

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS  
CURSO DE GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA

DIVERSIDADE E ESTRUTURA GENÉTICA EM 17 POPULAÇÕES DE *Ocotea catharinensis* MEZ (CANELA-PRETA) DO ESTADO DE SANTA CATARINA: SUBSÍDIOS PARA A CONSERVAÇÃO *IN SITU* DA ESPÉCIE.

TIAGO MONTAGNA

FLORIANÓPOLIS

Dezembro – 2011

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS  
CURSO DE GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA

TIAGO MONTAGNA

DIVERSIDADE E ESTRUTURA GENÉTICA EM 17 POPULAÇÕES DE *Ocotea catharinensis* MEZ (CANELA-PRETA) DO ESTADO DE SANTA CATARINA: SUBSÍDIOS PARA A CONSERVAÇÃO *IN SITU* DA ESPÉCIE.

ORIENTADOR – Prof. Dr. Maurício Sedrez dos Reis

SUPERVISOR – Dr. Juliano Zago da Silva

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Universidade Federal de Santa Catarina, como requisito parcial para obtenção do título de Engenheiro Agrônomo.

FLORIANÓPOLIS

Dezembro – 2011

## AGRADECIMENTOS

Agradeço a todos que, de alguma forma, contribuíram com a realização deste trabalho e com a minha formação. Em especial:

Aos meus pais, Ademir Montagna e Ana Justina Mocelin Montagna, e familiares, pelo amor e apoio incondicionais.

Ao Prof. Dr. Maurício Sedrez dos Reis, não apenas pela dedicada orientação durante a graduação, mas também, pela confiança e amizade.

Ao Dr. Juliano Zago da Silva, pela supervisão e por todos os exemplos e ensinamentos dados ao longo do curso.

Aos companheiros de NPFT, Diogo, Ricardo, Alex, de Luca, Douglas, Felipe, Andréa, Mariot, Caroline, Roberta, Cristina, Luiz Guilherme, Glauco, Alison, Siminski, Karina, Samantha, Lucas e Giovani, pela amizade, agradável convivência e memoráveis ocasiões.

Aos colegas de LFDGV, em especial ao Gustavo, Ramon, Sarah e Clarissa, pela convivência divertida e pela seriedade nos assuntos do laboratório.

Aos colegas da turma 062, em especial ao André, Caio, Georg, Mitsuo, Julio e Ricardo pela amizade e por incontáveis lembranças de ótimas passagens durante o curso.

Ao Inço Esporte Clube.

À FAPESC pela concessão da bolsa e apoio financeiro ao Inventário Florístico Florestal de Santa Catarina.

À Jociel Surdi, Lucas Benedet e Eduardo Ribeiro, pela amizade fora de série, por me ensinarem com exemplos, por inúmeras conversas, churrascos, festas e partidas de futebol (reais e virtuais) que jamais serão esquecidas.

## SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS .....	iv
LISTA DE TABELAS .....	v
RESUMO .....	vi
APRESENTAÇÃO .....	7
1.0 INTRODUÇÃO .....	8
2.0 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....	9
2.1 Família, gênero e espécie .....	9
2.2 Diversidade genética, estrutura genética e conservação .....	12
2.3 Fragmentação florestal e conservação .....	13
2.4 Tamanho efetivo populacional ( $N_e$ ) .....	14
2.5 Eletroforese de Isoenzimas .....	15
3.0 OBJETIVOS .....	18
3.1 Objetivo geral .....	18
3.2 Objetivos específicos .....	18
4.0 MATERIAL E MÉTODOS .....	18
4.1 Coleta e descrição dos pontos amostrados .....	18
4.2 Eletroforese de isoenzimas .....	22
4.3 Análise dos dados .....	25
4.3.1 Frequências alélicas .....	25
4.3.2 Índices de diversidade .....	25
4.3.3 Estatísticas F de Wright .....	27
4.3.4 Tamanho efetivo populacional ( $N_e$ ) .....	27
5.0 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	28
5.1 Frequências alélicas por população e bacia hidrográfica .....	29
5.2 Índices de diversidade genética por população .....	34
5.3 Índices de diversidade genética por bacia hidrográfica .....	38
5.4 Estrutura genética populacional .....	40
5.5 Tamanho efetivo populacional ( $N_e$ ) .....	45

5.6	Medidas conservacionistas sugeridas.....	48
6.0	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	49
7.0	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	51

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1. *Ocotea catharinensis*. A: Aspecto das folhas, frutos imaturos e maduros; B: Detalhe do corte da casca; C: Aspecto geral de um indivíduo adulto; D: Detalhe do tronco. NPFT-UFSC, 2011..... 10
- Figura 2. Distribuição da canela-preta (*Ocotea catharinensis*) em Santa Catarina. Adaptado de Reitz *et al.* (1978). NPFT-UFSC, 2011..... 11
- Figura 3. Processos básicos na realização da eletroforese de isoenzimas. Adaptado e modificado de Kephart (1990). NPFT-UFSC, 2011. .... 17
- Figura 4. Microrregiões de inserção dos municípios de coleta das populações de *Ocotea catharinense* no estado de Santa Catarina. NPFT-UFSC, 2011..... 21
- Figura 5. Bacias Hidrográficas de inserção dos municípios de coleta das populações de *Ocotea catharinense* no estado de Santa Catarina. NPFT-UFSC, 2011. .... 22
- Figura 6. Disposição dos *wicks* no gel de eletroforese. NPFT-UFSC, 2011. .... 23
- Figura 7. Principais passos da eletroforese de isoenzimas. A: tubos e esferas utilizadas na maceração; B: Precellys® 24; C: *wicks* embebidos no macerado; D: gel em eletroforese; E: corte do gel em fatias; F: zimogramas revelados. NPFT-UFSC, 2011..... 24
- Figura 8. Zimogramas para os 10 sistemas enzimáticos (NADHHDH, SKDH, G6PDH, GOT, GTDH, ME, IDH, MDH, DIA e PGM) empregados para *Ocotea catharinensis*. NPFT-UFSC, 2011..... 29
- Figura 9. Correlograma de Mantel (1970) entre as distâncias genéticas e geográficas das 17 populações de *Ocotea catharinensis* em SC. NPFT-UFSC, 2011..... 43

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Numeração, municípios, coordenadas geográficas (UTM), bacia hidrográfica e microrregião das 17 populações de <i>Ocotea catharinensis</i> amostradas. NPFT-UFSC, 2011. ....	19
Tabela 2. Características gerais dos 17 fragmentos amostrados. NPFT-UFSC, 2011. ....	20
Tabela 3. Siglas, nomes e códigos dos sistemas isoenzimáticos utilizados na caracterização das 17 populações de <i>Ocotea catharinensis</i> . Adaptado de Alfenas (1998). NPFT-UFSC, 2011.....	24
Tabela 4. Frequências alélicas para 12 locos alozímicos em 17 populações de <i>Ocotea catharinensis</i> Mez do estado de Santa Catarina. NPFT-UFSC, 2011. ....	30
Tabela 5. Frequências alélicas para 12 locos alozímicos em 3 bacias hidrográficas de ocorrência de <i>Ocotea catharinensis</i> Mez do estado de Santa Catarina. NPFT-UFSC, 2011. ....	33
Tabela 6. Índices de diversidade intrapopulacional, índice de fixação, alelos exclusivos e raros de 17 populações <i>Ocotea catharinensis</i> em Santa Catarina. NPFT-UFSC, 2011. ....	34
Tabela 7. Número de populações avaliadas, número médio e total de alelos por espécie, índices de diversidade genética e índice de fixação para 12 espécies avaliadas no IFF-SC. NPFT-UFSC, 2011.....	35
Tabela 8. Índices de diversidade intrapopulacional, índice de fixação, alelos exclusivos e raros em 3 bacias hidrográficas de ocorrência de <i>Ocotea catharinensis</i> Mez do estado de Santa Catarina. NPFT-UFSC, 2011. ....	39
Tabela 9. Estimativas das estatísticas <i>F</i> de Wright (1951) em 17 populações e em 15 populações distribuídas em 3 bacias hidrográficas de ocorrência de <i>Ocotea catharinensis</i> de Santa Catarina. NPFT-UFSC, 2011. ....	40
Tabela 10. Estimativas das estatísticas <i>F</i> de Wright (1951) fixação para 12 espécies avaliadas no IFF-SC. NPFT-UFSC, 2011.....	41
Tabela 11. Tamanho efetivo populacional ( $N_e$ ) para valores de referência de 50, 500 e 1.000, área estimada (ha) dos fragmentos, densidade ( $n \cdot ha^{-1}$ ) no ponto amostral FURB e densidade total para os fragmentos das 17 populações de <i>Ocotea catharinensis</i> . NPFT-UFSC, 2011.....	46

# DIVERSIDADE E ESTRUTURA GENÉTICA EM 17 POPULAÇÕES DE *Ocotea catharinensis* MEZ (CANELA-PRETA) DO ESTADO DE SANTA CATARINA: SUBSÍDIOS PARA A CONSERVAÇÃO *IN SITU* DA ESPÉCIE.

Autor: Tiago Montagna

Orientador: Prof. Dr. Maurício Sedrez dos Reis

Supervisor: Dr. Juliano Zago da Silva

## RESUMO

A canela-preta (*Ocotea catharinensis* Mez.) é uma espécie da família Lauraceae, característica da Floresta Ombrófila Densa catarinense. Possui um histórico de forte exploração madeireira, além de haver ocorrido uma redução significativa de seu ambiente. Para tanto, figura em 3 listas de espécies vegetais ameaçadas de extinção. Tendo em vista sua representatividade e a situação de ameaça na qual se encontra a espécie, a mesma foi uma das selecionadas para a caracterização da diversidade e estrutura genética no projeto do Inventário Florístico e Floresta de Santa Catarina. Assim, o objetivo do presente trabalho foi caracterizar a diversidade e estrutura genética de 17 populações de *Ocotea catharinensis* Mez (canela-preta) no estado de Santa Catarina, visando gerar subsídios para a conservação *in situ* da espécie. Foram amostradas 17 populações ao longo da área de ocorrência da espécie no estado (50 indivíduos por população). Para acessar os níveis de diversidade genética foram empregados 10 sistemas isoenzimáticos (NADHHDH, SKDH, G6PDH, GOT, GTDH, ME, IDH, MDH, PGM e DIA) todos em tampão Tris-Citrato. A análise dos dados foi conduzida por população e, agrupando populações, por bacias hidrográficas. Foram estimados os índices de diversidade interpopulacionais, índice de fixação, estatística F de Wright (1931) e tamanhos efetivos. As 17 populações de canela-preta avaliadas neste trabalho apresentaram alta diversidade genética média ( $\hat{H}_e = 0,196$ ), bem como, elevado índice de fixação médio ( $\hat{f} = 0,190$ ). Este último pode ter sido influenciado pela metodologia de amostragem adotada. Com relação à estrutura genética, esta se apresentou moderada entre as populações ( $\hat{F}_{ST} = 0,133$ ) parecendo ser afetada, especialmente, pelas síndromes de polinização e dispersão e pelo efeito de “deriva genética” imposto pela exploração da espécie. Quando agrupadas por bacias hidrográficas, as populações apresentam maiores valores médios de diversidade genética ( $\hat{H}_e = 0,224$ ) e índice de fixação ( $\hat{f} = 0,286$ ), além de menores valores médios de divergência genética ( $\hat{F}_{ST} = 0,053$ ) quando comparadas com a análise por populações não agrupadas. O tamanho efetivo populacional médio foi cerca de 15% menor que tamanho amostral real, evidenciando o efeito dos índices de fixação encontrados. Com base nos tamanhos efetivos, diversidade genética, índices de fixação e áreas dos fragmentos foi apontada, ao menos uma população por bacia hidrográfica, como prioritária para coleta de sementes. As estratégias de conservação para a espécie devem priorizar o aumento dos tamanhos populacionais e viabilizar o fluxo gênico entre as populações. A conservação de grandes fragmentos é de fundamental importância neste sentido, por possibilitar grandes tamanhos populacionais da espécie, mas, sobretudo, por viabilizar a coexistência de agentes dispersores e polinizadores, que influenciam diretamente o fluxo gênico das espécies. A utilização da canela-preta em projetos de restauração ambiental e seu melhoramento genético também podem ser duas alternativas para a conservação da mesma.



## APRESENTAÇÃO

O presente relatório descreve as atividades realizadas durante a disciplina de Estágio de Conclusão de Curso cursada no segundo semestre de 2011 na Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC).

O estágio foi realizado no Núcleo de Pesquisas em Florestas Tropicais (NPFT) da UFSC, grupo que trabalha com conservação e uso de recursos genéticos vegetais nativos a mais de 30 anos, sob a orientação do Prof. Dr. Maurício Sedrez dos Reis e supervisão do Dr. Juliano Zago da Silva.

O presente trabalho está inserido no âmbito do projeto “Inventário Florístico Florestal de Santa Catarina” (IFF-SC), realizado em conjunto pela Fundação Universidade Regional de Blumenau (FURB), Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina (EPAGRI) e UFSC, com financiamento da Fundação de Amparo à Pesquisa e Inovação do Estado de Santa Catarina (FAPESC).

O IFF-SC tem caráter metodológico inédito, por incluir em seu escopo metas que não são usuais em inventários tradicionais, tais como a informatização dos herbários catarinenses, avaliação socioeconômica dos recursos florestais, criação de um sistema de informações florestais georeferenciadas e a caracterização da diversidade genética de populações de espécies ameaçadas (Vibrans *et al.*, 2010).

O projeto está dividido em 5 metas gerais, das quais o NPFT é responsável pela execução da “Meta III: Caracterização da Diversidade Genética”. Nesta meta está prevista a caracterização genética de 13 espécies nativas catarinenses.

As espécies caracterizadas foram escolhidas através de *workshops*, levando-se em consideração fatores como histórico de uso, ameaça de extinção e representatividade em suas formações florestais. A canela-preta (*Ocotea catharinensis*) foi uma das 13 selecionadas no IFF-SC e neste trabalho de conclusão de curso, foram realizados estudos sobre a diversidade e estrutura genética de populações da espécie, procurando, a partir de informações levantadas no IFF-SC, fornecer subsídios para a sua conservação *in situ*.

## 1.0 INTRODUÇÃO

O estado de Santa Catarina está inserido no bioma Mata Atlântica e apresenta 4 formações florestais predominantes, a Florestas Ombrófila Mista (FOM), Florestas Ombrófila Densa (FOD), Floresta Estacional Decidual (FED) e os Campos de altitude. De acordo com Klein (1978), tais formações cobriam 43%, 30%, 8% e 14% da superfície do estado, respectivamente.

Durante décadas as formações florestais catarinenses foram exploradas observando-se apenas critérios econômicos, especialmente no século passado. Conforme Reitz *et al.* (1978) o auge da exploração florestal catarinense se deu entre as décadas de 1950 e 1970.

O resultado dos processos exploratórios citados é uma significativa redução e fragmentação dos remanescentes florestais catarinenses. Estima-se que, da cobertura vegetal original de Santa Catarina, restem cerca de 36% de remanescentes, sendo que destes, apenas 5% podem ser classificados como floresta primária (IFF-SC, dados não publicados). Com relação à fragmentação, estima-se que 90% dos remanescentes catarinenses possuam menos que 50 ha (IFF-SC, dados não publicados).

A canela-preta, *Ocotea catharinensis* Mez. (Lauraceae) é uma espécie arbórea característica da FOD catarinense. Conforme Klein (1980), antes de 1980, em altitudes variando de 300 a 700 m acima do nível do mar, a canela-preta era a espécie mais abundante da floresta atlântica catarinense, chegando a representar 1/3 do volume total de madeira em um hectare. Por apresentar madeira de excelente qualidade, foi largamente explorada, especialmente para abastecer o mercado nacional (Reitz *et al.*, 1978).

A dilapidação, tanto da espécie, como de seu ambiente, culminou com a ameaça de extinção da canela-preta. Hoje, a espécie figura na Lista Oficial das Espécies da Flora Brasileira Ameaçadas de Extinção (IBAMA, 1992; MMA, 2008), além de estar classificada como vulnerável na Red List da IUCN (IUCN, 2011). Também 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”.

O conhecimento de aspectos da autoecologia das espécies é de fundamental importância para a tomada de decisões conservacionistas. Neste sentido, já é reconhecida a importância de se conhecer a diversidade e estrutura genética de espécies que se pretende conservar (Reis, 1996; Frankham, 2003; Neel & Ellstrand, 2003).

Assim sendo, o presente trabalho estimou, através de marcadores alozímicos, a diversidade e estrutura genética, de 17 populações de *O. catharinensis*, além de seus respectivos tamanhos efetivos, com o intuito principal de gerar subsídios para a conservação *in situ*, partindo da discussão dos dados obtidos com o IFF-SC e da bibliografia disponível.

## 2.0 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 Família, gênero e espécie

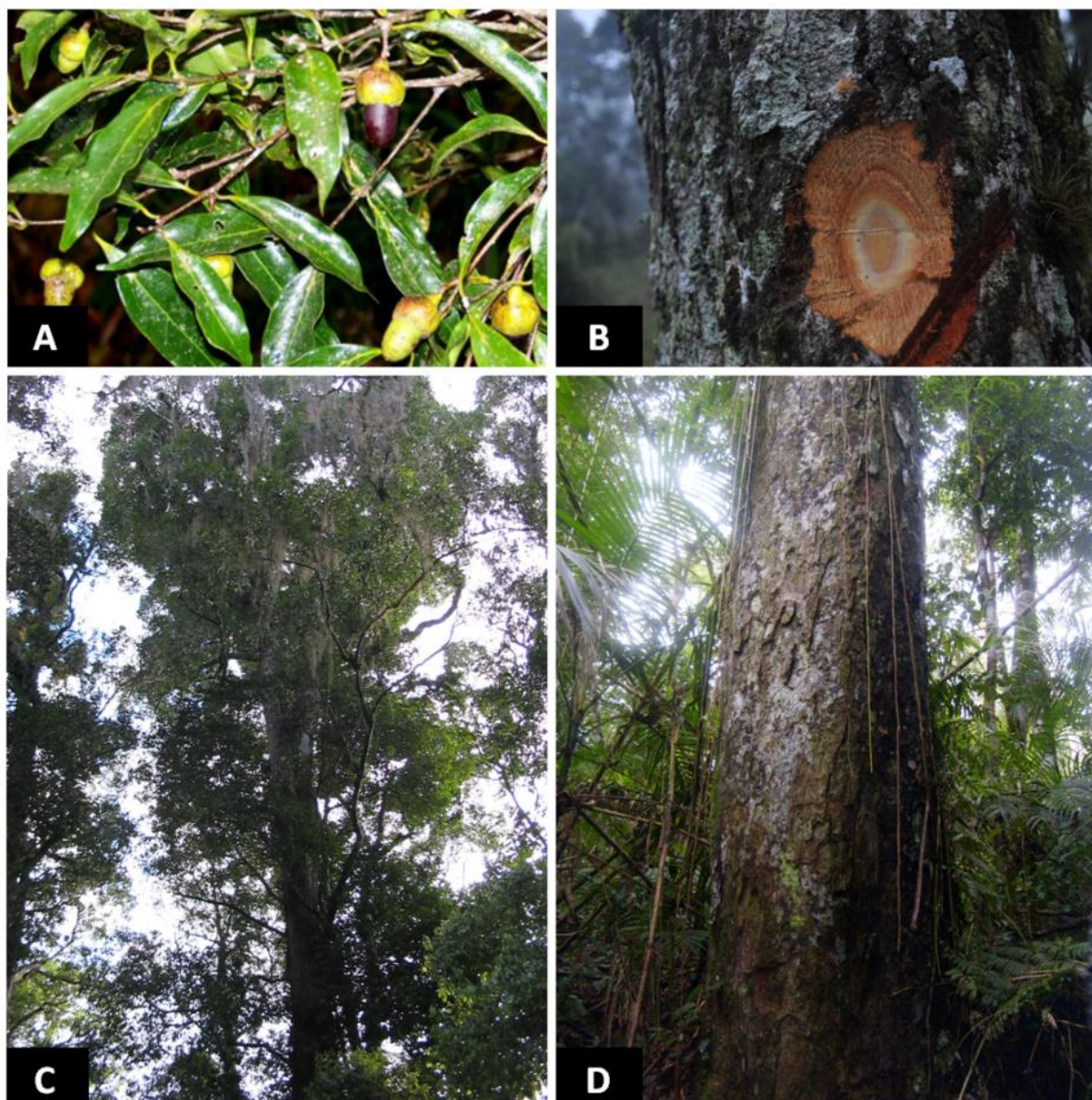
Lauraceae é uma família predominantemente tropical, composta quase que exclusivamente por árvores e arbustos (Werf & Richter, 1996). Bem representada nos continentes americano e asiático, compreende cerca de 50 gêneros e entre 2500 e 3000 espécies (Werf & Richter, 1996).

A família Lauraceae possui reconhecida importância econômica, e suas espécies vem sendo utilizadas ao longo do tempo para diversas finalidades. Marques (2001), em uma revisão sobre importância econômica da família Lauraceae, apresenta dados sobre 52 espécies, pertencentes a 12 gêneros, que são utilizadas na culinária, na fabricação de papel, em marcenaria e construção civil, na indústria química e na medicina popular.

O gênero *Ocotea* Aublet é o maior da família Lauraceae na região Neotropical, com cerca de 350 espécies. Estima-se que no Brasil ocorram 120 a 160 espécies (Baitello, 2001).

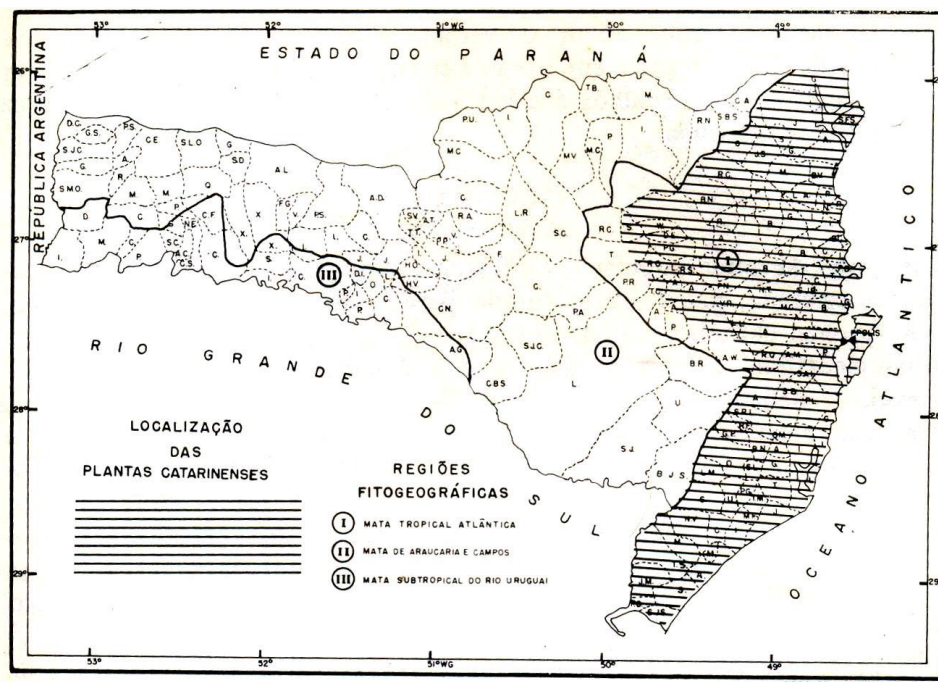
*Ocotea catharinensis* Mez, popularmente conhecida como canela-preta é uma árvore perenifólia, normalmente com 10 m a 25 m de altura e 60 cm a 100 cm de DAP (Figura 1), mesmo que excepcionalmente atinja 45 m de altura e mais de 150 cm de DAP (Carvalho, 1994).

A espécie apresenta folhas subopostas para o ápice dos ramos e alternas para a base; pecíolo com 0,5–1 cm comprimento; lâmina com 6–12 cm X 1,5–3,5 cm, lanceolada ou elíptica, face adaxial glabra, lustrosa, face abaxial glabrescente, com domácias nas axilas basais, cobertas por tricomas alvos. Inflorescências axilares e subterminais. Flores bissexuadas. Fruto elipsoide com 1,2 X 1 cm de comprimento (Figura 1) (Brotto, 2010).



**Figura 1.** *Ocotea catharinensis*. **A:** Aspecto das folhas, frutos imaturos e maduros; **B:** Detalhe do corte da casca; **C:** Aspecto geral de um indivíduo adulto; **D:** Detalhe do tronco. NPFT-UFSC, 2011. Fotos: **A.** Marcelo Leandro Brotto. **B, C e D.** Felipe Steiner.

No Brasil, a canela-preta ocorre nos estados de São Paulo, Rio de Janeiro, Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul (Carvalho, 1994). Em nosso estado ocorre exclusivamente na mata pluvial da encosta atlântica (Figura 2), desde Garuva até Praia Grande (Reitz *et al.*, 1978).



### Canela-preta (*Ocotea catharinensis*)

**Figura 2.** Distribuição da canela-preta (*Ocotea catharinensis*) em Santa Catarina. Adaptado de Reitz *et al.* (1978). NPFT-UFSC, 2011.

Em Santa Catarina floresce de julho a março, apresentando frutos maduros de novembro a dezembro (Carvalho, 1994). Como prováveis dispersores destacam-se o primata mono-carvoeiro (*Brachyteles arachnoides*) (Moraes & Paoli, 1995), e a ave jacutinga (*Pipile jacutinga*) (Galetti *et al.*, 1997), ambas espécies também ameaçadas de extinção.

Sua polinização não foi especificamente estudada, entretanto, há relatos de que a família Lauraceae é polinizada por abelhas, vespas, coleópteros e moscas (Reitz *et al.*, 1978). Silva (2009) estudou aspectos sobre a polinização de *Ocotea porosa*, outra espécie do gênero que ocorre no estado, e seus estudos indicaram o tripses como um dos polinizadores mais importantes. A canela-preta é predominantemente alógama, apresentando taxa de cruzamento aparente igual a 1,0 (Tarazi *et al.*, 2010).

Apresenta madeira de excelente qualidade, moderadamente pesada (0,75 g/cm<sup>3</sup>) (Reitz *et al.*, 1978), com boa trabalhabilidade, sendo fácil de serrar, aplainar, lixar e com bom acabamento (Carvalho, 1994). Pela qualidade citada, a madeira da canela-preta pode ser utilizada para diversas finalidades, dentre elas, construção civil, dormentes, caibros, assoalhos, móveis e aberturas (Reitz *et al.*, 1978).

Conforme Klein (1980), antes de 1980 a canela-preta era a espécie mais abundante da floresta atlântica catarinense em altitudes variando de 300 a 700 m acima do nível do

mar, chegando a representar 1/3 do volume total de madeira num hectare. A canela-preta, a peroba-vermelha (*Aspidosperma parvifolium*) e a canela-sassafrás (*Ocotea odorifera*), foram as três espécies madeireiras mais exploradas na Floresta Ombrófila Densa, sendo que sua madeira abastece, basicamente, o mercado nacional (Reitz *et al.*, 1978).

A situação atual da espécie é bastante contrastante com aquela citada por Klein em 1980. A canela-preta figura na Lista Oficial das Espécies da Flora Brasileira Ameaçadas de Extinção (IBAMA, 1992; MMA, 2008), além de estar classificada como vulnerável na Red List da IUCN (IUCN, 2011). Também 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”. A intensa exploração da madeira e a significativa redução da Floresta Ombrófila Densa e, com esta, de sua regeneração natural e de sua fauna polinizadora e dispersora, são as principais causas de ameaça da canela-preta.

## 2.2 Diversidade genética, estrutura genética e conservação

A diversidade genética é expressa pela heterozigotidade máxima que uma população pode apresentar estando em equilíbrio de Hardy-Weinberg, condição teórica onde todos os indivíduos de uma população teriam a mesma possibilidade de cruzar entre si, onde todos os cruzamentos ocorreriam ao acaso e não existisse nenhuma força evolutiva atuando sobre tal população.

Além da heterozigotidade esperada, existem outros índices utilizados na caracterização da diversidade genética. Reis (1996) destaca a percentagem de locos polimórficos e o número médio de alelos por loco. Podem ser citados ainda a heterozigotidade observada, o número de alelos efetivos, raros e exclusivos e o número total de alelos por população como índices de diversidade frequentemente utilizados.

A estrutura genética representa a maneira pela qual a diversidade genética está distribuída entre e dentro de populações (Reis, 1996). A estrutura é influenciada por fatores como o sistema reprodutivo, fluxo gênico (depende do modo de dispersão de pólen, sementes ou propágulos), níveis de endogamia, seleção natural, deriva genética, distribuição geográfica, fragmentação, entre outros (Hamrick, 1983; Nason & Hamrick, 1997).

Existem diversas maneiras de representar a estrutura genética, Reis (1996) cita, dentre outras, as estatísticas  $F$  (Wright, 1951) e  $\hat{H}_T$ ,  $\hat{H}_S$  e  $\hat{G}_{ST}$  (Nei, 1973). Além delas, as

estimativas  $\hat{F}$ ,  $\hat{f}$  e  $\theta$  (Weir & Cockerham, 1984) e mais recentemente o  $\hat{G}_{ST}$  Hedrick (2005) são comumente utilizados na representação da estrutura genética.

A variabilidade genética está diretamente relacionada com um maior ou menor potencial adaptativo que as espécies possuem frente às mudanças ambientais. A perda de diversidade genética aumenta a susceptibilidade das populações à extinção (Frankham, 2003). Neste sentido, o conhecimento da diversidade genética das espécies é tido como fundamental para a conservação das mesmas (Reis, 1996; Frankham, 2003; Neel & Ellstrand, 2003).

Neel & Cummings (2004) demonstraram que uma grande quantidade de populações é necessária para capturar a diversidade genética de uma espécie, caso não se conheça os padrões de diversidade de tal espécie. Assim, o conhecimento de tais padrões de diversidade pode reduzir custos e conflitos decorrentes de programas de conservação (Neel & Ellstrand, 2003).

Não somente o conhecimento da diversidade genética, mas também de sua organização (estrutura) é importante para a conservação das espécies (Reis, 1996). Entender os processos relativos que estruturam a diversidade entre e dentro de populações (cruzamento entre aparentados, fluxo gênico, deriva genética e seleção) pode prover meios de se estimar o risco futuro de erosão da diversidade e, assim, formas de se modelar estratégias efetivas de conservação (Neel & Ellstrand, 2003).

Em suma, de acordo com Hamrick *et al.* (1992), ao se idealizar um programa de conservação para espécies vegetais, tornam-se essenciais estudos detalhados da estrutura genética populacional, assim como, dos fatores evolutivos determinantes dessa estrutura.

### **2.3 Fragmentação florestal e conservação**

A conectividade entre populações é fundamental para a manutenção do fluxo gênico entre elas. No entanto, a situação atual das formações florestais catarinenses, devido ao histórico de uso e ocupação, não favorece, ou pouco favorece tal conectividade.

Atualmente, 90% dos fragmentos florestais catarinenses são menores que 50 hectares (IFF-SC, dados não publicados). A fragmentação florestal leva à redução dos tamanhos populacionais (Seoane *et al.*, 2005). Populações reduzidas tendem a perder sua variabilidade genética, e por consequência, seu potencial evolutivo, devido à processos de deriva genética e depressão endogâmica (Kageyama *et al.*, 1998; Primack, 2004).

Assim, conhecer aspectos genéticos e ecológicos das espécies permite uma abordagem que pode minimizar os efeitos da fragmentação, o que é de fundamental importância para a conservação e manejo efetivos da biodiversidade. (Nazareno & Carvalho, 2009).

Por outro lado, a movimentação dos alelos entre populações, ou fluxo gênico, está relacionada aos eventos de polinização ou dispersão de propágulos a longa distância (Reis, 1996). A separação de remanescentes florestais por áreas não florestadas afeta o diretamente fluxo gênico das espécies (Seoane *et al.*, 2005).

Neste sentido, a fragmentação florestal e suas implicações na ecologia e genética de populações vegetais vêm sendo bastante estudada e discutida na literatura (P. ex.: Kageyama *et al.*, 1998; Zaú, 1998; Seoane *et al.*, 2005; Nazareno & Carvalho, 2009;).

Kageyama *et al.* (1998) apontam para ações importantes no sentido de mitigar efeitos da fragmentação florestal sobre os aspectos genéticos das espécies. Dentre elas merecem destaque i) o enriquecimento genético de matas secundárias, com a inclusão de espécies localmente extintas ou muito erodidas; ii) troca artificial de sementes entre fragmentos não distantes, para populações com erosão genética conhecida; iii) aumento do tamanho de fragmentos com plantio misto de espécies nativas, a partir de sementes coletadas adequadamente quanto ao tamanho efetivo ( $N_e$ ); e iv) estudos de reintrodução de espécies da fauna (aves, morcegos e insetos) que tenham função de dispersão das espécies referência.

Desta maneira, estudos como o de Loch (2011), que visam estabelecer áreas prioritárias para coletas de sementes com qualidade genética, de Reis & Wiesbauer (2006) que discorrem sobre o uso de sementes na restauração florestal e de Sebbenn (2002), que tratam de critérios genéticos para coleta de sementes, são de fundamental importância para a recuperação, enriquecimento e formação de fragmentos florestais e, conseqüentemente, na diminuição dos efeitos da fragmentação sobre as populações vegetais.

## **2.4 Tamanho efetivo populacional ( $N_e$ )**

A definição de tamanho efetivo populacional, alcunhada primeiramente por Wright (1931). Segundo ele,  $N_e$  pode ser definido como “o número de indivíduos reprodutores em uma população idealizada que iria apresentara mesma quantia de dispersão de frequências alélicas sob deriva genética aleatória ou a mesma quantia de endogamia da população em estudo”.



Populações que, continuamente, apresentem baixos tamanhos efetivos serão especialmente susceptíveis a perda e reorganização da variabilidade por deriva genética (Ellstrand & Elam, 1993). Flutuações ocasionais no  $N_e$  também podem fazer com que qualquer população sofra perda de variabilidade. Tais flutuações incluem gargalos populacionais ou eventos de colonização/fundação (Ellstrand & Elam, 1993).

Populações naturais precisam ser mantidas com um tamanho suficiente para reter diversidade genética e minimizar os riscos de extinção (Reed & Frankham, 2003). De maneira geral, populações menores podem perder variabilidade numa velocidade maior que grandes populações, numa taxa de perda de aproximadamente  $1/2 N_e$  (Wright, 1931).

Por se tratar, também, de uma medida de representatividade de amostras, o  $N_e$  é um parâmetro muito importante para ser conhecido em atividades de coleta de sementes (Botrel *et al.*, 2006). Assim, podem ser estabelecidos números mínimos de indivíduos a serem coletados, de forma a capturar o máximo da diversidade genética da população amostrada e diminuir efeitos de endogamia.

Uma série de valores de referência para o tamanho efetivo já foram propostos, com diversas finalidades, seja conservação a curto ou longo prazo. Franklin & Frankham (1998) propõe valores de referência entre 500 e 1.000 para manter o potencial evolutivo de populações ameaçadas. Lynch & Lande (1998) sugerem valores de referência entre 1.000 e 5.000 para segurança genética das espécies em longo prazo.

Frankel & Soulé (1981) sugerem que um tamanho efetivo de 50, visando reduzir os efeitos de endogamia, seria suficiente. Entretanto, Sebbenn (2002) argumenta que mesmo conservando muitos genes, o tamanho efetivo de 50 não é suficiente para manter por longo tempo uma grande proporção da variação genética da população.

Apesar de existirem vários pontos de vista sobre o tamanho efetivo populacional necessário para a conservação, este não deixa de ser uma ótima abordagem na elaboração de bons programas de conservação e na coleta de sementes com base em critérios genéticos.

## **2.5 Eletroforese de Isoenzimas**

O termo isoenzimas foi proposto por Markert & Moller (1959) para definir diferentes formas moleculares de uma mesma enzima, mas que apresentavam a mesma especificidade enzimática. Mesmo desempenhando funções idênticas ou similares, as

diferenças moleculares entre as isoenzimas permitem que elas sejam separadas pela eletroforese, por exemplo.

A eletroforese de isoenzimas foi desenvolvida em meados da década de 1960 (Nodari *et al.*, 2008). A técnica consiste basicamente de três etapas: i) extração das enzimas do tecido vegetal, ii) separação por eletroforese (Pinto *et al.*, 2001) e iii) visualização do produto enzimático por métodos histoquímicos (Hunter & Market, 1957).

Assume-se como premissa básica, ao utilizar dados isoenzimáticos, que as diferenças na mobilidade de isoenzimas em um campo elétrico são resultantes de diferenças ao nível de sequências de DNA que codificam tais enzimas (Ferreira & Grattapaglia, 1998).

As isoenzimas possuem expressão genética co-dominante, ou seja, as diferenças entre homozigotos e heterozigotos podem ser facilmente percebidas. Isto permite uma estimativa direta de parâmetros como frequências genotípicas e alélicas e, a partir destes, coeficientes de diversidade gênica e heterozigotidade (Ferreira & Grattapaglia, 1998).

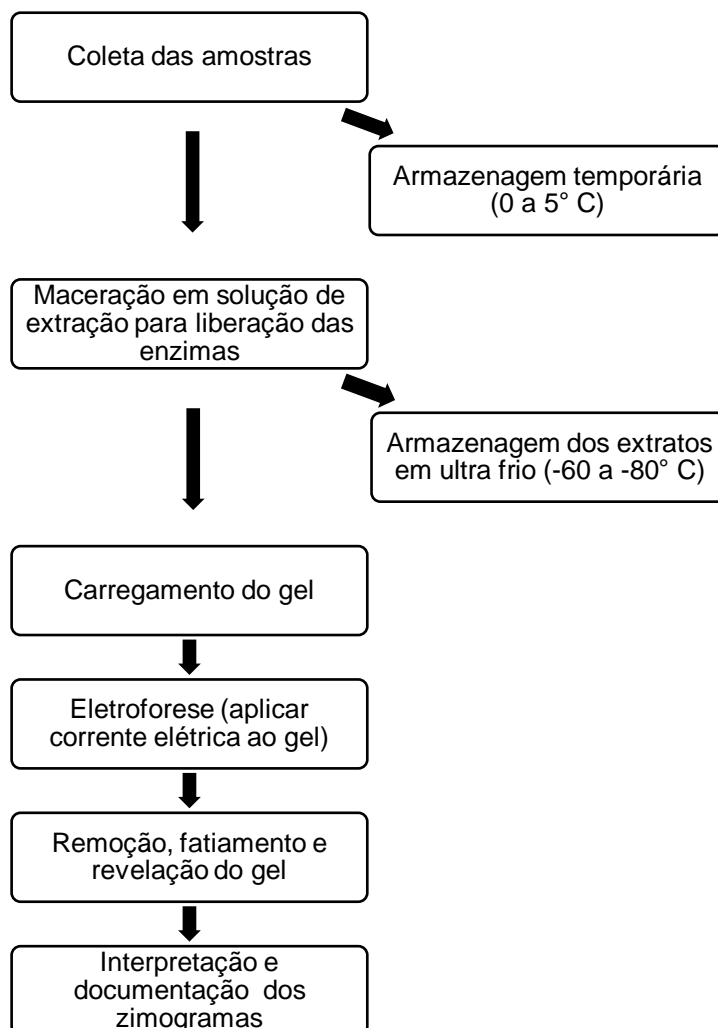
Outras duas grandes vantagens das isoenzimas são que o procedimento é relativamente barato, além de que vários locos isoenzimáticos podem ser analisados rápida e simultaneamente (Ferreira & Grattapaglia, 1998).

De maneira geral, a elaboração de um protocolo de trabalho para uma espécie qualquer, com o teste e seleção dos melhores tampões e sistemas isoenzimáticos, leva de 2 a 3 dias. Uma vez que o protocolo de caracterização genética esteja bem definido, uma população com 50 indivíduos pode ser facilmente genotipada, por duas pessoas, em um dia de trabalho.

Dentre as desvantagens da técnica podem ser citadas o baixo número total de locos que podem ser detectados no genoma, o baixo polimorfismo por loco (média de 2 a 4 alelos), as diferenças na atividade enzimática associada aos diferentes estádios de desenvolvimento das plantas e a dificuldade de interpretação dos géis quando isoenzimas de locos distintos apresentam mobilidades eletroforéticas semelhantes (Ferreira & Grattapaglia, 1998).

Em comparação com os microssatélites, as isoenzimas são marcadores que apresentam menor polimorfismo (Estoup *et al.*, 1998; Freville *et al.*, 2001; Gao *et al.*, 2002; Conte *et al.*, 2008). Entretanto, as duas técnicas apresentaram resultados semelhantes na avaliação de sistema reprodutivo e estrutura genética (Conte *et al.*, 2008), incluindo, também, similaridade na estimativa do índice  $\hat{G}_{ST}$  (Estoup *et al.*, 1998; Sun *et al.*, 2001; Conte *et al.*, 2008).

Na Figura 3 está representado um fluxograma com a sequência básica dos processos para realização da eletroforese de isoenzimas.



**Figura 3.** Processos básicos na realização da eletroforese de isoenzimas. Adaptado e modificado de Kephart (1990). NPFT-UFSC, 2011.

Os passos representados anteriormente podem ser modificados e adaptados segundo as necessidades ou possibilidades de que esteja utilizando a técnica. Por exemplo, as enzimas podem se extraídas de sementes, folhas, acículas, pólen ou microculturas (Alfenas 1991). A seleção dos sistemas isoenzimáticos e tampões de extração, revelação ou corrida também é variável conforme a disponibilidade de reagentes, qualidade dos zimogramas e espécie analisada.

### **3.0 OBJETIVOS**

#### **3.1 Objetivo geral**

Caracterizar a diversidade e estrutura genética de 17 populações de *Ocotea catharinensis* Mez (canela-preta) no estado de Santa Catarina, visando gerar subsídios para a conservação *in situ* da espécie.

#### **3.2 Objetivos específicos**

Estimar a diversidade e estrutura genética, através de marcadores alozímicos, em 17 populações de *Ocotea catharinensis* Mez (canela-preta) no estado de Santa Catarina.

Avaliar as diferenças entre a distribuição da diversidade e estrutura genética de *Ocotea catharinensis* Mez nas 17 populações avaliadas e nas suas respectivas bacias hidrográficas de inserção.

Estimar o tamanho efetivo das 17 populações avaliadas.

Discutir medidas de conservação *in situ* para a espécie no estado, com base nos dados obtidos e na literatura disponível.

### **4.0 MATERIAL E MÉTODOS**

#### **4.1 Coleta e descrição dos pontos amostrados**

A coleta do material foliar foi realizada com auxílio de estilingues e pedras devido à altura das árvores. Foram amostrados apenas indivíduos adultos, procurando coletar folhas e ramos intactos e saudáveis. Após a coleta, as folhas eram colocadas em sacos plásticos, numeradas e acondicionadas em caixa térmica e transportadas ao laboratório, visando minimizar a degradação do material foliar, melhorando assim a qualidade dos zimogramas no laboratório.

Procurou-se respeitar uma distância padrão, de 50 m entre indivíduos amostrados, com intuito de mitigar os efeitos de uma possível estrutura familiar interna. Para cada população amostrada procurou-se coletar 50 indivíduos, conforme Berg & Hamrick (1997) que recomendam amostragem entre 30 a 50 indivíduos por população genotipada com o marcador isoenzimas.

A tabela a seguir traz uma relação dos municípios, coordenadas geográficas, bacia hidrográfica e microrregião das 17 populações amostradas.

**Tabela 1.** Numeração, municípios, coordenadas geográficas (UTM), bacia hidrográfica e microrregião das 17 populações de *Ocotea catharinensis* amostradas. NPFT-UFSC, 2011.

Nº	Município	Coordenadas (UTM)	Bacia Hidrográfica	Microrregião
1	Corupá	X = 7076795,57 Y = 662826,87	Itapocú/Cubatão Norte	Joinville
2	Joinville	X = 7093732,24 Y = 704302,06	Itapocú/Cubatão Norte	Joinville
3	Ilhota	X = 7033789,94 Y = 705141,37	Itajaí	Itajaí/Blumenau
4	Atalanta	X = 6963208,69 Y = 621444,16	Itajaí	Ituporanga/Tabuleiro
5	S. Rosa de Lima	X = 6902993,92 Y = 671897,57	Tubarão/D'una/Madre	Tubarão
6	S. Rosa de Lima	X = 6897229,46 Y = 685897,53	Tubarão/D'una/Madre	Tubarão
7	Grão Pará	X = 6875247,91 Y = 667338,30	Tubarão/D'una/Madre	Tubarão
8	Agrolândia	X = 6959334,51 Y = 612415,14	Itajaí	Ituporanga/Tabuleiro
9	Taió	X = 7013939,94 Y = 584702,24	Itajaí	Rio do Sul
10	Apiúna	X = 6992504,10 Y = 657636,09	Itajaí	Itajaí/Blumenau
11	Ituporanga	X = 6972707,85 Y = 648081,33	Itajaí	Ituporanga/Tabuleiro
12	Joinville	X = 7096587,70 Y = 696467,92	Itapocú/Cubatão Norte	Joinville
13	Blumenau	X = 7000280,36 Y = 683493,11	Itajaí	Itajaí/Blumenau
14	Ibirama	X = 7021247,50 Y = 646016,78	Itajaí	Rio do Sul
15	Pres. Nereu	X = 6982663,70 Y = 656250,70	Itajaí	Rio do Sul
16	S. Amaro da Imperatriz	X = 6929211,24 Y = 714900,56	Cubatão (Sul)/Biguaçu/Tijucas	Florianópolis/Tijucas
17	Angelina	X = 6961961,62 Y = 692478,70	Cubatão (Sul)/Biguaçu/Tijucas	Florianópolis/Tijucas

A equipe do NPFT que participou das coletas fez, para cada população amostrada, uma observação expedita de algumas características do fragmento amostrado e da coleta,

tais como, distância média dos indivíduos amostrados, estágio sucessional, presença ou ausência de gado, indícios de exploração da espécie e se o fragmento faz, ou não, parte de alguma unidade de conservação (Tabela 2).

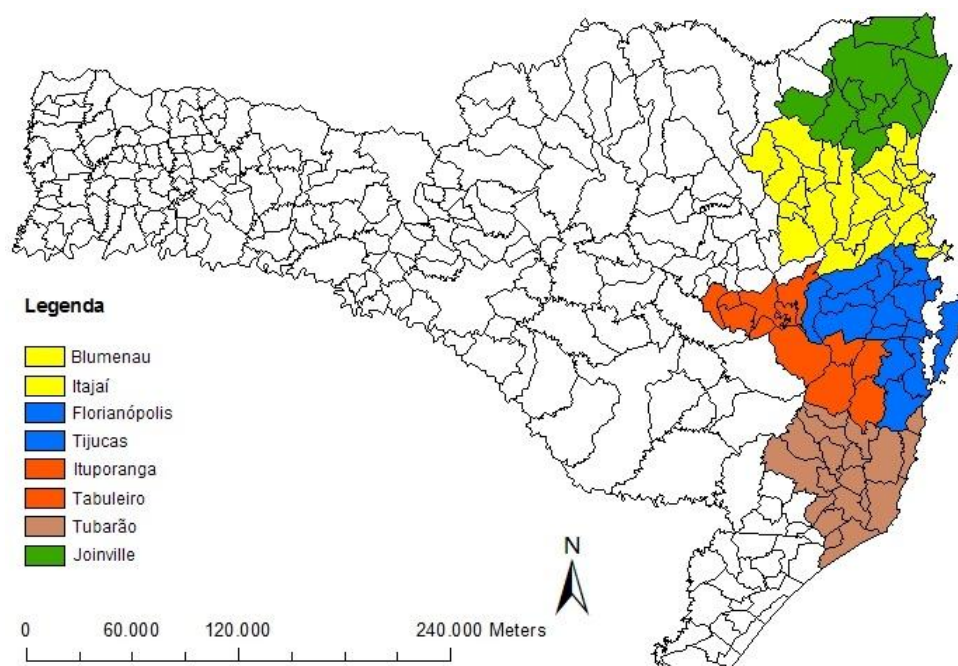
**Tabela 2.** Características gerais dos 17 fragmentos amostrados. NPFT-UFSC, 2011.

Pop.	Coleta		Estágio			Gado		Exploração		UC <sup>1</sup>	
	30 - 50 m	>50 m	I	M	A	Pres.	Aus.	Pres.	Aus.	Sim	Não
1		x			x		x		x	x	
2		x			x		x		x		x
3		x			x		x		x	x	
4	x				x		x	x			x
5		x		x			x	x			x
6	x				x	x			x		x
7	x				x	x		x			x
8		x			x		x		x		x
9		x			x	x			x		x
10		x		x			x	x			x
11		x			x	x		x			x
12		x			x		x		x	x	
13		x			x		x		x	x	
14		x			x		x		x		x
15		x			x	x		x			x
16		x			x		x		x	x	
17	x				x	x			x		x

I = inicial; M = médio; A = avançado; Pres. = presença; Aus. = ausência; UC = unidade de conservação.

As Unidades de Conservação contempladas pela amostragem foram as seguintes: i) população 1 (Corupá), Reserva Particular do Patrimônio Natural Emílio Batistella; ii) população 3 (Ilhota), Parque Botânico do Morro do Baú; iii) população 12 (Joinville), Área de Proteção Ambiental Serra Dona Francisca e Quiriri; iv) população 13 (Blumenau), Parque Nacional da Serra do Itajaí e v) população 16 (Santo Amaro da Imperatriz), Parque Estadual da Serra do Tabuleiro.

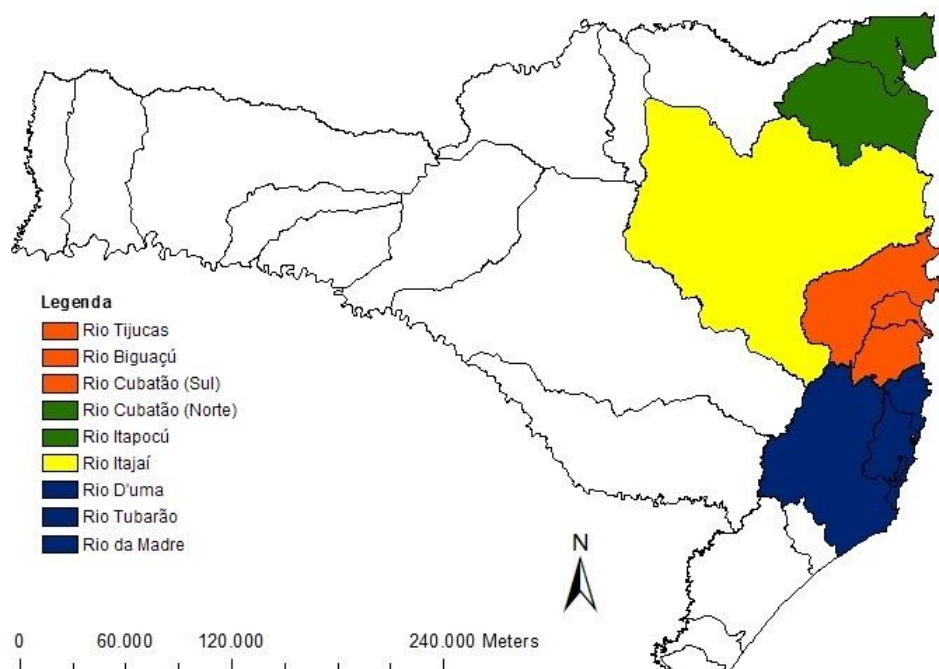
Na metodologia de coleta estabelecida para a realização do IFF-SC, estava prevista a coleta de, no mínimo, 3 populações de cada espécie por microrregião de ocorrência. Santa Catarina está dividida em 20 microrregiões, no entanto, algumas delas foram agrupadas por possuírem pouca extensão territorial. A Figura 4 mostra as microrregiões contempladas pela amostragem. Apenas na microrregião Florianópolis/Tijucas não foram amostradas 3 populações.



**Figura 4.** Microrregiões de inserção dos municípios de coleta das populações de *Ocotea catharinense* no estado de Santa Catarina. NPFT-UFSC, 2011.

Apesar de a metodologia focar coletas por microrregiões, uma análise por bacias hidrográficas de ocorrência também foi realizada, uma vez que estas são divisões geomorfológicas e não políticas. Neste sentido, os dados foram agrupados e analisados por bacia hidrográfica, quando esta estava representada por no mínimo 3 populações. A Figura 5 apresenta os conjuntos de bacias hidrográficas amostradas. Apenas a bacia Tijucas/Biguaçu/Cubatão Sul não possui 3 populações coletadas.

A área dos fragmentos foi estimada com auxílio do software Google Earth Pro®. A delimitação dos mesmos também foi realizada através do software citado.



**Figura 5.** Bacias Hidrográficas de inserção dos municípios de coleta das populações de *Ocotea catharinense* no estado de Santa Catarina. NPFT-UFSC, 2011.

#### 4.2 Eletroforese de isoenzimas

Os processos laboratoriais foram todos realizados no Laboratório de Fisiologia do Desenvolvimento e Genética Vegetal (LFDGV) da UFSC.

Assim que o material foliar coletado chegava ao laboratório era acondicionado em geladeira ( $\pm 5^\circ \text{C}$ ) até o momento da extração das enzimas. Procurou-se realizar a extração em até no máximo uma semana após a coleta, para que o material foliar ainda estivesse em boas condições.

O processo de extração foi realizado com auxílio do macerador automático Precellys® 24, e em cada tubo de maceração (modelo Hard tissue grinding MK28), foram adicionados: aproximadamente 50 mg de material foliar, 5 esferas de aço inoxidável, 3 gotas de solução de extração nº 1 (Alfenas, 1998) e cerca de 10 mg de polivinilpolipirrolidona (PVPP). Os tubos, após serem fechados, eram levados ao macerador onde permaneciam em agitação por 10" a 6000 RPM.

O líquido resultante do processo de maceração era absorvido em tiras de papel cromatográfico (Whatman nº 3), com 5 X 20 mm de tamanho (*wicks*). Posteriormente os *wicks* eram dispostos lado a lado no gel (penetrose 30 a 13%), que era submetido à corrente elétrica.



Dois *wicks* embebidos em azul de bromofenol (1%) eram dispostos um em cada extremidade do gel. O azul de bromofenol, pelo seu pequeno tamanho, migra bem na frente de qualquer componente proteico (Brune & Alfnas, 1998). Desta maneira, pode-se acompanhar a velocidade da corrida e saber o momento de desligar a corrente elétrica.

Além do azul de bromofenol, eram aplicados mais dois *wicks*, no começo e no fim do gel, embebidos no extrato de uma planta testemunha, comum a todas as populações. Essa testemunha serve como parâmetro de análise, auxiliando na definição das posições dos alelos nos diferentes géis (Bittencourt, 2007). A disposição dos *wicks* está representada na figura a seguir. Cada gel comportava cerca de 50 amostras.



**Figura 6.** Disposição dos *wicks* no gel de eletroforese. NPFT-UFSC, 2011.

As voltagens utilizadas foram: i) 100 V por 20 min.; ii) 140 V por 20 min.; e iii) 180 V pelo período de 3 a 4 h. O processo de eletroforese era realizado dentro de uma geladeira e sobre cada gel era colocada uma barra de gelo, visando evitar o aquecimento do gel, que ocorre por conta da corrente elétrica, bem como, a degradação das enzimas. O sistema tampão-eletródo utilizado foi o Tris-Citrato pH 7,5 (27 g/l de Tris e 16,52 g/l de ácido cítrico).

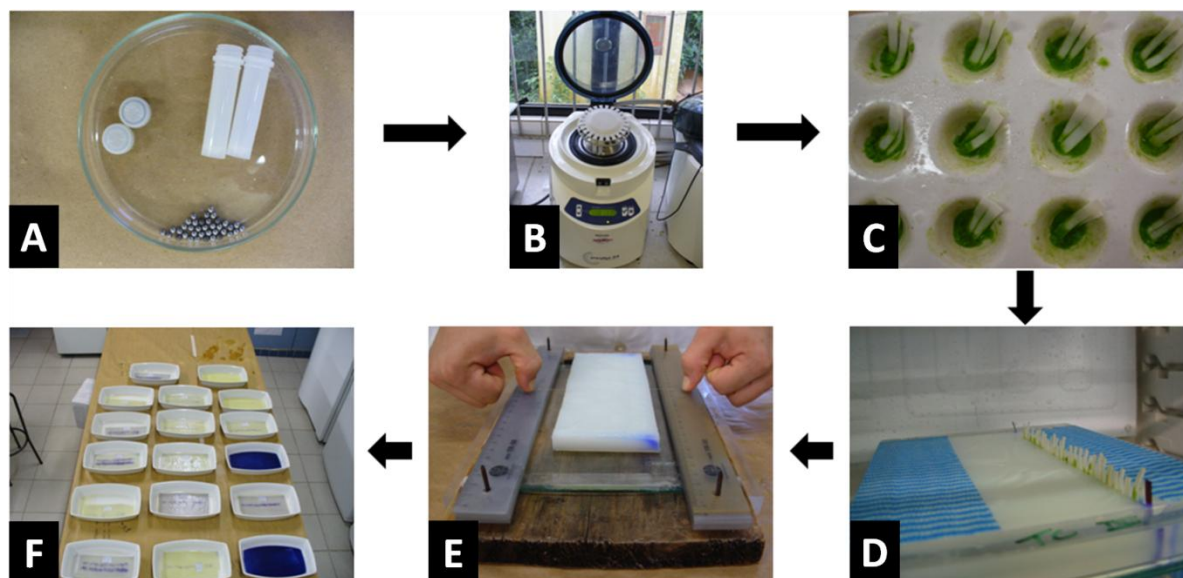
Após o processo de eletroforese o gel era cortado em 7 fatias, a fatia superior era descartada e as outras 6 dispostas em cubas de porcelana para a revelação dos zimogramas. Foram utilizados 10 sistemas isoenzimáticos para a caracterização das populações. Na tabela a seguir estão as siglas, nomes e códigos dos sistemas utilizados.

**Tabela 3.** Siglas, nomes e códigos dos sistemas isoenzimáticos utilizados na caracterização das 17 populações de *Ocotea catharinensis*. Adaptado de Alfenas (1998). NPFT-UFSC, 2011.

Sigla	Enzima	Código da enzima
NADHDH	NADH-desidrogenase	1.6.99.3
SKDH	Xiquimato desidrogenase	1. 1. 1. 25
G6PDH	Glucose-6-fosfato desidrogenase	1. 1. 1. 49
GOT	Glutamato oxalacetato transaminase	2. 6. 1. 1
GTDH	Glutamato desidrogenase	1. 4. 1. 2
ME	Enzima málica	1. 1. 1. 40
IDH	Isocitrato desidrogenase	1. 1. 1. 42
MDH	Malato desidrogenase	1. 1. 1. 37
PGM	Fosfoglucomutase	5. 4. 2. 2
DIA	Diaforase	1. 8. 1. 4

Após a completa revelação dos zimogramas era realizada a interpretação dos mesmos. A numeração dos locos e alelos encontrados seguiu um padrão para todos os géis, sendo crescente, começando nos locos e alelos de maior mobilidade. Após a interpretação os géis eram fotografados para posteriores reavaliações.

A figura a seguir ilustra alguns dos principais passos e equipamentos da eletroforese de isoenzimas.



**Figura 7.** Principais passos da eletroforese de isoenzimas. **A:** tubos e esferas utilizadas na maceração; **B:** Precellys® 24; **C:** wicks embebidos no macerado; **D:** gel em eletroforese; **E:** corte do gel em fatias; **F:** zimogramas revelados. NPFT-UFSC, 2011. Fotos: **A, B, E** e **F:** Tiago Montagna; **C** e **D:** Alexandre Mariot.

### 4.3 Análise dos dados

A partir dos genótipos observados em gel, foram calculadas, para as 17 populações estudadas, as frequências alélicas e os índices de diversidade (porcentagem de locos polimórficos ( $\hat{P}_{99\%}$ ), número total de alelos ( $n^{\circ}$  alelos), número médio de alelos por loco ( $\hat{A}$ ), número médio de alelos por loco polimórfico ( $\hat{A}p$ ), heterozigozidade observada ( $\hat{H}_o$ ) e esperada ( $\hat{H}_e$ ), e índice de fixação ( $\hat{f}$ )),

Além disso, também foram obtidas as estatísticas F de Wright (Wright, 1951), número de alelos raros e número de alelos exclusivos. Todos os índices foram obtidos para o conjunto das 17 populações, bem como, para as bacias hidrográficas analisadas.

#### 4.3.1 Frequências alélicas

Obtidas através do programa Fstat (Goudet, 2002), por meio da seguinte abordagem:

$$\hat{p}_{ij} = n_{ij} / n_j$$

sendo:

$\hat{p}_{ij}$  = frequência do alelo i na população ou bacia hidrográfica j;

$n_{ij}$  = número de ocorrências do alelo i na população ou bacia hidrográfica j;

$n_j$  = número total de alelos amostrados na população ou bacia hidrográfica j.

#### 4.3.2 Índices de diversidade

Os índices de diversidade ( $\hat{P}_{99\%}$ ,  $n^{\circ}$  alelos,  $\hat{A}$ ,  $\hat{A}p$ ,  $\hat{H}_e$ ,  $\hat{H}_o$  e  $\hat{f}$ ) foram obtidos através do programa GDA (Lewis & Zaykin, 2002). O número de alelos raros e exclusivos foi calculado com auxílio do Microsoft Excel.

A porcentagem de locos polimórficos foi estimada considerando-se o número de locos que apresentou o alelo mais frequente com ocorrência inferior a 99%, em relação ao total de locos.

$$\hat{P}_{99\%} = (n^{\circ} \text{ de locos polimórficos} / n^{\circ} \text{ total de locos}) \times 100$$

O número de alelos ( $n^{\circ}$  alelos) foi obtido através do somatório de todos os alelos encontrados para uma população ou bacia hidrográfica. A média de alelos por loco ( $\hat{A}$ ) foi estimada dividindo-se o total de alelos de uma população ou bacia hidrográfica pelo total de locos da mesma. A média de alelos por loco polimórfico ( $\hat{A}_p$ ) foi calculada dividindo-se o total de alelos de uma população ou bacia hidrográfica pelo total de locos polimórficos da mesma.

A heterozigidade média observada ( $\hat{H}_o$ ) foi obtida pela média entre os locos do número de indivíduos heterozigotos dividido pelo número de indivíduos amostrados.

$$\hat{H}_o = [(\sum P_{ij}) / n] / l$$

Onde:

$(\sum P_{ij})$  = somatório dos heterozigotos ( $i \neq j$ );

$n$  = número de indivíduos total;

$l$  = número de locos.

A heterozigidade esperada ( $\hat{H}_e$ ) foi obtida empregando-se o estimador não viesado de Nei (1978):

$$\hat{H}_e = 2n(1 - \sum \hat{p}_i^2) / (2n - 1)$$

Sendo:

$\hat{p}_i$  = frequência do alelo  $i$ ;

$n$  = número de indivíduos amostrados.

Os índices de fixação ( $\hat{f}$ ) foram estimados pelos desvios da heterozigidade esperada, sendo:

$$\hat{f} = (\hat{H}_e - \hat{H}_o) / \hat{H}_e$$

A significância dos índices de fixação foi obtida através de intervalo de confiança (95%) através do programa Fstat (Goudet, 2002).

O número de alelos raros foi obtido através do somatório dos alelos com frequência menor que 5% dentro da população ou bacia hidrográfica. Já os alelos exclusivos são aqueles restritos a apenas uma população ou bacia hidrográfica do conjunto.

### 4.3.3 Estatísticas *F* de Wright

As estatísticas *F* de Wright (Wright, 1951) ( $\hat{F}_{IS}$ ,  $\hat{F}_{IT}$ ,  $\hat{F}_{ST}$ ) foram estimadas com auxílio do programa Fstat (Goudet, 2002), que utiliza o método descrito por Weir & Cockerham (1984) para estimar as estatísticas. A seguir, as fórmulas descritas por Nei (1977) para estimar as estatísticas. Assim:

$$\hat{F}_{IS} = (1 - \hat{H}_{ot}) / \hat{H}_{ei}$$

$$\hat{F}_{IT} = (1 - \hat{H}_{ot}) / \hat{H}_{et}$$

$$\hat{F}_{ST} = (1 - \hat{H}_{ei}) / \hat{H}_{et}$$

Onde:

$$\hat{H}_{ot} = 1 - (\sum \sum X_{il}) / Is$$

$$\hat{H}_{ei} = 1 (\sum_i \sum_l \sum_k X_{ilk}^2) / Is$$

$$\hat{H}_{et} = 1 - [(\sum \sum_k X_{lk}) / s]^2 / I$$

Sendo:

$\hat{H}_{et}$  = heterozigosidade esperada total;

$\hat{H}_{ei}$  = heterozigosidade média entre as populações;

$\hat{H}_{ot}$  = heterozigosidade observada total;

$X_{il}$  = frequência de heterozigotos dos locos *l* na população *i*;

$x_{ilk}$  = frequência do alelo *k* do loco *l* na população *i*;

*s* = número de populações;

*I* = número de locos.

A significância das estatísticas *F* foi obtida através do programa Fstat (Goudet, 2002), que utiliza o método de reamostragem *bootstrap*, com 1000 reamostragens e significância de 99%.

### 4.3.4 Tamanho efetivo populacional ( $N_e$ )

Estimado com base na fórmula  $N_e = n / (1 + \hat{f})$  (Li, 1976), onde:

$n$  = número de indivíduos da população;

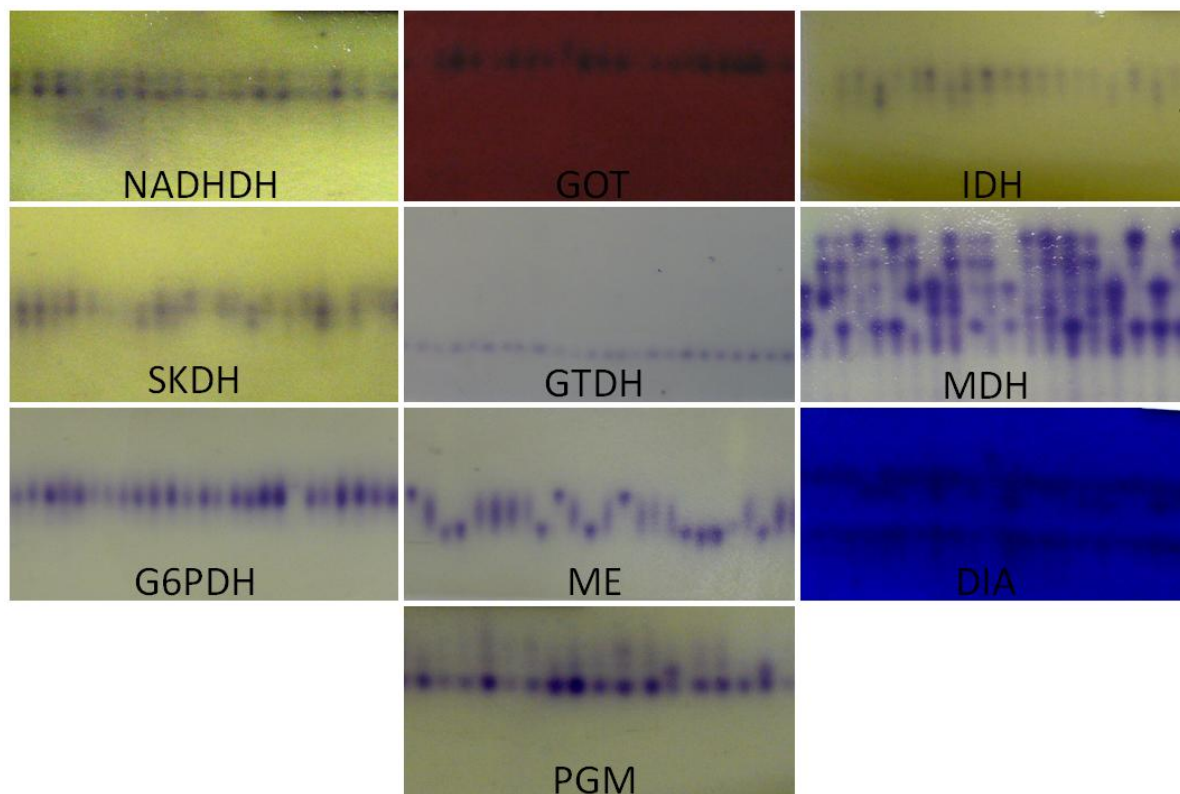
$\hat{f}$  = índice de fixação da população.

Os resultados de  $N_e$  para valores de referência de 50 (Frankel & Soulé, 1981), 500 (Franklin & Frankham, 1998) e 1.000 (Lynch & Lande, 1998) foram obtidos pela multiplicação de  $n / N_e$  pelo valor de referência em questão.

## 5.0 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A partir dos 10 sistemas isoenzimáticos empregados foram obtidos 12 locos passíveis de interpretação. De acordo com Berg & Harmrick (1997) são necessários de 10 a 20 locos alozímicos para caracterizar a diversidade genética de uma população. Desta maneira, o número de locos avaliados foi considerado suficiente.

A NADHDH apresentou um loco de estrutura monomérica, com 2 alelos. A SKDH revelou um loco, monomérico, com 3 alelos. A G6PDH mostrou um loco, de estrutura dimérica, com 2 alelos. A GOT revelou um loco, monomérico, com 2 alelos. A GTDH apresentou um loco, e mostrou-se monomórfica para as 17 populações. A ME revelou um loco, com 2 alelos e estrutura dimérica. A IDH mostrou um loco, monomérico, com 3 alelos. A MDH apresentou dois locos, diméricos, o MDH 1, com 2 alelos e o MDH 2, com 3 alelos. A PGM revelou um loco, monomérico e com 2 alelos. A DIA apresentou dois locos, monoméricos, o DIA 1, com 3 alelos e o DIA 2, monomórfico para todas as populações. (Figura 8).



**Figura 8.** Zimogramas para os 10 sistemas enzimáticos (NADHDH, SKDH, G6PDH, GOT, GTDH, ME, IDH, MDH, DIA e PGM) empregados para *Ocotea catharinensis*. NPFT-UFSC, 2011. Fotos: Tiago Montagna.

### 5.1 Frequências alélicas por população e bacia hidrográfica

A Tabela 4 traz as frequências alélicas para as 17 populações amostradas para os 12 locos avaliados.

Dos 12 locos avaliados, apenas 2 (GTDH e DIA 2) mostraram-se monomórficos. Todos os outros apresentaram algum tipo de variação. É importante destacar a amostragem de alelos raros ( $p > 0,05$ ) em 14 das 17 populações. A população 2 foi a que mais apresentou alelos raros (5 alelos), seguida das populações 11 e 14 (4 alelos).

Os resultados citados anteriormente demonstram a importância da conservação das populações citadas, justamente por apresentarem alelos em baixa frequência. A redução dos tamanhos populacionais e limitações no fluxo gênico (redução da fauna), somadas a baixa frequência destes alelos, aumentam muito o risco de perda de diversidade por deriva genética. Destaca-se inclusive, a grande probabilidade de fixação do alelo 2 do loco GOT, onde o alelo 1, que apresenta-se raro, somente esta presente em três das 17 populações.

**Tabela 4.** Frequências alélicas para 12 locos alozímicos em 17 populações de *Ocotea catharinensis* Mez do estado de Santa Catarina. NPFT-UFSC, 2011.

Loco	Alelo	Populações																	Total
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	
Nadhdh	N	52	50	52	52	49	0	41	53	54	60	49	0	53	52	57	50	41	0,154 0,846
	1	0	0,94	0	0	0	NA	0,268	0	0,093	0,008	0	NA	0,764	0	0	0	0,341	
	2	1	0,06	1	1	1	NA	0,732	1	0,907	0,992	1	NA	0,236	1	1	1	0,659	
Skdh	N	33	33	36	0	40	30	47	0	32	50	47	36	38	44	50	39	42	0,116 0,819 0,065
	1	0,076	0,045	0,056	NA	0,013	0,067	0	NA	0,078	0,1	0,096	0,25	0,066	0,352	0,12	0,192	0,19	
	2	0,894	0,848	0,806	NA	0,863	0,883	0,947	NA	0,859	0,86	0,777	0,708	0,842	0,636	0,83	0,782	0,774	
G6pdh	N	52	50	43	52	50	51	50	53	56	60	49	52	53	52	57	50	52	0,018 0,982
	1	0	0	0,349	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,02	0		
	2	1	1	0,651	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0,98	1		
Got	N	52	50	52	52	50	51	50	53	56	60	49	52	48	52	57	50	52	0,003 0,997
	1	0,019	0	0	0	0	0	0,02	0	0	0	0,02	0	0	0	0	0	0	
	2	0,981	1	1	1	1	1	0,98	1	1	1	0,98	1	1	1	1	1	1	
Gtdh	N	52	50	52	52	50	51	50	53	56	60	49	52	53	52	57	50	52	1
	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	
	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	
Me	N	52	49	51	52	50	49	49	53	56	60	49	52	53	52	56	49	50	0,345 0,655
	1	0,24	0,214	0,559	0,413	0,51	0,541	0,51	0,387	0,241	0,325	0,306	0,221	0,274	0,26	0,25	0,52	0,13	
	2	0,76	0,786	0,441	0,587	0,49	0,459	0,49	0,613	0,759	0,675	0,694	0,779	0,726	0,74	0,75	0,48	0,87	
ldh	N	52	39	41	42	50	51	35	37	55	58	49	41	52	51	57	44	45	0,054 0,894 0,052
	1	0	0,077	0,024	0,19	0	0	0,171	0,081	0	0,017	0,041	0,268	0	0	0	0,136	0,044	
	2	1	0,897	0,854	0,774	0,89	0,922	0,829	0,878	0,818	0,922	0,949	0,634	1	0,971	0,974	0,818	0,956	
Mdh 1	N	52	48	52	39	50	51	49	53	56	60	49	52	53	51	56	48	52	0,559 0,441
	1	0,481	0,656	0,269	0,615	0,6	0,569	0,673	0,481	0,696	0,425	0,622	0,76	0,34	0,529	0,643	0,708	0,481	
	2	0,519	0,344	0,731	0,385	0,4	0,431	0,327	0,519	0,304	0,575	0,378	0,24	0,66	0,471	0,357	0,292	0,519	
Mdh 2	N	50	49	47	41	50	43	49	49	56	60	49	48	52	52	56	49	51	0,182 0,809 0,009
	1	0,09	0,224	0,106	0,293	0,01	0,407	0,071	0,408	0,134	0,258	0,041	0,25	0,24	0,26	0,134	0,092	0,108	
	2	0,91	0,765	0,894	0,707	0,99	0,593	0,929	0,592	0,866	0,742	0,959	0,667	0,76	0,74	0,866	0,908	0,824	
Pgm	N	52	44	51	51	49	50	43	49	55	60	48	49	47	52	56	50	42	0,144 0,856
	1	0,192	0,045	0,176	0,127	0,143	0,11	0,233	0	0,055	0,067	0,26	0,52	0,149	0,048	0,08	0,01	0,31	
	2	0,808	0,955	0,824	0,873	0,857	0,89	0,767	1	0,945	0,933	0,74	0,48	0,851	0,952	0,92	0,99	0,69	
Dia 1	N	51	48	38	0	50	33	48	0	56	60	49	35	47	52	56	49	40	0,795 0,064 0,141
	1	0,804	0,906	0,737	NA	0,76	0,606	0,604	NA	0,768	0,775	0,714	0,814	0,947	0,856	0,929	0,857	0,763	
	2	0	0,052	0,211	NA	0,04	0,167	0,167	NA	0	0,067	0,102	0,1	0,053	0,01	0,018	0,061	0	
Dia 2	N	52	50	52	52	50	51	50	53	56	60	49	52	53	52	57	50	52	1
	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	

N = número de indivíduos. NA: não avaliado



O conjunto de populações apresentou 10 alelos raros. Estes alelos foram considerados raros em 34 situações. Quando se analisa a distribuição dos alelos raros por loco avaliado, em 11 situações o loco IDH apresentou alelos raros, seguido da SKDH, que apresentou alelos raros em 8 situações. Com exceção dos locos monomórficos, apenas os locos ME e MDH1 não apresentaram alelos raros.

Entretanto, apesar dos locos IDH e SKDH apresentarem-se importantes em indicarem onde estes alelos de baixa frequência poderiam ser resgatados para ações com objetivos conservacionistas, locos como o NADHDH, G6PDH e GOT, apresentam-se como bons indicativos da possível fixação de alelos em algumas das populações estudadas, com destaque para as populações 4, 5, 8, 14 e 15, que apresentam alelos fixados simultaneamente nos três locos.

A fixação, nestes casos, serve como indicativo não somente da possível perda de alelos, mas também, da franca limitação do fluxo de genes entre as populações com o alelo ausente com as populações que apresentam a alelo.

Os alelos mais observados em baixa frequência foram: o alelo 3 do loco IDH, que esteve presente em 13 populações, sendo raro em 7 delas; e o alelo 3 do loco SKDH, presente em 15 populações, sendo raro em 6 delas. Tais alelos estão mais susceptíveis a desaparecerem das populações por efeitos de deriva genética, pois, mesmo sendo relativamente comuns entre as populações (como o alelo 3 dos locos IDH e SKDH), ocorrem de maneira geral em baixa frequência.

O alelo 1 do loco GOT, apesar de ser pouco frequente entre as populações, sendo somente encontrado em apenas 3 populações (Tabela 4), merece destaque, pois quando presente, sempre esteve na condição de raro. Isto destaca a importância da conservação das populações 1, 7 e 11, sob risco de seu desaparecimento (alelo). Este alelo, ainda merece destaque, pelo fato de ocorrer em três populações que pertencem a bacias hidrográficas distintas: bacia Itapocú/Cubatão Norte, bacia Tubarão/D'una/Madre e bacia do Itajaí (Tabelas 1 e 4), sendo um indicativo de que no passado possivelmente existia um fluxo contínuo de genes entre estas populações. Fato também justificado pelo alelo 1 do loco G6PDH, somente presente nas populações 3 e 16.

Quando as frequências alélicas são analisadas por bacia hidrográfica (Tabela 5), foram encontrados 10 alelos raros no total, 3 alelos nas bacias Tubarão/D'una/Madre e Itajaí e 4 alelos na bacia Itapocú/Cubatão (Norte).

A diferença mais relevante entre a análise de frequências por populações e por bacias hidrográficas é o aparecimento de alelos exclusivos nas bacias Itapocú/Cubatão

(Norte) e na bacia do Itajaí. O alelo 3 da MDH 2 é restrito à bacia Itapocú/Cubatão (Norte), já o alelo 1 G6PDH é restrito à bacia Itajaí. Além de exclusivos, os alelos em questão também apresentarem-se raros nas respectivas bacias.

Novamente, fica evidente a necessidade da conservação das populações que detêm os alelos exclusivos e raros citados. Primeiramente, para que tais alelos não sejam perdidos por efeitos de deriva genética, e, posteriormente, para que as populações em questão possam servir como fonte de sementes para produção de mudas com qualidade e representatividade da diversidade genética local.

Cabe ressaltar que, como foram amostrados apenas indivíduos adultos e tendo em vista que a canela-preta é uma espécie longeva, as frequências alélicas discutidas são históricas. Avaliar a diversidade genética de regenerantes ou juvenis da espécie nos locais amostrados seria muito pertinente no sentido de elucidar qual a situação das frequências alélicas no presente, bem como, fornecer um diagnóstico mais preciso do fluxo de genes.

**Tabela 5.** Frequências alélicas para 12 locos alozímicos em 3 bacias hidrográficas de ocorrência de *Ocotea catharinensis* Mez do estado de Santa Catarina. NPFT-UFSC, 2011.

Loco	Alelo	Itapocú/ Cubatão Norte	Tubarão /D'una/ Madre	Itajaí	Total
Nadhdh	N	102	90	482	
	1	0,461	0,122	0,095	0,154
	2	0,539	0,878	0,905	0,846
Skdh	N	102	117	297	
	1	0,127	0,021	0,128	0,104
	2	0,814	0,902	0,8	0,826
	3	0,059	0,077	0,072	0,071
G6pdh	N	154	151	475	
	1	0	0	0,032	0,019
	2	1	1	0,968	0,981
Got	N	154	151	479	
	1	0,006	0,007	0,002	0,004
	2	0,994	0,993	0,998	0,996
Gtdh	N	154	151	484	
	1	1	1	1	1
Me	N	153	148	482	
	1	0,225	0,52	0,333	0,347
	2	0,775	0,48	0,667	0,653
Idh	N	132	136	442	
	1	0,106	0,044	0,034	0,049
	2	0,856	0,886	0,91	0,895
	3	0,038	0,07	0,057	0,056
Mdh 1	N	152	150	469	
	1	0,632	0,613	0,511	0,554
	2	0,368	0,387	0,489	0,446
Mdh 2	N	147	142	462	
	1	0,187	0,151	0,207	0,192
	2	0,782	0,849	0,793	0,802
	3	0,031	0	0	0,006
Pgm	N	145	142	469	
	1	0,259	0,158	0,104	0,144
	2	0,741	0,842	0,896	0,856
Dia 1	N	134	131	358	
	1	0,843	0,664	0,82	0,792
	2	0,045	0,118	0,059	0,068
	3	0,112	0,218	0,122	0,14
Dia 2	N	154	151	484	
	1	1	1	1	1

N = número de indivíduos.

## 5.2 Índices de diversidade genética por população

A Tabela 6 apresenta os índices de diversidade interpopulacional, índice de fixação, alelos exclusivos e raros das 17 populações de canela-preta avaliadas.

**Tabela 6.** Índices de diversidade interpopulacional, índice de fixação, alelos exclusivos e raros de 17 populações *Ocotea catharinensis* em Santa Catarina. NPFT-UFSC, 2011.

Pop.	<i>n</i>	Nº alelos	$\hat{P}_{(99\%)}$	$\hat{A}$	$\hat{A}_p$	$\hat{H}_e$	$\hat{H}_o$	$\hat{f}$	Ex.	Rr.
1	50	20	58,3	1,67	2,14	0,159	0,144	0,097	0	2
2	47	24	66,7	2,00	2,50	0,167	0,117	0,301*	0	5
3	47	23	66,7	1,92	2,38	0,237	0,206	0,133*	0	1
4	49	16	50,0	1,60	2,20	0,198	0,089	0,554*	0	1
5	49	21	58,3	1,75	2,29	0,174	0,158	0,093	0	3
6	46	20	63,6	1,82	2,29	0,237	0,196	0,177*	0	0
7	47	22	75,0	1,83	2,11	0,236	0,172	0,274*	0	1
8	51	15	40,0	1,50	2,25	0,169	0,132	0,223*	0	1
9	54	21	66,7	1,75	2,13	0,185	0,153	0,176*	0	0
10	59	23	58,3	1,92	2,43	0,186	0,174	0,068	0	3
11	49	23	66,7	1,92	2,38	0,195	0,165	0,155*	0	4
12	47	22	63,6	2,00	2,57	0,273	0,214	0,217*	0	1
13	50	20	58,3	1,67	2,14	0,186	0,135	0,276*	0	0
14	51	21	58,3	1,75	2,29	0,180	0,170	0,056	0	4
15	56	21	58,3	1,75	2,29	0,142	0,136	0,045	0	2
16	48	23	66,7	1,92	2,38	0,173	0,165	0,045	0	4
17	48	22	66,7	1,83	2,25	0,229	0,174	0,243*	0	2
<b>Média</b>	<b>50</b>	<b>21</b>	<b>61,3</b>	<b>1,80</b>	<b>2,29</b>	<b>0,196</b>	<b>0,159</b>	<b>0,190</b>		
<b>S</b>	<b>3</b>	<b>2</b>	<b>7,94</b>	<b>0,14</b>	<b>0,13</b>	<b>0,035</b>	<b>0,032</b>	<b>0,128</b>		

Nº alelos = número total de alelos; *n* = número de amostras;  $\hat{P}_{(99\%)}$  = porcentagem de locos polimórficos;  $\hat{A}$  = alelos por loco;  $\hat{A}_p$  = alelos por loco polimórfico;  $\hat{H}_e$  = heterozigiosidade média esperada;  $\hat{H}_o$  = heterozigiosidade média observada;  $\hat{f}$  = índice de fixação; Ex. = alelos exclusivos; Rr. = alelos raros. \* estatisticamente diferente de zero (IC 95%); S = desvio padrão.

A porcentagem de locos polimórficos ( $\hat{P}_{(99\%)}$ ) média foi de 61,3% ( $\pm 7,94\%$ ), com destaque para as populações 7 e 8, com a maior e menor porcentagem ( $\hat{P}_{(99\%)} = 75,0\%$  e 40,0%, respectivamente). Hamrick & Godt (1989), em uma vasta revisão sobre índices de diversidade genética obtidos com marcadores alozímicos, encontraram  $\hat{P}_{(99\%)} = 50,0\%$  para espécies arbóreas de ciclo longo, valor médio inferior, mas próximo ao encontrado neste trabalho.

Na meta III do IFF-SC, a exemplo da canela-preta, outras 12 espécies arbóreas, também longevas e de ciclo longo, foram caracterizadas geneticamente. Um resumo dos

índices de diversidade genética obtidos está na Tabela 7. O valor médio de  $\hat{P}_{(99\%)}$  encontrado para as outras 12 espécies (60,2%) é bastante semelhante ao encontrado para a canela-preta.

**Tabela 7.** Número de populações avaliadas, número médio e total de alelos por espécie, índices de diversidade genética e índice de fixação para 12 espécies avaliadas no IFF-SC. NPFT-UFSC, 2011.

Espécie	Nº pops.	média alelos/total alelos	$\hat{P}_{(99\%)}$	$\hat{A}$	$\hat{A}_p$	$\hat{H}_e$	$\hat{H}_o$	$\hat{f}$
<i>Apuleia leiocarpa</i> <sup>1</sup>	9	29 / 37	75,0	2,44	2,92	0,325	0,255	0,218
<i>Araucaria angustifolia</i> <sup>2</sup>	31	23 / 37	44,9	1,77	2,59	0,124	0,094	0,245
<i>Butia catarinensis</i> <sup>3</sup>	9	26 / 36	75,9	2,20	2,49	0,211	0,184	0,127
<i>Butia eriospatha</i> <sup>4</sup>	14	21 / 30	37,4	1,53	2,35	0,111	0,102	0,083
<i>Calophyllum brasiliense</i> <sup>5</sup>	9	23 / 30	44,0	1,65	2,48	0,135	0,100	0,259
<i>Cedrela fissilis</i> <sup>6</sup>	9	32 / 39	82,4	2,63	2,94	0,241	0,190	0,215
<i>Dycksonia sellowiana</i> <sup>7</sup>	30	16 / 26	64,9	2,09	2,61	0,144	0,117	0,184
<i>Euterpe edulis</i> <sup>8</sup>	20	31 / 42	61,8	2,18	2,89	0,236	0,205	0,130
<i>Myrocarpus frondosus</i> <sup>9</sup>	9	32 / 41	80,2	2,27	2,57	0,296	0,259	0,128
<i>Ocotea odorifera</i> <sup>10</sup>	9	20 / 24	65,6	1,92	2,35	0,163	0,139	0,153
<i>Ocotea porosa</i> <sup>11</sup>	13	33 / 51	76,4	2,25	2,62	0,271	0,221	0,188
<i>Podocarpus lambertii</i> <sup>12</sup>	12	20 / 32	47,7	1,79	2,56	0,078	0,049	0,372
<b>Média ponderada</b>			<b>60,2</b>	<b>2,02</b>	<b>2,62</b>	<b>0,180</b>	<b>0,147</b>	<b>0,194</b>

$\hat{P}_{(99\%)}$  = porcentagem de locos polimórficos;  $\hat{A}$  = alelos por loco;  $\hat{A}_p$  = alelos por loco polimórfico;  $\hat{H}_e$  = heterozigosidade média esperada;  $\hat{H}_o$  = heterozigosidade média observada;  $\hat{f}$  = índice de fixação; <sup>1</sup>Steiner *et al.* (2011); <sup>2</sup>Zechini *et al.* (2011); <sup>3</sup>Fernandes *et al.* (2011); <sup>4</sup>Dados não publicados; <sup>5</sup>Loch (2011); <sup>6</sup>Schüssler *et al.* (2011); <sup>7</sup>Montagna *et al.* (2011); <sup>8</sup>Cristofolini *et al.* (2011); <sup>9</sup>Reis *et al.* (2011); <sup>10</sup>Figueredo *et al.* (2011); <sup>11</sup>Loch *et al.* (2011); <sup>12</sup>Altrak *et al.* (2011).

O número médio de alelos encontrados por população foi de 21 ( $\pm 2$ ). Já o número total de alelos encontrados para a espécie foi de 26. Ou seja, na média, as populações possuem cerca de 80% dos alelos amostrados para a espécie. Apenas duas populações possuem menos de 20 alelos amostrados, a população 4, com 16 alelos e a população 8, com 15 alelos. Cabe ressaltar que este resultado é influenciado pela impossibilidade de avaliação de 2 locos das populações em questão (Tabela 4).

O número médio de alelos por loco ( $\hat{A}$ ) e por loco polimórfico ( $\hat{A}_p$ ) foi 1,80 ( $\pm 0,14$ ) e 2,29 ( $\pm 0,13$ ), respectivamente. O valor médio de  $\hat{A}$  foi praticamente igual a média encontrada por Hamrick & Godt (1989) para espécies arbóreas longevas ( $\hat{A} = 1,79$ ) e inferior a média encontrada no levantamento do IFF-SC para 12 espécies ( $\hat{A} = 2,02$ ). A média de  $\hat{A}_p$  também foi inferior à média do IFF-SC ( $\hat{A}_p = 2,62$ ).

A diversidade genética ( $\hat{H}_e$ ) estimada para as 17 populações foi de 0,196 ( $\pm 0,035$ ), variando desde 0,140 na população 15 a 0,273 na população 12. A média obtida neste

trabalho é consideravelmente superior à obtida por Hamrick & Godt (1989), para espécies arbóreas longevas ( $\hat{H}_e = 0,149$ ) e ligeiramente superior à média encontrada no levantamento do IFF-SC para 12 espécies ( $\hat{H}_e = 0,180$ ).

Em termos gerais, a  $\hat{H}_e$  pode ser considerada alta para todas as populações, entretanto considerando os resultados obtidos por Tarazi *et al.* (2010), também estudando a espécie (4 populações), com marcadores alozímicos, que encontraram valores de heterozigosidade média iguais a 0,378, percebe-se que estes poderiam ser ainda maiores. A diversidade genética de *O. porosa* e de *O. odorifera* (Tabela 7), espécies do mesmo gênero e que também são encontradas no estado de Santa Catarina, em comparação aos resultados médios de Hamrick e Godt (1989), também podem ser consideradas altas .

Tais resultados de diversidade genética são esperados para espécies como a canela-preta. De acordo com uma vasta revisão feita por Loveless & Hamrick (1984) a variabilidade genética é maior e/ou favorecida em espécies predominantemente alógamas, com reprodução sexual, climácicas e de ciclo longo.

Pensando em medidas conservacionistas, é muito importante encontrar altos índices de diversidade genética nas populações, especialmente em espécies ameaçadas de extinção e que sofreram reduções populacionais significativas, à exemplo da canela-preta. Isto representa um potencial para expansão e formação de novas populações com bons índices de diversidade, pelo menos maiores que a média Hamrick & Godt (1989), para espécies arbóreas longevas ( $\hat{H}_e = 0,149$ ).

O índice  $\hat{H}_e$  representa a diversidade genética potencial, enquanto que a heterozigosidade observada ( $\hat{H}_o$ ), a diversidade real. A proporção da diversidade potencial, que está sendo amostrada é representada pelo índice de fixação ( $\hat{f}$ ). Neste sentido, quanto maiores os valores de  $\hat{f}$ , menos da diversidade potencial está sendo realizada.

As 17 populações de canela-preta avaliadas apresentaram  $\hat{f}$  médio de 0,190, considerado alto, além de uma grande variação entre as populações ( $\pm 0,128$ ). Em linhas gerais, este dado indica que as populações perdem, em média, 19% de sua diversidade por geração, entretanto a grande variação existente demonstra que tal perda é mais ou menos acentuada em determinadas populações.

Cabe destacar que apenas 6 populações (1, 5, 10, 14, 15 e 16) apresentaram  $\hat{f}$  não significativo. Todas as outras populações tiveram  $\hat{f}$  significativo e maior que 0,130, 7 delas (2, 4, 7, 8, 12, 13 e 17) com  $\hat{f}$  maior que 0,200 e a população 4 chegando ao extremo de 0,554 de índice de fixação.

Cabe ressaltar, que para as populações 4, 6, 7 e 17, a distância média entre os indivíduos coletados esteve entre 30 m e 50 m, o que provavelmente fez com que o índice de fixação fosse, em parte, superestimado.

A intensa exploração que a espécie sofreu no passado pode ser o fator mais determinante para que algumas populações realizem tão pouco da diversidade genética potencial. A redução dos tamanhos populacionais aliada à fragmentação favorece o cruzamento entre aparentados e restringe o fluxo gênico.

Assumindo que o índice de fixação seja todo proveniente de endogamia, as populações 3, 6, 9 e 11 estão apresentando um comportamento semelhante ao de meios irmãos ( $\hat{f} = 0,125$ ), as populações 2, 7, 8, 12, 13 e 17, semelhante a irmãos completos ( $\hat{f} = 0,250$ ), e a população 4, semelhante a duas vezes irmãos completos. Estes níveis de fixação não são esperados para uma espécie predominantemente alógama, evidenciando que as ações antrópicas de exploração podem ter ocasionado desequilíbrio em várias das populações estudadas.

Cabe discutir três particularidades amostrais que podem ter influenciado nos índices de fixação. Uma delas é de que modelo de amostragem não foi sistemático. Nem todo fragmento visitado pela equipe de campo da FURB tinha quantidade suficiente de indivíduos para completar uma amostra. Assim, vários dos pontos amostrados pela equipe de genética não coincidem com os pontos da FURB (sistemáticos), sendo locais escolhidos intencionalmente por apresentarem quantidade suficiente de indivíduos para serem amostrados.

Toda a situação anteriormente exposta implica num viés amostral, em linhas gerais, as populações amostradas neste trabalho, possivelmente, representam a melhor situação genética da espécie em sua área de ocorrência. Provavelmente, os índices de diversidade genética das gerações mais jovens sejam piores, tendo em vista os índices de fixação existentes nas plantas adultas e o histórico de exploração da espécie.

Outra particularidade, que já foi citada, trata da priorização da coleta de indivíduos adultos. Como a canela-preta tem ciclo longo, as heterozigozidades e os índices de fixação obtidos refletem a diversidade genética do passado, quando os problemas com o fluxo gênico, derivados da fragmentação florestal e da perda da fauna eram menores que os atuais.

Por último, de maneira geral, procurou-se observar uma distância mínima de 50 m entre os indivíduos coletados dentro de uma população, procurando assim, evitar a amostragem de indivíduos pertencentes a uma mesma deme (família). Entretanto, Tarazi *et*

*al.* (2010) encontraram estrutura genética espacial em indivíduos adultos de canela-preta distanciados a menos de 80 m. Assim, os altos índices de fixação encontrados para algumas das populações podem advir, em parte, da estrutura genética espacial da espécie.

Com base nas particularidades amostrais discutidas, reforça-se a necessidade de avaliar a diversidade genética de indivíduos jovens ou regenerantes, num espaçamento adequado, para que se tenha ideia de qual a situação atual da diversidade e estrutura genética da espécie.

Entretanto cabe destacar, novamente, que as informações obtidas e apresentadas, foram voltadas a captura da maior diversidade genética remanescente, e que, portanto, os resultados obtidos fundamentam com bastante segurança a necessidade de medidas conservacionistas para a espécie.

Merece destaque o papel das Unidades de Conservação (UC) na manutenção da diversidade da espécie. Cinco dos fragmentos amostrados neste trabalho fazem parte de UC (1, 3, 12, 13 e 16). Os 26 alelos amostrados são para o conjunto das populações estão distribuídos nas 5 UC avaliadas. A diversidade genética variou de 0,135 a 0,214 nas UC. O índice de fixação não diferiu de zero em duas UC e foi 0,133 até 0,276 nas outras três (Tabela 6). Somados, os fragmentos das UC representam uma área aproximada de 33.000 ha.

### **5.3 Índices de diversidade genética por bacia hidrográfica**

A tabela a seguir apresenta os índices de diversidade interpopulacional, índice de fixação, alelos exclusivos e raros de 3 bacias hidrográficas de ocorrência das populações de canela-preta avaliadas.



**Tabela 8.** Índices de diversidade interpopulacional, índice de fixação, alelos exclusivos e raros em 3 bacias hidrográficas de ocorrência de *Ocotea catharinensis* Mez do estado de Santa Catarina. NPFT-UFSC, 2011.

Bacia	<i>n</i>	Nº alelos	$\hat{P}$ (99%)	$\hat{A}$	$\hat{A}_p$	$\hat{H}_e$	$\hat{H}_o$	$\hat{f}$	Ex.	Rr.
Itapocú / Cubatão Norte	140	25	66,7	2,08	2,50	0,243	0,154	0,367*	1	4
Tubarão / D'una / Madre	138	24	66,7	2,00	2,38	0,218	0,169	0,229*	0	3
Itajaí	449	25	75,0	2,08	2,33	0,210	0,157	0,253*	1	3
<b>Média</b>	<b>242</b>	<b>25</b>	<b>69,4</b>	<b>2,06</b>	<b>2,40</b>	<b>0,224</b>	<b>0,160</b>	<b>0,286</b>		
<b>S</b>	<b>179</b>	<b>1</b>	<b>4,8</b>	<b>0,05</b>	<b>0,09</b>	<b>0,017</b>	<b>0,008</b>	<b>0,074</b>		

Nº alelos = número total de alelos; *n* = número de amostras;  $\hat{P}$  (99%) = porcentagem de locos polimórficos;  $\hat{A}$  = alelos por loco;  $\hat{A}_p$  = alelos por loco polimórfico;  $\hat{H}_e$  = heterozigosidade média esperada;  $\hat{H}_o$  = heterozigosidade média observada;  $\hat{f}$  = índice de fixação; Ex. = alelos exclusivos; Rr. = alelos raros. \* estatisticamente diferente de zero (IC 95%); S = desvio padrão.

As 3 bacias contêm, em média, 25 dos 26 alelos encontrados para a espécie. A média da porcentagem de locos polimórficos entre as bacias foi de 69,4% ( $\pm 4,8\%$ ). O número médio de alelos por loco ( $2,06 \pm 0,05$ ) e por loco polimórfico ( $2,40 \pm 0,09$ ) foram bastante semelhantes nas 3 bacias. A diversidade genética média foi alta ( $0,224 \pm 0,017$ ), bem como o índice de fixação médio ( $0,286 \pm 0,074$ ), com destaque para a bacia Itapocú / Cubatão Norte, com  $\hat{f} = 0,367$  e  $\hat{H}_e = 0,243$ .

De maneira geral, todos os índices de diversidade são maiores quando analisados por bacias hidrográficas, em comparação à análise por populações. A única exceção é a heterozigosidade observada, que se mantém praticamente igual entre as duas análises, o que faz com que o índice de fixação aumente consideravelmente (de 0,190 entre populações para 0,286 entre bacias).

Este era um resultado esperado, pois quando as populações são agrupadas para a análise por bacias, a diversidade potencial tende a aumentar, já que alelos distintos são incorporados numa mesma população, entretanto o número real de heterozigotos permanece o mesmo, fazendo com que o índice de fixação aumente. Tal resultado reflete a existência de algum nível de divergência entre as populações das bacias (que será discutido adiante), divergência esta decorrente de efeitos de deriva genética.

Em termos gerais, a canela-preta apresenta bons índices de diversidade genética, fato que, como já discutido, demonstra um ótimo potencial a ser utilizado em favor da recuperação da espécie. Entretanto, cabe ressaltar, que os níveis de fixação encontrados não são os esperados para a canela-preta, apontando para a necessidade da adoção de medidas conservacionistas efetivas, visando principalmente o aumento dos tamanhos populacionais e do fluxo gênico, aproveitando e maximizando a diversidade já existente.

#### 5.4 Estrutura genética populacional

A Tabela 9 apresenta as estimativas das estatísticas  $F$  de Wright (1951) para os locos, média das 17 populações, bacias hidrográficas e respectiva média.

**Tabela 9.** Estimativas das estatísticas  $F$  de Wright (1951) em 17 populações e em 15 populações distribuídas em 3 bacias hidrográficas de ocorrência de *Ocotea catharinensis* de Santa Catarina. NPFT-UFSC, 2011.

<b>Loco</b>	$\hat{F}_{IT}$	$\hat{F}_{ST}$	$\hat{F}_{IS}$
Nadhdh	0,962*	0,662*	0,887*
Skdh	0,014ns	0,044ns	-0,031ns
G6pdh	0,189*	0,324*	-0,200*
Got	0,666*	0,002ns	0,665*
Me	0,271*	0,069*	0,216*
ldh	0,482*	0,076*	0,440*
Mdh 1	0,038*	0,066*	-0,029ns
Mdh 2	0,241*	0,081*	0,173*
Pgm	0,295*	0,122*	0,197*
Dia 1	0,309*	0,047*	0,275*
<b>Média entre populações</b>	<b>0,287*</b>	<b>0,133*</b>	<b>0,178*</b>
<b>Bacia</b>	$\hat{F}_{IT}$	$\hat{F}_{ST}$	$\hat{F}_{IS}$
Itapocú / Cubatão Norte	0,462*	0,328*	0,200*
Tubarão / D'una / Madre	0,249*	0,065*	0,197*
Itajaí	0,262*	0,108*	0,172*
<b>Média entre bacias</b>	<b>0,308*</b>	<b>0,053*</b>	<b>0,269*</b>

$\hat{F}_{IT}$  = índice de fixação total;  $\hat{F}_{ST}$  = divergência genética interpopulacional;  $\hat{F}_{IS}$  = índice de fixação dentro de populações/bacias.

Kageyama *et al.* (2003) classificam a divergência genética em alta (15% a 25%), moderada (5% a 15%) e baixa (< 5%). O conjunto das populações apresentou divergência genética moderada ( $\hat{F}_{ST} = 0,133$ ), já o conjunto das bacias, apresentou divergência baixa ( $\hat{F}_{ST} = 0,053$ ). O índice fixação dentro de populações ( $\hat{F}_{IS}$ ), tanto por populações quanto por bacias, foi alto (0,178 e 0,269, respectivamente). O índice de fixação total, consequentemente, também foi alto, tanto entre populações ( $\hat{F}_{IT} = 0,287$ ) quanto entre bacias ( $\hat{F}_{IT} = 0,308$ ).

Tarazi *et al.* (2010) encontrou valor semelhante de divergência em 4 populações de canela preta ( $\hat{F}_{ST} = 0,143$ ). Dick *et al.* (2008) em revisão, encontraram  $\hat{F}_{ST} = 0,177$  para 42 espécies arbóreas tropicais, valor um tanto superior ao encontrado neste trabalho. A

média ponderada de divergência genética do IFF-SC para 12 espécies foi 0,201 (Tabela 10).

**Tabela 10.** Estimativas das estatísticas  $F$  de Wright (1951) fixação para 12 espécies avaliadas no IFF-SC. NPFT-UFSC, 2011.

Espécie	Nº pops.	Entre Bacias			Entre Populações		
		$\hat{F}_{IT}$	$\hat{F}_{ST}$	$\hat{F}_{IS}$	$\hat{F}_{IT}$	$\hat{F}_{ST}$	$\hat{F}_{IS}$
<i>Araucaria angustifolia</i> <sup>1</sup>	31	0,347*	0,063*	0,303*	0,342*	0,129*	0,244*
<i>Apuleia leiocarpa</i> <sup>2</sup>	9	0,235*	0,011	0,226*	0,262*	0,064*	0,212*
<i>Butia catarinensis</i> <sup>3</sup>	9	0,166	0,007	0,160	0,191	0,076*	0,125
<i>Butia eriospatha</i> <sup>4</sup>	14	0,527*	0,300*	0,325*	0,418*	0,363*	0,086*
<i>Calophyllum brasiliense</i> <sup>5</sup>	9	0,366*	0,057*	0,328*	0,365*	0,140*	0,261
<i>Cedrela fissilis</i> <sup>6</sup>	9	0,223*	0,015*	0,211*	0,239*	0,035*	0,212*
<i>Dycksonia sellowiana</i> <sup>7</sup>	30	0,538*	0,110*	0,481*	0,534*	0,439*	0,169*
<i>Euterpe edulis</i> <sup>8</sup>	20	0,227*	0,035*	0,199*	0,226*	0,113*	0,127*
<i>Myrcarpus frondosus</i> <sup>9</sup>	9	0,308*	0,206*	0,128	0,291*	0,195*	0,119
<i>Ocotea odorifera</i> <sup>10</sup>	9	0,228*	0,059*	0,180*	0,232*	0,089*	0,158
<i>Ocotea porosa</i> <sup>11</sup>	13	0,354*	0,081*	0,297*	0,345*	0,191*	0,191
<i>Podocarpus lambertii</i> <sup>12</sup>	12	0,510*	0,033*	0,493*	0,496*	0,216*	0,357*
<b>Média ponderada</b>		<b>0,364</b>	<b>0,085</b>	<b>0,306</b>	<b>0,354</b>	<b>0,201</b>	<b>0,189</b>

$\hat{F}_{IT}$  = índice de fixação total;  $\hat{F}_{ST}$  = divergência genética interpopulacional;  $\hat{F}_{IS}$  = índice de fixação dentro de populações. <sup>1</sup>Steiner *et al.* (2011); <sup>2</sup>Zechini *et al.* (2011); <sup>3</sup>Fernandes *et al.* (2011); <sup>4</sup>Dados não publicados; <sup>5</sup>Loch (2011); <sup>6</sup>Schüssler *et al.* (2011); <sup>7</sup>Montagna *et al.* (2011); <sup>8</sup>Cristofolini *et al.* (2011); <sup>9</sup>Reis *et al.* (2011); <sup>10</sup>Figueredo *et al.* (2011); <sup>11</sup>Loch *et al.* (2011); <sup>12</sup>Altrak *et al.* (2011).

A divergência encontrada entre as populações pode ser resultado de um baixo fluxo gênico histórico entre as mesmas. Fragmentação florestal, distância e barreiras geográficas, sistema reprodutivo, síndromes de polinização e dispersão são alguns dos fatores que influenciam no fluxo gênico entre as populações e, por consequência, nos níveis de divergência.

A discussão do efeito da fragmentação florestal sobre a divergência apresentada entre as populações pode ser imprecisa, a partir dos dados deste trabalho e tendo em vista dois fatores principais.

Em primeiro lugar, canela-preta está entre as 3 espécies com mais lento ritmo de crescimento dentre as 100 listadas por Carvalho (1994), ou seja, os indivíduos levam bastante tempo para chegarem no porte das árvores avaliadas neste trabalho, seguramente mais de 100 anos. Infelizmente, não se tem uma estimativa segura da idade dos indivíduos amostrados.

Em segundo lugar, a fragmentação florestal catarinense advém basicamente da expansão agrícola e urbana e dos ciclos de exploração madeireira. Entretanto estes

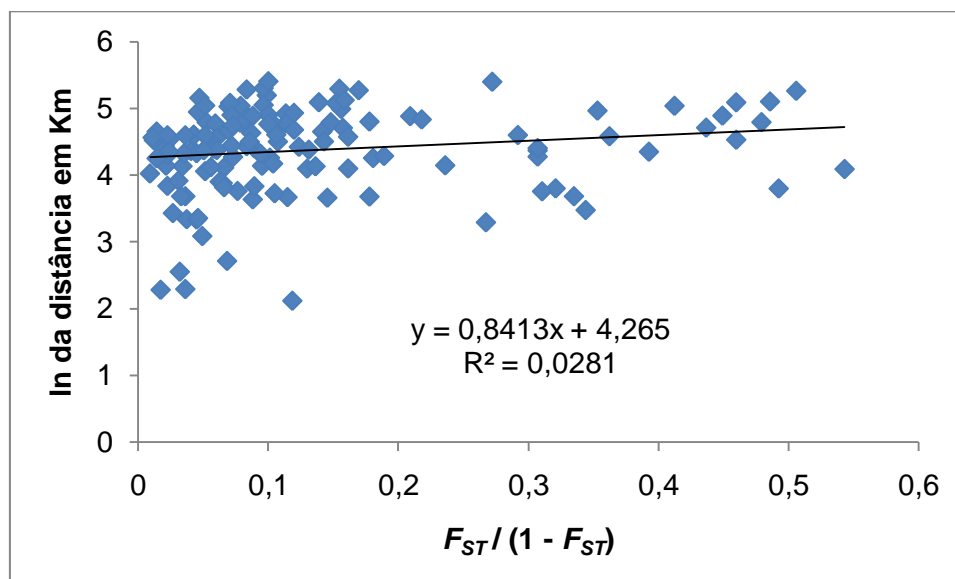
acontecimentos foram mais fortes no último século, com intensificação em sua última metade. A devastação das florestas catarinenses teve seu auge no período entre 1950 e 1970 (Reitz *et al.*, 1978). Ou seja, pode-se supor que grande parte dos indivíduos amostrados são mais antigos que os processos que levaram a fragmentação hoje existente.

Desta maneira, pelo fato de as estimativas de divergência remeterem a um fluxo histórico, não parece plausível associar exclusivamente a fragmentação florestal como causa principal.

Entretanto, os processos que levaram à fragmentação atual, por si só atuaram semelhantemente ao efeito da deriva genética, excluindo alelos das populações, de maneira supostamente aleatória. Este fato restringe a possibilidade de uma amostra satisfatória para caracterizar o fluxo gênico histórico, influenciando também nos níveis de divergência encontrados.

Com a atual situação de fragmentação das florestas catarinenses, somada a intensa atividade exploratória que ocorreu sobre a canela-preta, espera-se que os níveis de divergência interpopulacional sejam consideravelmente maiores em populações jovens, quando comparados com os níveis encontrados neste trabalho.

A distância geográfica entre as populações, agindo como barreira para o fluxo gênico, pode influenciar nos níveis de estrutura genética das espécies. Entretanto, para *O. catharinensis*, o correlograma de Mantel (1970) (Figura 9) que relaciona, par a par, as distâncias geográficas ( $\ln(\text{distância em Km})$ ) com os índices de divergência genética ( $(\hat{F}_{ST} / (1 - \hat{F}_{ST}))$ ), apresentou uma correlação praticamente insignificante ( $R^2 = 0,0281$ ).



**Figura 9.** Correlograma de Mantel (1970) entre as distâncias genéticas e geográficas das 17 populações de *Ocotea catharinensis* em SC. NPFT-UFSC, 2011.

Não existem estudos específicos sobre agentes dispersores e polinizadores da canela-preta. Entretanto há relatos de que a família Lauraceae é polinizada por abelhas, vespas, coleópteros e moscas (Reitz *et al.*, 1978). A imbuia (*Ocotea porosa*), espécie do mesmo gênero da canela-preta é polinizada por tripes (Silva, 2009).

Assim, de maneira geral, os supostos polinizadores estariam favorecendo certo grau de estruturação, por voarem a curtas distâncias. Loveless & Hamrick (1984), em revisão sobre determinantes ecológicos da estrutura populacional, vinculam a polinização por pequenas abelhas e insetos em geral à limitada movimentação de pólen e, por consequência, ao aumento da estrutura interpopulacional.

A síndrome de dispersão, barocórica e zoocórica, também pode influenciar nos níveis de divergência encontrados. A barocoria limita a movimentação das sementes, promovendo a diferenciação (Loveless & Hamrick, 1984). Em relação à zoocoria, a distância de dispersão das sementes vai depender do comportamento do animal dispersor.

No caso da canela-preta, existem dois supostos dispersores, a jacutinga (*Pipile jacutinga*) é uma provável ave dispersora das sementes de canela-preta (Galetti *et al.*, 1997) e o mono-carvoeiro (*Brachyteles arachnoides*) é um provável primata dispersor (Moraes & Paoli, 1995).

Existem indícios de que a jacutinga movimenta-se acompanhando a frutificação do palmitero (*Euterpe edulis*), além de ser o único cracídeo capaz de migrar (Galetti *et al.*, 1997). Este comportamento pode auxiliar na dispersão das sementes da canela-preta a

maiores distâncias, promovendo uma menor diferenciação entre as populações. Entretanto, esta é uma via de duas mãos, pois caso poucas sementes sejam transportadas para locais não colonizados pela espécie, o efeito de fundação poderá promover diferenciação entre a nova população e as já existentes (Loveless & Hamrick, 1984), fato não detectado neste estudo, visto que não foram encontrados alelos de alta frequência, em uma ou mais populações, que estivessem ausentes em outras.

Milton (1984), observando padrões comportamentais do mono-carvoeiro, relatou que o primata defeca de 10 a 14 vezes por dia, além de movimentar-se rapidamente por uma área de 71 a 73 ha. Martins (2006) compara a efetividade da dispersão entre duas espécies de primatas, o *Brachyteles arachnoides* e o *Alouatta guariba*. Neste trabalho a autora averigua que o *B. arachnoides*, ao contrário do *A. guariba*, não defeca as sementes agregadamente.

Moraes *et al.* (1999) descrevem variações no comportamento alimentar do *B. arachnoides*, indo desde a alimentação de frutos de uma única árvore, posteriormente defecando as sementes em locais que podem ser adequados para um novo recrutamento, até a alimentação de frutos de várias árvores, com a deposição das sementes ao longo da área. Os autores observaram também recorrência de defecação em determinados locais que servem de rotas aos primatas.

Os comportamentos anteriormente citados também podem ser influenciados pela disponibilidade de frutos da própria canela-preta e de outras espécies do local. Entretanto, cabe ressaltar, que de acordo com Moraes & Paoli (1995), os frutos de *O. catharinensis* contribuem bastante na alimentação de primatas, quando disponíveis. Pode-se supor, que no momento em que os frutos da canela-preta estão disponíveis o *B. arachnoides* expresse mais seu comportamento de alimentar-se de frutos de poucas árvores, ao invés de buscar alimento de outras espécies.

Os comportamentos observados no *B. arachnoides* podem contribuir para uma maior ou menor agregação das sementes dispersadas e, portanto, influenciar numa maior ou menor heterogeneidade entre as populações de canela-preta.

De maneira geral, pode-se julgar que, dentre os eventos abordados na tentativa de elucidar os níveis de divergência genética entre as populações, as síndromes de polinização e dispersão e o efeito de “deriva genética” imposto pela exploração da espécie parecem ser os que esclarecem mais sobre os dados estimados.

Novamente, enfatiza-se a necessidade de estudos sobre a biologia reprodutiva de *Ocotea catharinensis*. Pouco se conhece sobre seus agentes polinizadores e, pode-se

avançar mais em relação aos seus agentes dispersores. Tais informações são essenciais para uma maior solidez na discussão sobre os aspectos genéticos da espécie.

Analisando as estatísticas  $F$  de Wright (1951) por bacias hidrográficas (Tabela 9) percebe-se uma significativa redução na média do  $\hat{F}_{ST}$  (0,053), bem como um aumento no  $\hat{F}_{IS}$  (0,269), em comparação com a média da análise por população. Estes resultados já eram esperados, em virtude do agrupamento das populações na análise, fazendo com que as diferenças entre as mesmas ( $\hat{F}_{ST}$ ) diminuam, mas, aumentando a fixação dentro das populações ( $\hat{F}_{IS}$ ). O ligeiro aumento do índice de fixação total médio ( $\hat{F}_{IT} = 0,308$ ) não é esperado, mas é justificado pela exclusão das populações 16 e 17 da análise por bacias hidrográficas.

O índice de divergência interpopulacional médio para o conjunto de bacias foi baixo e ligeiramente menor à média encontrada na análise por bacias hidrográficas das outras 12 espécies avaliadas no IFF-SC (Tabelas 9 e 10). As bacias Itapocú / Cubatão, Tubarão / D'una / Madre e Itajaí apresentaram  $\hat{F}_{ST}$  médio de 0,328, 0,065 e 0,108, respectivamente.

Cabe ressaltar, especialmente, o alto  $\hat{F}_{ST}$  encontrado para a bacia Itapocú / Cubatão Norte (0,328). Este índice demonstra uma grande diferenciação entre as três populações que compuseram a amostra desta bacia (pops. 1, 2 e 12). A maior distância entre as três populações citadas é de 45 km, sendo que a população 1 e 12 estão distantes em cerca de 10 km. A proximidade das populações contrastando com suas altas divergências corrobora a hipótese de que a distância geográfica não é um bom argumento para elucidar a divergência genética entre as populações.

### **5.5 Tamanho efetivo populacional ( $N_e$ )**

Os resultados de  $N_e$  para valores de referência de 50 (Frankel & Soulé, 1981), 500 (Franklin & Frankham, 1998) e 1.000 (Lynch & Lande, 1998), área estimada (ha) dos fragmentos, densidade ( $n \cdot ha^{-1}$ ) no ponto amostral FURB e densidade total para o fragmento são apresentados na tabela a seguir.

**Tabela 11.** Tamanho efetivo populacional ( $N_e$ ) para valores de referência de 50, 500 e 1.000, área estimada (ha) dos fragmentos, densidade ( $n \cdot ha^{-1}$ ) no ponto amostral FURB e densidade total para os fragmentos das 17 populações de *Ocotea catharinensis*. NPFT-UFSC, 2011.

Pop.	$n$	$\hat{f}$	$N_e$	$n/N_e$	$N_e$ 50	$N_e$ 500	$N_e$ 1000	Área (ha)	Dens. ( $n \cdot ha^{-1}$ )	Dens. total
1	50	0,097	46	1,097	55	549	1.097	460	sd	sd
2	47	0,301*	36	1,301	65	651	1.301	610	sd	sd
3	47	0,133*	42	1,133	57	567	1.133	1.650	sd	sd
4	49	0,554*	31	1,554	78	777	1.554	21	7	140
5	49	0,093	45	1,093	55	547	1.093	470	3	1.304
6	46	0,177*	39	1,177	59	589	1.177	120	sd	sd
7	47	0,274*	37	1,274	64	637	1.274	130	sd	sd
8	51	0,223*	41	1,223	61	612	1.223	270	sd	sd
9	54	0,176*	46	1,176	59	588	1.176	720	20	14.400
10	59	0,068	55	1,068	53	534	1.068	85	45	3.825
11	49	0,155*	42	1,155	58	578	1.155	9	45	405
12	47	0,217*	39	1,217	61	609	1.217	17.300	sd	sd
13	50	0,276*	39	1,276	64	638	1.276	13.500	sd	sd
14	51	0,056	48	1,056	53	528	1.056	4.900	13	62.024
15	56	0,045	54	1,045	52	523	1.045	40	sd	sd
16	48	0,045	46	1,045	52	523	1.045	100	sd	sd
17	48	0,243*	38	1,243	62	622	1.243	300	57	17.000
<b>Média</b>		<b>0,190</b>	<b>43</b>	<b>1,184</b>	<b>59</b>	<b>592</b>	<b>1.184</b>			
<b>S</b>		<b>0,128</b>	<b>6</b>	<b>0,128</b>	<b>6</b>	<b>64</b>	<b>128</b>			

$n$  = número de indivíduos amostrados;  $\hat{f}$  = índice de fixação; sd = sem dado; S = desvio padrão.

O tamanho médio amostral foi de 50 indivíduos (Tabela 6), entretanto o tamanho efetivo amostral médio foi de 43 indivíduos, evidenciando o efeito do índice de fixação das populações. O tamanho efetivo é inversamente proporcional ao índice de fixação, desta maneira, quanto menor o  $\hat{f}$ , mais representativas são as amostras e vice-versa. Esta lógica segue no cálculo dos valores de referência, quanto menor o  $\hat{f}$ , menor o número de indivíduos necessários para alcançar o valor de referência e vice-versa.

O valor médio para o  $N_{e50}$  (Frankel & Soulé, 1981) foi de 59 indivíduos ( $\pm 6$ ), para o  $N_{e500}$  (Franklin & Frankham, 1998) foi de 592 indivíduos ( $\pm 64$ ) e para o  $N_{e1.000}$  (Lynch & Lande, 1998), 1.184 indivíduos ( $\pm 128$ ).

Como já citado, nem sempre o ponto de coleta para análise genética coincidiu com ponto amostral da equipe de campo da FURB. Entretanto, nos pontos onde houve coincidência, foi possível obter as densidades de indivíduos de canela-preta, no estrato arbóreo, e a partir destas densidades, extrapolar uma densidade de indivíduos na área do fragmento. Esta análise foi possível em 7 dos 17 fragmentos avaliados.



Todos os fragmentos, os quais se tem informação de densidade, tem número de indivíduos suficientes para alcançar o  $N_e50$  (Frankel & Soulé, 1981), ou seja, em curto prazo, não tem sua conservação genética ameaçada.

Para o  $N_e500$  (Franklin & Frankham, 1998), que trata da conservação genética em médio prazo, 5 dos 7 fragmentos com densidade conhecida tem número de indivíduos superior ao  $N_e500$  calculado, são eles, 5, 9, 10, 14 e 17 (Tabela 11).

Tratando-se de conservação em longo prazo, novamente, os mesmos 5 fragmentos citados anteriormente ultrapassaram em número de indivíduos o  $N_e1.000$  calculado (Lynch & Lande, 1998).

Os fragmentos 9 e 17, mesmo apresentando  $\hat{f}$  altos e significativos (0,176 e 0,243, respectivamente) ultrapassaram o  $N_e1.000$  (Lynch & Lande, 1998), por serem fragmentos relativamente grandes (720 ha e 300 ha, respectivamente). Este dado mostra a importância dos tamanhos de fragmento na mitigação dos efeitos de altos índices de fixação.

O fragmento 5 foi o que apresentou menor densidade dentre todos os que se tem informação (3 indivíduos.ha<sup>-1</sup>). No entanto, por apresentar uma área considerável (470 ha) e um baixo  $\hat{f}$  (0,093) também ultrapassou o  $N_e1.000$  (Lynch & Lande, 1998). Neste caso seria necessário um  $\hat{f}$  igual a 0,300 para que o  $N_e1.000$  fosse equivalente à densidade real. Novamente fica evidenciada a importância da manutenção de grandes fragmentos na conservação das espécies vegetais.

Pensando em coleta de sementes observando critérios genéticos, de imediato, podem ser indicados os fragmentos 5, 9, 10, 14 e 17 como prioritários. Isto por apresentarem densidade conhecida e superior ao  $N_e1.000$  (Lynch & Lande, 1998). Ou seja, pode-se afirmar com mais segurança, em relação aos outros, que tais fragmentos são capazes de suportar uma coleta de sementes representativa de 1.000 indivíduos, o suficiente para conservação genética em longo prazo.

Dos fragmentos que não se conhece a densidade real de canela-preta, pode ser indicada a coleta de sementes nos fragmentos 3, 12 e 13 por apresentarem grandes áreas (1.650 ha, 17.300 ha e 13.500 ha, respectivamente), independente dos valores de  $\hat{f}$ , pois o tamanho do fragmento possibilita, caso haja densidade, uma amostra bem espaçada.

Além destes, os fragmentos 1 e 16 apresentam tamanho consideráveis (460 ha e 100 ha, respectivamente), entretanto mostraram  $\hat{f}$  baixos e não significativos (0,097 e 0,045, respectivamente). Esta condição pode possibilitar uma coleta de sementes com boa

qualidade genética, entretanto, não se pode precisar o nível de representatividade da coleta por não se conhecer a real densidade de canela-preta nos fragmentos.

Assim, todas as bacias hidrográficas amostradas possuem, pelo menos, uma população onde a coleta de sementes é indicada. As populações 3, 9, 10, 13 e 14 estão na bacia Itajaí, as populações 1 e 12, na bacia Itapocú/Cubatão (Norte), as populações 16 e 17, na bacia Cubatão (Sul)/Biguaçu/Tijucas e a população 5 na bacia Tubarão/D'una/Madre.

Dentre os 9 fragmentos apontados como prioritários para coleta de sementes, 5 estão localizados em Unidades de Conservação. Esta situação, além de reforçar a importância das Unidades na conservação da espécie, pode favorecer o estabelecimento de áreas para coleta de sementes, com base em critérios genéticos.

Cabe ressaltar, que em função da espécie apresentar estrutura genética espacial, recomenda-se que a coleta de sementes observe uma distância mínima de 80 m entre indivíduos, visando diminuir a similaridade entre os mesmos, melhorando assim, a representatividade da amostragem (Tarazi *et al.*, 2010).

## 5.6 Medidas conservacionistas sugeridas

Tendo em vista a alta diversidade genética apresentada pelo conjunto das populações (0,196), bem como o alto índice de fixação (0,190) e a moderada divergência entre as populações (0,133), as ações conservacionistas em prol da espécie devem levar em consideração o aumento dos tamanhos populacionais, bem como, possibilitar um maior fluxo gênico entre as populações.

González-Solís *et al.* (2001) enfatizam que uma das melhores estratégias para conservação de populações de primatas, dentre eles o *B. arachnoides*, é a manutenção de grandes fragmentos florestais, livres de caça e desmatamento ilegais. Galetti *et al.* (1997) ressaltam que as maiores ameaças às populações de *P. jacutinga* são a caça e a perda do hábitat.

Neste sentido, a preservação de grandes fragmentos (pops. 3, 12, 13 e 14, por exemplo), é de fundamental importância, por possibilitar grandes tamanhos populacionais da espécie, mas, sobretudo, por viabilizar a coexistência de agentes dispersores e polinizadores, que influenciam diretamente o fluxo gênico das espécies.

Ressalta-se a importância da conservação dos fragmentos 1, 7 e 11, por serem os únicos a apresentarem o alelo 1 do loco GOT. Mesma situação para os fragmentos 3 e 16,

que são os únicos que apresentam o alelo 1 do loco G6PDH, e para os fragmentos 2, 12 e 17, únicos a apresentarem o alelo 3 do loco MDH 2.

A utilização da canela-preta em projetos de restauração ambiental pode ser uma boa alternativa para o aumento de seus tamanhos populacionais, bem como, da conectividade entre remanescentes.

Como exposto no item 5.3, em todas as bacias hidrográficas amostradas existe, ao menos, uma população em condições de suportar coletas de sementes que observem critérios genéticos. Tais populações podem servir como fonte de diversidade para a produção de mudas que venham a serem utilizadas em projetos de restauração ambiental localizados na bacia onde as sementes foram coletadas.

Novamente, visando aproveitar a diversidade genética encontrada para a espécie, o melhoramento genético também pode constituir-se numa boa alternativa para sua conservação. Apesar da canela-preta apresentar crescimento lento (Carvalho, 1994), o presente trabalho comprovou que existe uma grande diversidade potencial a ser explorada e que pode trazer bons resultados.

Experimentos de progênie e procedência aliados à micropropagação da espécie, que já é conhecida (Santa-Catarina *et al.*, 2005), podem captar, selecionar e maximizar a diversidade da espécie, visando, em médio prazo, a obtenção de variedades tolerantes ao plantio puro, ou com melhores taxas de crescimento, para serem utilizadas tanto na produção madeireira, quanto na restauração ambiental.

Como já mencionado, os índices de diversidade apresentados remontam eventos reprodutivos antigos. Mesmo assim, levando em consideração o histórico de exploração da espécie e seu ambiente, pode-se supor que os índices de diversidade e estrutura genética estejam consideravelmente piores nos eventos reprodutivos mais recentes. Isto é mais um indicativo da necessidade se adotar medidas efetivas de conservação para *O. catharinensis* no estado.

## **6.0 CONSIDERAÇÕES FINAIS**

As 17 populações de canela-preta avaliadas neste trabalho apresentaram alta diversidade genética média, bem como, elevado índice de fixação médio. Este último pode ter sido influenciado pela metodologia de coleta adotada.

Com relação à estrutura genética, esta se apresentou moderada entre as populações parecendo ser afetada, especialmente, pelas síndromes de polinização e dispersão e pelo efeito de “deriva genética” imposto pela exploração da espécie.

Quando agrupadas por bacias hidrográficas, as populações apresentam maiores valores médios de diversidade genética e índice de fixação, além de valores médios de divergência genética menores quando comparadas com a análise por populações não agrupadas.

O tamanho efetivo populacional médio foi cerca de 15% menor que tamanho amostral real, evidenciando o efeito dos índices de fixação encontrados. Com base nos tamanhos efetivos, diversidade genética, índices de fixação e áreas dos fragmentos foi apontada, ao menos uma população por bacia hidrográfica, como prioritária para coleta de sementes.

As estratégias de conservação para a espécie devem priorizar o aumento dos tamanhos populacionais e viabilizar o fluxo gênico entre as populações. A conservação de grandes fragmentos é de fundamental importância neste sentido, por possibilitar grandes tamanhos populacionais da espécie, mas, sobretudo, por viabilizar a coexistência de agentes dispersores e polinizadores, que influenciam diretamente o fluxo gênico das espécies. A utilização da canela-preta em projetos de restauração ambiental e seu melhoramento genético também podem ser duas alternativas para a conservação da mesma.

São imprescindíveis estudos sobre a biologia reprodutiva da espécie, no sentido de se poder compreender melhor como tal aspecto influencia os padrões genéticos encontrados.

Importantes também são estudos que avaliem o fluxo gênico contemporâneo da canela-preta, visando conhecer quais os efeitos da exploração da espécie e de seu ambiente em níveis de diversidade e estrutura genética mais recentes.

## 7.0 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALFENAS, A.C. (Ed.). 1998. **Eletroforese de isoenzimas e proteínas afins: fundamentos e aplicações em plantas e microorganismos**. Viçosa: Editora Universidade Federal de Viçosa.

ALTRAK, G.; MONTAGNA, T.; STEINER, F.; BITTENCOURT, R.; LOCH, F.A.S.S.; FERNANDES, C.D.; REIS, M.S. 2011. Geographic distribution and genetic diversity in 12 populations of *Podocarpus lambertii* Klotzsch ex Endl (pinho-bravo) in the state of Santa Catarina. In: **Resumos do 57º Congresso Brasileiro de Genética**.

BAITELLO, J.B. 2001. Novas espécies de Lauraceae para a flora brasileira. **Acta botânica brasileira** 15(3): 445-450.

BERG, E. E.; HAMRICK, J. L. 1997. Quantification of genetic diversity at allozyme loci. **Canadian Journal Forest Research**, Ottawa, v. 27, n. 3, p. 415-424.

BOTREL, M.C.G.; SOUZA, A.M.; CARVALHO, D.; PINTO, S.I.C.; MOURA, M.C.O.; ESTOPA, R.A. 2006. Caracterização genética de *Calophyllum brasiliense* Camb. em duas populações de mata ciliar. **Revista Árvore**, Viçosa, v.30, n.5, p.821-827.

BROTTO, M.L. 2010. Estudo taxonômico do gênero *Ocotea* Aubl. (Lauraceae) na Floresta Ombrófila Densa no estado do Paraná, Brasil. 101 p. **Dissertação de Mestrado**. Pós-Graduação em Botânica. Universidade Federal do Paraná.

CARVALHO, P.E.R. 1994. **Espécies florestais brasileiras: recomendações silviculturais, potencialidades e uso da madeira**. Colombo: EMBRAPA-CNPQ.

CONTE, R.; REIS M.S.; MANTOVANI, A.; VENCOSKY, R. 2008. Genetic structure and mating system of *Euterpe edulis* Mart. populations: a comparative analysis using microsatellite and allozyme markers. **J Hered.** 99(5):476–482.

CRISTOFOLINI, C.; SILVA, J.Z.; NAZARENO, A.G.; MONTAGNA, T.; STEINER, F.; LOCH, F.A.S.S.; REIS, M.S. 2011. Geographic distribution of genetic diversity in 20 natural populations of *Euterpe edulis* Martius (Palmiteiro) in the Santa Catarina State. In: **Resumos do 57º Congresso Brasileiro de Genética**.

DICK, C.W.; HARDY, O.J.; JONES, F.A.; PETIT, R. 2008. Spatial scales of pollen and seed-mediated gene flow in tropical rain forest trees. **Trop Plant Biol** 1:20–33.

ESTOUP, A.; ROUSSET, F.; MICHALAKIS, Y.; CORNUET, J.M.; ADRIAMANGA, M.; GUYOMARD, R. 1998. Comparative analysis of microsatellite and allozyme markers: a case study investigating microgeographic differentiation in brown trout (*Salmo trutta*). **Mol Ecol.** 7:339–353.

ELLSTRAND, N.C. & ELAM D.R. 1993. Population genetic consequences of small population size: Implications for plant conservation. **Annu. Rev. Ecol. Syst.** 24 p. 217–242.

FERNANDES, C.D.; MONTAGNA, T.; LOCH, F.A.S.S.; STEINER, F.; NAZARENO, A.G.; BITTENCOURT, R.; REIS, M.S. 2011. Geographical distribution of genetic diversity in nine natural populations of *Butia catarinensis* Noblick & Lorenzi (Arecaceae) of the Santa Catarina State. In: **Resumos do 57º Congresso Brasileiro de Genética**.

FERREIRA, M.E. & GRATTAPAGLIA, D. 1998. **Introdução ao uso de marcadores moleculares em análise genética**. 3. ed. Brasília: Embrapa-Cenargen, 220 p.

FIGUEREDO, L.G.U.; MONTAGNA, T.; FERNANDES, C.D.; SILVA, J.Z.; ALTRAK, G.; LOCH, F.A.S.S.; STEINER, F. Diversidade e estrutura genética em nove populações de Canela Sassafrás no Estado de Santa Catarina. In: **Anais do 21º SIC da UFSC**. Disponível em: <<http://formulario.pibic.ufsc.br/pub/verResumo/122921>> Acesso em: 20 de novembro de 2011.

FRANKHAM, R. 2003. Genetics and conservation biology. **C. R. Biologies**. 326. S22–S29.

FRANKEL, O.H. & SOULÉ, M.S. 1981. **Conservation and Evolution**. London: Cambridge University Press. 327 p.

FRANKLIN, I.R. & FRANKHAM, R. 1998. How large must populations be to retain evolutionary potential? **Anim. Conserv.** 1: 69-70.

FREVILLE, H.; JUSTY, F.; OLIVIERI, I. 2001. Comparative allozyme and microsatellite population structure in a narrow endemic plant species, *Centaurea corymbosa* Pourret (Asteraceae). **Mol Ecol**. 10:879–889.

GALETTI, M.; MARTUSCELLI, P.; OLMOS, F.; ALEIXO, A. 1997. Ecology and conservation of the jacutinga (*Pipile jacutinga*) in the Atlantic forest of Brazil. **Biol. Conserv.** 82:31–39.

GAO, L.Z.; SCHAAL, B.A.; ZHANG, C.H.; JIA, J.Z.; DONG, Y.S. 2002. Assessment of population genetic structure in common wild rice *Oryza rufipogon* Griff. using microsatellite and allozyme markers. **Theor Appl Genet**. 106:173–180.

GONZÁLEZ-SOLÍS, J.; GUIX, J.C.; MATEOS, E.; LLORENS, L., 2001. Population density of primates in a large fragment of Brazilian Atlantic forest. **Biodiversity and Conservation** 10: 1267-1282.

GOUDET, J. 2001. FSTAT, a program to estimate and test gene diversities and fixation indices (version 2.9.3).

HAMRICK, J.L. 1983. The distribution of genetic variation and among natural plant populations. In: SCHONEWALD-COX, C.M.; *et al.* (Ed.). **Genetics and conservation**. Menlo Park: The Benjamin/Cummings Publishing Company. p.335-348.

HAMRICK, J.L.; GODT, M.J.W. 1989. Allozyme diversity in plant species. In: SOLTIS, D.E.; SOLTIS, P.S. (Ed.) **Isozymes in plant biology**. Portland: Discorides Press, p.43-63.

HAMRICK, J.L.; GODT, M.J.W.; SHERMAN-BROYLES, S.L. 1992 Factors influencing levels of genetic diversity in woody plant species. **New Forest**, 6:95–124.

HEDRICK, P. 2005. A Standardized Genetic Differentiation Measure. **Evolution**. 59: 1633-1638.

HUNTER, R.L. & MARKERT, C.L. 1957. Histochemical demonstration of enzymes separated by zone electrophoresis in starch gels. **Science**, 125, 1294-1295.

IBAMA. 1992. Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e Recursos Renováveis. Espécies Ameaçadas de Extinção: Portaria nº 37-N. Brasília.

IUCN. 2011. Disponível em <<http://www.iucnredlist.org>> Acesso em: 28 de setembro de 2011.

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

KAGEYAMA, P.; SEBBENN, A.M.; RIBAS, L.A.; GANDARA, F.B.; CASTELLEN, M.; PERECIM, M.B.; VENCOVSKY, R. 2003. Diversidade genética em espécies arbóreas tropicais de diferentes estágios sucessionais por marcadores genéticos. **Scientia Forestalis**. 60, 93-107.

KEPHART, S.R. 1990. Starch gel electrophoresis of plant isozymes: a comparative analysis of techniques. **Am J Bot.** 77:693–712.

KLEIN, R.M. 1979. **Mapa fitogeográfico do Estado de Santa Catarina**. Itajaí: Herbário Barbosa Rodrigues. 24p.

KLEIN, R.M. 1980. Ecologia da flora e vegetação do Vale do Itajaí. **Sellowia**, 30 e 31.

LEWIS, P.O & ZAYKIN, D. 2001. **Genetic Data Analysis (GDA)**: Computer program for the analysis of allelic data. Versão 1.0.

LI, C.C. **Population genetics**. 1976. Chicago: University Chicago Press, 366 p.

LOCH, D.S.S.; MONTAGNA, T.; BITTENCOURT, R.; LOCH, F.A.S.S.; STEINER, F.; MANTOVANI, A.; REIS, M.S. 2011. Geographic distribution of genetic diversity in 13 natural populations of *Ocotea porosa* (Nees ex. Mart.) from Santa Catarina State: characterization and perspectives to conservation. In: **Resumos do 57º Congresso Brasileiro de Genética**.

LOCH, F.A.S.S. 2011. Caracterização da diversidade e estrutura genética de populações naturais de *Calophyllum brasiliense* (Clusiaceae) em Santa Catarina e implicações para a coleta de sementes. 71 p. **Trabalho de Conclusão de Curso**. Curso de Agronomia. Universidade Federal de Santa Catarina.

LOVELESS, M.D. & HAMRICK, J.L. 1984. Ecological determinants of genetic structure in plant populations. **Annual Review of Ecology and Systematics**. 15: 65-95.

LYNCH, M. & LANDE, R. 1998. The critically effective size for a genetically secure population. **Anim. Conserv.** 1: 70-72.

MANTEL N. & VALAND R.S. 1970. A technique of nonparametric multivariate analysis. **Biometrics**. 26 : 547-558.

MARKET, C.L. & MOLLER, F. 1959. Multiple forms of enzymes: tissue, ontogenetic, and species specific patterns. **Proceedings of Natural Academic Science**, v.45, p.753-763.

MARQUES, C.A. 2001. Importância econômica da família Lauraceae Lindl. **Revista Floresta e Ambiente**, v. 8, n. 1, p. 195-206.

MARTINS, M.M. 2006. Comparative Seed Dispersal Effectiveness of Sympatric *Alouatta guariba* and *Brachyteles arachnoides* in Southeastern Brazil. **Biotropica**. 38(1): 57-63.

MILTON, K. 1984. Habitat, diet, and activity patterns of free-ranging woolly spider monkeys (*Brachyteles arachnoides* E. Geoffroy, 1806). **Int. J. Primatol.** 5:491–513.

MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE. 2008. **Instrução Normativa nº 06**. Disponível em: <[http://www.mma.gov.br/estruturas/ascom\\_boletins/\\_arquivos/83\\_19092008034949.pdf](http://www.mma.gov.br/estruturas/ascom_boletins/_arquivos/83_19092008034949.pdf)> Acesso em: 13 de setembro de 2011.

MONTAGNA, T.; MATTOS, A.G.; ALTRAK, G.; LOCH, F.A.S.S.; BITTENCOURT, R.; MANTOVANI, A.; REIS, M.S. 2011. Geographic distribution and genetic diversity in 30 natural populations of *Dicksonia sellowiana* (Presl.) Hooker (Dicksoniaceae) from Santa Catarina State: characterization and perspectives to the conservation. In: **Resumos do 57º Congresso Brasileiro de Genética**.

MORAES, P.L.R.; PAOLI, A.A. 1999. Morfologia e estabelecimento de plântulas de *Cryptocarya moschata* Nees, *Ocotea catharinensis* Mez. e *Endlicheria paniculata* (Spreng.)—Lauraceae. **Rev Bras Bot** 22:287–295.

MORAES, P.L.R. & PAOLI, A.A. 1995. Dispersão e germinação de sementes de *Cryptocarya moschata* Nees & Martius ex Nees, *Ocotea catharinensis* Mez. e *Endlicheria paniculata* (Sprengel) Mac- bride (Lauraceae). **Arq. Biol. Technol.** 38:1119–1129

NASON, J.D. & HAMRICK, J.L. 1997. Reproductive and genetic consequences of forest fragmentation – two case studies of neotropical canopy trees. **J. Heredity** 88: 264–276.

NAZARENO, A.G. & CARVALHO, D. 2009. What the reasons for no inbreeding and high genetic diversity of the neotropical fig tree *Ficus arpazusa*? **Conserv. Genet.** 10:1789-1793.

NEEL, M.C. & CUMMINGS, M.P. 2004. Effectiveness of conservation targets in capturing genetic diversity. **Conserv. Biol.** 17. pp. 219–229.

NEEL, M.C. & ELLSTRAND, N.C. 2003. Conservation of genetic diversity in the endangered plant *Eriogonum ovalifolium* var. *vineum* (Polygonaceae). **Conservation Genetics** 4:337,352.

NEI, M. 1973. Analysis of gene diversity in subdivided populations. **Proc Natl Acad Sci USA.** 70:3321–3323.

NEI, M. 1977. F-statistics and analysis of gene diversity in subdivided populations. **Ann. Hum. Genet.** 41:225-233.

NODARI, R.O.; GUERRA, M.P.; STEFENON, V.M. 2008. **Apostila de Biotecnologia**. Disponível em: <[www.lfdgv.ufsc.br](http://www.lfdgv.ufsc.br)> Acesso em: 20 de setembro de 2011.

PINTO, L.R.; VIEIRA, M.L.C.; SOUZA, A.P.; SOUZA JUNIOR, C.L. 2001. Isoenzimas e microssatélites em plantas: aspectos técnicos e interpretação genética. **Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento.** n.20. maio/junho.

PRIMACK, R.B. 2004. **A primer of conservation biology.** 3 ed. Sinauer Associates, Inc. Publishers, Sunderland, U.S

REED, D.H. & FRANKHAM, R. 2003. Correlation between Fitness and Genetic Diversity **Conserv. Biol.** 17, 230–237.



REIS, A. & WIESBAUER, M.B. 2006. O uso de sementes na restauração florestal. In: HIGA, A.R.; SILVA, L.D. **Pomares de sementes de espécies florestais nativas**. Curitiba: FUPEF, 2006. p. 83-93.

REIS, M.S. 1996. 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.

REIS, M.S.; MATTOS, A.G.; MONTAGNA, T.; STEINER, F.; FERNANDES, C.D.; LOCH, F.A.S.S.; ALTRAK, G. 2011. Distribution of genetic diversity in natural populations of *Myrocarpus frondosus* Freire Allemão (Cabreúva) in remnants of Deciduous Forests (Floresta Estacional Decidual), Santa Catarina State. In: **Resumos do 57º Congresso Brasileiro de Genética**.

REITZ, R.; KLEIN, R.M.; REIS, A. 1978. Projeto Madeira de Santa Catarina. **Sellowia**, Itajaí, n.28-30, p.3-320.

SANTA-CATARINA, C.; MOSER, J.R.; BOUSON, Z.L.; FLOH, E.I.S.; MARASCHIN, M.; VIANA, A.M.; 2005. Protocol of somatic embryogenesis: *Ocotea catharinensis* Mez (Lauraceae). In: Jain SM, Gupta PK (eds) **Protocol for somatic embryogenesis in woody plants**. Springer, pp. 427-443.

SCHUSSLER, G.; ZECHINI, A.A.; CRISTOFOLINI, C.; FIGUEREDO, L.G.U.; STEINER, F.; MONTAGNA, T.; REIS, M.S. 2011. Distribution of genetic diversity in natural populations of the Vulnerable Species *Cedrela fissilis* Vell. (Meliaceae) in estacional decidual forest remaining, Santa Catarina State, Southern Brazil. In: **Resumos do 57º Congresso Brasileiro de Genética**.

SEBBENN, A.M. 2002. Número de árvores matrizes e conceitos genéticos na coleta de sementes para reflorestamentos com espécies nativas. **Revista do Instituto Florestal**, v.14, n.2, p.115-132.

SEOANE, C. E. S.; KAGEYAMA, P. Y.; RIBEIRO, A.; MATIAS, R.; REIS, M. S.; BAWA, K. S.; SEBBENN, A. M. 2005. Efeitos da fragmentação florestal sobre a imigração de sementes e a estrutura genética temporal de populações de *Euterpe edulis* Mart. **Revista do Instituto Florestal**, v. 17, n. 1, p. 24-43.

SILVA, A.D. 2009. Ecologia reprodutiva e polinização por tripes (Thysanoptera) em *Ocotea porosa* (Lauraceae), uma espécie ameaçada de extinção. 43 p. **Dissertação de Mestrado**. Pós-Graduação em Ecologia e Conservação. Universidade Federal do Paraná.

STEINER, F.; ALTRAK, G.; MONTAGNA, T.; FERNANDES, C.D.; LOCH, F.A.S.S.; LOCH, D.S.S.; REIS, M.S. 2011. Distribution of genetic diversity in natural populations of *Apuleia leiocarpa* (Vogel) Macbride (Grápia) in Deciduous Forests (Floresta Estacional Decidual) remnants. In: **Resumos do 57º Congresso Brasileiro de Genética**.

SUN, G.L.; DÍAZ, O.; SALOMON, B.; VON BOTMER, R. 2001. Genetic diversity and structure in a natural *Elymus caninus* population from Denmark based on microsatellite and isozyme analyses. **Plant Syst Evol**. 227:235–244.

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

VIBRANS, A.C.; SEVEGNANI, L.; LINGNER, D.V.; DE GASPER, A.L.; SABBAGH, S. 2010. Inventário Florístico Florestal de Santa Catarina (IFFSC): aspectos metodológicos e operacionais. **Pesquisa Florestal Brasileira**, v. 30, n. 64, p. 291-302.

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

WERFF, H.V.D.; RITCHER, H.G. 1996. Toward and improved classification of Lauraceae. **Annals of the Missouri Botanical Garden**, v. 83, p. 409-418.

WRIGHT, S. 1931. Evolution in Mendelian populations. **Genetics**, 16: 97-159.

WRIGHT, S. 1951. The genetical structure of populations. **Annals of Eugenics**, 15: 395-420.

ZAÚ, A.S. 1998. Fragmentação da Mata Atlântica: aspectos teóricos. **Floresta e Ambiente**. Vol. 5(1):160-170, jan./dez.

ZECHINI, A.A.; SCHUSSLER, G.; CRISTOFOLINI, C.; BITTENCOURT, R.; MONTAGNA, T.; MANTOVANI, A.; REIS, M.S. 2011. Geographic distribution of genetic diversity of *Araucaria angustifolia* populations in Santa Catarina State: conservation perspectives to a threatened species from Atlantic Rainforest. In: **Resumos do 57º Congresso Brasileiro de Genética**.