos adultos distribuídos nas áreas de coleta, procurando, na medida do possível, respeitar uma distância mínima de 50 metros entre os indivíduos selecionados. Buscou-se coletar no mínimo 50 indivíduos por população, visto que esse é um número considerado satisfatório por Berg & Hamrick (1997) para o marcador empregado. A amostragem foi feita coletando-se pelo menos um ramo

portador de folhas maduras dos indivíduos selecionados. Para a coleta das amostras utilizaram-se estilingues e pedras, devido ao porte das plantas. Os ramos com as folhas foram acondicionados em sacos plásticos, devidamente identificados e armazenados em caixa térmica, com gelo coberto por jornal para evitar a queima do material.

As amostras foram mantidas nas caixas térmicas até o seu transporte ao Laboratório de Fisiologia do Desenvolvimento Genético Vegetal da Universidade Federal de Santa Catarina, onde eram transferidos para a geladeira. A temperatura da geladeira foi mantida em torno dos 5° C para que a atividade enzimática das amostras fosse conservada pelo maior período de tempo possível. O material foliar foi conservado em geladeira até o dia da corrida eletroforética, tomando-se o cuidado para que esse intervalo de tempo não ultrapassa-se quinze dias, pois poderia afetar a atividade enzimática das amostras.

5.4. ELETROFORESE DE ISOENZIMAS

5.4.1. Corrida Eletroforética

O meio suporte utilizado para o desenvolvimento do presente trabalho foi o gel de amido de milho (penetrose 30) – 13%. Para a obtenção do mesmo, eram pesados 39g de penetrose 30 e colocados em um erlenmeyer de 500 ml, onde adicionava-se 300 ml da solução-tampão do gel. A mistura era homogeneizada e levada ao forno de microondas, onde era cozida. Após o preparo o gel permanecia em temperatura ambiente até o resfriamento, quando era coberto por uma placa de vidro e mantido sobre refrigeração ($\pm 5^\circ \text{C}$) até o momento do uso, no dia seguinte.

A extração das enzimas, uma das etapas mais delicadas da eletroforese, era realizada em placas de porcelana, contendo 12 “poços” cada. Estas eram resfriadas com o auxílio de barras de gelo para que as enzimas tivessem sua atividade enzimática preservada ao máximo. Em cada poço era posto aproximadamente 7 mg de Polivinil Pirrolidona (PVP) e 30 mg de areia lavada. A seguir as amostras foliares eram depositadas nos poços e posteriormente cada amostra recebia duas gotas de solução de extração nº 1 de Alfenas *et al.*, (1998). As amostras eram maceradas com o auxílio de um bastão de acrílico até o completo

“rompimento” do material foliar. O material extraído era absorvido em papel filtro (Whatman nº 3), com dimensões de 5 x 20 mm (wicks) que eram aplicados no gel.

A corrida eletroforética consiste na aplicação de determinada corrente elétrica no gel, no intuito de realizar a migração das enzimas. Nos primeiros 20 minutos era aplicada uma corrente constante de 100 volts. Decorrido este tempo, os wicks eram retirados do gel, com o auxílio de uma pinça, o gel era coberto com uma placa de vidro e em cima desta era posto uma barra de gelo para ajudar na dissipação do calor. A corrida continuava com uma corrente de 150 Volts por mais 20 minutos e passava para 210 volts até o final da corrida. As “corridas” eram realizadas sempre dentro de geladeira a 5° C, para manter a integridade das enzimas, visto que a corrente elétrica produz calor. Após o término da corrida e corte do gel em fatias era feita a coloração do das mesmas.

Para coloração foram testados para as quatro espécies, 20 sistemas isoenzimáticos (Tabela 1), a partir dos quais foram desenvolvidos os protocolos de coloração específicos para cada uma.

Tabela 1: Sistemas isoenzimáticos testados, código e sigla das enzimas. Florianópolis, NPFT – UFSC, 2011.

Enzima	Código	Sigla
Malato Desidrogenase	EC 1.1.1.37.	MDH
Superóxido Dismutase	EC 1.15.1.1.	SOD
Peroxidase	EC 1.11.1.7.	PRX
Xiquimato Desidrogenase	EC 1.1.1.25.	SKDH
Fosfoglucomutase	EC 5.4.2.2.	PGM
Diaforase	EC 1.8.1.4.	DIA
Glutamato Oxaloacetato Transaminase	EC 2.6.1.1.	GOT
Esterase	EC 3.1.1.1	EST
Fosfogluco Isomerase	EC 5.3.1.9.	PGI

Fosfatase Ácida	EC 3.1.3.2.	ACP
Enzima Málica	EC 1.1.1.40	ME
Nicotinamida Adenina Dinucleotídeo Desidrogenase	EC 1.6.99.3	NADHHDH
Fosfatase Alcalina	EC 3.1.3.1	ALP
6-Fosfogluconato Desidrogenase	EC 1.1.1.44	6PGD
Glucose 6-Fosfato Desidrogenase	EC 1.1.1.49	G6PD
Glicerato-2 Desidrogenase	EC 1.1.1.29	G2DH
Glutamato Desidrogenase	EC 1.4.1.3	GTDH
Isocitrato Desidrogenase	EC 1.1.1.42	IDH
Leucina Aminopeptidase	EC 3.4.11.1	LAP
Catalase	EC 1.11.1.6	CAT

As soluções-tampão de coloração eram preparadas com antecedência e armazenadas em geladeira para posterior uso. As soluções de coloração eram preparadas logo após o corte do gel de acordo com as receitas disponíveis em Alfnas *et al.*, (1998). Após o preparo da solução de coloração, a camada do gel referente àquele sistema era retirada da geladeira e recebia a solução. Depois que o gel recebia a solução de coloração, a bandeja que possuía o mesmo era coberta por uma tampa e posta em uma estufa que mantinha a temperatura em torno dos 30° C, excetuando-se o gel do sistema SOD que tinha que ser revelado à luz. Este era posto em um banho-maria que mantinha a temperatura em torno de 30° C e permanecia destapado. Cada sistema enzimático possui um determinado tempo de coloração que, passado esse, revela a posição relativa da enzima, a banda.

5.4.2. Interpretação dos Zimogramas

Após a revelação das enzimas, a solução de coloração presente na bandeja era drenada para evitar a formação de borões no gel. As bandas formadas nos géis constituem o zimograma, que é interpretado considerando a estrutura quaternária da enzima e a segregação aparente da região, conseqüentemente, é definido o genótipo de cada indivíduo

estudado. Após a interpretação, os géis eram fotografados para posterior reinterpretação, quando necessário.

Os locos e os alelos eram numerados, de maneira crescente, daquele que apresentasse maior mobilidade para o que apresentasse menor mobilidade. Em cada gel era aplicado um indivíduo testemunha, que auxiliava na definição das posições dos alelos para nos diferentes géis.

5.4.3. Análise dos Dados

A partir dos genótipos obtidos para cada indivíduo, foram calculadas, para cada população, as frequências alélicas, os índices de diversidade intrapopulacional, sendo eles a porcentagem de locos polimórficos (P), número de alelos por loco (A), heterozigosidade observada (H_o) e heterozigosidade esperada (H_e), além do índice de fixação (f). Para cada espécie também foram calculados os estimadores de estruturação populacional de Weir & Cockerham (1984) e o índice G_{ST} de Hedrick (2005).

Também foram estimados os índices de diversidade intrapopulacional médios para cada espécie dentro das microrregiões do estado de Santa Catarina, assim como foram calculados os estimadores de estruturação para as populações dentro de microrregiões e bacias hidrográficas.

Para a obtenção dos índices genéticos foram utilizados os programas FSTAT versão 2.9.3.2 (Goudet, 2002) e GDA (Lewis & Zaykin, 2001). Também através do programa FSTAT versão 2.9.3.2 (Goudet, 2002) foram realizados testes de diferenciação entre os índices H_o , H_s , F_{is} e riqueza alélica obtidos para cada microrregião.

Do mesmo modo, as divergências genéticas (F_{ST}) par a par para todos os pares de populações, formando uma matriz de divergência genética entre as memas. Com base na matriz de divergência genética gerada e na matriz de distâncias geográficas entre as populações foi realizado um teste de Mantel (Mantel, 1967) para verificar se as distâncias geográficas entre as populações possuíam correlação com as divergências genéticas entre as mesmas. O teste de Mantel (1967) foi realizado através da utilização do logaritmo natural da distância geográfica e $F_{ST}/(1-F_{ST})$.

Buscando verificar algum padrão de agrupamento entre as populações estudadas, foram gerados para cada espécie, com o auxílio do programa TFPGA (Miller, 1997), dendrogramas a partir das distâncias genéticas de Nei (1972) obtidas entre as populações. O método de agrupamento utilizado foi o de média aritmética não ponderada (UPGMA-Uniweighted Pair Group Method With Arithmetic Mean) e a estabilidade dos nós foi verificada pelo método de reamostragem *bootstrap* (10.000 repetições).

Com o auxílio do programa Primer 6 β (Clarke & Gorley, 2006) foram realizadas análises dos componentes principais a partir dos índices de diversidade, do índice de fixação e do número de alelos raros, para auxiliar na priorização das populações a serem conservadas e utilizadas para coleta de sementes. Para que todos os índices contribuíssem de modo igual na análise, os mesmos foram padronizados. Também foram criadas tabelas com as correlações entre os autovalores e os componentes principais para auxiliar no entendimento da contribuição dos índices nos eixos.

6. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram coletadas e genotipadas 86 populações naturais das quatro espécies da Floresta Ombrófila Mista elencadas para o trabalho, sendo 13 de *O. porosa*, 31 de *A. angustifolia*, 30 de *D. sellowiana* e 12 de *P. lambertii*.

Com base nos índices de diversidade e estrutura genética obtidos para as quatro espécies, bem como com os resultados da análise de agrupamentos e componentes principais, foi caracterizada a situação atual de cada espécie no âmbito da distribuição geográfica de ocorrência atual no Estado. A partir desta caracterização são discutidas estratégias a serem tomadas para a conservação efetiva destas espécies no contexto dos remanescentes de Floresta Ombrófila Mista no estado de Santa Catarina.

6.1. *Ocotea porosa*

Foram coletadas e genotipadas 13 populações de *O. porosa* no estado de Santa Catarina em quatro microrregiões (Figura 3).

INVENTÁRIO FLORÍSTICO-FLORESTAL DE SANTA CATARINA (IFFSC)
Plano Amostral

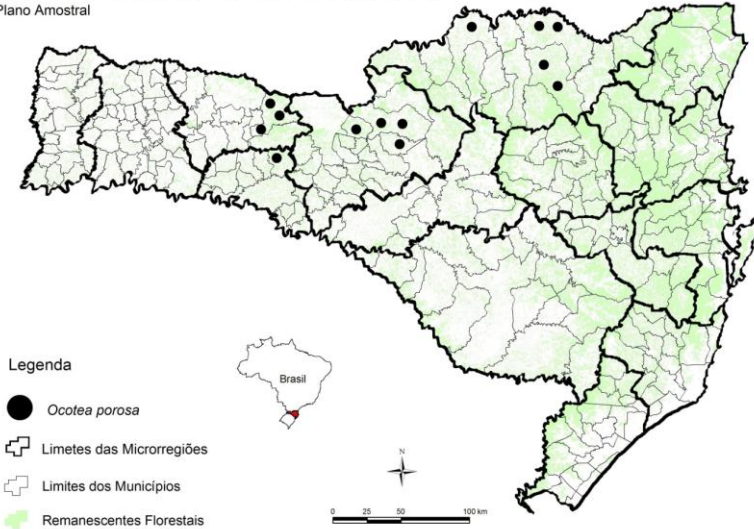


Figura 3: Locais de coleta de *Ocotea porosa* para a caracterização da diversidade e estrutura genética no Estado de Santa Catarina. UFSC, 2011.

Em cada população coletada, foram levantadas informações do ambiente florestal no intuito de auxiliar na discussão dos resultados obtidos (Tabela 2).

Tabela 2: Número da Unidade Amostral de referência do IFF-SC, nome da população e características do fragmento onde foi realizada a coleta de 13 populações de *Ocotea porosa*. UFSC, 2011.

UA	População	Características
1061	Mafra 2	Grande remanescente florestal (> 50 ha) em bom estado de conservação
901	Itaiópolis 2	Grande remanescente florestal (>50 ha) em bom estado de conservação
717	Passos Maia 2	Grande remanescente (> 50ha) florestal em bom estado de conservação
832	Passos Maia 3	Grande remanescente florestal (> 50ha) em avançado estado de regeneração onde houve exploração de imbuia

MDH3	1	0,00	0,00	0,11	0,00	0,70	0,00	0,00	0,00	0,03	0,04	0,00	0,00	0,08	
	2	0,67	0,67	0,69	0,95	0,21	0,86	0,65	0,94	0,54	0,86	0,51	0,78	0,86	0,69
	3	0,33	0,33	0,20	0,05	0,09	0,14	0,35	0,06	0,35	0,10	0,49	0,19	0,12	0,23
	4	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,01	0,00	0,00	0,08	0,00	0,00	0,04	0,03	0,01
SOD1	1	0,97	0,87	0,98	1,00	1,00	0,92	1,00	1,00	1,00	0,94	0,94	1,00	1,00	0,97
	2	0,03	0,13	0,02	0,00	0,00	0,08	0,00	0,00	0,00	0,06	0,06	0,00	0,00	0,03
PRX1	1	0,00	0,00	0,13	0,02	0,00	0,00	0,00	0,02	0,00	NA	0,00	0,00	0,00	0,02
	2	1,00	1,00	0,85	0,97	1,00	1,00	0,78	0,98	0,94	NA	1,00	1,00	1,00	0,95
	3	0,00	0,00	0,02	0,01	0,00	0,00	0,23	0,00	0,06	NA	0,00	0,00	0,00	0,03
PRX3	1	0,65	0,14	0,14	0,00	0,07	0,72	0,02	0,34	0,04	NA	0,00	0,14	0,40	0,21
	2	0,35	0,86	0,71	0,71	0,45	0,24	0,69	0,39	0,46	NA	0,12	0,79	0,20	0,50
	3	0,00	0,00	0,16	0,29	0,48	0,04	0,29	0,16	0,35	NA	0,74	0,05	0,40	0,25
	4	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,11	0,15	NA	0,15	0,02	0,00	0,04
SKDH I	1	0,00	0,06	0,02	0,00	0,00	0,10	0,16	0,07	0,06	0,38	0,07	0,05	0,09	0,08
	2	0,78	0,89	0,74	0,82	0,56	0,45	0,29	0,37	0,79	0,48	0,56	0,63	0,88	0,61
	3	0,22	0,06	0,25	0,18	0,44	0,45	0,55	0,56	0,15	0,14	0,38	0,32	0,03	0,31
PGM1	1	0,83	0,81	0,85	0,83	0,87	0,85	0,77	0,91	0,77	0,82	0,72	0,53	0,10	0,82
	2	0,17	0,19	0,15	0,17	0,13	0,14	0,24	0,09	0,24	0,16	0,28	0,39	0,66	0,18
	3	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,01	0,00	0,00	0,00	0,02	0,00	0,08	0,25	0,00
DIA1	1	0,00	0,00	0,00	0,03	0,00	0,03	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,04	0,01	0,01
	2	0,99	0,97	0,98	0,97	1,00	0,97	0,96	0,99	1,00	0,86	0,99	0,96	0,99	0,97
	3	0,01	0,03	0,02	0,00	0,00	0,00	0,04	0,01	0,00	0,15	0,01	0,00	0,00	0,02
DIA2	1	0,10	0,02	0,14	0,06	0,06	0,12	NA	0,30	0,04	0,00	0,01	0,02	0,10	0,08
	2	0,90	0,98	0,86	0,94	0,73	0,88	NA	0,70	0,96	0,99	0,99	0,61	0,90	0,89
	3	0,00	0,00	0,00	0,00	0,20	0,00	NA	0,00	0,00	0,01	0,00	0,38	0,00	0,02
GOT1	1	0,17	0,32	0,10	0,09	0,73	0,22	0,18	0,09	0,05	0,04	0,03	0,09	0,24	0,19
	2	0,83	0,68	0,79	0,86	0,22	0,78	0,57	0,14	0,55	0,65	0,73	0,83	0,63	0,62
	3	0,00	0,00	0,10	0,05	0,04	0,00	0,25	0,77	0,40	0,31	0,25	0,08	0,14	0,20
EST1	1	0,49	0,94	0,09	0,11	0,00	0,17	NA	NA	0,00	NA	NA	0,13	0,08	0,26
	2	0,51	0,06	0,89	0,68	0,93	0,83	NA	NA	1,00	NA	NA	0,86	0,92	0,70
	3	0,00	0,01	0,02	0,21	0,07	0,00	NA	NA	0,00	NA	NA	0,02	0,00	0,05
EST2	1	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,05	0,00	0,00	0,00	0,00
	2	0,00	0,00	0,00	0,18	0,39	0,22	0,11	0,00	0,10	0,05	0,00	0,05	0,00	0,10
	3	1,00	1,00	1,00	0,82	0,61	0,78	0,89	1,00	0,90	0,90	1,00	0,96	1,00	0,90
	4	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,01	0,00	0,00	0,00	0,00
PGII	1	0,00	0,00	0,01	0,01	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,04	0,00	0,00	0,01
	2	0,00	0,01	0,04	0,01	0,00	0,00	0,58	0,31	0,08	0,02	0,13	0,04	0,00	0,11
	3	0,45	0,47	0,39	0,52	0,50	0,50	0,25	0,18	0,58	0,35	0,58	0,43	0,26	0,43

	4	0,55	0,52	0,56	0,45	0,50	0,50	0,17	0,27	0,34	0,63	0,18	0,44	0,53	0,42
	5	0,00	0,00	0,00	0,01	0,00	0,00	0,00	0,25	0,00	0,01	0,08	0,10	0,22	0,03
ACPI	1	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,15	0,06	0,05	0,03	0,10	0,00	0,00	0,04
	2	0,00	0,07	0,24	0,06	0,11	0,20	0,14	0,27	0,19	0,31	0,40	0,11	0,11	0,18
	3	1,00	0,93	0,76	0,94	0,59	0,80	0,70	0,64	0,72	0,66	0,40	0,89	0,89	0,74
	4	0,00	0,00	0,00	0,00	0,30	0,00	0,00	0,03	0,05	0,00	0,10	0,00	0,00	0,04

Foram detectados 51 alelos nas 13 populações de *O. porosa* avaliadas. Além disso, a análise das frequências alélicas para as 13 populações estudadas permite identificar a presença de três alelos exclusivos: o alelo MDH2-3 para a população Caçador1 e os alelos EST2-1 e EST2-4 para a população Itaiópolis. Também foi identificado um grande número de alelos raros (frequência menor que 5%), 16 no total, para o conjunto das populações. Levando em consideração as frequências alélicas por microrregiões foi possível identificar ainda que o alelo MDH1-1 é exclusivo da microrregião de Canoinhas.

A detecção de alelos exclusivos em populações naturais tem um papel importante do ponto de vista da conservação e na priorização de áreas a serem conservadas pois estes serão mais facilmente perdidos através de distúrbios ou até pelo efeito da deriva genética (Ruiz *et al* , 2007). A presença de alelos exclusivos e raros também pode ser um forte indicativo do isolamento das populações. Baixas taxas de fluxo de genes devido ao isolamento espacial de populações podem explicar a presença de alelos exclusivos em algumas populações e regiões.

Na Tabela 4 são apresentados os índices de diversidade genética intrapopulacional para as 13 populações e para as microrregiões de *O. porosa* avaliadas.

Tabela 4: Índices de diversidade genética (n - tamanho amostral, P - porcentagem de locos polimórficos, A - número de alelos por loco, H_o - heterozigiosidade observada, H_e - diversidade genética, f - índice de fixação, AR - número de alelos raros, AE - número de alelos exclusivos) para 13 populações, e suas respectivas microrregiões, de *Ocotea porosa* no Estado de Santa Catarina. UFSC, 2011.

	População	n	P	A	H_o	H_e	f	AR	AE
Joaçaba	Caçador1 -728	51	80,0	1,87	0,203	0,236	0,137*	3	1
	Caçador-Epagri -729	45	73,3	2,07	0,334	0,315	-0,059	3	-

	Rio das Antas –673	46	78,6	2,43	0,243	0,299	0,188*	6	-
	Macieira –724	53	86,7	2,40	0,156	0,260	0,398*	6	-
	Média	49	79,6	2,19^A	0,226^A	0,272^A	0,170*^{AB}	5	-
Canoinhas	Mafra1 –1040	55	86,7	2,13	0,167	0,219	0,238*	5	-
	Itaiópolis2 –901	53	91,7	2,75	0,252	0,314	0,199*	6	2
	Mafra 2 –1061	49	85,7	2,50	0,195	0,312	0,375*	8	-
	Itaiópolis1 –984	50	84,6	2,23	0,240	0,357	0,326*	3	-
	Canoinhas –1055	49	73,3	2,47	0,249	0,319	0,219*	7	-
	Média	51	84,4	2,42^A	0,205^A	0,285^A	0,280*^A	6	-
Concórdia	Irani –605	53	86,7	2,27	0,142	0,204	0,301*	5	-
Xanxerê	Passos Maia 1 –720	62	80,0	2,07	0,263	0,250	-0,053	4	-
	Passos Maia 2 –717	55	85,7	2,20	0,302	0,288	-0,049	7	-
	Passos Maia 3 –832	51	78,6	2,33	0,188	0,266	0,295*	4	-
	Média	56	81,4	2,19^A	0,253^A	0,267^A	0,054^B	5	-
Estado	Média	51	82,4	2,29	0,233	0,280	0,193	5	-
	Total	645	100	3,40	0,219	0,330	0,334	16	-

* $P < 0,05$. Valores significativamente diferentes de zero após correção de Bonferroni. Letras diferentes (A, B) indicam que os valores são significativamente diferentes entre si.

Os índices de diversidade genética intrapopulacional obtidos para as populações naturais de *O. porosa* estudadas foram, na sua maioria, altos. As porcentagens de locos polimórficos ($P_{100\%}$) encontradas (82,4% intrapopulacional e 100% para a espécie) podem ser consideradas altas quando comparada com os índices encontrados por Hamrick & Godt (1989) para espécies da zona temperada-tropical ($P = 35,9\%$ intrapopulacional e 58,8% para espécies) e para espécies arbóreas com longo ciclo de vida ($P = 50,0\%$ intrapopulacional e $P = 64,7\%$ para espécies). A estimativa de P também foi compatível com os encontrados por Kageyama *et al.*, (2003) para *O. odorifera* ($P_{95\%} = 67,8\%$) e por Tarazi *et al.*, (2010) para *O. catharinensis* ($P_{95\%} = 81,9\%$ intrapopulacional e 83,3% para a espécie).

O número de alelos por loco encontrado para a média de todas as populações foi de 2,29 enquanto que o número médio de alelos por loco para a espécie foi de 3,40. O número de alelos por loco médio para as populações foi similar aos encontrados para *O. odorifera* – $A = 2,36$

(Kageyama *et al.*., 2003), para *O. catharinensis* – $A= 2,10$ (Tarazi *et al.*., 2010) e para *Cryptocarya aschersoniana* – $A= 2,74$ (Moraes & Derbyshire, 2002). Já quando comparado com os índices encontrados para espécies da zona temperada-tropical – $A= 1,52$ obtidos por Hamrick & Godt (1989) as populações de *O. porosa* apresentaram um maior número de alelos por loco. O grande número de alelos fixados nas diferentes populações também pode estar influenciando negativamente o número de alelos por loco e é um indicativo de deriva genética.

Para os índices de fixação obtidos, somente três populações apresentaram índices que aderem ao esperado em Equilíbrio de Hardy-Weinberg ou seja, não são significativamente diferentes de zero. As três populações que apresentam índices de fixação negativos e não diferentes de zero foram: Caçador-Epagri, Passos Maia-1 e Passos Maia-2. Estas três populações foram aquelas onde os históricos apontavam os menores índices de exploração madeireira, com histórico de corte seletivo de poucos indivíduos. Nas outras dez populações de *O. porosa* avaliadas existiam indícios de forte exploração de indivíduos de *O. porosa*, sendo que nestas populações os indivíduos comumente apresentavam portes menores que nas três populações citadas.

Os altos níveis de fixação encontrados para as outras dez populações de *O. porosa* podem ser um reflexo dos eventos de exploração da espécie. A intensa exploração sofrida pela espécie, devido a qualidade e alto valor de sua madeira (Backes & Irgang, 2002), assim como a substituição da cobertura florestal fez com que houvesse uma redução dos tamanhos populacionais além de um aumento no isolamento geográfico entre as populações intensificando os efeitos da deriva genética e da endogamia no sentido da perda de diversidade genética.

Considerando que a *O. porosa* é uma espécie de crescimento muito lento e nesse trabalho foram coletados somente indivíduos adultos, estes indivíduos coletados provavelmente são resultantes de eventos reprodutivos anteriores ao processo de exploração madeireira iniciado no estado na década de 1920; em especial, este seria caso das populações Caçador-Epagri, Passos Maia 1 e Passos Maia 3. Ou são a primeira geração após o início da fragmentação florestal, que seria o caso das outras populações que apresentam histórico de forte exploração da espécie. Desse modo, as populações que sofreram processo de exploração são formadas por alguns indivíduos remanescentes do processo exploratório e outros que já são produtos dos eventos reprodutivos pós-fragmentação. Para estes indivíduos, produtos da

reprodução pós-fragmentação é esperado um maior grau de fixação já que a quantidade de indivíduos reprodutivos na ocasião da sua geração seria menor e conseqüentemente o tamanho efetivo das populacionais seria bem menor do que no período pré-exploratório.

Os altos índices de fixação tendem, ao longo do tempo, promover a redução da riqueza alélica, resultando na fixação de determinados alelos por deriva genética, além de ocasionar problemas de depressão por endogamia (Ellstrand e Ellan, 1993; Barret & Khon, 1991). Desse modo, o potencial adaptativo (*fitness*) dessas populações pode ser afetado, comprometendo o potencial evolutivo da espécie nestas populações, podendo inclusive culminar, a longo prazo, na extinção local da espécie.

O índice de fixação médio dentro das populações (F_{IS}) foi de 0,191 (variando de 0,030 a 0,366; Tabela 5). Este resultado mostra que as populações em média apresentam um forte desvio da pressuposição de cruzamentos aleatórios, ocasionado por excesso de homozigotos. A deriva genética ocasionada pela redução do tamanho das populações e o cruzamento entre aparentados são, possivelmente, as principais causas desse desvio, como previamente discutido. Essa redução do tamanho efetivo populacional decorre, principalmente, da superexploração da *O. porosa* e da fragmentação das suas áreas de ocorrência, que geram populações com menor número de indivíduos e com maior isolamento de outras populações.

Tabela 5: Tabela de índices F de Wright obtidos pelo método de variância (Weir & Cockerham, 1984) e G_{ST}' (Hedrick, 2005) para 13 populações de *Ocotea porosa* no Estado de Santa Catarina, por Microrregião e Bacia Hidrográfica. UFSC, 2011.

Microrregião	F_{IT} (IC 95%)	F_{ST} (IC 95%)	F_{IS} (IC 95%)	G_{ST}'
Joaçaba	0,348 (0,123 a 0,542)	0,215 (0,122 a 0,310)	0,170 (-0,052 a 0,392)	0,297*
Canoinhas	0,460 (0,298 a 0,629)	0,250 (0,089 a 0,467)	0,280 (0,163 a 0,407)	0,321*
Xanxerê	0,201 (-0,065 a 0,454)	0,185 (0,084 a 0,273)	0,019 (-0,241 a 0,295)	0,201*
Bacias	F_{IT} (IC 95%)	F_{ST} (IC 95%)	F_{IS} (IC 95%)	G_{ST}'
Irani/Peixe	0,356 (0,133 a 0,542)	0,202 (0,120 a 0,290)	0,193 (-0,033 a 0,410)	0,277*
Timbó/Canoinhas	0,460 (0,298 a 0,629)	0,250 (0,089 a 0,467)	0,280 (0,163 a 0,407)	0,321*
Chapecó	0,201 (-0,065 a 0,454)	0,185 (0,084 a 0,273)	0,019 (-0,241 a 0,295)	0,201*

Total	0,345 (0,180 a 0,510)	0,191 (0,143 a 0,246)	0,191 (0,030 a 0,366)	0,307*
--------------	------------------------------	------------------------------	------------------------------	---------------

* Significativamente diferente de zero

O índice médio de fixação para o total das populações (F_{IT}) foi de 0,345 (variando de 0,180 a 0,510) sugerindo que o conjunto das populações desvia-se do Equilíbrio de Hardy-Weinberg, estando as populações estruturadas devido à deriva genética. O valor médio de F_{IT} também sugere uma deficiência de heterozigotos, considerando-se as 13 populações como uma única população panmítica.

A divergência genética (F_{ST}) encontrada entre as populações de *O. porosa* foi alta, indicando que 19,1% da diversidade genética encontra-se distribuída entre as populações e 80,9% encontra-se dentro das populações. Esse valor é ainda maior quando estimamos o índice G_{ST}' (Hedrick, 2005) que considera não só a quantidade de diversidade genética devido a diferenças nas frequências alélicas, mas também leva em consideração a identidade dos alelos (tipo dos alelos) envolvidos na análise. O valor obtido para o G_{ST}' foi de 0,307. Essa diferença encontrada entre os dois índices indica que existe uma parte relativamente alta da divergência entre as populações que é decorrente da identidade alélica e que não está sendo computada quando é estimado o F_{ST} por análise de variância. Estes valores de divergência genética denotam uma forte estruturação nas populações de *O. porosa*.

O valor do F_{ST} apresenta-se próximo aos valores obtidos por Hamrick & Godt (1989) para locos de isoenzimas em espécies da zona temperada-tropical (0,233) e superior ao obtido para espécies arbóreas de ciclo de vida longo (0,076). Comparando-se com outras duas espécies de Lauraceae, o valor de divergência obtido é intermediário aos encontrados para *C. moschata*, que foi de 0,140 (Moraes *et al.*, 1999) e para *C. aschersoniana*, que foi de 0,340 (Moraes & Derbyshire, 2003). Porém Tarazi *et al.* (2010) descreveram para *O. catharinensis* um valor médio de F_{ST} igual a 0,015 e Kageyama *et al.* (2003) encontraram para *O. odorifera* uma divergência genética entre as populações de 0,028, denotando que a *O. porosa* possui um elevado grau de diferenciação entre as populações quando comparada à estudos com outras espécies do gênero *Ocotea*.

A alta divergência genética obtida demonstra que há baixo fluxo gênico histórico entre as populações estudadas de *O. porosa*, fato este que pode estar sendo influenciado pela forte fragmentação florestal ocorrida na Floresta Ombrófila Mista e pelo fato dos polinizadores identificados até o momento para a espécie serem insetos com

características de vôo curto como pequenos Dípteros e Coleópteros (Bittencourt, 2007), sendo estes muito susceptíveis à fragmentação florestal. Com a ausência de fluxo gênico a deriva genética atua mais fortemente na estruturação das populações, podendo fazer com que populações próximas apresentem divergência nas frequências e composições alélicas somente devido ao acaso.

A divergência genética G_{ST}' obtida para as populações dentro das microrregiões Joaçaba e Canoinhas é muito próxima da encontrada para o conjunto das populações, sendo de 0,297 e 0,321, respectivamente (Tabela 4). Na microrregião de Xanxerê o valor estimado do G_{ST}' foi inferior apesar de também ser considerado alto. Do mesmo modo, os valores de G_{ST}' para as bacias também foram altos e significativos. Esta alta divergência mesmo entre populações situadas nas mesmas microrregiões e nas mesmas bacias hidrográficas reforça a existência de um reduzido fluxo gênico histórico entre as populações de *O. porosa*, reforçando a necessidade de estratégias que busquem aumentar a conectividade entre as populações da espécie.

Assim como o número de alelos raros e exclusivos, a divergência genética encontrada entre as populações de *O. porosa* denota a importância da conservação do maior número possível de populações da espécie a fim de evitar a perda da diversidade genética existente entre as populações da espécie e, portanto, evitar a perda de sua capacidade adaptativa. Segundo Frankham (2003) existem previsões teóricas de que a perda da diversidade genética reduz a habilidade de populações de evoluir frente a mudanças ambientais e evidências experimentais validam estas previsões. Consequentemente, espera-se uma relação entre perda de diversidade genética e a taxa de extinção decorrente de mudanças ambientais.

No intuito de entender melhor como as populações estão dispostas de acordo com as divergências entre elas, foram calculadas as distâncias genéticas de Nei (1972) entre as 13 populações de *O. porosa*. A partir dessas distâncias foi criado um dendrograma de distâncias genéticas através do método UPGMA (Figura 4).

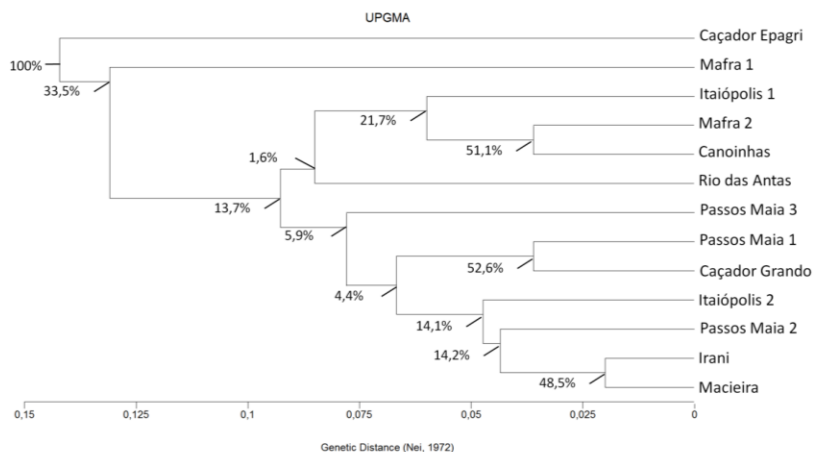


Figura 4: Dendrograma de distâncias genéticas de Nei (1972) e proporção de réplicas similares por reamostragem *bootstrap* (10.000 repetições) em cada nó para 13 populações de *Ocotea porosa* no Estado de Santa Catarina. UFSC, 2011.

Com base nestas distâncias genéticas é possível entender melhor a forte estruturação existente dentro das microrregiões. Nota-se que não houve formação de grupos de acordo com as microrregiões ou com as bacias hidrográficas, o que é um indicativo de que a fragmentação florestal trouxe fortes efeitos sobre as populações remanescentes de *O. porosa*.

Visando elucidar ainda mais a distribuição da diversidade genética entre as populações e entender melhor a relação das distâncias geográficas com a divergência genética entre as mesmas, foi calculada a correlação de Mantel entre o logaritmo natural das distâncias geográficas e o $F_{ST}/(1-F_{ST})$. A Figura 5 representa os resultados obtidos para as 13 populações analisadas.

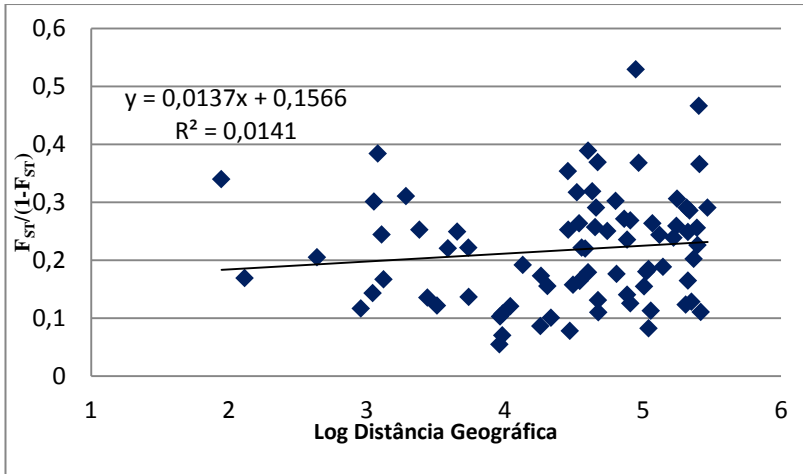


Figura 5: Correlação de Mantel entre o logaritmo natural da distância geográfica e o $F_{ST}/(1-F_{ST})$ par a par para 13 populações de *Ocotea porosa* no Estado de Santa Catarina. UFSC, 2011.

Não houve relação entre as distâncias geográficas entre as populações e as divergências genéticas obtidas para as mesmas. O coeficiente de determinação (r^2) obtido segundo a correlação de Mantel foi próximo a zero (0,014), indicando que a distância espacial entre as populações explica apenas 1,4% da divergência genética entre as populações. Aparentemente, no caso da *O. porosa*, os efeitos da deriva genética gerados pela fragmentação florestal são superiores ao poder do fluxo gênico de homogeneizar as frequências alélicas das populações. Como a deriva genética é uma variação aleatória nas frequências alélicas, que ocorre durante a reprodução, as populações se diferenciam entre si somente pelo efeito da deriva genética. Em locais onde o efeito de isolamento das populações não é drástico, o fluxo gênico contrapõe estes efeitos da deriva, fazendo com que populações mais próximas tendam a ser mais parecidas. Porém, no caso da *O. porosa* o isolamento entre as populações parece estar restringindo muito os efeitos do fluxo gênico, deixando as populações mais vulneráveis às mudanças aleatórias nas frequências alélicas em decorrência da deriva genética.

Com os dados de diversidade genética intrapopulacional, índice de fixação e número de alelos raros também foi realizada uma análise de componentes principais para a espécie (Figura 6). Os índices foram padronizados para que cada atributo contribua igualmente para o cálculo de similaridade, independentemente da sua grandeza. Os dois

primeiros eixos explicam 73,9% da variação total entre os parâmetros (42,9% e 31,0%, respectivamente).

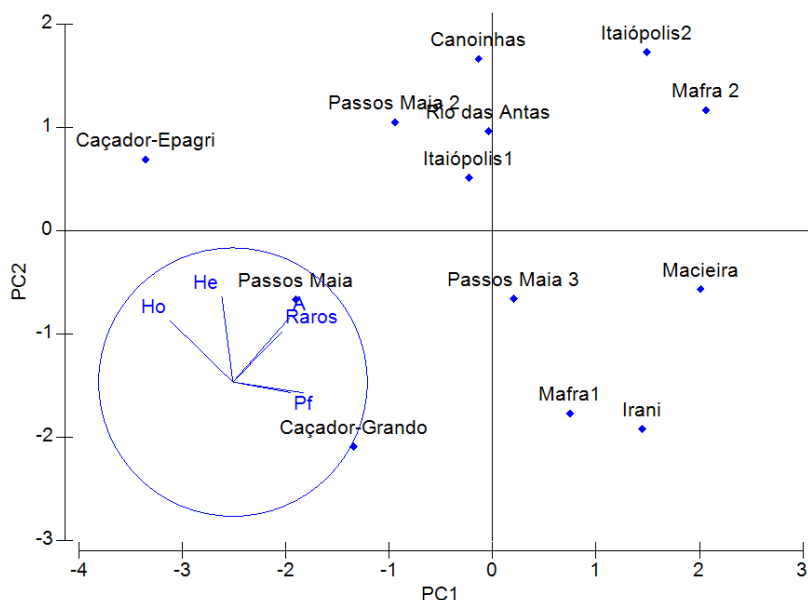


Figura 6: Análise de Componentes Principais para os índices de diversidade genética e fixação para 11 populações naturais de *Ocotea porosa* no Estado de Santa Catarina. UFSC, 2011.

É possível identificar um grupo de populações formado por Canoinhas, Passos Maia-2, Rio das Antas, e Itaiópolis-1, assim como populações isoladas como Caçador-Epagri, Passos Maia-1 e Caçador1. O índice f teve forte correlação positiva com o Eixo 1, enquanto que a H_o teve forte correlação negativa com o mesmo, conforme pode ser observado na tabela de correlações dos autovalores com os eixos (Tabela 6). Já a diversidade genética (H_e) teve forte correlação positiva com o Eixo 2. Utilizando esta análise para a priorização de populações a serem conservadas, pode-se afirmar que as populações com valores positivos para o Eixo 2 e negativos para o Eixo 1 devem ser priorizadas para a conservação.

Tabela 6: Correlações entre os autovalores e os cinco primeiros componentes principais para *Ocotea porosa*. UFSC, 2011.

Índice	Eixo 1	Eixo 2	Eixo 3	Eixo 4	Eixo 5
--------	--------	--------	--------	--------	--------

P	0,429	-0,078	0,490	-0,740	0,146
A	0,422	0,480	-0,021	0,028	-0,767
H_o	-0,466	0,456	0,211	-0,166	-0,024
H_e	-0,082	0,637	-0,418	-0,328	0,376
f	0,528	-0,081	-0,577	-0,009	0,221
<i>Raros</i>	0,368	0,378	0,455	0,562	0,446

Segundo Bittencourt (2007), para a efetiva conservação de populações de *O. porosa* são necessárias grandes áreas, visto que a espécie apresenta estrutura familiar com altos índices de endogamia, fazendo com que sejam necessários vários grupos familiares para que os efeitos da endogamia e deriva genética não inviabilizem as populações remanescentes no médio-longo prazo. O trabalho de Bittencourt (2007) foi desenvolvido na população Caçador-Epagri onde, no presente trabalho, foram observadas frequências alélicas próximas ao Equilíbrio de Hardy-Weinberg quando coletados 49 indivíduos com distâncias variando de 50 a 100 m. Considerando que o diâmetro da área de vizinhança estimado por Bittencourt (2007) foi de aproximadamente 85 m (incluindo 62 indivíduos), cada amostra pode estar representando uma agrupamento familiar. Desse modo, uma população formada por 50 demes poderia ser considerada como suficiente para manter em equilíbrio a alta diversidade genética de uma população de *O. porosa*. Tendo em vista que cada deme ocupa uma área de aproximadamente 2,3 ha, seriam necessários aproximadamente 115 ha para manter uma população de *O. porosa* viável no médio prazo. A posterior inclusão de informações sobre os fragmentos e dados demográficos pode permitir a definição do tamanho efetivo populacional no fragmento e uma análise individual da viabilidade de cada população, por meio de uma abordagem de análise de população mínima viável.

Nesse contexto, o efeito da fragmentação florestal na Floresta Ombrófila Mista pode ser dramático para a espécie, pois os fragmentos pequenos podem incluir poucas demes familiares com altos níveis de fixação e poucos indivíduos reprodutivos, favorecendo a perda da diversidade por deriva genética. Estratégias que favoreçam a conectividade entre as populações poderiam aumentar o fluxo gênico entre estas, atuando contra os efeitos negativos da deriva genética.

A necessidade de conectividade também é reforçada pela divergência genética entre as populações encontrada, onde o F_{ST} foi alto (0,195). Da mesma forma a presença de alelos exclusivos em duas

populações e o grande número de alelos em baixa frequência indica uma grande vulnerabilidade das populações aos efeitos da deriva genética. A implementação de corredores de fluxo gênico interligando os fragmentos florestais, visando a sua conectividade, contribuiriam para a manutenção da coesão entre as populações, em termos de fluxo gênico, evitando o declínio populacional em fragmentos menores. O trabalho envolvendo a recuperação de áreas ciliares, conforme a legislação florestal nacional vigente, pode ser uma estratégia eficaz de aumento da conectividade dos fragmentos florestais dentro de bacias hidrográficas. A criação de Unidades de Conservação de formas lineares, com o intuito específico de aumentar a conectividade entre e dentro de bacias hidrográficas é outra estratégia que deve ser utilizada para diminuir os efeitos do isolamento entre os fragmentos florestais dentro do estado de Santa Catarina.

Além disso, também em decorrência da estruturação genética espacial observada por Bittencourt (2007) para a espécie, deve-se respeitar uma distância mínima de 100 m entre plantas, tanto na coleta de sementes para conservação *ex situ* ou para uso das sementes na recuperação de áreas degradadas, quanto na coleta de material para caracterização da diversidade genética. Desse modo, é possível escapar da estrutura familiar, evitando coletar amostras ou sementes de indivíduos fortemente aparentados, permitindo maximizar a amostragem da diversidade genética.

As populações de Passos Maia-1, Passos Maia-2 e Caçador-Epagri deveriam ser priorizadas para a conservação *in situ* da espécie por apresentarem altos níveis de diversidade genética intrapopulacional e índices de fixação não diferentes de zero. Desse modo estas populações teriam diversidade genética que lhes daria a possibilidade de evolução contínua dentro do seu ambiente natural, o que, conseqüentemente, lhes daria condições de persistência por longos períodos. É importante ressaltar que a população Caçador-Epagri localiza-se em uma área federal na Reserva Genética Florestal de Caçador, propriedade da EMBRAPA e que as populações Passos Maia-1 e Passos Maia-2 localizam-se no Parque Nacional das Araucárias. Portanto, as duas populações têm uma perspectiva de garantia de conservação muito grande.

Algumas das populações que apresentaram altos índices de fixação também devem ser priorizadas para conservação devido à divergência genética encontrada entre as populações e por apresentarem grande número de alelos raros e exclusivos, indicando que estas

populações detêm uma grande quantidade de diversidade genética. Entre elas, as prioritárias são Canoinhas, Rio das Antas, Itaiópolis-1 e Itaiópolis-2, devido a vários fatores, como número de alelos por loco, número de alelos raros e diversidade genética. Porém é necessário que se faça uma avaliação da atual situação dessas áreas, no intuito de definir estratégias que possam auxiliar a reverter os altos índices de fixação encontrados para estas, visando assegurar que as populações disponham, futuramente, de potencial evolutivo que capacite as populações à responder às mudanças devidas à ação de forças seletivas.

O aumento da área dos fragmentos menores proporcionaria, depois de determinado período de tempo, o aumento do tamanho efetivo populacional, o que poderia atenuar, os possíveis efeitos da fixação. A recuperação de áreas degradadas do entorno seria outra medida importante a ser tomada, principalmente levando-se em consideração a grande dificuldade de se encontrar populações de *O. porosa*, e também contribuiria para aumentar o fluxo gênico entre as populações.

Porém, um ponto de fundamental importância é a origem genética das sementes a serem utilizadas nestes processos, como indica Sebbenn (2002). A origem, número de matrizes, número de sementes coletadas e a contribuição gamética têm papel central no sucesso destes programas. A coleta de sementes requer a retirada de amostras representativas da variabilidade genética de uma ou várias populações, a fim de evitar endogamia nas futuras gerações e conservar o potencial evolutivo das espécies, sendo que é desejável que as populações depois de estabelecidas, mantenham-se por tempo indefinido a partir de sementes originadas dos cruzamentos dos próprios indivíduos da população fundada (Sebbenn, 2002).

Nesse contexto, a população Caçador-Epagri se destaca como uma potencial área de coleta de sementes para produção de mudas a serem utilizadas na microrregião de Joaçaba. Há nessa população uma alta diversidade genética e um índice de fixação não significativo. Além disso, a população está localizada em uma área de pública o que pode facilitar o uso da mesma para coleta de sementes. Na microrregião de Canoinhas, a população Itaiópolis-2 também apresenta potencial para ser uma área de coleta de sementes pois apresenta alta diversidade genética aliada à presença de dois alelos exclusivos e o menor índice de fixação da microrregião. Já na microrregião de Xanxerê há duas boas opções de áreas de coleta de sementes. São elas as populações Passos Maia-1 e Passos Maia-2. As duas apresetam índices de fixação não significativos e alta diversidade genética.

Porém novas áreas de coleta de sementes devem ser identificadas nas microrregiões visto que a divergência genética entre as populações dentro das microrregiões é grande.

Outra alternativa que poderia ser utilizada para amenizar os efeitos negativos da deriva genética seria a introdução de migrantes, através da introdução de propágulos provenientes de outras populações. É importante ressaltar que na introdução de migrantes deve-se utilizar material proveniente de populações da mesma região.

6.2. *Araucaria angustifolia*

A *Araucaria angustifolia* foi a espécie com o maior número de populações avaliadas neste trabalho. No total, foram amostradas e avaliadas 31 populações naturais da espécie (Figura 7).

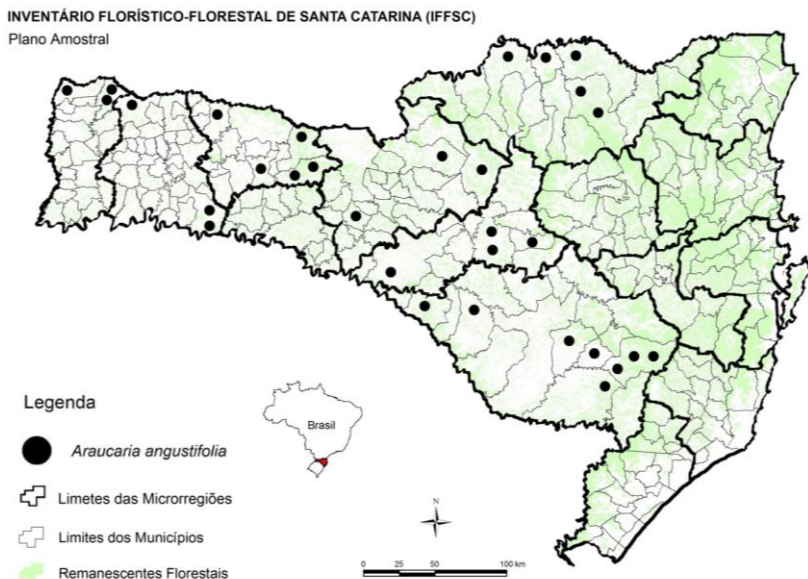


Figura 7: Locais de coleta de *Araucaria angustifolia* para a caracterização da diversidade e estrutura genética no Estado de Santa Catarina. UFSC, 2011.

Na Tabela 7 são apresentadas características das populações coletadas.

Tabela 7: Número da Unidade Amostral de referência do IFF-SC, nome da população e características do fragmento onde foi realizada a coleta de 31 populações de *Araucaria angustifolia*. UFSC, 2011.

UA	Município	Características
537	Chapecó1	Área já explorada
1980	Joaçaba1	Área onde já ocorreu corte seletivo e apresenta baixa densidade de Araucária.
193	Despraiado	Área explorada com população sendo recomposta com boa densidade.
727	Campo Belo do Sul	Área remanescente em bom estado de conservação.
926	São Domingos	
832	Passos Maia	Área remanescente de 50 ha em bom estado de conservação.
167	Urubici	Área em que já houve extração de madeira
186	Urupema	Área com predominância de capões entremeados por campo aberto
211	Painel	Área com predominância de campo com presença de pequenos capões.
140	Santa Bárbara	Área explorada há 40 anos, indivíduos coletados ao longo de linhas de drenagem e em capões.
729	Caçador-Epagri	Área em ótimo estado de conservação.
720	Passos Maia SF	Área de 500ha com pouca exploração. Estrutura da floresta bem preservada. Contornada por áreas de agricultura e floresta de Pinus.
718	Ponte Serrada	Área de 500ha com pouca exploração, estrutura da floresta preservada. Contornada por floresta de Pinus e agricultura
1038	Três Barras	Área com aproximadamente 80 ha bem conservada
901	Itaiópolis 1	Área com aproximadamente 200 ha onde houve intensa extração de imbuia
1055	Canoinhas	Área com aproximadamente 50 ha em que já houve extração de madeira
5000	A. Garibaldi	Grande remanescente florestal (> 50ha) em estágio médio de regeneração e que já sofreu intensa exploração madeireira

321	Campos Novos	Grande remanescente florestal (> 50ha) em estágio médio de regeneração e que já sofreu intensa exploração madeireira
369	Curritibanos 2	Grande remanescente florestal (> 50ha) em estágio médio de regeneração e que já sofreu intensa exploração madeireira
562	Curritibanos 1	Pequeno remanescente florestal (< 50ha) em estágio médio de regeneração e que já sofreu intensa exploração madeireira
453	S. Cristovão	Pequeno remanescente florestal (< 50ha) em estágio médio de regeneração e que já sofreu intensa exploração madeireira
1061	Mafra	Pequeno fragmento florestal (< 50ha) em bom estado de conservação
901	Itaiópolis 2	Pequeno fragmento florestal (< 50ha) em bom estado de conservação
714	Faxinal dos Guedes	Pequeno remanescente florestal (< 50ha) em estágio médio de regeneração e que já sofreu intensa exploração madeireira
6003	Palma Sola 2	Pequeno fragmento florestal (< 50ha) em bom estado de conservação
6001	Palma Sola 1	Pequeno fragmento florestal (< 50ha) em bom estado de conservação
597	Chapecó 2	Pequeno remanescente florestal (< 50ha) em estágio médio de regeneração e que já sofreu intensa exploração madeireira
1001	D. Cerqueira	Grande remanescente florestal (> 50ha) em estágio médio de regeneração e que já sofreu intensa exploração madeireira
619	Lebon Régis	Grande remanescente florestal (> 50ha) em estágio médio de regeneração e que já sofreu intensa exploração madeireira
919	Campo Erê	Pequeno remanescente florestal (< 50ha) em estágio médio de regeneração e que já sofreu intensa exploração madeireira
192	Urubici	Grande remanescente florestal (> 50ha) em estágio médio de regeneração e que já sofreu intensa exploração madeireira

Para a caracterização da diversidade genética destas populações foi utilizado um protocolo composto por 12 sistemas isoenzimáticos que revelou 14 locos passíveis de interpretação (Tabela 8).

Tabela 8: Frequências alélicas para 31 populações de *Araucaria angustifolia* avaliadas no Estado de Santa Catarina. UFSC, 2011.

Loco	Alelo	São Cristóvão 1	Curitibaos 2	Chapecó 2	Dionísio Cerqueira	Itaipópolis	Mafra	Faxinal dos Guedes	Palma Sola 1	Palma Sola 2	Lebon Régis
FES 1	1	0,000	0,071	0,313	0,000	0,000	0,000	0,146	0,356	0,031	0,000
	2	0,760	0,929	0,573	0,935	0,991	1,000	0,833	0,644	0,771	0,417
	3	0,240	0,000	0,115	0,065	0,009	0,000	0,021	0,000	0,198	0,583
	4	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
PRX 1	1	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	2	0,545	0,513	0,644	0,736	0,708	0,815	0,827	0,764	0,796	0,509
	3	0,284	0,225	0,183	0,127	0,151	0,167	0,136	0,142	0,130	0,205
	4	0,170	0,263	0,173	0,136	0,142	0,019	0,036	0,094	0,074	0,286
LAP1	1	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	0,964
	2	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,036
IDH 1	2	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,018	0,000	0,009	0,000	0,000
	3	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	0,930	1,000	0,991	1,000	1,000
	4	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,053	0,000	0,000	0,000	0,000
	GOT 1	1	1,000	1,000	1,000	1,000	0,991	1,000	1,000	1,000	1,000
2		0,000	0,000	0,000	0,000	0,009	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
MDH 1	1	1,000	1,000	0,991	0,991	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000
	2	0,000	0,000	0,009	0,009	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
SKDH 1	1	0,972	0,946	0,981	0,945	0,982	0,982	0,982	0,981	0,991	0,973
	2	0,028	0,054	0,019	0,055	0,018	0,018	0,018	0,019	0,009	0,027
SKDH 2	1	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,009	0,000	0,000	0,000	0,000
	2	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	0,991	1,000	1,000	1,000	1,000
	3	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
PGM 1	1	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	2	0,935	0,964	0,945	0,955	0,991	0,974	0,991	0,900	0,944	0,964
	3	0,065	0,036	0,055	0,045	0,009	0,026	0,009	0,100	0,056	0,036
6PGD 1	1	0,038	0,000	0,009	0,000	0,018	0,009	0,028	0,000	0,009	0,063
	2	0,519	0,418	0,291	0,373	0,545	0,430	0,370	0,324	0,336	0,304
	3	0,442	0,582	0,700	0,627	0,436	0,561	0,602	0,676	0,655	0,634

PGI 3	1	0,019	0,000	0,142	0,000	0,027	0,055	0,018	0,019	0,000	0,036
	2	0,065	0,071	0,142	0,091	0,064	0,073	0,036	0,185	0,148	0,125
	3	0,907	0,902	0,660	0,900	0,909	0,864	0,875	0,778	0,824	0,830
	4	0,009	0,027	0,057	0,009	0,000	0,009	0,054	0,019	0,028	0,009
	5	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,018	0,000	0,000	0,000
ACP 1	1	0,711	0,938	1,000	1,000	1,000	1,000	0,973	0,991	0,991	0,973
	2	0,278	0,063	0,000	0,000	0,000	0,000	0,027	0,009	0,009	0,027
	3	0,011	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
MDH 2	1	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000

Tabela 4: ... continuação

Loco		Alelo	Campos Novos	Anita Garibaldi	Curitibaanos 1	Chapecó	Campo Belo do Sul	São Domingos	Joaçaba	Despraiado	Passos Maia	Sta. Barbara
FES 1	1	0,039	0,038	0,021	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	2	0,961	0,962	0,777	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000
	3	0,000	0,000	0,202	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	4	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
PRX 1	1	0,000	0,009	0,000	0,750	0,635	0,637	0,712	0,606	0,644	0,615	
	2	0,655	0,518	0,690	0,154	0,192	0,265	0,106	0,221	0,183	0,375	
	3	0,227	0,400	0,202	0,096	0,163	0,098	0,183	0,173	0,173	0,010	
	4	0,118	0,073	0,107	0,000	0,010	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	
LAP1	1	0,473	1,000	0,951	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	
	2	0,527	0,000	0,049	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	
IDH 1	2	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	
	3	0,982	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	
	4	0,018	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	
GOT 1	1	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	
	2	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	
MDH 1	1	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	0,990	1,000	1,000	0,981	1,000	

	2	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,010	0,000	0,000	0,019	0,000
SKDH 1	1	0,945	0,927	0,910	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000
	2	0,055	0,073	0,090	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	1	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
SKDH 2	2	1,000	1,000	1,000	0,981	0,971	0,990	0,990	0,981	1,000	1,000
	3	0,000	0,000	0,000	0,019	0,029	0,010	0,010	0,019	0,000	0,000
PGM 1	1	0,009	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	2	0,927	0,982	0,962	0,952	0,952	0,980	1,000	1,000	0,952	0,962
	3	0,064	0,018	0,038	0,048	0,048	0,020	0,000	0,000	0,048	0,038
6PGD 1	1	0,036	0,000	0,010	0,029	0,048	0,010	0,038	0,067	0,058	0,048
	2	0,355	0,340	0,448	0,394	0,433	0,520	0,365	0,394	0,490	0,510
	3	0,609	0,660	0,542	0,577	0,519	0,471	0,596	0,538	0,452	0,442
PGI 3	1	0,036	0,108	0,048	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	2	0,073	0,127	0,317	0,067	0,144	0,167	0,058	0,106	0,125	0,067
	3	0,891	0,765	0,635	0,894	0,827	0,784	0,933	0,894	0,865	0,885
	4	0,000	0,000	0,000	0,038	0,029	0,049	0,010	0,000	0,010	0,048
	5	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
ACP 1	1	0,991	0,870	0,915	0,923	0,952	0,980	0,981	1,000	0,875	0,971
	2	0,009	0,130	0,085	0,077	0,048	0,020	0,019	0,000	0,125	0,029
	3	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
MDH 2	1	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000

Tabela 4: ... continuação

Loco	Alto	Caçador Epagri	Painel	Urupema	Urubici	Tozzo F.PS.	Tozzo F.SF.	Três Barras	Itaiópolis	Canoíhas	Campo dos Padres	Campo Erê
FES 1	1	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,064	0,000	0,030	0,051	0,033
	2	1,000	1,000	1,000	1,000	0,652	0,721	0,915	0,857	0,920	0,872	0,925
	3	0,000	0,000	0,000	0,000	0,348	0,279	0,021	0,133	0,030	0,077	0,042
	4	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,010	0,020	0,000	0,000

MDH 2	1	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000
-------	---	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------

Foram encontrados no conjunto das 31 populações avaliadas de *A. angustifolia* um total de 37 alelos, variando de 18 alelos na população Urubici a 26 alelos nas populações Faxinal dos Guedes, Campos Novos e Canoinhas. É possível observar na tabela de frequências alélicas (Tabela 7), um grande número de alelos que ocorrem em baixa frequência nas populações amostradas. Dos 37 alelos identificados, 15 ocorrem em baixa frequência (<5% no conjunto de populações). Para Ruiz *et al.* (2007), do ponto de vista da conservação, é importante considerar as informações acerca do número de alelos em baixa frequência pois distúrbios podem fazer com que os mesmos sejam perdidos mais facilmente. Levando em consideração o atual quadro de fragmentação dos remanescentes florestais na área de ocorrência da *A. angustifolia* e os efeitos negativos causados pela fragmentação florestal sobre populações naturais, o montante de diversidade alélica que corre grande risco de ser perdida é muito alta quando comparada com o número total de alelos detectados para a espécie.

Analisando as frequências alélicas para as populações, microrregiões e bacias hidrográficas do Estado de Santa Catarina foi possível detectar a presença de quatro alelos que ocorrem somente em uma população, estes presentes nas populações São Cristóvão-1, Curitiba-1, Mafra e Faxinal dos Guedes, respectivamente. Considerando as frequências alélicas para as microrregiões e para as bacias hidrográficas como um todo, foi detectado outro alelo que ocorre somente dentro da microrregião de Canoinhas/Bacia Timbó-Canoinhas-Negro, sendo detectado nas populações Itaiópolis 1 e Canoinhas (FES1-4).

A presença de alelos exclusivos indica que o fluxo gênico é restrito entre as populações e entre microrregiões. Da mesma forma, a fixação aleatória de alelos nas populações sugere que os efeitos da deriva genética se mostram mais expressivos nas mesmas. O gargalo genético provocado pela forte exploração sofrida pelas populações de *A. angustifolia* pode ter acentuado os efeitos de deriva genética nas populações fazendo com que alelos que ocorriam em baixa frequência fossem perdidos. O alto grau de fragmentação também impede um maior fluxo gênico entre as populações evitando que a movimentação dos alelos entre as populações possa contrapor os efeitos da deriva genética. A presença de alelos exclusivos reforça este aspecto.

Os índices de diversidade genética intrapopulacional para as 31 populações de *A. angustifolia* avaliadas são apresentados na Tabela 9. As populações estão agrupadas nas microrregiões do Estado de Santa Catarina.

Tabela 9: : Índices de diversidade genética (*P*- porcentagem de locos polimórficos, *A*- número de alelos por loco, *AR*- número de alelos efetivos, *H_o*- heterozigiosidade observada, *H_e*- diversidade genética, *f*- índice de fixação, *AR*- número de alelos raros, *AE*- número de alelos exclusivos) para 31 populações, e suas respectivas microrregiões, de *Araucaria angustifolia* no Estado de Santa Catarina. UFSC, 2011.

Microrregião	População	<i>P</i>	<i>A</i>	<i>AR</i>	<i>H_o</i>	<i>H_e</i>	<i>f</i>	<i>AR</i>	<i>AE</i>
Curitibanos	São Cristóvão 1 – 453	53,8	1,92	1,86	0,149	0,176	0,153*	6	1
	Curitibanos 2 – 369	53,8	1,69	1,68	0,089	0,133	0,329*	5	
	Campos Novos – 321	69,2	2,00	1,92	0,088	0,162	0,454*	8	1
	Curitibanos 1 – 562	61,5	1,92	1,89	0,081	0,181	0,549*	7	
	Média	59,6	1,88	1,84 ^A	0,102 ^A	0,163 ^A	0,371* ^A		
Chapecó	Chapecó 2 – 597	53,8	1,92	1,85	0,125	0,170	0,263*	7	
	Chapecó 1 – 537	46,2	1,69	1,68	0,099	0,107	0,077	5	
	Campo Erê – 919	69,2	1,92	1,84	0,058	0,135	0,569*	8	
	Média	56,4	1,85	1,79 ^A	0,094 ^A	0,138 ^{AB}	0,303* ^A		
São Miguel do Oeste	Dionísio Cerqueira -1001	53,8	1,69	1,63	0,099	0,109	0,086	4	
	Palma Sola 1 – 6001	61,5	1,85	1,75	0,107	0,148	0,277*	7	
	Palma Sola 2 – 6003	53,8	1,85	1,75	0,106	0,125	0,153*	5	
	Média	56,4	1,79	1,71 ^A	0,104 ^A	0,127 ^{BC}	0,172* ^B		
Campos de Lages	Campo Belo do Sul -727	46,2	1,77	1,73	0,087	0,125	0,303*	5	
	Despraiado – 92	30,8	1,46	1,45	0,087	0,104	0,157*	2	
	Sta. Bárbara – 140	38,5	1,62	1,58	0,078	0,106	0,262*	4	
	Painel – 211	46,2	1,69	1,63	0,091	0,111	0,178*	5	
	Urupema – 186	38,5	1,62	1,55	0,080	0,101	0,211*	4	
	Urubici – 167	30,8	1,38	1,38	0,090	0,107	0,160*	1	
	Anita Garibaldi –5000	53,8	1,77	1,73	0,098	0,146	0,329*	5	
	Campo dos Padres -92	53,8	1,69	1,63	0,094	0,138	0,317*	5	

	Média	42,3	1,63	1,60 ^B	0,088 ^A	0,117 ^{BC}	0,240 ^{*AB}	
Canoinhas	Três Barras – 1038	46,2	1,77	1,69	0,074	0,110	0,326*	5
	Itaiópolis 2 – 984	46,2	1,69	1,63	0,102	0,112	0,089	5
	Canoinhas – 1055	53,8	2,00	1,88	0,083	0,097	0,142*	8
	Itaiópolis 1 – 901	53,8	1,77	1,65	0,088	0,095	0,079	5
	Mafra – 1061	53,8	1,92	1,78	0,069	0,100	0,312*	7 1
	Média	50,8	1,83	1,73 ^A	0,083 ^A	0,103 ^C	0,190 ^{*B}	
Xanxerê	Ponte Serrada – 718	61,5	1,85	1,81	0,130	0,153	0,152*	5
	Passos Maia SF – 720	53,8	1,69	1,63	0,103	0,131	0,215*	4
	Passos Maia – 832	46,2	1,69	1,65	0,108	0,129	0,162*	5
	São Domingos – 926	53,8	1,77	1,67	0,077	0,116	0,339*	6
	Faxinal dos Guedes -714	53,8	2,00	1,91	0,073	0,110	0,337*	6 1
	Média	53,8	1,80	1,73 ^A	0,098 ^A	0,128 ^{BC}	0,241 ^{*AB}	
Joaçaba	Lebon Régis – 789	61,5	1,92	1,88	0,165	0,166	0,005	7
	Joaçaba – 1980	38,5	1,62	1,55	0,071	0,089	0,201*	3
	Caçador Epagri – 729	46,2	1,69	1,68	0,084	0,101	0,171*	5
	Média	48,7	1,74	1,70 ^{AB}	0,107 ^A	0,119 ^{BC}	0,126 ^{*B}	
Estado	Média	51,1	1,77	1,71	0,095	0,126	0,237*	
	Total	92,3	2,85	2,76	0,094	0,142	0,339*	15

* $P < 0,05$. Valores significativamente diferentes de zero após correção de Bonferroni. Letras diferentes (A, B) indicam que os valores são significativamente diferentes entre si

Para os 14 locos analisados foi encontrada uma média de polimorfismo intrapopulacional de 51,1%. Os índices de diversidade genética (H_e) obtidos variaram de 0,089 (pop. Joaçaba) até 0,181 (pop. Curitibaanos 1), com uma média de 0,126 para o conjunto das populações. Estes valores são inferiores ao encontrado para a mesma espécie por Mantovani (2003) em Campos do Jordão ($H_e=0,170$) e superiores aos valores encontrados por Auler *et al* (2002) para populações analisadas em Santa Catarina consideradas pouco degradadas ($H_e=0,112$). No entanto, entre as populações avaliadas existem populações com diversidade genética numericamente maior que

a encontrada por Mantovani (2003) e com diversidade genética numericamente menor que a encontrada por Auler *et al* (2002).

Em relação aos índices de fixação para as populações, algumas populações de *A. angustifolia* apresentaram índices de fixação baixos e não diferentes de zero, como as populações Lebon Régis, Chapecó 1 e Itaiópolis 1. Estas populações apresentam um índice de fixação que adere ao Equilíbrio de Hardy-Weinberg, atendendo ao princípio de acasalamentos aleatórios e ausência de deriva genética, o que seria esperado para espécies dióicas com polinização anemofílica.

No entanto, é possível notar que há um grande número de populações de *A. angustifolia* que apresentam índices de fixação altos e significativamente diferentes de zero. A população Campo Erê apresentou um índice de fixação de 0,569, sendo o maior detectado. Este índice de fixação é maior inclusive que a endogamia esperada por autofecundação (0,5). Outras populações que apresentaram um f muito alto foram Curitibaanos 1 ($f= 0,549$), Campos Novos ($f= 0,454$), São Domingos ($f=0,339$), Faxinal dos Guedes ($f= 0,337$), entre outras. Estes índices de fixação são similares aos encontrados por Ferreira (2008) em uma população nativa no Norte do Estado onde foi obtido um índice de fixação igual a 0,464. Índices de fixação tão altos e significativamente diferentes de zero, sugerem estar ocorrendo na maioria das populações altos níveis de cruzamentos entre aparentados, e/ou grande restrição no tamanho efetivo populacional, visto que a *A. angustifolia* é uma espécie dióica, portanto não podendo realizar autofecundação. Estes altos níveis de endogamia tendem, ao longo do tempo, promover a redução da riqueza alélica resultando na perda e fixação de determinados alelos, além de aumentar os efeitos de depressão por endogamia.

Bittencourt & Sebbenn (2007) estudando uma população adulta de *A. angustifolia* propuseram que parte do f obtido por eles era decorrente do Efeito Wahlund. Utilizando a relação dos índices F de Wright e o coeficiente de coancestria obtido para a população obtiveram um índice de fixação igual a -0,008, enquanto que o índice de fixação originalmente obtido tinha sido de 0,150. A ocorrência de estruturação genética interna detectada por vários autores (Bittencourt & Sebbenn, 2007; 2008; Mantovani *et al* , 2006; Steffenon *et al* , 2007) também reforça a tese de que uma parte da fixação encontrada nas populações de *A. angustifolia* deve ser decorrente de estrutura genética interna e, portanto, efeito Wahlund. Ruiz *et al.* (2007) em um trabalho com *A. araucana* também indica que os fortes desvios do esperado no Equilíbrio de Hardy-Weinberg encontrados para a espécie, podem ser

explicados pelo efeito Wahlund: quando populações naturais são subdivididas em várias sub-unidades reprodutivas diferentes, a frequência dos homozigotos tende a ser maior que o esperado em Equilíbrio de Hardy-Weinberg (Nei, 1987).

Ruiz *et al* (2007) também afirmam que o efeito Wahlund pode ser encontrado em populações recentemente fundadas onde vários eventos de colonização independentes tenham ocorrido. Como uma grande parte das populações de *A. angustifolia* analisadas deve ser composta por indivíduos oriundos da regeneração da espécie em locais onde houve intensa exploração madeireira, tendo em vista o porte dos indivíduos, pode-se considerar que são populações recentes onde vários eventos de colonização independentes ocorreram. Desse modo, a subdivisão interna existente em várias populações amostradas, e o efeito Wahlund decorrente, explicariam uma parte dos altos índices de fixação encontrados para algumas populações naturais de *A. angustifolia*.

Outro fator que pode contribuir para este fato é a distância com autocorrelação significativa em torno de 70 metros encontrada por Bittencourt & Sebbenn (2007). Como no presente trabalho foi respeitada uma distância de 50 metros entre plantas coletadas, é possível que uma parte do índice de fixação obtido para cada uma das 31 populações de *A. angustifolia* seja realmente decorrente do efeito Wahlund causado pela estruturação interna apresentada pelas populações da espécie.

Na Tabela 10 são apresentados os estimadores de estrutura genética (Weir & Cockerham, 1984) para todas as populações de *A. angustifolia*, para as populações por microrregião do Estado e por Bacia Hidrográfica.

Tabela 10: Tabela de índices F de Wright, obtidos pelo método de variância (Weir & Cockerham, 1984) e G_{ST}' (Hedrick, 2005) para 31 populações de *Araucaria angustifolia* no Estado de Santa Catarina, por Microrregião e Bacia Hidrográfica. UFSC, 2011.

Microrregião	F_{IT} (IC 95%)	F_{ST} (IC 95%)	F_{IS} (IC 95%)	G_{ST}'
Curitiba	0,436 (0,217 a 0,688)	0,094 (0,019 a 0,234)	0,377 (0,177 a 0,613)	0,131
Chapecó	0,443 (0,196 a 0,573)	0,202 (0,044 a 0,330)	0,302 (0,136 a 0,379)	0,266
S. Miguel do Oeste	0,212 (0,124 a 0,272)	0,038 (-0,006 a 0,120)	0,181 (0,094 a 0,242)	0,049
Campos de Lages	0,313 (0,119 a 0,470)	0,087 (0,016 a 0,171)	0,247 (0,092 a 0,362)	0,110
Canoinhas	0,204 (0,110 a 0,415)	0,015 (0,003 a 0,031)	0,191 (0,101 a 0,408)	0,018
Xanxerê	0,331 (0,109 a 0,493)	0,128 (0,017 a 0,221)	0,233 (0,083 a 0,364)	0,166

Joaçaba	0,306 (0,057 a 0,458)	0,229 (-0,001 a 0,420)	0,100 (-0,106 a 290)	0,291
Bacias Hidrográficas	F_{IT} (IC 95%)	F_{ST} (IC 95%)	F_{IS} (IC 95%)	G_{ST}'
Peperi-Guaçu/Antas	0,310 (0,148 a 0,372)	0,053 (0,023 a 0,108)	0,272 (0,059 a 0,352)	0,069
Chapecó	0,329 (0,067 a 0,500)	0,140 (0,025 a 0,240)	0,219 (0,043 a 0,370)	0,182
Irani/Peixe	0,194 (0,055 a 0,337)	0,011 (-0,008 a 0,034)	0,185 (0,052 a 0,314)	0,013
Timbó/Canoinhas	0,204 (0,110 a 0,415)	0,015 (0,003 a 0,031)	0,191 (0,101 a 0,408)	0,018
Canoas	0,242 (-0,020 a 0,447)	0,033 (0,011 a 0,056)	0,216 (-0,032 a 0,415)	0,041
Pelotas	0,375 (0,227 a 0,541)	0,121 (0,039 a 0,226)	0,289 (0,165 a 0,440)	0,162
Total	0,342 (0,174 a 0,474)	0,129 (0,028 a 0,220)	0,244 (0,137 a 0,343)	0,166

O conjunto formado pelas populações pertencentes à microrregião de Curitiba chama a atenção por apresentar os índices médios mais altos de diversidade intrapopulacional entre todas as microrregiões do Estado. Para a mesma foram encontrados os maiores índices médios de diversidade genética ($H_e = 0,163$), número de alelos por loco ($A = 2,23$), riqueza alélica ($A_r = 1,84$) e a porcentagem de locos polimórficos ($P = 70,5\%$). Estes altos índices de diversidade genética sugerem um grande potencial evolutivo para estas populações. Apesar disso, a microrregião de Curitiba foi a que apresentou o maior índice médio de fixação para as suas populações com um F_{IS} de 0,377. Este alto F_{IS} sugere uma alta taxa de fixação apesar de parte desse índice poder ser resultado da presença de Efeito Wahlund, como discutido anteriormente. As populações da microrregião de Curitiba também apresentaram o maior índice F_{IT} indicando um desvio de panmixia da população total de 43,6%, resultado de deriva genética.

Para o conjunto das populações estudadas de *A. angustifolia* a divergência genética obtida por análise de variância ($F_{ST} = 0,129$) pode ser considerada moderada. O valor do G_{ST}' de Hedrick não diferiu muito do F_{ST} estimado, sendo igual a 0,166, indicando que as diferenças genéticas obtidas são principalmente decorrentes de diferenças entre as frequências alélicas e somente uma menor parte dessa é devido à diferenças entre a identidade dos alelos. É importante ressaltar que a *A. angustifolia* foi a espécie avaliada com a maior distribuição geográfica ao longo do estado, o que pode interferir significativamente nas estimativas de divergência genética.

Outro fator que chama a atenção é que apesar das divergências genéticas obtidas entre as populações dentro das microrregiões de

Chapecó e Joaçaba terem sido maiores que a divergência para todas as populações, para as outras cinco microrregiões a tendência foi de divergências genéticas menores dentro das microrregiões quando comparadas com a divergência genética obtida para todas as populações, apesar de não haver diferenças levando-se em consideração o intervalo de confiança. Esta tendência pode ser em função das possibilidades de troca gênica entre populações dentro de uma microrregião serem teoricamente maiores que entre populações de diferentes microrregiões.

Quando são analisadas as divergências genéticas dentro de Bacias Hidrográficas é possível notar que há uma tendência ainda maior de divergências menores dentro das Bacias quando comparadas com a divergência genética do conjunto das populações. Este é um resultado esperado, visto que essas menores divergências genéticas dentro das microbacias podem ser reflexo dos padrões de fluxo gênico da espécie que tende a ser mais eficiente dentro de uma mesma Bacia Hidrográfica do que entre microrregiões políticas, resultando em menor diferenciação genética entre as populações das Bacias Hidrográficas.

Por outro lado, os dados obtidos através do cálculo de correlação de Mantel (Figura 8) não apontaram nenhuma correlação significativa entre as distâncias geográficas e as divergências genéticas entre as populações ($r^2 = 0,0011$), indicando que, na condição atual, o isolamento por distância é pouco importante para explicar as divergências existentes.

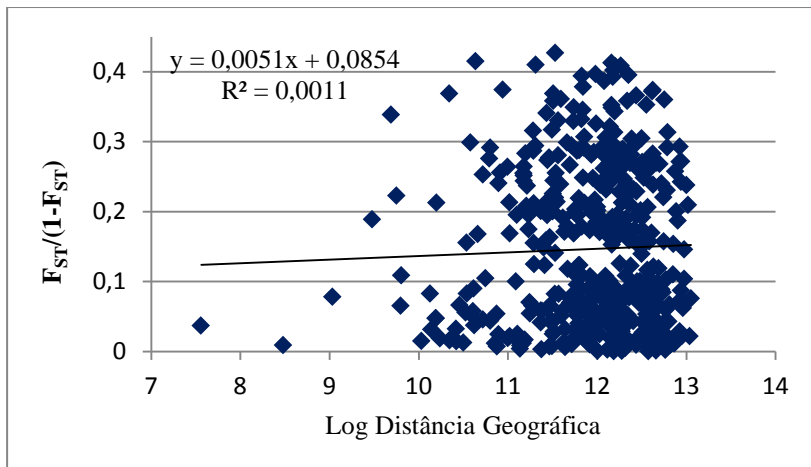


Figura 8: Correlação de Mantel entre o logaritmo natural da distância geográfica e o $F_{ST}/(1-F_{ST})$ par a par para 31 populações de *Araucaria angustifolia* no Estado de Santa Catarina. UFSC, 2011.

Trabalhando com *A. araucana*, Ruiz *et al* (2007) também não encontraram correlação entre o $F_{ST}/(1-F_{ST})$ e as distâncias geográficas de nove populações da espécie ($r=-0,193$), afirmando que o isolamento por distância não explicaria os padrões de diferenciação genética entre as populações.

A ausência de correlação entre as distâncias geográficas e a divergência genética entre as populações pode estar indicando um fluxo gênico histórico muito restrito entre as populações, inclusive entre as mais próximas. Diante do forte processo exploratório e do quadro de fragmentação a que ficaram expostas as populações remanescentes e as posteriormente fundadas, e com a restrição de fluxo gênico decorrente destes fatos, os efeitos da deriva genética devem ter influenciando fortemente estas populações, fazendo com que as divergências encontradas entre as mesmas tenha uma forte influência da aleatoriedade. A análise dos mesmos parâmetros para indivíduos jovens nestas populações pode trazer grandes contribuições para o entendimento dos efeitos da fragmentação nos processos reprodutivos contemporâneos.

A falta de correlação entre as distâncias geográficas e as divergências genéticas entre as populações também pode ser observadas na Figura 9. Foram calculadas as distâncias de Nei (1972) para as populações de *A. angustifolia* par a par. A partir destas distâncias, foi

utilizado o método UPGMA para criar um dendrograma das distâncias entre as 31 populações estudadas.

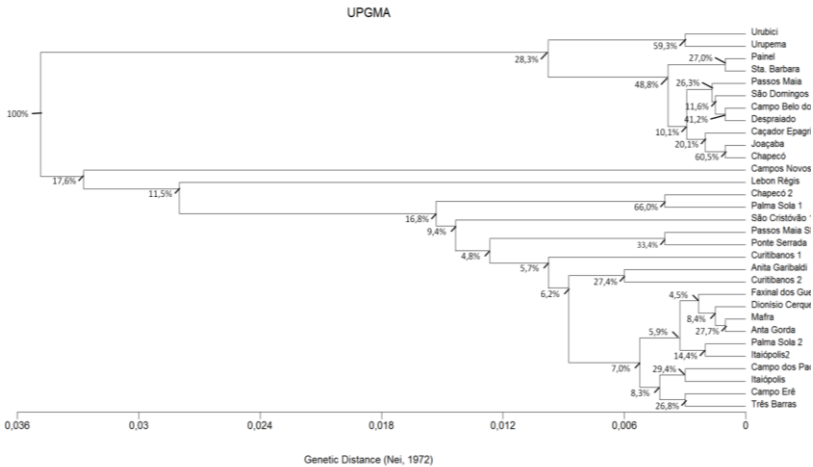


Figura 9: Dendrograma de distâncias genéticas de Nei (1972) e proporção de réplicas similares por reamostragem *bootstrap* (10.000 repetições) em cada nó para 31 populações de *Araucaria angustifolia* no Estado de Santa Catarina. UFSC, 2011.

É possível observar no dendrograma gerado, dois agrupamentos de populações fortemente diferenciadas das outras além de duas populações isoladas, (populações Lebon Régis e Campos Novos). Um grupo é formado por um conjunto onde predominam populações do Planalto Norte. O outro grupo, contudo, é formado por 11 populações e entre estas estão todas as populações da microrregião Campos de Lages, exceto pelas populações Anita Garibaldi e Campo dos Padres, podendo ser um indicativo de isolamento ou fluxo gênico restrito. A população Anita Garibaldi apesar de estar localizada na microrregião de Campos de Lages e na Bacia do Rio Canoas, está em uma região diferenciada, às margens do Rio Uruguai em local de transição da Floresta Ombrófila Mista com a Floresta Estacional Decidual, enquanto que as outras se encontram em ambiente típico do Planalto Lageano. Esta formação de um grupo bastante divergente, sendo que a maior parte das populações que formam este grupo são de uma região específica pode ser um indício de um processo de formação de ecotipos, reflexo de efeito

fundador ou até mesmo resultado de diferentes históricos de exploração da espécie.

Foi realizada uma análise de componentes principais a partir dos índices de diversidade e de fixação para as populações de *A. angustifolia* estudadas (Figura 10).

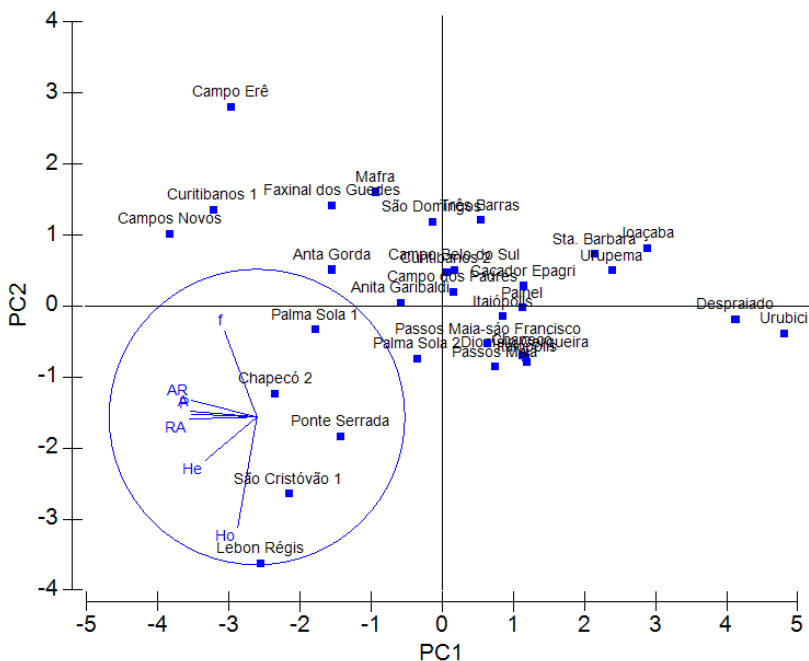


Figura 10: Análise de Componentes Principais para os índices de diversidade genética e fixação para 31 populações naturais de *Araucaria angustifolia* no Estado de Santa Catarina. UFSC, 2011.

Os dois primeiros eixos explicam 84,9% da variação total encontrada, sendo 61,6% e 23,3%, respectivamente. Para o Eixo 1 o percentual de locos polimórficos (P), assim como o número de alelos (A), a riqueza alélica (RA) e o número de alelos raros (R) foram os índices com maior peso segundo as correlações dos autovalores com os componentes principais, apresentando valores negativos. (Tabela 11). Já no Eixo 2 os índices H_o e f tiveram um peso muito maior na separação que os outros índices, sendo que o primeiro (H_o) apresentou correlação negativa e o segundo (f) apresentou correlação positiva.

Tabela 11: Correlações entre os autovalores e os cinco primeiros componentes principais para *Araucaria angustifolia*. UFSC, 2011.

Índice	Eixo 1	Eixo 2	Eixo 3	Eixo 4	Eixo 5
<i>P</i>	-0,443	0,020	-0,002	0,866	0,223
<i>A</i>	-0,453	0,039	-0,332	-0,274	0,313
<i>RA</i>	-0,462	-0,014	-0,208	-0,368	0,364
<i>H_o</i>	-0,130	-0,748	0,116	-0,041	-0,067
<i>H_e</i>	-0,348	-0,293	0,670	-0,134	-0,082
<i>f</i>	-0,221	0,583	0,555	-0,137	0,015
<i>AR</i>	-0,445	0,112	-0,278	-0,017	-0,842

As populações Urubici e Despraiado se apresentam isoladas das demais, principalmente em função dos seus baixos índices de alelos por loco, riqueza alélica e número de alelos raros. As duas populações apresentam os menores valores para estes três índices.

Tendo por base a análise de componentes principais, as populações que devem ser priorizadas para a conservação *in situ* ou para coletas para produção de mudas e/ou conservação *ex situ* são Lebon Régis, São Cristóvão-1, Ponte Serrada e Chapecó-2. Essas são as prioritárias pois são as que apresentam as melhores combinações, principalmente dos índices de fixação, diversidade genética e heterozigosidade observada.

Apesar de parte do índice de fixação obtido para as populações de *A. angustifolia* avaliadas poderem ser decorrentes do efeito Wahlund, visto que foram respeitados 50 metros entre plantas, várias populações apresentam índices muito altos e significativos, refletindo possíveis efeitos de endogamia. Populações com altos níveis de endogamia e deriva genética podem apresentar uma redução do potencial adaptativo e sofrer incremento na taxa de extinção devido ao aumento da depressão endogâmica, perda de diversidade genética e maiores probabilidades de fixação de alelos deletérios (Dudash & Fenster, 2000, Barret & Khon, 1991). É, portanto, fundamental que medidas sejam tomadas para que esse quadro seja revertido nestas populações. As populações presentes na microrregião de Curitiba apresentam um quadro preocupante, visto que o *f* médio das populações foi o mais alto obtido. Além disso estas populações apresentaram os maiores índices de diversidade genética, porém, essa alta diversidade pode ser perdida caso não sejam

tomadas medidas para conter e até reverter os efeitos da endogamia e deriva genética nas mesmas.

Assim como ocorre com a *O. porosa* a *A. angustifolia* apresenta autocorrelação genética espacial (Mantovani *et al.* , 2006; Stefennon *et al.* , 2007; Bitencourt & Sebbenn, 2007; 2008). Desse modo é importante que populações pequenas tenham suas áreas aumentadas e que estratégias que promovam a conectividade sejam implantadas. Através da conectividade entre populações, o fluxo gênico pode contrapor os efeitos da deriva genética, decorrente do pequeno tamanho populacional.

Apesar da divergência genética estimada para as populações de *A. angustifolia* ser menor que as divergências encontradas para as outras espécies estudadas, cerca de 16% da diversidade genética encontrada para a espécie é decorrente de diferenças encontradas entre as populações. Portanto, é importante que se estabeleçam áreas de conservação que propiciem a manutenção do processo evolutivo para a espécie em todas as microrregiões, para assegurar que o máximo de diversidade genética da espécie seja conservado dentro das populações.

As divergências genéticas obtidas principalmente entre as populações das microrregiões de Chapecó e Joaçaba reforçam a necessidade de medidas que promovam a conectividade entre as populações. Esses altos índices de divergência genética entre populações dentro da mesma microrregião indicam que o fluxo gênico histórico entre as mesmas foi muito restrito ou inexistente, provavelmente como resultado do isolamento decorrente da fragmentação florestal. Em decorrência da evolução do processo exploratório e da fragmentação florestal, esse quadro pode ter sido agravado, aumentando a importância do aumento da conectividade entre as populações.

Como a *A. angustifolia* tem um grande potencial para produção de madeira e celulose, assim como para a produção de pinhão, a sua utilização em plantios comerciais poderia facilitar o fluxo gênico entre populações da espécie visto que poderia em determinadas regiões, mudar drasticamente a paisagem dominada atualmente por plantios de espécies do gênero *Pinus*. Com a utilização da *A. angustifolia* a conectividade entre remanescentes florestais através de áreas com plantios comerciais poderia ser facilitada. A substituição das espécies exóticas dos plantios comerciais por *A. angustifolia* também poderia deixar a matriz da paisagem mais permeável aos potenciais dispersores não só da *A. angustifolia* como da grande maioria de espécies da Floresta Ombrófila Mista.

Analisando os índices obtidos por população e a análise de componentes principais, foram definidas áreas prioritárias para a coleta de sementes em cada microrregião do Estado. Na Microrregião de Curitiba, a população São Cristóvão-1 é prioritária pois apresenta o menor índice de fixação das populações da região além de apresentar alta diversidade genética e um alelo exclusivo. Na Microrregião de Chapecó, a população Chapecó-2 apresenta um índice de fixação mais baixo, porém a população Chapecó-1 apresenta alta diversidade genética. Como a divergência genética nessa microrregião é superior à encontrada para a maioria das populações dentro das outras microrregiões, as duas populações devem ser priorizadas.

Na microrregião de São Miguel do Oeste, a população Dionísio Cerqueira, que apresenta um índice de fixação não diferente de zero, e a população Palma Sola-1 que apresenta alta diversidade genética devem ser consideradas prioritárias para a coleta de sementes. Na microrregião dos Campos de Lages as populações Despraiado, Paineira e Urubici devem ser priorizadas. As populações Itaiópolis-1 e Itaiópolis 2 são as que apresentam os menores índices de fixação na microrregião de Canoinhas, sendo que Itaiópolis 2 apresenta alta diversidade genética na microrregião, portanto são as populações mais aptas à coleta de sementes. Do mesmo modo, as populações Ponte Serrada e Passos Maia, são as mais aptas à coleta de sementes na microrregião de Xanxerê pois apresentam os menores índices de fixação aliados a altos índices de diversidade genética. Na microrregião de Joaçaba a população mais indicada para coleta de sementes é Lebon Régis pois apresenta índice de fixação não significativo e alta diversidade genética aliada a um grande número de alelos raros.

6.3. *Dicksonia sellowiana*

Para as análises da espécie *D. sellowiana* foram avaliadas 30 populações naturais da espécie no Estado de Santa Catarina (Figura 11 e Tabela 12).

INVENTÁRIO FLORÍSTICO-FLORESTAL DE SANTA CATARINA (IFFSC)

Plano Amostral

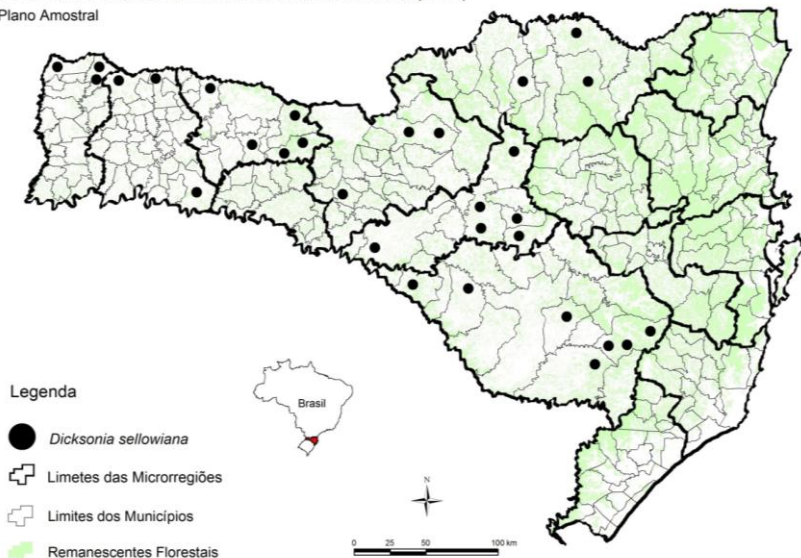


Figura 11: Locais de coleta de *Dicksonia sellowiana* para a caracterização da diversidade e estrutura genética no Estado de Santa Catarina. UFSC, 2011.

Tabela 12: Número da Unidade Amostral de referência do IFF-SC, nome da população e características do fragmento onde foi realizada a coleta de 30 populações de *Dicksonia sellowiana*. UFSC, 2011.

UA	Município	Características
413	Ponte Alta	-
537	Chapecó	Área já explorada
1980	Joaçabal	Área onde já ocorreu corte seletivo e apresenta baixa densidade de Araucária.
192	Despraiado	Área explorada com população sendo recomposta com boa densidade.
727	Campo Belo do Sul	Área remanescente em bom estado de conservação.
926	São Domingos	-
832	Passos Maia 1	Área remanescente de 50 ha em bom estado de conservação.
167	Urubici	Área em que já houve extração de madeira
211	Painel	Área com predominância de campo com presença de pequenos capões.

140	Santa Bárbara	Área explorada ha 40 anos, indivíduos coletados ao longo de linhas de drenagem e em capões.
729	Caçador-Epagri	Área em ótimo estado de conservação.
724	Macieira	Área em que já ocorreu corte de imbuia
720	Passos Maia SF	Área de 500ha com pouca exploração. Estrutura da floresta bem preservada. Contornada por áreas de agricultura e floresta de Pinus.
718	Ponte Serrada	Área de 500ha com pouca exploração, estrutura da floresta preservada. Contornada por floresta de Pinus e agricultura
5000	A. Garibaldi	Grande remanescente florestal (> 50ha) em estágio médio de regeneração e que já sofreu intensa exploração madeireira
321	C. Novos	Grande remanescente florestal (> 50ha) em estágio médio de regeneração e que já sofreu intensa exploração madeireira
369	Curitibaanos 2	Grande remanescente florestal (> 50ha) em estágio médio de regeneração e que já sofreu intensa exploração madeireira
562	Curitibaanos 1	Pequeno remanescente florestal (< 50ha) em estágio médio de regeneração e que já sofreu intensa exploração madeireira
453	S. Cristovão	Pequeno remanescente florestal (< 50ha) em bom estado de conservação
623	S. Cecilia	Grande remanescente florestal (> 50ha) em bom estado de conservação
895	M. Vieira	Grande remanescente florestal (> 50ha) em estágio médio de regeneração e que já sofreu intensa exploração madeireira
1061	Mafra	Grande remanescente florestal (> 50ha) em bom estado de conservação
901	Itaiópolis	Grande remanescente florestal (> 50ha) em bom estado de conservação
714	F. d. Guedes	Pequeno remanescente florestal (< 50ha) em estágio médio de regeneração e que já sofreu intensa exploração madeireira
6003	Palma Sola 2	Grande remanescente florestal (> 50ha) em bom estado de conservação
6001	Palma Sola 1	Grande remanescente florestal (> 50ha) em bom estado de conservação
1001	D. Cerqueira	Grande remanescente florestal (> 50ha) em estágio médio de regeneração e que já sofreu intensa exploração madeireira
877	São Lourenço do Oeste	Pequeno remanescente florestal (< 50ha) em estágio médio de regeneração e que já sofreu intensa exploração madeireira

919	Campo Erê	Pequeno remanescente florestal (< 50ha) em estágio médio de regeneração e que já sofreu intensa exploração madeireira
192	Campo dos Padres	Grande remanescente florestal (> 50ha) em bom estado de conservação

Foram utilizados sete sistemas enzimáticos para caracterização genética de *D. sellowiana*. Estes sistemas revelaram oito locos interpretáveis, sendo todos polimórficos em nível de espécie. Foram encontrados 28 alelos nas 30 populações analisadas (Tabela 13).

Tabela 13: Frequências alélicas para 30 populações de *Dicksonia sellowiana* avaliadas no Estado de Santa Catarina. UFSC, 2011.

Loco	Alelo	Despraiado	Corvo Branco	Passos Maia	Santa Bárbara	Jocaba	Guamirim	Chapeco	Sao Domingos	Salamone	Epagri Cacador	Ponte Alta
PGM2	1	0,025	0,110	0,019	0,000	0,096	0,000	0,000	0,000	0,029	0,000	0,693
	2	0,792	0,814	0,817	0,784	0,904	0,779	0,817	1,000	0,663	0,642	0,272
	3	0,183	0,076	0,163	0,216	0,000	0,221	0,183	0,000	0,308	0,358	0,035
	4	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	5	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
IDHI	1	1,000	1,000	1,000	0,990	1,000	0,990	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000
	2	0,000	0,000	0,000	0,010	0,000	0,010	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
PGII	1	0,115	0,183	0,163	0,157	0,087	0,135	0,000	0,000	0,000	0,000	0,036
	2	0,885	0,800	0,837	0,833	0,913	0,865	1,000	1,000	0,990	0,698	0,964
	3	0,000	0,017	0,000	0,010	0,000	0,000	0,000	0,000	0,010	0,302	0,000
6PGDHI	1	0,016	0,050	0,000	0,000	0,000	0,000	0,019	0,000	0,000	0,005	0,983
	2	0,926	0,908	0,923	0,667	1,000	0,990	0,875	1,000	1,000	0,955	0,017
	3	0,057	0,042	0,077	0,333	0,000	0,010	0,106	0,000	0,000	0,040	0,000
A-EST1	1	0,139	0,075	0,029	0,000	0,058	0,010	0,125	0,066	0,000	0,010	1,000
	2	0,861	0,925	0,952	1,000	0,933	0,981	0,875	0,915	1,000	0,588	0,000
	3	0,000	0,000	0,019	0,000	0,010	0,010	0,000	0,019	0,000	0,402	0,000
A-EST2	1	0,000	0,000	0,000	0,000	0,096	0,000	0,000	0,028	0,000	0,000	0,009
	2	0,082	0,331	0,433	0,776	0,163	0,846	1,000	0,274	0,827	0,691	0,898
	3	0,918	0,669	0,567	0,224	0,740	0,154	0,000	0,698	0,173	0,309	0,093

SKDH	1	0,000	0,000	0,010	0,000	0,029	0,000	0,019	0,075	0,010	0,120	0,009
	2	0,951	0,842	0,923	0,912	0,885	0,933	0,856	0,887	0,942	0,719	0,891
	3	0,049	0,158	0,067	0,078	0,087	0,067	0,125	0,038	0,048	0,161	0,100
	4	0,000	0,000	0,000	0,010	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
ACPI	1	0,074	0,000	0,000	0,000	0,019	0,000	0,000	0,000	0,058	0,000	0,018
	2	0,910	1,000	1,000	0,931	0,981	1,000	1,000	1,000	0,904	0,990	0,946
	3	0,016	0,000	0,000	0,069	0,000	0,000	0,000	0,000	0,038	0,010	0,036

.. continuação

	Loco	Alelo	Panel	Sao Francisco	Ponte Serrada	Major Vieira	Santa Cecilia	Mafra	Itaiópolis	São Cristóvão	Campos Novos	Curitibanos 2	Curitibanos
PGM2	1	0,000	0,037	0,073	0,045	0,000	0,020	0,000	0,018	0,010	0,009	0,010	
	2	0,902	0,824	0,823	0,625	0,591	0,627	0,670	0,691	0,676	0,664	0,721	
	3	0,098	0,139	0,104	0,036	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,029	
	4	0,000	0,000	0,000	0,295	0,409	0,343	0,321	0,291	0,314	0,327	0,221	
	5	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,010	0,009	0,000	0,000	0,000	0,019	
IDHI	1	1,000	1,000	1,000	1,000	0,973	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	
	2	0,000	0,000	0,000	0,000	0,027	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	
PGHI	1	0,063	0,055	0,029	0,035	0,036	0,000	0,019	0,045	0,019	0,018	0,000	
	2	0,938	0,945	0,971	0,965	0,964	1,000	0,981	0,955	0,981	0,964	1,000	
	3	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,018	0,000	
6PGDHI	1	0,906	0,982	0,980	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,020	0,000	0,000	
	2	0,094	0,018	0,020	1,000	1,000	0,951	0,962	0,945	0,931	0,964	0,962	
	3	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,049	0,038	0,055	0,049	0,036	0,038	
A-EST1	1	1,000	1,000	0,990	0,000	0,009	0,000	0,000	0,019	0,000	0,000	0,000	
	2	0,000	0,000	0,010	0,904	0,935	1,000	1,000	0,981	1,000	1,000	1,000	
	3	0,000	0,000	0,000	0,096	0,056	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	
A-EST2	1	0,981	0,991	1,000	0,018	0,176	0,000	0,000	0,000	0,019	0,000	0,000	
	2	0,019	0,009	0,000	0,982	0,769	0,970	1,000	0,981	0,962	1,000	1,000	
	3	0,000	0,000	0,000	0,000	0,056	0,030	0,000	0,019	0,019	0,000	0,000	

SKDH	1	0,000	0,009	0,892	0,000	0,032	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	2	0,885	0,953	0,098	0,796	0,840	0,735	0,625	0,726	0,897	0,927	0,902
	3	0,115	0,038	0,010	0,102	0,032	0,031	0,038	0,226	0,015	0,000	0,049
	4	0,000	0,000	0,000	0,102	0,096	0,235	0,337	0,048	0,088	0,073	0,049
ACPI	1	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,032	0,031	0,011	0,010	0,027	0,096
	2	1,000	1,000	1,000	0,839	0,804	0,823	0,906	0,822	0,970	0,945	0,875
	3	0,000	0,000	0,000	0,161	0,196	0,145	0,063	0,167	0,020	0,027	0,029

... continuação

	Loco	Alelo	Anita Garibaldi	Faxinal dos Guedes	Palma Sola 1	Palma Sola 2	Dionísio Cerqueira	Campo dos Padres	Campo Eré	São Lourenço D' oeste
PGM2	1	0,027	0,018	0,017	0,009	0,000	0,000	0,000	0,029	0,000
	2	0,673	0,661	0,629	0,709	0,366	0,575	0,712	0,849	
	3	0,009	0,027	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	4	0,282	0,286	0,336	0,282	0,634	0,415	0,260	0,151	
	5	0,009	0,009	0,017	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
IDHI	1	0,991	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000
	2	0,009	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
PGII	1	0,009	0,018	0,009	0,027	0,000	0,000	0,000	0,000	0,019
	2	0,991	0,982	0,991	0,973	0,982	1,000	1,000	0,981	
	3	0,000	0,000	0,000	0,000	0,018	0,000	0,000	0,000	0,000
6PGDHI	1	0,036	0,018	0,017	0,000	0,035	0,000	0,000	0,000	0,094
	2	0,955	0,946	0,922	0,973	0,860	0,964	0,991	0,877	
	3	0,009	0,036	0,060	0,027	0,105	0,036	0,009	0,028	
A-EST	1	0,018	0,027	0,034	0,000	0,087	0,013	0,000	0,000	0,000
	2	0,964	0,973	0,948	0,982	0,913	0,900	1,000	1,000	
	3	0,018	0,000	0,017	0,018	0,000	0,088	0,000	0,000	0,000
A-EST2	1	0,018	0,000	0,000	0,087	0,000	0,841	0,191	0,009	
	2	0,973	1,000	1,000	0,904	1,000	0,159	0,809	0,991	

	3	0,009	0,000	0,000	0,010	0,000	0,000	0,000	0,000
	1	0,010	0,000	0,009	0,000	0,000	0,000	0,009	0,038
	2	0,923	0,784	0,904	0,840	0,964	0,891	0,964	0,906
SKDH	3	0,000	0,039	0,035	0,080	0,000	0,091	0,027	0,057
	4	0,067	0,176	0,053	0,080	0,036	0,018	0,000	0,000
	1	0,018	0,250	NA	0,024	0,000	0,064	0,000	0,000
ACPI	2	0,946	0,603	NA	0,976	0,991	0,873	0,927	0,784
	3	0,036	0,147	NA	0,000	0,009	0,064	0,073	0,216

Das 30 populações avaliadas somente em uma, a população Paniel, não foi identificada a presença de alelos raros. Todas as outras populações apresentaram no mínimo 2 alelos raros, com destaque para Anita Garibaldi que apresentou oito alelos raros. O número médio de alelos por loco variou de 1,67 (pop. Paniel) a 3,0 (pop. Anita Garibaldi) entre as populações estudadas (Tabela 14) com A médio igual a 2,1, superior ao A encontrado para espécies de sub-bosque de florestas tropicais que é de 1,5 (Hamrick & Loveless, 1986).

Tabela 14: Índices de diversidade genética (n - tamanho amostral, P - porcentagem de locos polimórficos, A - número de alelos por loco, H_o - heterozigiosidade observada, H_e - diversidade genética, f - índice de fixação, AR - número de alelos raros) para 30 populações, e suas respectivas microrregiões, de *Dicksonia sellowiana* no Estado de Santa Catarina. UFSC, 2011.

Microrregião	População	n	P	A	H_e	H_o	f	AR
	São Cristóvão – 453	51,8	88,9	2,2	0,185	0,136	0,266*	4
	Curitibanos 2 – 369	47,3	62,5	2,0	0,092	0,069	0,252*	5
	Campos Novos – 321	44,2	75,0	2,4	0,110	0,079	0,280*	4
Curitibanos	Curitibanos 1 – 562	45,4	50,0	2,1	0,098	0,063	0,364*	5
	Santa Cecília – 623	53,2	88,9	2,3	0,230	0,145	0,372*	4
	Ponte Alta – 413	56,2	77,8	2,2	0,130	0,101	0,224*	4
	Média	49,7	73,8	2,2	0,141	0,099	0,293*	
Chapecó	Chapecó 1 – 537	52,0	55,6	1,8	0,125	0,096	0,234*	2
	Campo Erê – 919	54,6	50,0	1,9	0,121	0,100	0,171*	4

	S Lourenço D'ouest – 877	52,8	62,5	2,0	0,132	0,062	0,534*	4
	Média	53,1	56,0	1,9	0,126	0,086	0,313*	
São Miguel do Oeste	Dionísio Cerqueira - 1001	56,2	77,8	1,9	0,125	0,110	0,119*	3
	Palma Sola 1 – 6003	44,6	75,0	2,5	0,134	0,104	0,228*	5
	Palma Sola 2 – 6001	52,3	88,9	2,2	0,134	0,124	0,079	4
	Média	51,0	80,6	2,2	0,131	0,113	0,142*	
Campos de Lages	Campo Belo do Sul – 727	52,0	88,9	2,0	0,131	0,130	0,011	3
	Despraiado –92	60,9	88,9	2,2	0,168	0,103	0,390*	4
	Santa Bárbara – 140	50,8	88,9	2,1	0,217	0,165	0,241*	4
	Painel - 211	53,1	66,7	1,7	0,089	0,055	0,383*	-
	Urubici – 167	59,8	77,8	2,1	0,210	0,176	0,161*	3
	Anita Garibaldi – 5000	49,2	100,0	3,0	0,117	0,087	0,259*	8
	Campo dos Padres – 192	51,13	75,0	2,3	0,182	0,149	0,183*	4
	Média	53,8	83,7	2,2	0,159	0,124	0,233*	
Canoinhas	Major Vieira – 895	52,6	77,8	2,1	0,144	0,073	0,499*	3
	Mafra – 1061	48,1	66,7	2,1	0,151	0,168	-0,118*	5
	Itaiópolis – 901	50,2	66,7	2,0	0,133	0,157	-0,186*	4
	Média	50,3	70,4	2,1	0,143	0,133	0,065	
Xanxerê	Passos Maia – 832	52,0	77,8	2,1	0,183	0,139	0,239*	4
	São Domingos -	53,0	44,4	1,8	0,101	0,113	-0,121*	2
	Passos Maia SF – 720	54,7	66,7	1,9	0,069	0,044	0,366*	2
	Ponte Serrada – 718	50,7	66,7	1,9	0,078	0,068	0,127*	2
	Faxinal dos Guedes – 714	52,7	77,8	2,4	0,148	0,131	0,117*	5
	Média	52,6	66,7	2,0	0,116	0,099	0,146*	
Joaçaba	Macieira - 724	51,9	66,7	2,0	0,133	0,091	0,318*	5
	Joacaba – 1980	52,0	77,8	2,1	0,142	0,123	0,135*	4
	Caçador-Epagri – 729	96,3	88,9	2,2	0,295	0,358	-0,214*	5
	Média	66,7	77,8	2,1	0,190	0,191	0,080	
Estado	Média	53,9	75,2	2,1	0,144	0,118	0,193*	
	Total	1618,3	100	3,3	0,259	0,122	0,527*	11

*P< 0,05. Valores significativamente diferentes de zero após correção de Bonferroni.

A porcentagem de locos polimórficos variou de 44,4 a 100%, para as populações de São Domingos e Anita Garibaldi, respectivamente. O valor médio de P para as populações analisadas foi de 75,2%, superior ao encontrado por Hamrick & Loveless (1986) em espécies de sub-bosque de florestas tropicais com um P médio de 32,2%.

A heterozigosidade observada (H_o) variou de 0,062 para a população São Lourenço do Oeste a 0,358 na população Caçador-Epagri, sendo a média de todas as populações igual a 0,118. A heterozigosidade esperada (H_e) variou de 0,069 na população Passos Maia-São Francisco a 0,295 na população Caçador-Epagri e a média da diversidade genética para as 30 populações foi de 0,144.

Com base nas heterozigosidades observada e esperada foram obtidos os índices de fixação para as populações de *D. sellowiana*. Os índices de fixação apresentaram uma variação grande para as 30 populações de *D. sellowiana* com populações apresentando índices de fixação elevados e significativamente positivos, caracterizando um déficit de heterozigotos, e índices de fixação significativamente negativos, caracterizando excesso de heterozigotos. Essa grande variação nos índices de fixação pode ser reflexo do estado de conservação dos remanescentes florestais onde se encontram as populações da espécie e da biologia da espécie que apresenta propagação vegetativa.

As populações Epagri-Caçador, Ponte Serrada e Passos Maia - São Francisco estão entre os remanescentes florestais da Floresta Ombrófila Mista a valiadados onde as informações acerca das áreas obtidas com os proprietários e/ou gestores, indicavam baixos níveis de exploração histórica e que apresentavam uma estrutura florestal bem desenvolvida com grande quantidade de indivíduos de grande porte. As populações Palma Sola 1 e 2, Mafra, Itaiópolis e Campo Belo do Sul se localizam em grandes remanescentes florestais. Apesar de apresentarem características parecidas em relação à tamanho de remanescente e estado de conservação, essas populações apresentaram grande variação nos índices de diversidade genética. Como a *D. sellowiana* apresenta populações bem desenvolvidas, geralmente associadas a ambientes específicos dentro de um remanescente florestal (Mantovani, 2004), e, nestes ambientes, sua densidade é alta, mesmo áreas com pequenos tamanhos populacionais para outras espécies podem ser suficientes para suportar populações grandes de *D. sellowiana*.

Na Tabela 15 estão os índices F_{IT} , F_{ST} e F_{IS} e os seus intervalos de confiança para as 30 populações de *D. sellowiana* divididas nas diferentes microrregiões. O valor de F_{ST} obtido para todas as populações mostra que há forte estruturação entre as mesmas. A divergência genética obtida por F_{ST} foi de 0,439, enquanto que por G_{ST}' (Hedrick) foi de 0,586. Desse modo, pode-se afirmar que uma grande parte da variabilidade genética total da espécie é decorrente das diferenças entre as populações.

Tabela 15: Tabela de índices F de Wright, obtidos pelo método de variância (Weir & Cockerham, 1984) e G_{ST}' (Hedrick, 2005) para 29 populações de *Dicksonia sellowiana* no Estado de Santa Catarina, por Microrregião e Bacia Hidrográfica. UFSC, 2011.

Microrregião	F_{IT}(IC 95%)	F_{ST}(IC 95%)	F_{IS}(IC 95%)	G_{ST}'
São Miguel do Oeste	0,192 (0,085 a 0,421)	0,072 (0,017 a 0,107)	0,130 (0,008 a 0,408)	0,093
Chapecó	0,375 (0,176 a 0,670)	0,085 (0,050 a 0,123)	0,317 (0,088 a 0,640)	0,110
Xanxerê	0,736 (0,528 a 0,878)	0,691 (0,413 a 0,839)	0,148 (-0,047 a 0,365)	0,865
Joaçaba	0,160 (0,065 a 0,271)	0,206 (0,104 a 0,281)	-0,058 (-0,241 a 0,160)	0,303
Canoinhas	0,105 (-0,026 a 0,830)	0,021 (-0,004 a 0,049)	0,086 (-0,063 a 0,824)	0,028
Curitibanos	0,598 (0,312 a 0,905)	0,430 (0,119 a 0,724)	0,294 (0,141 a 0,681)	0,571
Campos de Lages	0,576 (0,344 a 0,713)	0,450 (0,170 a 0,626)	0,228 (0,117 a 0,338)	0,620
Bacia Hidrográfica	F_{IT}(IC 95%)	F_{ST}(IC 95%)	F_{IS}(IC 95%)	G_{ST}'
Peperi-Guaçu/Antas	0,212 (0,096 a 0,481)	0,074 (0,026 a 0,096)	0,149 (0,009 a 0,465)	0,096
Chapecó	0,717 (0,496 a 0,856)	0,634 (0,353 a 0,782)	0,227 (0,061 a 0,430)	0,804
Irani/Peixe	0,160 (0,065 a 0,271)	0,206 (0,104 a 0,281)	-0,058 (-0,241 a 0,160)	0,303
Timbó/Canoinhas/Negr	0,105 (-0,026 a 0,830)	0,021 (-0,004 a 0,049)	0,086 (-0,063 a 0,824)	0,028
Canoas	0,531 (0,336 a 0,744)	0,369 (0,171 a 0,576)	0,257 (0,163 a 0,440)	0,506
Pelotas	0,735 (0,403 a 0,862)	0,638 (0,244 a 0,801)	0,269 (0,076 a 0,435)	0,829
Total	0,534 (0,343 a 0,719)	0,439 (0,234 a 0,623)	0,169 (0,078 a 0,331)	0,586

Analisando o F_{ST} para populações dentro de regiões é possível notar que dentro das microrregiões São Miguel do Oeste, Canoinhas e Chapecó a divergência genética apresenta índices baixos, inclusive não significativo em Canoinhas. Do mesmo modo estão as bacias hidrográficas dos Rios Peperi-Guaçu/Antas e dos Rios

Timbó/Canoinhas/Negro, sendo que na última o índice não é significativamente diferente de zero. Enquanto para as microrregiões de Xanxerê, Curitiba e Campos de Lages o F_{ST} foi de 0,691, 0,430 e 0,450, respectivamente. Estes valores indicam que as populações presentes nestas microrregiões apresentam grande divergências genéticas entre si, indicando que pode estar havendo grande ação da deriva genética e que o fluxo gênico histórico nestas deve ter sido muito restrito ou até inexistente em alguns casos. O histórico de exploração destas áreas, assim como diferenças ambientais que afetam a distribuição da espécie dentro das microrregiões ou das bacias hidrográficas também podem estar influenciando estes índices de divergência genética encontrados para a espécie.

Esses valores de divergência genética entre populações são maiores do que os encontrados para outras espécies de pteridófitas (Tabela 16). Nota-se que há uma variação nos índices F_{ST} para as espécies com a maioria apresentando populações com divergências baixas entre elas.

Tabela 16: Estimativa das estatísticas F de Wright de espécies de pteridófitas homosporadas.

Espécies	F_{IS}	F_{IT}	F_{ST}	Número de populações
<i>Blechnum spicant</i>	0.097	0.134	0.068	5
<i>Botrychium virginianum</i>	0.957	0.960	0.080	4
<i>Dryopteris expansa</i>	0.396	0.522	0.235	8
<i>Polystichum munitum</i>	0.033	0.101	0.054	4
<i>Polystichum imbricans</i>	0.047	0.075	0.024	8
<i>Huperzia miyoshiana</i>	0.002	0.103	0.055	4
<i>Lycopodium clavatum</i>	0.107	0.506	0.188	6

Fonte: Soltis & Soltis (1989).

A grande divergência genética encontrada para entre as populações de *D. sellowiana* pode ser reflexo da sua distribuição ao longo das florestas, pois a espécie não tem uma distribuição contínua como a *A. angustifolia*, tanto quanto pode ser decorrente do seu sistema reprodutivo. Estudos relativos à distância de dispersão de esporos para a espécie serão de importância fundamental para o entendimento da divergência genética obtida e para a definição de estratégias de conservação.

Apesar da grande variação dos índices de fixação obtidos para a espécie, a média para o conjunto das populações foi alta e significativamente diferente do esperado para populações em Equilíbrio de Hardy-Weinberg. Os índices de fixação médios para as microrregiões também foram altos, exceto nas microrregiões de Xanxerê, Joaçaba e Canoinhas e nas Bacias Irani/Peixe e Timbó/Canoinhas/Negro que apresentaram índices de fixação médios para as populações não diferentes de zero.

Não houve correlação entre o $F_{ST}/(1-F_{ST})$ e o logaritmo natural das distâncias geográficas ($r = 0,069$) (Figura 12), indicando que os padrões de isolamento por distância não explicam os padrões de diferenciação encontrados para *D. sellowiana*.

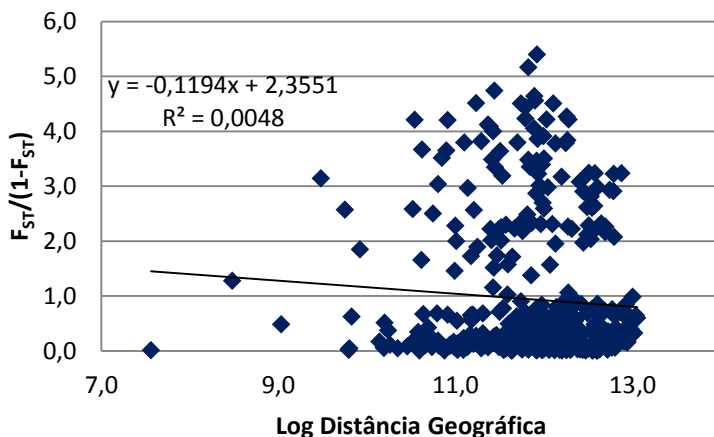


Figura 12: Correlação de Mantel entre o logaritmo natural da distância geográfica e o $F_{ST}/(1-F_{ST})$ par a par para 30 populações de *Dicksonia sellowiana* no Estado de Santa Catarina. UFSC, 2011.

Para a *D. sellowiana* também foi gerado um dendrograma baseado nas distâncias genéticas de Nei (1972) através do método UPGMA (Figura 13). No dendrograma gerado é possível observar sete grupos, sendo que três deles são formados por populações isoladas (Epagri-Caçador, Ponte Serrada e Ponte Alta). Duas dessas populações isoladas, Ponte Serrada e Ponte Alta e as populações Passos Maia-São

Francisco e Painei apresentam uma divergência muito grande em relação às demais populações.

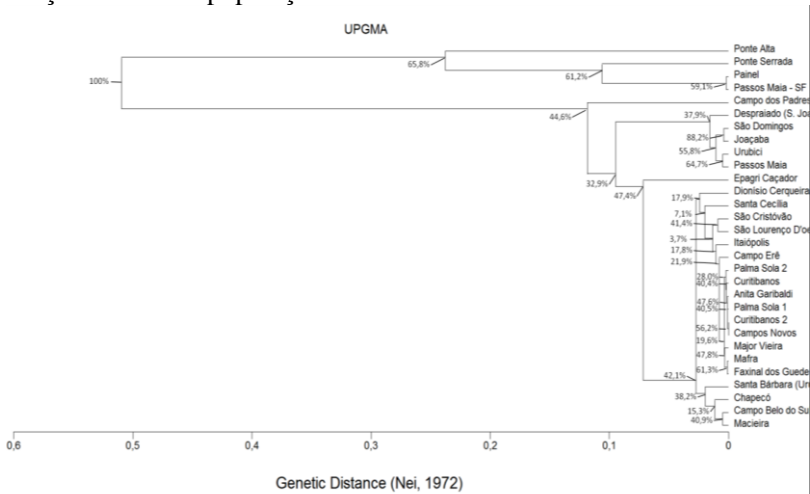


Figura 13: Dendrograma de distâncias genéticas de Nei (1972) e proporção de réplicas similares por reamostragem *bootstrap* (10.000 repetições) em cada nó para 30 populações de *Dicksonia sellowiana* no Estado de Santa Catarina. UFSC, 2011.

Com base no dendrograma é importante que as populações Ponte Alta, Ponte Serrada e Painei ou Passos Maia-São Francisco tenham prioridade na definição de áreas para conservação pois estas populações apresentam distâncias genéticas muito grandes em relação à demais populações. Em uma escala menor, a população Epagri-Caçador e ao menos uma das populações entre Corvo Branco, Despraiado, Passos Maia, Joaçaba e São Domingos também devem ser prioritárias.

Com base nos índices de diversidade e fixação para as 30 populações avaliadas de *D. sellowiana* foi realizada uma análise de componentes principais (Figura 14). Os dois eixos expostos no gráfico representam 75,8% da variação nos dados. É possível notar que as populações Epagri-Caçador e Anita Garibaldi ficaram muito isoladas das outras.

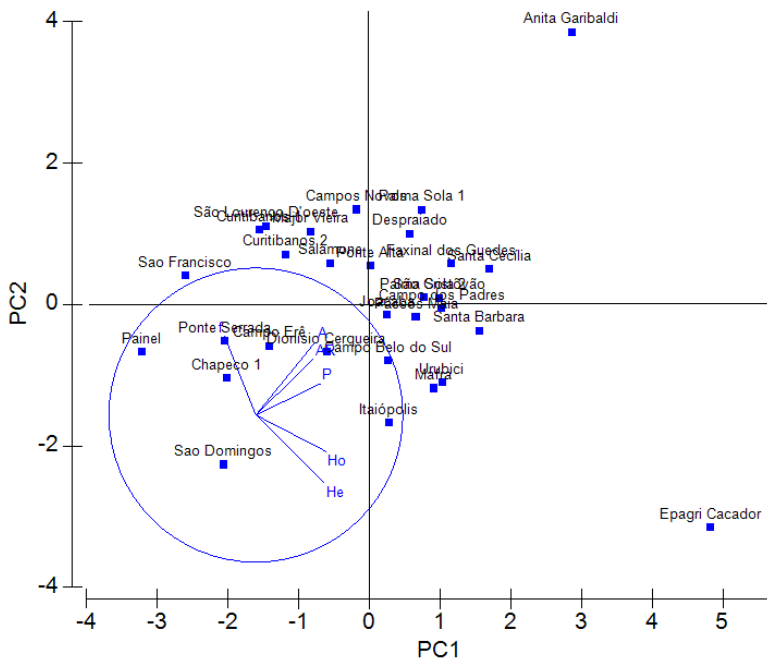


Figura 14: Análise de Componentes Principais para os índices de diversidade genética e fixação para 30 populações naturais de *Dicksonia sellowiana* no Estado de Santa Catarina. UFSC, 2011.

A Tabela 17 apresenta as correlações entre os autovalores e os cinco primeiros eixos das análises de componentes principais. É possível observar uma similaridade forte nas correlações entre os autovalores e o primeiro eixo para todos os índices, exceto o índice de fixação (f), sendo que as maiores correlações positivas foram para porcentagem de locos polimórficos, heterozigidade observada e heterozigidade esperada. Por outro lado, o índice de fixação, juntamente com a heterozigidade esperada e o número de alelos por loco foram os índices com maior correlação com o Eixo 2, sendo negativa a correlação com a heterozigidade esperada.

Tabela 17: Correlações entre os autovalores e os cinco primeiros componentes principais para *Dicksonia sellowiana*. UFSC, 2011.

Índice	Eixo 1	Eixo 2	Eixo 3	Eixo 4	Eixo 5
<i>P</i>	0,440	0,214	-0,435	0,653	0,381
<i>A</i>	0,406	0,498	0,213	0,128	-0,725
<i>Ho</i>	0,476	-0,247	-0,424	-0,438	-0,113
<i>He</i>	0,465	-0,461	-0,023	-0,155	-0,081
<i>f</i>	-0,214	0,536	-0,588	-0,437	0,003
<i>AR</i>	0,392	0,382	0,489	-0,388	0,557

Portanto as populações com maiores índices de diversidade e menores índices de fixação, e que foram sugeridas como prioritárias para conservação *in situ* e para coleta de material para conservação *ex situ*, estão predominantemente na parte direita inferior da figura. Desse modo é possível destacar as populações Caçador-Epagri, Passos Maia, Urubici, Itaiópolis, Santa Bárbara, Passos Maia - SF, Joaçaba e Campo Belo do Sul, principalmente em função da diversidade genética e dos índices de fixação.

Estratégias de conservação para a espécie *D. sellowiana* devem contemplar a proteção de populações da espécie em todas as microrregiões do estado, visto que a divergência genética entre as populações é responsável por 58,3% da variação encontrada para a espécie como um todo, segundo o G_{ST} de Hedrick. Deve-se buscar também a proteção de várias áreas dentro das microrregiões e bacias hidrográficas. No entanto, esse cuidado deve ser maior principalmente nas microrregiões dos Campos de Lages, Xanxerê e Curitibanos e nas bacias dos Rios Chapecó, Pelotas e Canoas, onde a divergência dentro das microrregiões e bacias hidrográficas também é muito grande, inclusive superando a divergência total em alguns casos, evidenciando restrição de fluxo gênico e fortes efeitos de deriva genética.

A presença de alelos em baixa frequência também reforça a necessidade de conservação do maior número possível de populações da espécie para que possamos assegurar a conservação da espécie no longo prazo.

Estratégias que favoreçam a conectividade entre as populações de *D. sellowiana* também são essenciais para a conservação da espécie. A conectividade entre as populações e o consequente aumento do fluxo

gênico atuarão homogeneizando as frequências alélicas das populações além do que auxiliará a evitar a perda de alelos com baixa frequência, contrapondo os efeitos da deriva genética. Porém, a espécie *D. sellowiana* possui peculiaridades específicas de ambientes que têm que ser observadas quando se busca estratégias de conservação, principalmente no que se refere à conectividade, para a mesma (Mantovani, 2004). O autor detectou maior ocorrência da espécie em áreas de baixada ou próximo a cursos d'água e em encostas íngremes com baixa insolação. Portanto, em um possível delineamento de corredores ou outras estratégias de conectividade, é importante que se leve em consideração a ocorrência desses ambientes para que as estratégias de conectividade sejam eficientes.

Por ser uma Pteridofita, a *D. sellowiana* apresenta um sistema de reprodução diferenciado das outras espécies avaliadas neste trabalho. Estudos sobre a distância de fluxo gênico para a espécie poderiam auxiliar muito a elaboração de estratégias que promovam a conectividade entre populações. Para a *Cyathea arborea*, uma samambaia arborescente, como a *D. sellowiana*, Conant (1978) identificou que a dispersão a campo dos esporos segue uma distribuição leptocúrtica, com máxima densidade entre 0 e 7,5 m e baixíssima densidade a distâncias maiores de 10 metros do esporófito fértil. Esta distribuição dos esporos dispersos foi chamada de “chuva de esporos” por Schneller (1998), onde a maioria dos diásporos são depositados próximos à fonte (planta mãe). Se *D. sellowiana* apresentar o mesmo tipo de dispersão de esporos será necessário que as estratégias de conectividade utilizem corredores de fluxo gênico, não sendo eficiente o uso de “stepping stones”. Além disso é importante ressaltar que esses corredores possuam os ambientes específicos exigidos pela *D. sellowiana*, conforme levantado por Mantovani (2004), para que o fluxo gênico seja efetivamente realizado, como anteriormente discutido.

É necessário ressaltar também a importância de conservação da população Caçador-Epagri. Ela apresentou os maiores níveis de diversidade genética (H_e) além de possuir índice de fixação negativo. A importância dessa área não é verificada somente pelas informações geradas pela *D. sellowiana* como também por outras espécies deste trabalho.

As populações presentes nas microrregiões dos Campos de Lages, Curitiba e Chapecó deveriam receber intervenções para reverter os atuais quadros de altos índices de fixação detectados nas mesmas, a fim de evitar problemas futuros com depressão endogâmica e

perda de diversidade genética. A recuperação de áreas do entorno destas populações com o intuito de aumentar a área dos fragmentos poderia auxiliar a reverter esse quadro. A conectividade, já discutida, é outra estratégia a ser tomada que auxiliará nessa mudança de cenário.

6.4. *Podocarpus lambertii*

Foram realizadas coletas de indivíduos adultos em 12 populações naturais de *P. lambertii* no Estado de Santa Catarina (Figura 15).

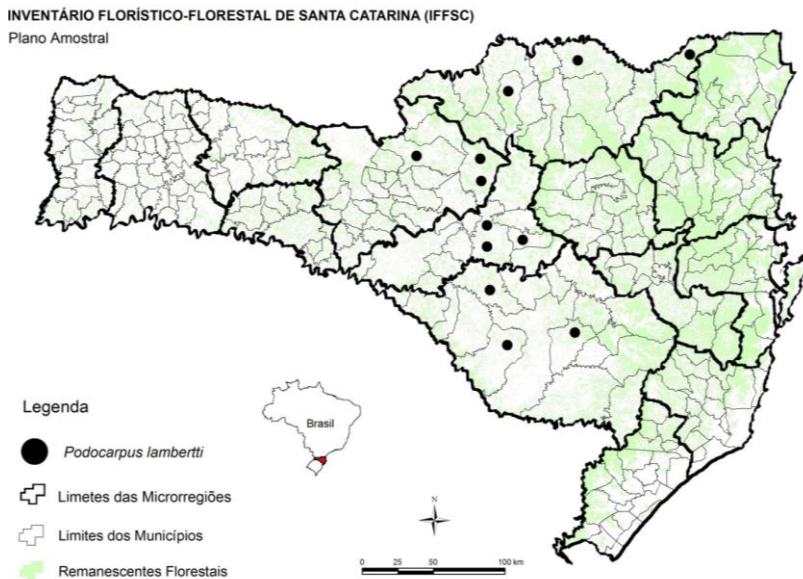


Figura 15: Locais de coleta de *Podocarpus lambertii* para a caracterização da diversidade e estrutura genética no Estado de Santa Catarina. UFSC, 2011.

Para cada população coletada foram levantadas informações do ambiente florestal em que estavam inseridas (Tabela 18).

Tabela 18: Número da Unidade Amostral de referência do IFF-SC, nome da população e características do fragmento onde foi realizada a coleta de 12 populações de *Podocarpus lambertii*. UFSC, 2011.

UA	Município	Características
453	S. Cristovão	Grande remanescente florestal (> 50ha) em estágio médio de regeneração em que ocorreu exploração madeireira
211	Painel	Grande remanescente florestal (> 50ha) em estágio médio de regeneração em que ocorreu exploração madeireira
208	Capão Alto	Pequeno remanescente florestal (< 50ha) em estágio médio de regeneração em que ocorreu exploração madeireira
297	S. J. do Cerrito	Grande remanescente florestal (> 50ha) em estágio médio de regeneração e que já sofreu intensa exploração madeireira
789	Lebon Régis 2	Grande remanescente florestal (> 50ha) em estágio médio de regeneração em que ocorreu exploração madeireira
619	Lebon Régis 1	Grande remanescente florestal (> 50ha) em bom estado de conservação
561	Curritibanos 1	Pequeno remanescente florestal (< 50ha) em estágio médio de regeneração em que ocorreu exploração madeireira
409	Curritibanos 2	Pequeno remanescente florestal (< 50ha) em estágio médio de regeneração em que ocorreu exploração madeireira
784	Caçador	Pequeno remanescente florestal (< 50ha) em estágio médio de regeneração em que ocorreu exploração madeireira
1063	Campo Alegre	Grande remanescente florestal (> 50ha) em bom estado de conservação
1042	Mafra	Grande remanescente florestal (> 50ha) em estágio médio de regeneração em que ocorreu exploração madeireira
1010	Bela Vista do Toldo	Grande remanescente florestal (> 50ha) em bom estado de conservação

Para acessar os níveis e a distribuição da diversidade genética, foram empregados dez sistemas enzimáticos, que revelaram os 11 locos utilizados para a caracterização genética das populações da espécie. Foram detectados 32 alelos para as 12 populações de *P. lambertii* e, na Tabela 19, podem ser visualizadas como estão distribuídas as frequências destes alelos nas diferentes populações.

Tabela 19: Frequências alélicas para 12 populações de *Podocarpus lambertii* avaliadas no Estado de Santa Catarina. UFSC, 2011.

Loco	Alelo	São Cristóvão 1	Campo Alegre	Mafra	Bela Vista do Toldo	Painel	São José do Cerrito	Caçador	Curitibanos 1	Curitibanos 2	Capão Alto	Lebon Régis 2	Lebon Régis 1	Total
MDHI	1	0,06	0,22	0,17	0,03	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,03	0,00	0,00	0,04
	2	0,00	0,03	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	3	0,03	0,09	0,02	0,01	0,05	0,02	0,01	0,00	0,06	0,05	0,09	0,00	0,03
	4	0,92	0,66	0,81	0,96	0,96	0,96	0,99	1,00	0,94	0,91	0,91	1,00	0,92
	5	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,02	0,00	0,00	0,00	0,02	0,00	0,00	0,00
MEI	1	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
6PGDH2	1	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,01	0,00	0,02	0,09	0,00	0,01
	2	0,97	0,93	0,98	0,85	1,00	0,93	1,00	0,98	0,98	0,96	0,88	1,00	0,95
	3	0,03	0,08	0,02	0,16	0,00	0,07	0,00	0,01	0,02	0,02	0,04	0,00	0,04
PGMI	1	0,90	0,04	0,02	0,20	0,10	0,00	0,01	0,00	0,16	0,05	0,01	0,00	0,12
	2	0,10	0,84	0,96	0,77	0,90	0,96	0,90	0,99	0,79	0,95	0,99	0,99	0,85
	3	0,00	0,12	0,02	0,03	0,00	0,05	0,07	0,01	0,03	0,01	0,00	0,01	0,03
	4	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,03	0,00	0,02	0,00	0,00	0,00	0,00
PGM2	1	0,02	0,08	0,10	0,02	0,18	0,05	0,02	0,03	0,05	0,03	0,00	0,00	0,05
	2	0,94	0,89	0,88	0,92	0,81	0,94	0,91	0,36	0,91	0,95	0,92	0,67	0,84
	3	0,04	0,03	0,02	0,06	0,02	0,02	0,07	0,61	0,04	0,03	0,08	0,33	0,11
GTDHI	1	0,04	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,02	0,00	0,00	0,00	0,02	0,03	0,01
	2	0,96	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	0,98	1,00	1,00	1,00	0,98	0,97	0,99
G2DHI	1	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	NA	1,00	1,00	1,00
DIA2	1	0,82	0,00	0,89	1,00	0,89	1,00	1,00	0,71	0,98	1,00	0,76	0,97	0,84
	2	0,19	1,00	0,11	0,00	0,11	0,00	0,00	0,28	0,02	0,00	0,20	0,03	0,16
	3	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,01	0,00	0,00	0,05	0,00	0,01
G6PDHI	1	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,14	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,01
	2	0,91	1,00	1,00	1,00	0,88	0,84	0,98	1,00	0,96	0,96	0,98	1,00	0,96
	3	0,10	0,00	0,00	0,00	0,12	0,02	0,02	0,00	0,04	0,05	0,02	0,00	0,03

IDH1	1	0,00	0,00	0,01	0,00	0,00	0,00	0,00	0,01	0,00	0,00	0,00	0,01	0,00
	2	1,00	1,00	0,99	0,97	1,00	1,00	1,00	0,98	1,00	1,00	1,00	0,99	1,00
	3	0,00	0,00	0,00	0,03	0,00	0,00	0,00	0,01	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
PGI3	1	0,00	0,02	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,02	0,00	0,00	0,00
	2	0,00	0,02	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,02	0,00	0,00	0,00
	3	1,00	0,96	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	0,99	1,00	0,96	1,00	0,97	0,99
	4	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,01	0,00	0,00	0,00	0,03	0,00

Foram detectados para as 12 populações, 16 alelos (50% do total) com frequência menor que 5% no conjunto das populações. Do mesmo modo, foram detectados dois alelos exclusivos, um na população São José do Cerrito (G6PD1-1) e outro na população Campo Alegre (MDH1-2).

Analisando as frequências alélicas dentro das microrregiões foram detectados dois alelos exclusivos na microrregião dos Campos de Lages (MDH1-1 e MDH1-5), sendo que os dois ocorrem na população de São José do Cerrito e o segundo ocorre também na população de Capão Alto. Além destes ainda há um alelo que ocorre somente na microrregião de Mafra, que é o alelo exclusivo da população de Campo Alegre (MDH1-2).

As populações de *P. lambertii* estudadas estão localizadas em três Bacias Hidrográficas, a Timbó/Canoinhas/Negro, Rio Canoas e a Irani/Jacutinga/Peixe que conta somente com a população Caçador. Enquanto a Bacia Timbó/Canoinhas/Negro apresentou somente um alelo exclusivo (MDH1-2) presente somente na população de Campo Alegre, foram detectados quatro alelos exclusivos da Bacia do Rio Canoas, sendo estes os alelos MDH1-5, PGM1-4, G6PD1-1 e PGI3-4.

Baseado nas frequências alélicas foram estimados os índices de diversidade genética e de fixação para as 12 populações de *P. lambertii* analisadas (Tabela 20).

A porcentagem de locos polimórficos foi de 52,7%, valor similar aos encontrados para *P. parlatorei* ($P= 42\%$) por Quiroga & Premoli (2007) e para *P. nubigena* ($P= 64,9\%$) por Quiroga & Premoli (2010).

Tabela 20: : Índices de diversidade genética (P - porcentagem de locos polimórficos, A - número de alelos por loco, H_o - heterozigosidade

observada, H_e - diversidade genética, f - índice de fixação, AR- número de alelos raros, AE- número de alelos exclusivos) para 12 populações, e suas respectivas microrregiões, de *Podocarpus lambertii* no Estado de Santa Catarina. UFSC, 2011.

	População	P	A	H_o	H_e	f	AR	AE
Curitibanos	São Cristovão1 -453	63,6	1,82	0,059	0,097	0,388*	6	0
	Curitibanos -561	54,5	1,91	0,091	0,096	0,052	8	0
	Curitibanos 2 -409	54,5	1,82	0,053	0,071	0,247*	6	0
	Média	57,6	1,85	0,070	0,088	0,207	-	-
Joaçaba	Lebon Régis2 -619	63,6	1,82	0,050	0,093	0,457*	6	0
	Lebon Régis1 -789	54,5	1,55	0,024	0,059	0,597*	4	0
	Caçador -784	45,5	1,73	0,039	0,039	0,015	6	0
	Média	54,5	1,70	0,038	0,063	0,399	-	-
Campos de Lages	Painel -211	45,5	1,55	0,052	0,092	0,436*	3	0
	S. José do Cerrito -297	45,5	1,73	0,016	0,064	0,744*	6	1
	Capão Alto -208	60,0	2,20	0,042	0,062	0,320*	10	0
	Média	50,3	1,82	0,036	0,068	0,480	-	2
Canoinhas	Mafra -1042	54,5	1,82	0,045	0,078	0,431*	6	0
	B. Vista do Toldo - 1010	45,5	1,73	0,036	0,084	0,571*	7	0
	Campo Alegre -1063	45,5	1,91	0,085	0,110	0,224*	7	1
	Média	48,5	1,82	0,054	0,089	0,387	-	1
Estado	Média	52,7	1,80	0,049	0,079	0,374	-	-
	Total	671,3	2,91	0,049	0,107	0,539	18	

* $P < 0,05$. Valores significativamente diferentes de zero após correção de Bonferroni.

O número médio de alelos obtido para as populações foi de 1,8. Esse valor é muito próximo ao encontrado para outras espécies do gênero *Podocarpus* que ocorrem na América do Sul. Quiroga & Premoli (2007) obtiveram para *P. parlatorei* um número médio de alelos por população igual a 1,6 enquanto que Quiroga & Premoli (2010) obtiveram para *P. nubigena* um valor de A igual a 1,8.

O índice de diversidade genética (H_e) estimado para o conjunto de populações de *P. lambertii* foi relativamente baixo. O índice H_e

obtido (0,079) foi inferior aos encontrado para *P. parlatorei* (0,160) e para *P. nubigena* (0,222) (Quiroga & Premoli, 2007; Quiroga & Premoli, 2010).

A heteroziguidade média observada foi ainda mais baixa com uma média de 0,049. Essa diferença gerou um índice de fixação médio para as populações de 0,374. Este índice de fixação médio obtido para as populações é alto e indica um déficit de heterozigotos grande dentro das populações da espécie. Somente duas populações apresentaram índices de fixação baixos e não significativamente diferentes de zero, a população Curitibaanos-1 e a população Caçador. Este resultado indica que as duas populações apresentam as proporções genótípicas dentro do esperado em Equilíbrio de Hardy-Weinberg.

Analisando os índices de estrutura de populações propostos por Weir & Cockerham (1984) verifica-se uma grande divergência genética entre as populações de *P. lambertii* (Tabela 21) com F_{ST} estimado de 0,303. O valor do G_{ST}' de Hedrick, que leva em consideração no cálculo da divergência genética a composição alélica das populações (diferentes tipos alélicos), não diferiu muito e foi estimado em 0,355. Estes valores são muito superiores aos índices F_{ST} obtidos por Quiroga & Premoli (2007; 2010) para *P. parlatorei* (0,104) e para *P. nubigena* (0,181).

Tabela 21: Tabela de índices F de Wright, obtidos pelo método de variância (Weir & Cockerham, 1984) e G_{ST}' (Hedrick, 2005) para 12 populações de *Podocarpus lambertii* no Estado de Santa Catarina, por Microrregião e Bacia Hidrográfica. UFSC, 2011.

Microrregião	F_{IT} (IC 95%)	F_{ST} (IC 95%)	F_{IS} (IC 95%)	G_{ST}'
Curitibaanos	0,544 (0,287 a 0,707)	0,424 (0,038 a 0,617)	0,207 (0,059 a 0,388)	0,506
Joaçaba	0,461 (0,270 a 0,694)	0,103 (0,035 a 0,131)	0,399 (0,211 a 0,671)	0,117
Campos de Lages	0,500 (0,318 a 0,645)	0,038 (0,018 a 0,057)	0,480 (0,296 a 0,630)	0,044
Canoinhas	0,646 (0,198 a 0,949)	0,421 (0,028 a 0,774)	0,387 (0,094 a 0,835)	0,505
Bacias	F_{IT} (IC 95%)	F_{ST} (IC 95%)	F_{IS} (IC 95%)	G_{ST}'
Timbó	0,652 (0,278 a 0,924)	0,396 (0,079 a 0,727)	0,424 (0,145 a 0,783)	0,475
Canoas	0,527 (0,397 a 0,655)	0,280 (0,033 a 0,455)	0,343 (0,214 a 0,544)	0,327
Total	0,550 (0,370 a 0,713)	0,303 (0,073 a 0,430)	0,355 (0,208 a 0,581)	0,355

A forte estruturação encontrada para o conjunto de populações indica que o fluxo gênico ocorrido entre as mesmas foi muito baixo, fazendo com que mais de 30% da diversidade genética encontrada nas populações seja decorrente da divergência genética entre as mesmas. No entanto, as populações da microrregião dos Campos de Lages apresentaram uma divergência reduzida ($F_{ST} = 0,038$). Esse índice de divergência indica que para essas populações a estruturação é muito fraca, sugerindo que o fluxo gênico pode estar atuando fortemente contra os efeitos da deriva genética nestas populações.

Esse pode ser um indício de que a fragmentação florestal nessa microrregião não afetou drasticamente o fluxo gênico entre essas populações ou que ainda não houve tempo suficiente para que os efeitos do processo exploratório pudessem ser captados por esta metodologia pois o mesmo começou mais tarde nessa região do Estado ou, ainda, que não houve uma redução dos tamanhos populacionais, por exploração, tão drástica. Para as populações da microrregião de Joaçaba a divergência genética encontrada foi moderada, enquanto que para as populações localizadas nas microrregiões de Canoinhas e Curitiba as divergências foram maiores que 40%.

Para as 12 populações analisadas de *P. lambertii* não foi encontrada correlação entre o Log das distâncias geográficas e o $F_{ST}/(1-F_{ST})$ ($R^2 = 0,028$) (Figura 16).

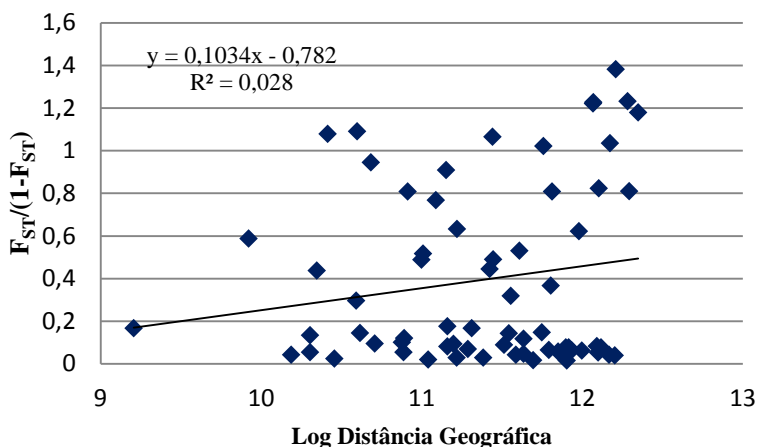


Figura 16: Correlação de Mantel entre o logaritmo natural da distância geográfica e o $F_{ST}/(1-F_{ST})$ par a par para 12 populações de *Podocarpus lambertii* no Estado de Santa Catarina. UFSC, 2011.

O F_{IS} (Tabela 21) estimado para o conjunto das populações de 0,355 indica um grande déficit de heterozigotos no conjunto das populações. Quiroga & Premoli (2010) encontraram para 14 populações *P. nubigena*, uma espécie dióica também, um índice F_{IS} de 0,258. No entanto, para 18 populações de *P. parlatorei* o índice de fixação obtido foi de -0,104, indicando que essa última espécie apresenta, ao contrário do *P. lambertii*, um excesso de heterozigotos. O valor do índice de fixação estimado para *P. lambertii* é muito alto, principalmente para uma espécie dióica, incapaz de realizar autofecundação. Portanto, esse alto índice de fixação é decorrente principalmente de cruzamento entre aparentados. É possível que, como na *A. angustifolia*, parte desse índice de fixação seja decorrente da existência de estrutura genética interna e conseqüentemente do efeito Wahlund. Nesse caso seria importante que trabalhos que caracterizem a estrutura genética espacial interna de populações da espécie sejam desenvolvidos para testar essa hipótese. A redução do tamanho dos remanescentes florestais, assim como o corte seletivo de indivíduos da espécie, que resultam em uma redução do número de indivíduos reprodutivos e conseqüentemente uma redução de oportunidades de cruzamentos também pode ser um dos fatores que contribuem para estes elevados índices encontrados, visto que muitos

dos indivíduos coletados podem ter sido gerados após o início do processo exploratório.

Tendo por base a estimativa de distância genética entre populações proposta por Nei (1972) e através do método UPGMA foi gerado um dendrograma de distâncias genéticas para as 12 populações de *P. lambertii* analisadas (Figura 17).

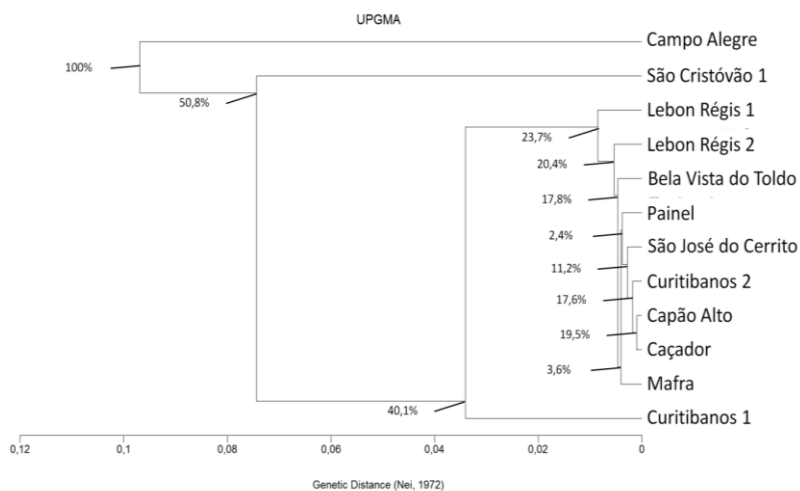


Figura 17: Dendrograma de distâncias genéticas de Nei (1972) e proporção de réplicas similares por reamostragem *bootstrap* (10.000 repetições) em cada nó para 12 populações de *Podocarpus lambertii* no Estado de Santa Catarina. UFSC, 2011.

É possível observar um grupo bastante semelhante geneticamente, formado pelas populações Capão Alto, Caçador, Curitibaanos-2, São José do Cerrito, Painei, Mafra, Bela Vista do Toldo e Lebón Régis 1 e 2. Enquanto isso as populações Campo Alegre, São Cristóvão-1 e Curitibaanos-1 apresentam-se com distâncias maiores. Essas informações são importantes quando pensamos na conservação da espécie pois é possível verificar que as populações Campo Alegre, São Cristóvão-1 e Curitibaanos-1 apresentam uma divergência considerável em relação à maioria das outras populações. Desse modo, estas populações têm uma importância grande no que se refere à conservação

da maior variabilidade genética possível, assim como uma amostra das outras.

Com os índices de diversidade e fixação para as 12 populações foi realizada uma análise dos componentes principais. Tanto no dendrograma quanto na análise dos componentes principais, os grupos formados foram similares. Na Figura 18 é possível observar os dois eixos principais que explicam juntos 70,4% da variação.

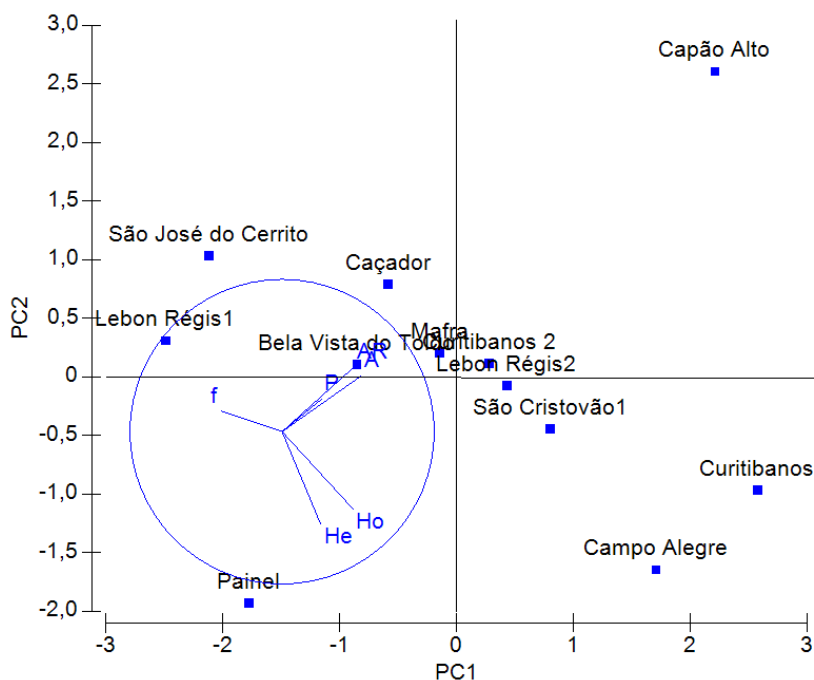


Figura 18: Análise de Componentes Principais para os índices de diversidade genética e fixação para 12 populações naturais de *Podocarpus lambertii* no Estado de Santa Catarina. UFSC, 2011.

É possível observar que Painei, Capão Alto, Campo Alegre e Curitibaanos foram as populações que ficaram mais isoladas. As correlações entre os autovalores e os dois primeiros eixos da análise de componentes principais (Tabela 22) apontam que o número de alelos por loco(A) assim como o número de alelos raros (AR), a

heterozigidade observada (H_o) e a porcentagem de locos polimórficos (P) tiveram um grande peso na separação no Eixo 1, ao mesmo tempo o índice de fixação teve correlação negativa. Para o Eixo 2, os índices que apresentaram maior correlação foram heterozigidade esperada (H_e), H_o , sendo estas negativas e AR .

Tabela 22: Correlações entre os autovalores e os cinco primeiros componentes principais para *Podocarpus lambetii*. UFSC, 2011.

Índice	Eixo 1	Eixo 2	Eixo 3	Eixo 4	Eixo 5
A	0,519	0,365	0,054	-0,229	0,735
H_o	0,467	-0,508	-0,097	0,057	-0,094
H_e	0,253	-0,605	0,438	-0,341	0,013
f	-0,399	0,135	0,595	-0,489	-0,009
AR	0,471	0,423	-0,059	-0,397	-0,658
P	0,429	-0,259	0,684	0,529	0,029

Com base na análise de componentes principais, foram indicadas como prioritárias, por apresentarem as melhores combinações de diversidade genética e índices de fixação, as populações Campo Alegre, São Cristóvão-1 e Curitibaños. As populações Campo Alegre e Curitibaños se destacam principalmente pelos níveis de diversidade genética e heterozigidade observada encontrados para as duas populações. Estes são importantes pontos a serem levados em consideração na escolha de áreas prioritárias para a conservação. A população de Curitibaños ainda conta com um índice de fixação não significativo. A população Capão Alto que se encontra isolada também apresenta uma importância grande pois, apesar de apresentar baixa diversidade genética (H_e) e índice de fixação alto, ela apresentou alta porcentagem de locos polimórficos, número de alelos por loco e número de alelos raros.

No intuito de definir estratégias de conservação para garantir a conservação do máximo possível de diversidade genética para a espécie as populações localizadas na microrregião de Campos de Lages, principalmente a população São José do Cerrito e Capão Alto, têm um papel fundamental pois apresentam dois alelos exclusivos daquela

região. Outra população importante para a conservação *in situ* é a população Campo Alegre pois apresenta um alelo exclusivo e ainda é a população com o maior índice de diversidade genética.

As populações Curitibaanos e Caçador são igualmente importantes porque são as únicas que apresentaram índices de fixação baixos e não diferentes de zero, indicando que estas populações aderem ao esperado em Equilíbrio de Hardy-Weinberg. Desse modo, estas populações apresentam grande potencial evolutivo pois as chances destas sofrerem com os efeitos da endogamia e deriva genética, que afetam negativamente a viabilidade de populações pequenas (Frankham, 2005), são menores do que nas outras populações que apresentam índices de fixação significativos.

Porém, as outras populações têm um papel importante na garantia do potencial adaptativo da espécie no longo prazo, visto que há uma grande parte da variabilidade genética que é decorrente da divergência genética entre as populações. A manutenção dessa variação é de suma importância para a espécie visto que os valores de diversidade genética da mesma são relativamente baixos. Também é importante que sejam realizadas estratégias para aumentar a conectividade entre as populações de *P. lambertii* visto que metade dos alelos detectados para a espécie ocorrem em baixa frequência, portanto estão muito susceptíveis aos efeitos da deriva genética. Como as populações apresentam uma divergência genética grande, indicando uma deficiência no fluxo gênico entre as populações. Como o fluxo gênico contrapõe os efeitos da deriva genética, a maior conectividade, além de homogeneizar as frequências alélicas das populações, ainda servirá para garantir a persistência dos alelos raros.

7. IMPLICAÇÕES PARA A CONSERVAÇÃO

Foram encontrados níveis altos de diversidade genética para *A. angustifolia*, *D. sellowiana* e *O. porosa* e baixos para *P. lambertii*. Segundo Frankham (2003), espécies naturalmente de fecundação cruzada, como é o caso da *A. angustifolia*, *P. lambertii* e, possivelmente da *O. porosa*, com grandes populações normalmente possuem grandes reservas de diversidade genética que conferem diferenças entre os indivíduos nas suas respostas as mudanças ambientais continuamente enfrentadas pelas mesmas. Desta forma, para evoluir, as espécies necessitam de diversidade genética, que fornece o “material” a ser trabalhado pela seleção natural (Frankham *et al*, 2002; Frankham, 2003). Portanto, estes níveis de diversidade encontrados para as populações destas espécies, no estado de Santa Catarina, mostram grande potencial no que se refere à conservação *in situ*, pois as populações possuem diversidade genética potencial para a continuidade do processo evolutivo.

Do mesmo modo, ressalta-se a importância da conservação *ex situ* das espécies da Mata Atlântica em virtude dos seus altos índices de diversidade genética e da alta susceptibilidade em que se encontram suas populações.

Os níveis de divergência genética encontrados entre as populações foram elevados para todas as espécies. Comparando os resultados de divergência genética obtidos para as quatro espécies estudadas, observa-se que os menores índices de divergência genética entre as populações são os obtidos para *A. angustifolia*. Essa menor divergência entre as populações de *A. angustifolia* está de acordo com a afirmação de Pye *et al* (2009) de que coníferas com síndrome anemofílica tendem a apresentar baixa divergência interpopulacional. Dois fatores podem estar influenciando diretamente estas diferenças entre estes índices.

O primeiro se refere à quantidade e tamanho de populações de *A. angustifolia* que são maiores que de *O. porosa* e *P. lambertii*. Grande parte dos remanescentes florestais de Floresta Ombrófila Mista conta com a presença de *A. angustifolia*, sendo que esta caracteriza a fitofisionomia da Floresta Ombrófila Mista. No entanto, populações de *O. porosa* têm a sua ocorrência relacionada à ambientes florestais mais estruturados além das duas espécies não apresentarem distribuição tão ampla quanto a da *A. angustifolia*. Essa hipótese é sustentada por Chung *et al*. (1999) que afirmam que espécies com distribuição contínua

tendem a apresentar maior fluxo interpopulacional do que espécies com distribuições restritas ou isoladas.

Outro fator que pode ser determinante na diferença de estruturação entre as espécies é a capacidade de trocas alélicas entre diferentes populações. Em relação ao fluxo gênico via sementes, as diferenças entre as três espécies que produzem sementes podem não ser significativas, porém, enquanto *O. porosa* e *P. lambertii* apresentam síndrome de polinização realizada por pequenos insetos de voo curto (Bittencourt, 2007; Amato, 2008; Carvalho, 2004) a *A. angustifolia* apresenta anemofilia o que deve gerar uma maior distância de fluxo gênico via pólen.

A espécie *D. sellowiana*, apesar de apresentar grandes tamanhos populacionais nos remanescentes da floresta Ombrófila Mista no Estado de Santa Catarina (IFFSC, 2011), é uma pteridófito e ocorre em ambientes específicos, diferentemente da *A. angustifolia*, o que deve gerar uma descontinuidade no fluxo gênico.

Iriarte & Behling (2007) afirmam que durante o período inicial do Holoceno tardio (entre 4480 e 1410 anos antes do presente), o clima se tornou mais úmido. Consequentemente a Floresta de Araucárias se expandiu pelos planaltos do Sul brasileiro, formando uma rede de matas de galeria, ao longo de cursos d'água. No entanto os campos dominavam a paisagem em uma escala regional. Começando entre 1410 e 900 anos antes do presente, o clima se tornou ainda mais úmido e menos sazonal, o que resultou na substituição dos campos pela Floresta de Araucária na região hoje dominada pela Floresta Ombrófila Mista. Especificamente no estado de Santa Catarina, o incremento inicial de taxa da Floresta Ombrófila Mista (*Araucaria*, *Podocarpus*, *Mimosa*, *Ilex*, *Symplocos*) na atual área de abrangência da mesma iniciou há cerca de 3.000 anos antes do presente (Ledru *et al* , 1998). Registros fósseis de pólen também mostram uma expansão pronunciada da Floresta de Araucária, indicada pela grande presença de pólen de *A. angustifolia* e esporos de *D. sellowiana*, que também indica o estabelecimento de condições climáticas mais úmidas, depois de 900 anos antes do presente (Behling, 1995) Essa recente expansão da *A. angustifolia* e possivelmente de outras espécies da Floresta Ombrófila Mista, pode ser outro fator determinante na estruturação genética encontrada hoje entre as populações das espécies estudadas. As populações destas espécies podem ter permanecido isoladas em refúgios por diversas gerações até o início da expansão, fazendo com que as trocas alélicas entre as populações tenham se iniciado mais recentemente. Essa recente

expansão também pode ter uma influência nos níveis de estruturação encontrados pois pode ter ocorrido nas populações novas um forte efeito fundador, se estas foram baseadas em poucos genótipos, levando a grande divergência em função de deriva genética.

As altas divergências genéticas encontradas em *D. sellowiana*, *O. porosa* e *P. lambertii* indicam que uma parte significativa da diversidade genética é encontrada entre as populações. Isso também indica falta de conectividade histórica entre as populações e também pode ser reflexo da expansão da Floresta Ombrófila Mista sobre os campos, como já discutido. Em um enfoque de conservação *in situ*, fica clara a necessidade de estabelecimento de um grande número de populações das espécies estudadas para a conservação no longo prazo dos níveis de diversidade genética. Também é imprescindível que medidas para aumentar a conectividade entre o remanescentes florestais do Estado sejam tomadas, pois com o atual quadro de fragmentação e seus efeitos sobre as populações, o risco dessas divergências entre populações aumentar ainda mais é grande.

As populações da microrregião de Joaçaba apresentaram divergência genética alta para *A. angustifolia*, *O. porosa* e *D. sellowiana*, as três espécies avaliadas nessa microrregião. Há, portanto, uma urgência de aumentar a conectividade entre os remanescentes populacionais nesta microrregião a fim de evitar maiores perdas de diversidade genética por deriva genética.

Fazendo uma análise conjunta das quatro espécies estudadas observa-se que as populações das microrregiões de São Miguel d'Oeste e de Joaçaba apresentam baixos índices de fixação médios para as populações (F_{IS}) tanto para *A. angustifolia* quanto para *D. sellowiana*, porém na microrregião de Joaçaba as populações apresentam elevados índices de fixação para *P. lambertii*. O reconhecimento do efeito negativo da endogamia no potencial adaptativo tem feito da depressão endogâmica uma preocupação na conservação de populações pequenas (Hedrick & Kalinowski, 2000). Portanto, os baixos índices de fixação indicam que as populações destas Microrregiões tendem a sofrer menos com os efeitos negativos da depressão endogâmica.

As populações das bacias hidrográficas do Rio Canoas e do Rio Pelotas apresentam para todas as espécies coletadas nas respectivas bacias, valores altos e significativos de F_{IS} . As três espécies avaliadas na microrregião dos Campos de Lages, que congrega quase todas as populações bacias dos Rios Canoas e Pelotas, apresentam valores de F_{IS} altos e significativos. Foram também encontrados altos índices de

fixação para as populações de *A. angustifolia* e *D. sellowiana* na microrregião de Chapecó e na bacia do rio Chapecó. Como parte da fixação encontrada pode ser decorrente de endogamia biparental, há a possibilidade de que efeitos da depressão endogâmica estejam ocorrendo na população e estratégias para evitá-la ou reduzi-la devem ser estabelecidas. De acordo com Frankham *et al* (2002), a endogamia tem consequências negativas em todos os aspectos da reprodução e sobrevivência, incluindo produção de gametas, taxa de fecundação, taxa de mortalidade, vigor, entre outros aspectos e, conseqüentemente, aumenta o risco de extinção das populações. Portanto, é urgente a necessidade da realização de trabalhos específicos para reverter o atual quadro dos níveis de fixação nas populações destas espécies nos remanescentes florestais nestas Microrregiões e bacias hidrográficas para evitar a extinção local destas espécies no longo prazo. A recuperação de áreas degradadas no entorno dos remanescentes florestais, no intuito de aumentar o tamanho populacional das espécies florestais assim como o aumento da conectividade entre os fragmentos podem auxiliar na conservação *in situ* das espécies estudadas. A introdução de migrantes, através de propágulos ou mudas, também pode auxiliar nesse sentido. No entanto, deve-se ter o cuidado de utilizar material oriundo de áreas próximas, a fim de evitar problemas de depressão por cruzamento. A utilização de material de áreas do entorno também é uma estratégia a ser utilizada na recuperação de áreas do entorno dos fragmentos.

Os resultados obtidos para as espécies avaliadas também apontam a necessidade de uma política estadual para a produção de mudas de espécies florestais nativas, visando plantios de restauração e comerciais. As altas divergências genéticas encontradas indicam que as coletas de sementes para produção de mudas visando a recuperação de áreas degradadas, devem ser feitas sempre em áreas próximas ao local onde serão implantadas as mesmas, caso contrário, os riscos de depressão por cruzamento podem ser grandes. Há também uma grande variação nos níveis de diversidade genética e nos índices de fixação para todas as espécies. Portanto, a indicação de áreas propícias para coleta de sementes poderia maximizar o potencial das novas populações a serem fundadas. No entanto, esse tipo de trabalho deve ser continuado, com capacitação de pessoal, tanto de viveiristas quanto de agentes do Estado e criação de uma regulamentação para a produção de mudas de espécies florestais nativas.

É importante ressaltar que neste trabalho foram utilizados indivíduos adultos e como todas as espécies trabalhadas são longevas, os resultados obtidos são de acontecimentos históricos. Desse modo, os níveis de diversidade e a estruturação das populações são reflexos de eventos reprodutivos ocorridos, em alguns casos antes e em outros casos poucas décadas após, o início do forte processo exploratório no Estado. Levando isso em consideração e o atual quadro de conservação dos remanescentes florestais da Floresta Ombrófila Mista no estado, os indivíduos que estão sendo gerados atualmente tendem a apresentar um estado mais crítico do que os indivíduos adultos analisados.

Diante disso, ressalta-se a importância da continuidade dos trabalhos com genética de populações das espécies ameaçadas no Estado de Santa Catarina. Porém, é imprescindível que trabalhos futuros englobem a avaliação de regenerantes a fim de detectar diferenças nos níveis de diversidade genética e de fixação, assim como a perda de alelos raros nos eventos reprodutivos contemporâneos.

Por fim, é relevante mencionar que as ameaças à fragmentação em razão da ação antrópica continua sendo uma ameaça a manutenção da diversidade genética e do tamanho populacional nos fragmentos remanescentes. Esta ameaça é decorrente de diferentes uma série de atividades. Porém, certamente três são preponderantes. A primeira é a exploração predatória por excelência com a retirada de plantas adultas destas espécies estudadas. A segunda é o avanço da fronteira agrícola. E a terceira relaciona-se com o manejo das áreas adjacentes às unidades de conservação ou dos fragmentos que ainda contém esta rica diversidade genética. Um dos fatores mais importantes na efetividade das unidades de conservação são as atividades do entorno dessas áreas e até onde afetam a conservação e manutenção dos processos ecológicos nos ecossistemas que se está buscando proteger (Laurence *et al.*, 2012).

Em função de fato das florestas tropicais e das espécies que as habitam estarem em grande risco de desaparecimento, a pressão para a criação, manutenção e correto manejo de áreas protegidas é cada vez mais evidente. No entanto, ainda se conhece pouco sobre a manutenção da biodiversidade nessas áreas. Assim, a contribuição desta Tese foi feita no sentido de avançar no conhecimento e na compreensão de fatores que afetam a conservação genética *in situ*.

8. REFERÊNCIAS

ALBALADEJO, R.G. *et al.* Population genetic structure in *Myrtus communis* L. in a chronically fragmented landscape in the Mediterranean: can gene flow counteract habitat perturbation? *Plant Biology* v. 11, p. 442–453, 2009.

AGUILAR, R. *et al.* Plant reproductive susceptibility to habitat fragmentation: review and synthesis through a meta-analysis. *Ecology Letters*, v. 9, p. 968–980, 2006.

ALFENAS, A.C. (Ed.). Eletroforese de isoenzimas e proteínas afins: fundamentos e aplicações em plantas e microorganismos. Viçosa: UFV, 1998. 574p.

ALLARD, R.W. Princípios do melhoramento genético de plantas. São Paulo: Edgard Blucher, 1971. 381p.

AMATO, C.M. 2008. Ecologia de populações de *Ocotea porosa* (Nees) Barroso em áreas submetidas a diferentes graus de perturbação. Dissertação (Mestrado em Ecologia e Conservação) Universidade Federal do Paraná, Setor de Ciências Biológicas, Curitiba, PR. 49 p.

AULER, N.M.F. *et al.* The genetic and conservation of *Araucaria angustifolia* I. Genetic structure and diversity of natural populations by means of non-adaptative variation in the state of Santa Catarina, Brazil. *Genetics and Molecular Biology* v. 25, n. 3, p. 323-327, 2002.

BACHMAN, S. *et al.* *Podocarpus lambertii*. In: IUCN 2011. IUCN Red List of Threatened Species. Version 2011.1. <www.iucnredlist.org>. 2007. Downloaded on 07 November 2011.

BACKES, A. Dinâmica do pinheiro brasileiro. *Iheringia* v. 30, p. 49-84, 1983.

BACKES, A. Condicionamento climático e distribuição geográfica de *Araucaria angustifolia* (Bertol.) Kuntze no Brasil-II. *Pesquisa Botânica* v. 49, p. 31-51, 1999.

BACKES, A. Determinação da idade e regeneração natural de uma população de *Araucaria angustifolia* (Bertol.) Kuntze em um povoamento florestal localizado no município de Caxias do Sul, RS, Brasil. *Iheringia* v. 56, p. 115-130, 2001.

BACKES, P.; IRGANG, B. Árvores do sul – guia de identificação & interesse ecológico. 1ª edição, Instituto Souza Cruz, 2002. 326 p.

BARRET, S.C.H.; KOHN, J.R. Genetic and evolutionary consequences of small population size in plants: implications for conservation. In: FALK, D.A. & HOLSINGER, K.E. (Eds) Genetics and conservation of rare plants. Oxford University Press, 1991.

BAWA, K.S.; SEIDLER, R. Natural forest management and conservation of biodiversity in tropical forests. *Conservation Biology* v. 12, n. 1, p. 46-55, 1998.

BEHLING, H. A high resolution Holocene pollen record from Lago do Pires, SE. Brazil: vegetation, climate and fire history. *J. Paleolimnology* v. 14, p. 253-268, 1995.

BERG, E.E.; HAMRICK, J.L. Quantification of genetic diversity at allozyme loci. *Canadian Journal of Forest Research* v. 27, p. 415-424, 1997.

BITTENCOURT, J.V.M.; SEBBENN, A.M. Patterns of pollen and seed dispersal in a small fragmented population of a wind pollinated *Araucaria angustifolia* in southern Brazil. *Heredity* v. 99, p. 580-591, 2007.

BITTENCOURT, J.V.M.; SEBBENN, A.M. Pollen movement within a continuous forest of wind-pollinated *Araucaria angustifolia*, inferred from paternity and TWOGENER analysis. *Conserv. Genet.* v. 9, p. 855-868, 2008.

BITTENCOURT, J.M.; SEBBENN, A.M. Genetic effects of forest fragmentation in high-density *Araucaria angustifolia* populations in Southern Brazil. *Tree Genetics & Genomes* v. 5, p. 573-582, 2009.

BITTENCOURT, R. Caracterização da estrutura genética interna e aspectos da auto-ecologia de uma população natural de imbuia (*Ocotea*

porosa - Lauraceae). Dissertação (Mestrado em Ciências) Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Agrárias, Florianópolis, SC. , 2007. 83 p.

BURLINGAME, L.L. The morphology of *Araucaria brasiliensis*. I. The staminate cone and gametophyte. *Botanical Gazette* v. 55, p. 97-144, 1913.

BURLINGAME, L.L. The morphology of *Araucaria brasiliensis*. II. The ovulate cone and female gametophyte. *Botanical Gazette* v. 57, p. 490-507, 1914.

BURLINGAME, L.L. The morphology of *Araucaria brasiliensis*. III. Fertilization, the embryo, and the seed. *Botanical Gazette* v. 59, p. 1-40, 1915.

CARVALHO, P.E.R. Espécies Florestais Brasileiras: recomendações silviculturais, potencialidades e uso da madeira, p. 377-382. Colombo, EMBRAPA-CNPQ, 1994.

CARVALHO, M.M.X. O desmatamento das florestas de araucária e o Médio Vale do Iguaçu: uma história de riqueza madeireira e colonizações. Dissertação (Mestrado em História). Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, SC, 2006. 202 p.

CASTELLA, P.R.; BRITZ, R.M. A floresta com araucária no Paraná: conservação e diagnóstico dos remanescentes florestais/ Fundação de Pesquisas Florestais do Paraná. Brasília: Ministério do Meio Ambiente. 2004.

CHUNG, M.G.; CHUNG, J.M.; EPPERSON, B.K. Spatial genetic structure of allozyme polymorphisms within populations of *Rhus trichocarpa* (Anacardiaceae). *Silvae Genetics* v. 48, p. 223-227, 1999.

CLARKE, G.M.; YOUNG, A.G. Introduction: genetics, demography and the conservation of fragmented populations. In: YOUNG, A.G.; CLARKE, G.M. (Ed.) *Genetics, demography and viability of fragmented populations*. Cambridge University Press , 2000.

CLARKE, K.R.; GORLEY, R.N. Primer v6: User Manual/Tutorial. PRIMER-E, Plymouth , 2006.

COLE, C.T. Genetic variation in rare and common plants. *Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst.* v. 34, p. 213-237, 2003.

CONANT, D.S. A radioisotope technique to measure spore dispersal of the tree fern *Cyathea arborea*. *Pollen et Spores* v. 20, n.4, p. 583-593, 1978.

CONTE, R. *et al.* Genetic structure and mating system of *Euterpe edulis* Mart. populations: a comparative analysis using microsatellite and allozyme markers. *Journal of Heredity* v. 99, n.5, p. 476-482, 2008.

COZZO, D. Distribución Fitogeográfica en la Argentina de *Araucaria araucana* y *A. angustifolia*. *Problemas Forestales del Género Araucaria*. IUFRO, 1980.

CUEVAS, E. *et al.* The genetic structure of the gynodioecious *Kallstroemia grandiflora* (Zygophyllaceae): the role of male sterility and colonization history. *Heredity* v.97, p. 269-274, 2006.

DUARTE, L.S.; DILLENBURG, L.R. Ecophysiological responses of *Araucaria angustifolia* (Araucariaceae) seedling to different irradiance levels. *Australian Journal of Botany* v. 48, p. 531-537, 2000.

DUARTE, L.S.; DILLENBURG, L.R.; ROSA, L.M.G. Assessing the role of light availability in the regeneration of *Araucaria angustifolia* (Araucariaceae). *Australian Journal of Botany* v. 50, p. 741-751, 2002.

DUDASH, M.R.; FENSTER, C.B. Inbreeding and outbreeding depression in fragmented populations. In: YOUNG, A.G.; CLARKE, G.M. (Eds) *Genetics, demography and viability of fragmented populations*. Cambridge University Press, 2000.

ELAM, R.; ELLSTRAND, N.C. Population genetic consequences of small population size: implications for plant conservation. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* v. 24, p. 217-242, 1993.

ELLSTRAND, N.C. Gene flow by pollen: implications for plant conservation genetics. *OIKOS* v. 63, p. 77-86, 1992.

EMBRAPA. 1998. Zoneamento ecológico para plantios florestais no Estado de Santa Catarina. CNPF-EMBRAPA. Curitiba, PR.

FAHRIG, L. Effects of habitat fragmentation on biodiversity. *Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst.* v. 34, p. 487-515, 2003.

FARJON, A. *Araucaria angustifolia*. In: IUCN 2011. IUCN Red List of Threatened Species. Version 2011.1. 2006. <www.iucnredlist.org>. Downloaded on 07 November 2011.

FERREIRA, A.G. Aspectos estruturales de las semillas de *Araucaria angustifolia* (Bert.) O. Ktze. *Iheringia* v. 26, p. 3-7, 1981.

FERREIRA, A.G.; HANDRO, W. Aspects of seed germination in *Araucaria angustifolia* (Bert.) O. Ktze. *Revista Brasileira de Botânica* v. 2, p. 7-13, 1979.

FERREIRA, D.K. Caracterização genética e estrutura populacional de diferentes origens de *Araucaria angustifolia* na FLONA de Três Barras. Dissertação (Mestrado em Ciências) Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Agrárias, Florianópolis, SC. 2008. 83 p.

FILHO, L.E.M.; SOMNER, G.V.; PEIXOTO, A.L. Centuria plantarum brasiliensium exstintionis minitata. Sociedade Brasileira de Botânica, 1992. 167 p.

FRANKHAM, R. Genetics and conservation biology. *C. R. Biologies* v. 326, p. S22-S29, 2003.

FRANKHAM, R. Genetics and extinction. *Biological Conservation* v. 126, p.131-140, 2005.

FRANKHAM, R.; BALLOU, J.D.; BRISCOE, D.A. Introduction to Conservation Genetics. Cambridge University Press, Cambridge, 2002.

FUNDAÇÃO SOS MATA ATLÂNTICA/INSTITUTO NACIONAL DE PESQUISAS ESPACIAIS. Atlas dos Remanescentes Florestais da Mata Atlântica no Período 2008-2010. São Paulo, 2011.

GAINES, M.S *et al.* The effects of habitat fragmentation on the genetic structure of small mammal populations. *Journal of Heredity* v. 88, p. 294-304, 1997.

GALINDO-LEAL, C.G; CÂMARA, I.G. Status do hotspot Mata Atlântica: uma síntese In: Galindo-Leal, C.G; Câmara, I.G, 2005. Mata Atlântica: Biodiversidade, ameaças e perspectivas. Belo Horizonte: Conservação Internacional, p. 3-11, 2005.

GEBUREK, T. Isozymes and DNA markers in gene conservation of forest trees. *Biodiversity and conservation* v.6, p. 1639-1654, 1997.

GEBUREK, T.; KONRAD, H. Why the conservation of forest genetic resources has not worked. *Conservation Biology* v. 22, n. 2, p. 267-274, 2008.

GIULIETTI, A.M. *et al.* Biodiversity and Conservation of Plants in Brazil. *Conservation Biology* v. 19, n. 3, p. 632–639, 2005

GOUDET, J. Fstat (Version 2.9.3.2.): a computer program to calculate F-statistics. *J Heredity* v. 86, p. 485–486, 2002.

GOULARTI FILHO, A. A formação econômica de Santa Catarina. *Ensaio FEE* v. 23, n. 2, p. 977-1007, 2002.

GUERRA, M.P. *et al.* Exploração, manejo e conservação da araucária (*Araucaria angustifolia*). In: SIMÕES, L.L.; LINO, C.F. (org.) Sustentável Mata Atlântica: a exploração de seus recursos florestais. São Paulo: Editora SENAC, p. 85-101, 2002.

HAAG, C.R. *et al.* Founder events as determinants of within-island and among-island genetic structure of *Daphnia metapopulations*. *Heredity* v. 96, p. 150–158, 2006.

HAMRICK, J.L.; GODT, M.J.W. Allozyme diversity in plant species. In: Brown, A.H.D. *et al.* (Eds.) Plant population genetics, breeding and genetic resources. Sunderland: Sinauer, MA. p.43-63, 1989.

HAMRICK, J.L.; LOVELESS, M.D. Isozyme variation in tropical tree: procedures and preliminary results. *Biotropica* v. 18, n. 3, p. 201-207, 1986.

HARPER, K. A. *et al.* Edge Influence on Forest Structure and Composition in Fragmented Landscapes. *Conservation Biology* v. 19, n. 3, p. 768–782, 2005.

HEDRICK, P.W. Highly variable loci and their interpretation in evolution and conservation. *Evolution* v. 53, p. 313–318, 1999.

HEDRICK, P.H.; KALINOVSKI, S.T. Inbreeding depression in conservation biology. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* v. 31, p. 139–162, 2000.

HEDRICK, F. A standardized genetic differentiation measured. *Evolution* v. 59, p. 1633–1638, 2005.

HERRERÍAS-DIEGO, Y. *et al.* Effects of forest fragmentation on phenological patterns and reproductive success of the tropical dry forest tree *Ceiba aesculifolia*. *Conservation Biology* v. 20, n. 4, p. 1111–1120, 2006.

HMELJEVSKI, K.V. *et al.* Genetic diversity, genetic drift and mixed mating system in small subpopulations of *Dyckia ibiramensis*, a rare endemic bromeliad from Southern Brazil. *Conservation Genetics* v. 12, p. 761-769, 2011.

HOLSINGER, K.E. Demography and extinction in small populations. In: YOUNG, A.G.; CLARKE, G.M. (Eds) *Genetics, demography and viability of fragmented populations*. Cambridge University Press, 2000.

INOUE, M.T.; RODERJAN, C.V.; KUNIYOSHI, Y.S. Projeto Madeira do Paraná. Curitiba: Fundação de Pesquisas Florestais do Paraná, 1984. 260 p.

IRIARTE, J.; BEHLING, H. The expansion of Araucaria forest in the southern Brazilian highlands during the last 4000 years and its implications for the development of the Taquara/Itararé Tradition. *Environmental Archaeology* v. 12, n.2, p.115-127, 2007.

KAGEYAMA, P.Y.; GANDARA, F.B.; SOUZA, L.M.I. Conseqüências genéticas da fragmentação sobre populações de espécies arbóreas. *Série Técnica IPEF* v. 12, n.32, p. 65-70, 1998.

KAGEYAMA, P.Y. *et al.* Diversidade genética em espécies arbóreas tropicais de diferentes estágios sucessionais por marcadores genéticos. *Scientia Forestalis* v. 64, p. 93-107, 2003.

KJÆR, E.D.; GRAUDAL, L. Genetic studies of interest for forest genetic resource conservation programmes in tropical countries. In: SAFORGEN Regional Training Workshop on the Conservation and Sustainable Use of Forest Genetic Resources in Eastern and Southern Africa, Nairobi, Kenya, 2000.

KLEIN, R.M. O aspecto dinâmico do pinheiro brasileiro. *Sellowia* v. 12, n. 12, p. 17-44, 1960.

KLEIN, R.M. Mapa fitogeográfico do Estado de Santa Catarina. *Flora Ilustrada Catarinense*, 1978. 24p.

KOCH, Z.; CORRÊA, M.C. Araucária: a floresta do Brasil meridional. Curitiba: Olhar Brasileiro, 2002. 148p.

LABORIAU, L.F.G.; MATTOS FILHO, A. Notas preliminares sobre a "Região de Araucaria". *Anuário Brasileiro de Economia Florestal*, p. 1-17, 1948.

LAURANCE, W. F. *et al.* Averting biodiversity collapse in tropical forest protected areas. *Nature* v. 489, p. 290-294, 2012.

LEDRU, M.P.; SALGADO-LABOURIAU, M.L.; LORSCHETTER, M.L. Vegetation dynamics in southern and central Brazil during the last 10,000 year B. P. *Rev. Palaeobot. Palynol*, v. 99, p. 131-142, 1998.

LEWIS, P.O.; ZAYKIN, D. Genetic Data Analysis: Computer program for the analysis of allelic data. Version 1.0 (d16c), 2001. Disponível em: <http://lewis.eeb.uconn.edu/lewishome/software.html>

LONGHI, R.A. Livro das árvores: árvores e arvoretas do Sul. Porto Alegre: L & PM, 1995. 176 p.

MANTEL, N. The detection of disease clustering and a generalized regression approach. *Cancer Research* v. 27, p. 209–220, 1967.

MANTOVANI, A. Fenologia reprodutiva e estrutura genética de uma população natural de *Araucaria angustifolia* (Bert.) O. Kuntze (Araucariaceae). Tese (Doutorado em Ciências Biológicas) Universidade Estadual Paulista, Instituto de Biociências de Rio Claro, Rio Claro, SP, 2003. 106 p.

MANTOVANI, A.; MORELLATO, A.P.C.; REIS, M.S. Internal genetic structure and outcrossing rate in a natural population of *Araucaria angustifolia* (Bert.) O.Kuntze. *Journal of Heredity* v. 97, p. 466–472, 2006.

MANTOVANI, M. Caracterização de populações naturais de xaxim (*Dicksonia sellowiana* (Presl.) Hooker), em diferentes condições edafoclimáticas no estado de Santa Catarina. Dissertação (Mestrado em Recursos Genéticos Vegetais) Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Agrárias, Florianópolis, SC, 2004. 91p.

MATHIASSEN, P.; ROVERE, A.E.; PREMOLI, A.C. Genetic structure and early effects of inbreeding in fragmented temperate forests of a self-incompatible tree, *Embothrium coccineum*. *Conservation Biology* v. 21, n. 1, p. 232–240, 2007.

MATTOS, J.R. O Pinheiro Brasileiro. Vol. 1. 2^o ed. Artes Gráficas Princesa Ltda. Lages, SC. 1994.

MAZZA, M.C.M. Use of RAPD markers in the study of genetic diversity of *Araucaria angustifolia* (Bert.) population in Brazil. In: BRUNS S.; MANTELL, S.; TRAGARDH, V.A.M. (eds). *Recent*

Advances in Biotechnology for tree Conservation and Management. International Foundation for Science, Stockholm, p. 103-111, 1997.

MILANI, E.J. Crescimento de *Podocarpus lambertii* Klotzsch ex Endl. em duas regiões fitogeográficas no Estado Do Rio Grande Do Sul. Tese (Doutorado em Engenharia Florestal) Universidade Federal de Santa Maria, Centro de Ciências Rurais, Santa Maria, RS, 2010. 155p.

MILLER, M.P. TFPGA – Tools for populations genetics analyses. A Window program for the analysis of allozyme and molecular population genetic data. Versão 1.3, 2000. Disponível em: <http://bioweb.usu.edu/mpmbio/TFPGA.asp>

MITTERMEIER, R.A. *et al.* A Brief History of Biodiversity Conservation in Brazil. *Conservation Biology* v. 19, n. 3, p. 601–607, 2005.

MORAES, P.L.R.; DERBYSHIRE, M.T.V.C. Estrutura genética de populações naturais de *Cryptocarya aschersoniana* Mez (Lauraceae) através de marcadores isoenzimáticos. *Biota Neotropica* v.2, n. 2, 2002.

MORAES, P.L.R.; DERBYSHIRE, M.T.V.C. Diferenciação genética e diversidade em populações naturais de *Cryptocarya aschersoniana* Mez (Lauraceae). *Biota Neotropica* v. 3, n. 1, 2003.

MORAES, P.L.R.; MONTEIRO, R.; VENCOVSKY, R. Conservação genética de populações de *Cryptocarya moschata* Nees (Lauraceae) na Mata Atlântica do estado de São Paulo. *Revista Brasileira de Botânica* v. 22, n. 2, p. 237-248, 1999.

MOORE, G.E. In: GALINDO-LEAL, C.G; CÂMARA, I.G, 2005. Mata Atlântica: Biodiversidade, ameaças e perspectivas. Belo Horizonte: Conservação Internacional, p. 103-118, 2005.

MYERS, N. *et al.* Biodiversity hotspots for conservation priorities. *Nature* v. 403, p. 853-858, 2000.

NASCIMENTO, C.D. Desenvolvimento do setor madeireiro no município de Canoinhas (SC), período 1940 a 2007. Dissertação

(Mestrado em Desenvolvimento Regional) Universidade do Contestado. Canoinhas, SC, 2009. 97p.

NEI, M. Genetic distance between populations. *American Naturalist* v. 106, p. 283-29, 1972.

OYAMA, K. Conservation biology of tropical trees: demographic and genetic considerations. *Environment Update* v. 1, p. 17-32, 1993.

PALUDO, G.F. *et al.* Estrutura demográfica e padrão espacial de uma população natural de *Araucaria angustifolia* (Bertol.) Kuntze (Araucariaceae), na reserva genética florestal de Caçador, estado de Santa Catarina. *Revista Árvore* v. 33, n. 6, p. 1109-1121, 2009.

PATREZE, C.M.; TSAI, S.M. Intrapopulational genetic diversity of *Araucaria angustifolia* (Bertol.) Kuntze is different when assessed on the basis of chloroplast or nuclear markers. *Plant Syst Evol* v. 284, p. 111-122, 2010.

PYE, M.G.; HENWOOD, Æ.M.; GADEK, P.A. Differential levels of genetic diversity and divergence among populations of an ancient Australian rainforest conifer, *Araucaria cunninghamii*. *Plant Systematics and Evolution* v. , p. 173-185, 2009.

QUIROGA, M.P., PREMOLI, A. Genetic patterns in *Podocarpus parlatorei* reveal the long-term persistence of coldtolerant elements in the southern Yungas. *Journal of Biogeography* v. 34, p. 447-455, 2007.

QUIROGA, M.P., PREMOLI, A. Genetic structure of *Podocarpus nubigena* (Podocarpaceae) provides evidence of Quaternary and ancient historical events. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology* v. 285, p.186-193, 2010.

REED, D.H.; FRANKHAM, R. Correlation between fitness and genetic diversity. *Conservation Biology* v. 17, p. 230-237, 2003.

REIS, A. *et al.* Aspectos sobre a conservação da biodiversidade e o manejo da floresta tropical atlântica. In: Congresso Nacional sobre Essências Nativas, 2., 1992, Anais... p.169-173, 1992.

REIS, M.S. Dinâmica da movimentação dos alelos: subsídios para conservação e manejo de populações naturais em plantas. *Revista Brasileira de Genética* v. 19, n. 4, p. 37-47, 1996.

REITZ, R.; KLEIN, R.M. Araucariáceas. *Flora Ilustrada Catarinense*: 1-62, 1966.

REITZ, R.; KLEIN, R.M.; REIS, A. Projeto Madeira de Santa Catarina. *Sellowia* v. 28-30, p. 1-320, 1978.

RIZZINI, C.T. Árvores e madeiras úteis do Brasil – Manual de dendrologia brasileira. 2ª ed. São Paulo: Edgard Blücher, 1971. 296 p.

RUIZ, E.; *et al.* Genetic diversity and differentiation within and among Chilean populations of *Araucaria araucana* (Araucariaceae) based on allozyme variability. *Taxon* v. 56, n. 4, p. 1221–1228, 2007.

RUSCHI, A. “Fitogeografia do Estado do Espírito Santo”. Santa Tereza: Bol. MBML, Botânica, v. 1, p. 1-353, 1950.

SANTOS, P.S. Fragmentação de habitats: implicações para a conservação *in situ*. In: Esteves, F.A., ed. *Oecologia brasiliensis*. Local: Editora, 1995. 616p.

SCHENELLER, J.J. How much genetic variations in fern population is stored in the spore banks? A study of *Anthyrium filix-femina*. *Bot. J. Lin. Soc* v. 127, n. 3, 1998.

SEBBENN, A.M. Número de árvores matrizes e conceitos genéticos na coleta de sementes para reflorestamentos com espécies nativas. *Revista do Instituto Florestal* v. 14, p. 115-132, 2002.

SEHNEM, A. Ciатеáceas. *Flora Ilustrada Catarinense-CIAT*. p.1-114, 1978.

SHERWIN, W.B.; MORITZ, C. Managing and monitoring genetic erosion. In: YOUNG, A.G.; CLARKE, G.M. (Eds) *Genetic, demography and viability of fragmented populations*. Cambridge University Press, 2000.

SHIMIZU, J.Y.; JAEGER, P.; SOPCHAKI, S.A. Variabilidade genética em uma população remanescente de Araucária no Parque Nacional do Iguaçu, Brasil. Boletim de Pesquisa Florestal v. 41, p. 18-36, 2000.

SHIMOYA, S. Contribuição ao estudo do ciclo biológico de *Araucaria angustifolia* (Bertoloni) O. Ktze. *Experientiae* v. 2, n. 2, p. 520-540, 1962.

SOLÓRZANO-FILHO, J. A. Demografia, fenologia e ecologia da dispersão de sementes de *Araucaria angustifolia* (Bert.) O. Kuntze (Araucariaceae), numa população relictual em Campos do Jordão. Dissertação Mestrado, Universidade de São Paulo, São Paulo. 2001.

SOLTIS, D.E.; SOLTIS, P.S. Polyploidy, breeding systems and genetic differentiation in homosporous pteridophytes. In: SOLTIS DE, SOLTIS PS (Eds), *Isozymes in Plant Biology*, pp. 241–258. Dioscorides, Portland, OR, 1989.

SOUSA, V.A. Population genetic studies in *Araucaria angustifolia* (Bert.) O. Ktze. Cuvillier Verlag Göttingen, 2000.

STEFENNON, V.M.; GAILING, O.; FINKELDEY, R. Genetic Structure of *Araucaria angustifolia* (Araucariaceae) Populations in Brazil: Implications for the *in situ* Conservation of Genetic Resources. *Plant Biol.* v. 9, n. 2007, p. 516–525, 2007.

SUNNUCKS, P. Efficient genetic markers for population biology. *Tree.* v. 15, n. 5, p. 199 – 203, 2000.

TARAZI, R; MANTOVANI, A.; REIS, M.S. Fine-scale spatial genetic structure and allozymic diversity in natural populations of *Ocotea catharinensis* Mez. (Lauraceae). *Conserv. Genet.* v. 11, p. 965–976, 2010.

THOMÉ, N. 1949-Ciclo da madeira: história da devastação da floresta da araucária e do desenvolvimento da indústria da madeira em Caçador e na região do Contestado no século XX. Caçador: Universal, 1995, 212p.

THRALL, P.H.; BURDON, J.J.; MURRAY, B.R., The metapopulation paradigm: a fragmented view of conservation biology. In: YOUNG, A.G.; CLARKE, G.M. (Eds.) Genetics, demography and viability of fragmented populations. Cambridge University Press. 2000.

TRYON, R.M.; TRYON, A.F. Ferns and allied plants with special reference to tropical america. New York: Springer- Verlag. 1982.

VALOIS, A.C.C.; SALOMÃO, A.N; ALLEM, A.C (Org.). Glossário de recursos genéticos vegetais. Brasília: Embrapa-SPI, 1996. 62 p.

VERNALHA, M.M. *et al.* Cosiderações sobre a semente da *Araucaria angustifolia* (Bert.) O. Kuntze. Acta Biológica Paranaense v. 1 n. 3-4, p. 39-96, 1972.

WEEDEN, N.F.; WENDEL, J.F. Genetics of plant isozymes. In: SOLTIS D.E., SOLTIS P.S., (Eds). Isozymes in plant biology. London: Chapman and Hall, p. 46-72, 1990.

WEIR, B.S.; COCKERHAM, C.C. Estimating F-statistics for the analysis of population structure. Evolution v. 38, p. 1358–1370, 1984.

YOUNG, A.G.; BROWN, A.H.D. Paternal bottlenecks in fragmented populations of the grassland daisy *Rutidosis leptorrhynchoides*. Genet. Res. Camb. v. 73, p. 111-117, 1999.

YOUNG, A.G.; BOYLE, T.; BROWN, T. The population genetic consequences of habitat fragmentation for plants. Tree v. 11, n. 10, p. 413-418, 1996.

9. ANEXOS

Anexo 1: Número da unidade amostral referência do IFF-SC, nome do ponto amostral, coordenadas (UTM) e altitude das 13 populações coletadas de *Ocotea porosa*. UFSC, 2011.

UA	População	Coordenadas (UTM)		Altitude
		X	Y	
1061	Mafra 2	7112764.31	604947.25	880
901	Itaiópolis 2	7062762.62	622473.63	950
717	Passos Maia 2	7033039.64	398587.11	1070
832	Passos Maia 3	7053045.86	407385.88	1100
729	Caçador Epagri	7029802.20	504804.36	1050
724	Macieira	7033441.65	461244.48	1000
1040	Mafra	7104517.66	624763.53	900
605	Irani	7026938.35	418788.01	1100
784	Caçador 1	7041225.85	487556.13	950
720	Passos Maia 1	7032428.56	412500.12	950
673	Rio das Antas	7023531.61	505957.64	1030
984	Itaiópolis 1	7082983.55	595774.33	850
1055	Canoinhas	7113741.86	550996.74	780

Anexo 2: Número da unidade amostral referência do IFF-SC, nome do ponto amostral, coordenadas (UTM) e altitude das 31 populações coletadas de *Araucaria angustifolia*. UFSC, 2011.

UA	População	Coordenadas (UTM)		Altitude
		X	Y	
537	Chapecó1	7001804.13	324043.92	540
1980	Joaçaba1	6994936.09	443095.20	900
92	Despraiado	6863883.29	617648.17	1220
727	Campo Belo do Sul	6907480.85	517267.83	970
926	São Domingos	7071748.79	342548.53	780
832	Passos Maia	7048787.08	407274.92	1000
167	Urubici	6895392.24	660160.78	1230
186	Urupema	6908476.23	610023.36	1450
211	Painel	6914496.18	585759.11	1100
140	Santa Bárbara	6883412.82	637715.35	1630
729	Caçador-Epagri	7029802.20	504804.36	1050
720	Passos Maia SF	7032428.56	412500.12	950
718	Ponte Serrada	7035819.80	409080.25	950
1038	Três Barras	710773.67	573057.51	820
901	Itaiópolis 1	7082983.55	595774.33	950
1055	Canoinhas	7113141.86	550996.74	780
5000	A. Garibaldi	6936865.91	486301.61	950
321	C. Novos	6952996.95	453696.07	650
369	Curritibanos 2	6963392.39	541828.72	800
562	Curritibanos 1	7003472.37	541588.33	1000
453	S. Cristovão	6983075.78	559750.16	1050
1061	Mafra	7112764.31	604947.25	880
901	Itaiópolis 2	7062762.62	622473.63	950
714	Faxinal dos Guedes	7032591.00	371402.00	850
6003	Palma Sola 2	7076740.13	269817.80	890
6001	Palma Sola 1	7087902.44	271684.31	850
597	Chapecó 2	7012889.93	336165.97	700
1001	D. Cerqueira	7085997.29	248306.25	800
619	Lebon Régis	7043949.92	534320.99	1050
919	Campo Erê	7078257.31	289767.32	910
192	Urubici	6908817.40	666107.82	1500

Anexo 3: Número da unidade amostral referência do IFF-SC, nome do ponto amostral, coordenadas (UTM) e altitude das 30 populações coletadas de *Dicksonia sellowiana*. UFSC, 2011.

UA	População	Coordenadas (UTM)		Altitude
		X	Y	
413	Ponte Alta	6973394.49	577092.35	
537	Chapecó1	7001804.13	324043.92	540
1980	Joaçabal	6994936.09	443095.20	900
92	Despraiado	6863883.29	617648.17	1220
727	Campo Belo do Sul	6907480.85	517267.83	970
926	São Domingos	7071748.79	342548.53	780
832	Passos Maia 1	7048787.08	407274.92	1000
167	Urubici	6895392.24	660160.78	1230
211	Painel	6914496.18	585759.11	1100
140	Santa Bárbara	6883412.82	637715.35	1630
729	Caçador-Epagri	7029802.20	504804.36	1050
724	Macieira	7033441.65	461244.48	1000
720	Passos Maia SF	7032428.56	412500.12	950
718	Ponte Serrada	7035819.80	409080.25	950
5000	A. Garibaldi	6936865.91	486301.61	950
321	C. Novos	6952996.95	453696.07	650
369	Curitibanos 2	6963392.39	541828.72	800
562	Curitibanos 1	7003472.37	541588.33	1000
453	S. Cristovão	6983075.78	559750.16	1050
623	S. Cecília	7013323.14	568410.51	1200
895	M. Vieira	7063165.53	568680.93	850
1061	Mafra	7112764.31	604947.25	880
901	Itaiópolis	7062762.62	622473.63	950
714	F. d. Guedes	7032591.00	371402.00	850
6003	Palma Sola 2	7087902.44	271684.31	890
6001	Palma Sola 1	7076740.13	269817.80	850
1001	D. Cerqueira	7085997.29	248306.25	800
877	São Lourenço do Oeste	7080070.27	316900.37	800
919	Campo Erê	7073165.00	289995.04	900
192	Campo dos Padres	6908411.21	662793.26	1520

Anexo 4: Número da unidade amostral referência do IFF-SC, nome do ponto amostral, coordenadas (UTM) e altitude das 12 populações coletadas de *Podocarpus lambertii*. UFSC, 2011.

UA	População	Coordenadas (UTM)		Altitude
		X	Y	
453	São Cristovão do Sul	6983075.78	559750.16	1050
211	Painel	6913516.05	585572.40	1150
208	Capão Alto	6913675.57	558999.51	900
297	São José do Cerrito	6942456.83	542280.13	1070
789	Lebon Régis 2	7043949.92	534320.99	1050
619	Lebon Régis 1	7018640.05	533683.44	1000
561	Curitibanos 1	7003422.70	533808.44	880
409	Curitibanos 2	6968395.63	339727.80	890
784	Caçador	7039336.34	480888.96	1050
1063	Campo Alegre	7117069.96	676828.34	850
1042	Mafra	7102638.14	622853.91	850
1010	Bela Vista do Tololo	7095074.58	553778.31	790