



**UDESC**

**UNIVERSIDADE DO ESTADO DE SANTA CATARINA – UDESC**

**CENTRO DE CIÊNCIAS AGROVETERINÁRIAS – CAV**

**PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM PRODUÇÃO VEGETAL - PPGPV**

TESE DE DOUTORADO

**ESTRUTURA, DIVERSIDADE GENÉTICA E AUTOCORRELAÇÃO  
ESPACIAL DE *Ocotea odorifera* (Vell.) Rohwer EM  
REMANESCENTES FLORESTAIS NA REGIÃO DO ALTO  
URUGUAI CATARINENSE**

**THIELY CORAZZA**

**LAGES, SC  
2019**



**THIELY CORAZZA**

**ESTRUTURA, DIVERSIDADE GENÉTICA E AUTOCORRELAÇÃO  
ESPACIAL DE *Ocotea odorifera* (Vell.) Rohwer EM REMANESCENTES  
FLORESTAIS NA REGIÃO DO ALTO URUGUAI CATARINENSE**

Tese apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Produção Vegetal da Universidade do Estado de Santa Catarina, como requisito parcial para o título de Doutor em Produção Vegetal.

Orientador: Dr. Adelar Mantovani

**LAGES, SC  
2019**

**Ficha catalográfica elaborada pelo programa de geração automática da  
Biblioteca Setorial do CAV/UEDESC,  
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)**

Corazza, Thiely

Estrutura, diversidade genética e autocorrelação espacial de  
Ocotea odorifera (Vell.) Rohwer em remanescentes florestais na  
região do Alto Uruguai catarinense / Thiely Corazza. -- 2019.  
69 p.

Orientador: Adelar Mantovani

Coorientador: Altamir Frederico Guidolin

Tese (doutorado) -- Universidade do Estado de Santa Catarina,  
Centro de Ciências Agroveterinárias, Programa de Pós-Graduação  
em Produção Vegetal, Lages, 2019.

1. Variabilidade genética. 2. Estrutura genética. 3. Estrutura  
genética espacial. I. Mantovani, Adelar. II. Guidolin, Altamir  
Frederico. III. Universidade do Estado de Santa Catarina, Centro de  
Ciências Agroveterinárias, Programa de Pós-Graduação em  
Produção Vegetal. IV. Título.

THIELY CORAZZA

**ESTRUTURA, DIVERSIDADE GENÉTICA E AUTOCORRELAÇÃO  
ESPACIAL DE *Ocotea odorifera* (Vell.) Rohwer EM REMANESCENTES  
FLORESTAIS NA REGIÃO DO ALTO URUGUAI CATARINENSE**

Tese apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Produção Vegetal da Universidade do Estado de Santa Catarina, como requisito parcial para o título de Doutor em Produção Vegetal.

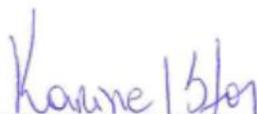
**Banca examinadora:**

**Orientador:**



Prof. Dr. Adelar Mantovani  
UDESC/ Lages, SC (Presidente)

**Membros:**



Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Karine Louise dos Santos  
UFSC/ Curitibanos, SC (Membro externo)



Prof. Dr. Tássio Dresch Rech  
EPAGRI/ Lages, SC (Membro externo)



Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Denise Olkoski  
IFRS/ Erechim, RS (Membro externo)



Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Luciana Magda de Oliveira  
UDESC/ Lages, SC (Membro interno)

Lages, 28 de fevereiro de 2019.



## AGRADECIMENTOS

À minha mãe, Eliete, e ao meu pai, Delmar, por serem meus exemplos de força e determinação. Por me mostrarem que eu posso ir além, se houver dedicação para isso. Por sempre acreditarem na minha capacidade de superação. Pelo incentivo constante aos estudos e à carreira que eu escolhi seguir. Pelo amor, carinho e tranquilidade nos momentos difíceis. Por estarem sempre presente, mesmo que, às vezes, de longe, em todas as etapas da minha vida, comemorando as minhas vitórias e me apoiando quando as coisas não vão muito bem.

Ao meu namorado, Gabriel, pelo apoio e incentivo constantes. Por não me deixar desistir nos momentos em que eu senti a pressão de realizar duas atividades ao mesmo tempo. Por estimular o meu crescimento pessoal e profissional. Pelo amor, carinho e cuidado diários.

À minha irmã, Michelle, e ao meu cunhado, Rafael, pelo incentivo. Pelo apoio nos momentos difíceis, pela amizade, amor e carinho. Por me darem o maior presente, Augusto, que ainda nem chegou e já me transmite tanta alegria.

À minha Luna, por alegrar meus dias e não me deixar abater.

À minha vó, Edith (*in memoriam*), pelas orações, pela fé e por acreditar na minha capacidade. Pelos ensinamentos, pelas palavras de carinho e pela preocupação que sempre teve comigo.

Aos meus sogros, Elisabeth e Nelson, por me acolherem como filha, por me apoiarem e incentivarem constantemente o meu progresso.

À minha família (pais, irmã, tios, primos, vô) por dedicarem tanto carinho. Por transmitirem alegria e descontração em todos os encontros.

Ao meu orientador, Adelar Mantovani, pelos ensinamentos, incentivo e pela confiança em orientar um trabalho em uma área nova para mim.



Aos amigos Newton e Lilian, por estarem sempre dispostos a ajudar e contribuir em todas as etapas do trabalho. Por me darem uma baita mão nas extrações de DNA e nas análises, e estarem sempre com o whatsapp disponível nos momentos de dúvida (que não foram poucos... hehehe). Pela amizade, pelas conversas e trocas de informações.

Aos colegas do Laboratório de Genética pela ajuda nos campos e no laboratório, pela troca de informações e pelas conversas.

Aos colegas e amigos do Sigma pelo incentivo à minha qualificação profissional, pelas conversas e descontração. Por me acolherem tão bem.

A todos os meus amigos, que deram força e compreenderam minha ausência em diversos momentos. Pela amizade, alegria, bom humor, mates e conversas agradáveis.

Aos professores do DNA UDESC, Altamir, Denise e Flávia, pelos ensinamentos, pela ajuda no sequenciador e na interpretação dos meus resultados.

Aos professores da PGPV da UDESC, que contribuíram para a minha formação.

Ao IMA pela autorização à pesquisa no Parque Estadual Fritz Plaumann.

A Capes, pela concessão da bolsa de doutorado durante os três primeiros anos.

A todos que, de alguma forma, contribuíram para que esse trabalho pudesse ser realizado, minha eterna gratidão!



## RESUMO

CORAZZA, Thiely. **Estrutura, Diversidade Genética e Autocorrelação Espacial de *Ocotea odorifera* (Vell.) Rohwer em remanescentes florestais na região do Alto Uruguai Catarinense.** Tese (Doutorado em Produção Vegetal) - Universidade do Estado de Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação em Ciências Agrárias, Lages, SC, 2019.

O objetivo desse trabalho foi avaliar a diversidade, estrutura genética e a autocorrelação espacial de *O. odorifera*, em populações de dois remanescentes florestais de tamanhos distintos, próximos geograficamente, por meio de marcadores microssatélites. Com isso, buscou-se verificar questões como a proporcionalidade entre o tamanho do remanescente e a diversidade genética; os processos de endogamia que atuam, o fluxo gênico entre os remanescentes e a estrutura genética espacial entre os indivíduos adultos. O estudo foi conduzido em dois remanescentes florestais, no município de Concórdia, SC: o Parque Municipal Fritz Plaumann (PEFP) e uma propriedade particular com fragmento florestal de 15 hectares. Ambas as áreas possuem histórico de fragmentação florestal e, após esse evento, se mantêm inalteradas. A coleta de folhas frescas de adultos e regenerantes da espécie foi realizada por meio da metodologia de caminhamento. Na propriedade particular foi feita a varredura de todo o fragmento, no qual foram mapeados e coletados tecidos vegetais de todos os indivíduos adultos encontrados (perímetro a altura do peito superior ou igual a 25 cm). No PEFP foi definido um ponto central no fragmento, a partir do qual foi realizada uma varredura para a coleta e marcação de 100 indivíduos adultos, em uma área amostral circular de aproximadamente 5 ha. O indivíduo adulto que estava no ponto central da amostragem de cada área serviu como ponto de partida para a varredura de todos os regenerantes com até 20 cm de altura, de maneira que totalizassem 100 indivíduos em cada remanescente. Foi realizada extração do DNA genômico e amplificação via PCR com os locus desenvolvidos para *O. odorifera*. A diversidade genética foi estimada por meio dos índices: número médio de alelos por loco ( $A$ ), número médio de alelos efetivos por locus ( $A_e$ ), heterozigosidade observada ( $H_o$ ), e heterozigosidade esperada ( $H_e$ ) em equilíbrio de Hardy-Weinberg, índice de fixação de alelos ( $F$ ) e número de alelos privados ( $A_{pr}$ ). A estrutura genética foi verificada pelo índice de fixação e confirmada por AMOVA. A estrutura genética espacial (EGE) foi estimada por análise de autocorrelação, usando um coeficiente de coancestria ( $\theta_{xy}$ ). A intensidade da estrutura genética espacial foi estimada pela estatística  $S_p$ . Foram encontrados 128 alelos nos 423 indivíduos analisados. A diversidade genética foi elevada nas duas populações, porém sem diferença significativa entre os parâmetros. A média no índice de fixação de alelos foi positiva e significativamente diferente de zero entre adultos e regenerantes das populações, com valores entre 0,17 (IC 0,08 - 0,26) e 0,28 (IC 0,14 - 0,43). Houve uma baixa diferenciação entre as populações, com média de fixação de alelos de 0,8% para adultos e 10% para regenerantes. O índice de fixação dentro de cada população apresentou uma média de 18,4 % entre adultos e 19% entre regenerantes, sugerindo endogamia. O número de alelos privados foi elevado, principalmente entre os indivíduos adultos, sugerindo que nem todos estão sendo repassados ao longo das gerações. Não houve estrutura genética espacial em nenhuma classe de distância, nas duas populações amostradas. Dessa maneira, percebe-se que manter remanescentes pequenos, mesmo que isolados na paisagem, é muito importante, pois as populações tem capacidade de se manter viáveis ao longo de muitas gerações, devido à alta variabilidade genética existente entre as matrizes.

**Palavras-chave:** Autocorrelação espacial; diversidade genética; estrutura genética; endogamia; marcadores microssatélites.



## ABSTRACT

CORAZZA, Thiely. **Structure, genetic diversity and spatial autocorrelation of *Ocotea odorifera* (Vell.) Rohwer in forest remnants in the Alto Uruguai Catarinense region.** Thesis (Doctorate in Plant Production) – Santa Catarina State University, 2019.

The objective of this work was to evaluate the diversity, genetic structure and spatial autocorrelation (spatial genetic structure) of *O. odorifera*, in populations of two forest remnants of different sizes, geographically close, with microsatellite markers. Thus, we tried to verify questions such as the proportionality between the size of the remnant and the genetic diversity; the processes of inbreeding, the flow of pollen between the remnants, and the relationship between adult individuals. The study was conducted in two forest remnants, in the municipality of Concórdia, SC: the Fritz Plaumann Municipal Park (PEFP) and a private property with a forest fragment of 15 hectares. Both areas have a history of forest fragmentation and, after this event, remain unchanged. The collection of fresh leaves of adults and regenerants of the species was performed using the walking methodology. In the private property the entire fragment was scanned, in which plant tissues of all the adult individuals found were mapped and collected (perimeter at chest height greater than or equal to 25 cm). In the PEFP, a central point was defined in the fragment, from which a scan was carried out for the collection and marking of 100 adult individuals, in a circular sample area of approximately 5 ha. The adult individual who was at the central point of the sampling of each area served as the starting point for the scanning of all regenerants up to 20 cm high, so that they totaled 100 individuals in each remnant. Extraction of genomic DNA and amplification via PCR was performed with the locus for *O. odorifera*. The genetic diversity was estimated by means of the indices: average number of alleles per locus (A), average number of effective alleles per locus ( $A_e$ ), observed heterozygosity ( $H_o$ ), and expected heterozygosity ( $H_e$ ) in Hardy-Weinberg equilibrium, allele fixation index (F) and number of private alleles ( $A_{pr}$ ). The genetic structure was verified by the fixation index and confirmed by AMOVA. The spatial genetic structure (SGS) was estimated by autocorrelation analysis, using the coefficient of coancestry ( $\theta_{xy}$ ). The intensity of the spatial genetic structure was estimated by the  $S_p$  statistic. 128 alleles were found in the 423 individuals analyzed. Genetic diversity was high in both populations, but with no significant difference between the parameters. The mean allele fixation index was positive and significantly different from zero among adult and regenerating populations, with values between 0.17 (IC 0.08 - 0.26) and 0.28 (CI 0.14 - 0.43). There was a low differentiation between populations, with mean allele fixation of 0.8% for adults and 10% for regenerants. The index of fixation within each population presented an average of 18.4% between adults and 19% among regenerants, suggesting inbreeding. The number of private alleles was high (17 alleles), especially among adult individuals, suggesting that not all are being passed on over the generations. There was no spatial genetic structure in any distance class in the two sampled populations. In this way, it is perceived that maintaining small remnants, even if isolated in the landscape, is very important, since the populations have the capacity to remain viable for many generations, due to the high genetic variability among the matrices.

**Keywords:** Spatial autocorrelation; Genetical diversity; genetic structure; endogamy; microsatellite markers.



## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Mapa de probabilidade de ocorrência de *Ocotea odorifera*, de acordo com as variáveis necessárias para a ocorrência da espécie e baseado em registros de amostras botânicas disponíveis em plataformas de dados online. .... 24
- Figura 2.** Planta e frutos de *Ocotea odorifera*: a) indivíduo adulto; b) indivíduo regenerante; c) fruto imaturo; d) fruto em três estágios – início da frutificação, crescimento do fruto e fruto maduro. .... 25
- Figura 1.** Mapa de localização da área de estudo, situada no município de Concórdia, SC ..... 40
- Figura 2.** Imagem de satélite com delimitação do Parque Estadual Fritz Plaumann (linha verde) e Zona de Amortecimento (linha vermelha) ..... 41
- Figura 3.** Mapa de zoneamento do Parque Estadual Fritz Plaumann. Linha pontilhada na Zona Primitiva (em verde) indica a localização da área de estudo ..... 42
- Figura 4.** Imagem de satélite da Propriedade particular. A linha verde indica a área florestal ..... 43
- Figura 5.** Mapa de localização da área de estudo, situada no município de Concórdia, SC, com representação da metodologia de coleta do material genético ..... 44
- Figura 6.** Distribuição diamétrica dos indivíduos adultos de *O. odorifera*, nas duas áreas amostradas em Concórdia, SC ..... 48
- Figura 7.** Distribuição de altura dos indivíduos de *O. odorifera*, nas duas áreas amostradas em Concórdia, SC ..... 49
- Figura 1.** Relação entre coeficiente de coancestria ( $\theta_{xy}$ ) e classes de distância (m), para os indivíduos adultos das duas áreas amostradas ..... 64



## LISTA DE TABELAS

- Tabela 1.** Caracterização dos oito locos microssatélites desenvolvidos por Martins et al., (2014) para *Ocotea odorifera* ..... 45
- Tabela 2.** Índices de diversidade genética para duas populações de *O. odorifera*, incluindo indivíduos adultos e regenerantes ..... 50
- Tabela 3.** Parâmetros de estrutura genética e particionamento entre populações adultas de *Ocotea odorifera*, estimados por oito locus microssatélites, usando estatística F (WRIGHT, 1951) e Análise de Variância Molecular (AMOVA) ..... 50
- Tabela 4.** Parâmetros de estrutura genética e particionamento entre populações de indivíduos regenerantes de *Ocotea odorifera*, estimados por oito locus microssatélites, usando estatística F (WRIGHT, 1951) e Análise de Variância Molecular (AMOVA).  
..... 51
- Tabela 1.** Parâmetros espaciais usados para quantificar a estrutura genética espacial dentro de cada uma das populações ..... 65



## SUMÁRIO

Introdução e Justificativa .....	21
Referencial Teórico .....	23
Formação florestal .....	23
A espécie .....	24
Importância Econômica .....	27
Fragmentação de habitats e consequências genéticas .....	28
Diversidade, estrutura genética e autocorrelação espacial .....	29
Microssatélites .....	31
Referências Bibliográficas .....	33
Capítulo I .....	37
Diversidade e estrutura genética em populações de <i>Ocotea odorifera</i> (Vell.) Rohwer .....	37
Introdução .....	38
Material e métodos .....	39
Espécie .....	39
Área de estudo .....	39
Descrição das áreas de estudo .....	40
Parque Estadual Fritz Plaumann (PEFP) .....	40
Propriedade Particular (PP) .....	43
Coleta de amostras .....	43
Extração, amplificação e genotipagem do DNA.....	45
Análise de dados .....	46
Resultados .....	47
Caracterização dos indivíduos .....	47
Diversidade genética .....	49
Estrutura genética .....	50
Discussão .....	51
Caracterização dos indivíduos .....	51
Diversidade genética .....	52
Estrutura genética .....	54
Conclusões .....	54



Referências Bibliográficas .....	56
Capítulo II .....	61
Estrutura genética espacial de <i>Ocotea odorifera</i> (Vell.) Rower em remanescentes do oeste catarinense .....	61
Introdução .....	62
Material e métodos .....	63
Análise de dados .....	63
Resultados .....	64
Discussão .....	65
Conclusões .....	66
Referências Bibliográficas .....	67
Considerações Finais .....	69



## Introdução e Justificativa

O Brasil é considerado o país com maior biodiversidade do planeta. Possui remanescentes florestais ainda conservados e representa uma relevante fonte de diversidade biológica. Mesmo com tanta importância, pouco tem sido feito para preservar essa riqueza natural, e o planejamento para a efetiva conservação desses recursos ainda é escasso. Grande parte dos biomas brasileiros sofre com a destruição de ecossistemas, o que acarreta em perdas irreversíveis na diversidade de espécies. Esse processo gera consequências demográficas e tem influência direta na composição genética de uma população, atuando na redução dos níveis de variabilidade genética e ocasionando, dessa maneira, a redução na adaptação das espécies às mudanças ambientais.

Dentre as espécies que sofreram com esse uso intensivo dos recursos naturais encontra-se a *Ocotea odorifera* (Vell.) Rower, popularmente conhecida como canela-sassafrás, e pertence à família Laeaceae. A canela sassafrás possui ampla distribuição geográfica, que vai desde o sul do Rio Grande do Sul até a Bahia, com adequabilidade de ocorrência, principalmente, nas regiões em que os solos são rasos e com rápida drenagem. Apesar dessa ampla distribuição, ela ocorre de forma pouco frequente nas florestas, sendo possível encontrar densos povoamentos em determinados lugares e ausência de indivíduos em outras áreas, no mesmo remanescente florestal.

Em décadas passadas, a espécie possuía um alto valor comercial, devido à qualidade da madeira e ao óleo essencial, o safrol, que pode ser extraído de todas as partes da planta, inclusive da raiz. Como o óleo possui várias propriedades e pode ser empregado em diversos ramos da indústria, as florestas do sul do Brasil eram as mais visadas para esse fim, pois os indivíduos de *O. odorifera* possuem um teor maior de óleo do que indivíduos extraídos em outras regiões.

Devido à preocupação com relação ao seu estado de conservação, Corazza et al. (2015, dados não publicados) planejaram um estudo sobre a organização espacial da espécie em remanescentes isolados, com diferentes tamanhos e condições micro-ambientais, a fim de avaliar se esses fatores interferem na abundância de indivíduos e na distribuição espacial. Verificou-se que a distribuição espacial de *O. odorifera* não segue um padrão específico de agregação ou aleatoriedade. Também não possui padrão característico na dependência de distribuição espacial entre classes de tamanho. Essa organização espacial tem relação com o tamanho do remanescente (tendo influência direta sobre a abundância de indivíduos) e com diferenças micro-ambientais (como ambientes de interior e borda dos remanescentes). Assim, os ambientes de interior de florestas diferiram significativamente dos ambientes de borda

florestal com relação à abundância de indivíduos, distribuição e dependência espacial. Da mesma maneira, em cada tamanho de remanescente houve um padrão diferente, para os mesmos parâmetros avaliados, como agregação em escalas de distância mais amplas nos remanescentes menores do que nos remanescentes maiores.

Com base nas informações de que a espécie tem preferência por ambientes mais conservados, mas consegue se manter em locais com menor apelo conservacionista, viu-se a necessidade de ampliar o conhecimento científico acerca da diversidade genética ainda existente nessas populações pequenas e isoladas, assim como a forma com que esses padrões genéticos se distribuem nas populações. Aliado a isso, espera-se que, a partir de conhecimentos sobre a estrutura genética e aos fatores reprodutivos que já foram estudados, se iniciem ações conservacionistas, pensando nessa espécie que é tão importante nas nossas florestas e está tão ameaçada.

O conhecimento sobre a diversidade e estrutura genética de uma espécie é muito importante para verificar o potencial evolutivo de uma população. Além de facilitar a compreensão das relações inter e intrapopulacionais, fornece informações sobre os padrões reprodutivos e a forma como esse fluxo gênico é disseminando entre as subpopulações. Com isso, é possível definir estratégias de preservação dos recursos genéticos ou elencar áreas prioritárias para a conservação.

Os padrões de distribuição genética espacial de espécies vegetais fornecem subsídios para a compreensão da história evolutiva da planta e da área em que ela ocorre. Além disso, possibilita o planejamento de coleta de sementes, indicando as distâncias ideais e a quantidade de sementes necessárias para um plantio / reflorestamento em que se busque variabilidade genética.

Neste sentido, o presente estudo tem o objetivo de entender aspectos relacionados à diversidade, estrutura genética e autocorrelação espacial de *Ocotea odorifera* em duas populações de tamanhos distintos. Com isso, espera-se fornecer dados de uma espécie de grande importância, a fim de gerar conhecimento aplicável à conservação da espécie.

Para descrever de forma mais abrangente a proposta da tese, foi elaborado um breve referencial teórico. Nele, serão abordados os temas norteadores do estudo, como formação florestal, caracterização da espécie, sua ocorrência e usos, fragmentação de habitats, remetendo ao questionamento de como este processo afeta os fatores reprodutivos da espécie e a forma como a diversidade genética está distribuída nas populações. Além disso, a tese está dividida em dois capítulos, sendo que o primeiro aborda a diversidade e a estrutura genética e o segundo trata sobre a estrutura genética espacial em duas populações de *O. odorifera*.

## Referencial Teórico

### *Formação florestal*

A Floresta Atlântica compreende um dos maiores biomas tropicais do Brasil, e está entre os mais ameaçados do planeta, restando apenas uma área de cerca de 11,4-16% de toda sua cobertura vegetal original (JOLY et al., 2011). Além disso, a Floresta Atlântica apresenta-se de forma fragmentada, sendo que as maiores e mais bem preservadas partes se encontram em áreas de alta elevação distribuídas nas regiões sul e sudeste do Brasil (BERTONCELLO et al., 2011). Apesar de sua drástica degradação ao longo dos anos, a Floresta Atlântica ainda possui uma das maiores riquezas em termos de biodiversidade dos trópicos, enquadrando-se como uma zona de prioridade de conservação, pois encontra-se em quarto lugar dentre os 25 hotspots mundiais, com alto índice de diversidade dentre os variados grupos biológicos (MYERS, 2000).

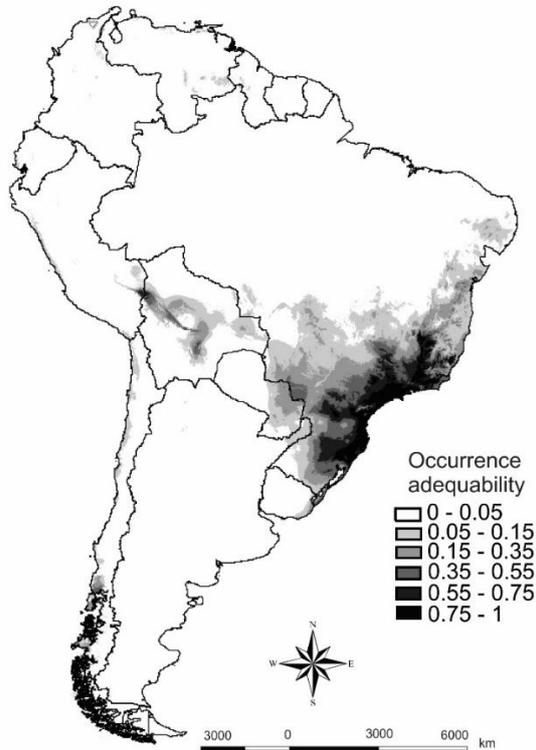
O bioma Mata Atlântica é composto por um conjunto de formações florestais (Florestas: Ombrófila Densa, Ombrófila Mista, Estacional Semidecidual, Estacional Decidual e Ombrófila Aberta) e ecossistemas associados como as restingas, manguezais e campos de altitude (SANQUETTA, 2008). Dentre as espécies encontradas nesse bioma, as da família Lauraceae possuem grande representatividade, pois estão entre as cinco famílias de maior riqueza nas suas formações florestais. O gênero *Ocotea*, apontado como o de maior riqueza de espécies (110), é característico das florestas bem preservadas entre as regiões sul e sudeste do bioma, onde a família Lauraceae tem um dos seus principais centros de diversidade (GIANNERINI et al., 2007). Esse gênero é considerado, também, o segundo mais diverso em áreas montanas da Floresta Atlântica do sudeste brasileiro (BAITELLO, 2001). Estudos recentes e novas descobertas de espécies de *Ocotea* tem demonstrado que o gênero é bastante diversificado na Floresta Atlântica. Várias espécies recentemente descritas são endêmicas dessa unidade fitogeográfica, algumas delas com distribuição restrita (BROTTO; BAITELLO, 2012).

A distribuição de algumas espécies de Lauraceae foi bastante expressiva nas florestas do sul do Brasil, principalmente no estado de Santa Catarina, há décadas passadas. Porém, seu uso intensivo, devido à importância econômica para a região, fez com que espécies com vasta distribuição se tornassem restritas nas florestas. Algumas delas, as mais significativas para a região, encontram-se em listas de espécies ameaçadas de extinção. Como exemplo, temos a *Ocotea catharinensis*, a *Ocotea odorifera* e a *Ocotea porosa* (MARTINS, 2013).

### A espécie

*Ocotea odorifera* (Vell.) Rohwer (canela sassafrás) pertence à família Lauraceae e possui essa denominação popular devido à sua semelhança com a *Sassafras albidum* Nutt., uma espécie norte-americana que foi bastante explorada devido aos compostos encontrados em suas raízes (MARQUES, 2001). Possui ampla distribuição geográfica, que vai desde o sul da Bahia até o Rio Grande do Sul (Figura 1), abrangendo as formações florestais: Floresta Ombrófila Densa, Floresta Ombrófila Mista, Floresta Estacional Decidual e Floresta Estacional Semidecidual (KAGEYAMA et al., 2003). A espécie ocorre, preferencialmente, em áreas em que os solos são rasos e com rápida drenagem (LORENZI et al., 2002). Apesar da ampla distribuição, Kageyama et al. (2003) ainda citam que ela ocorre de forma irregular e descontínua nas florestas, podendo constituir densos povoamentos em algumas áreas e em outras, sua ocorrência é rara.

Figura 1. Mapa de probabilidade de ocorrência de *Ocotea odorifera*, de acordo com as variáveis necessárias para a ocorrência da espécie e baseado em registros de amostras botânicas disponíveis em plataformas de dados online.

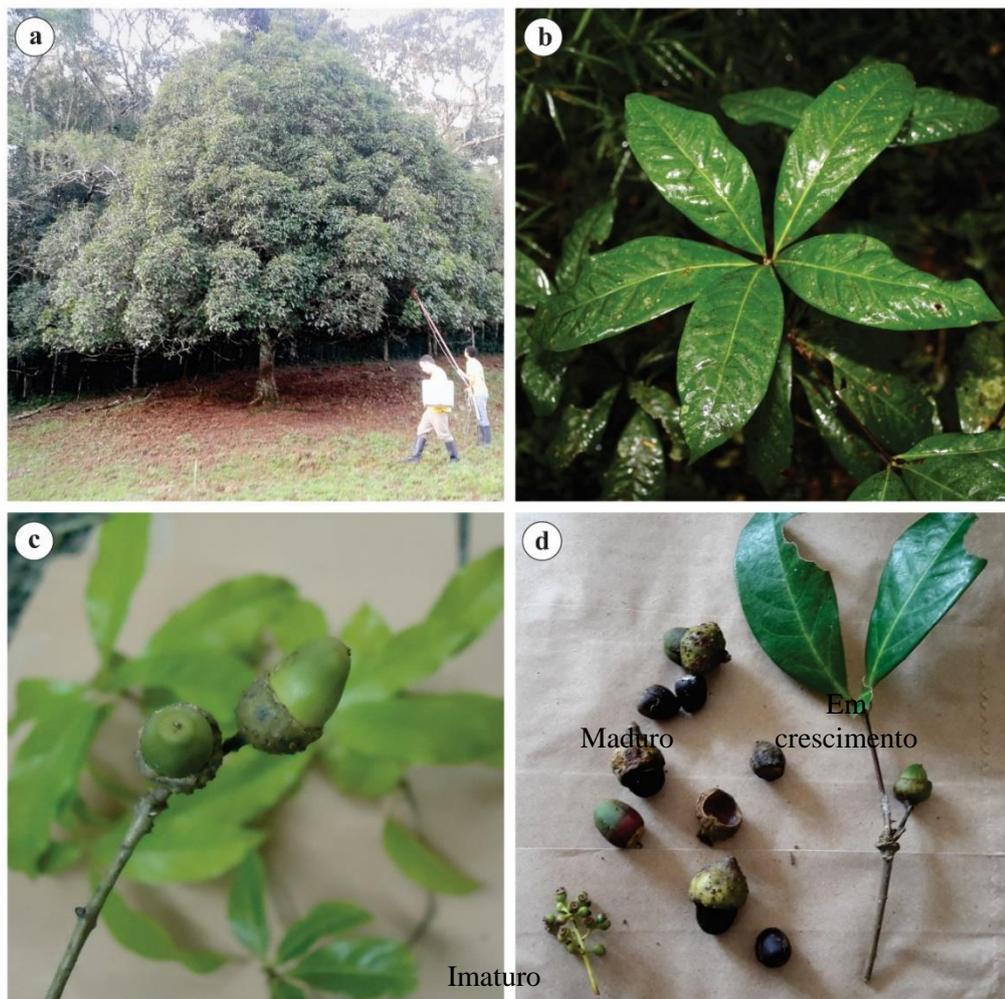


Fonte: Marcela Leite (dados não publicados).

Com relação à ecologia da espécie, apresenta um crescimento lento, principalmente nos primeiros anos de vida (LORENZI, 2002). É considerada uma espécie secundária tardia a clímax (LONGHI, 1995).

A canela sassafrás é uma planta perenifólia que possui entre 5 e 25 m de altura, copa globosa e caule tortuoso, muitas vezes apresentando ramificação (LORENZI, 2002). De acordo com Carvalho (2005), possui flores hermafroditas, distribuídas em inflorescências glabras (contendo em média 9 flores), paniculadas, com até 5 cm de comprimento, localizadas nas pontas dos ramos. O fruto é elíptico, bagáceo, castanho, com até 2,5 cm de comprimento por 1,2 cm de diâmetro, envolvido por uma cúpula robusta, carnosa e verruculosa (Figura 2) (CARVALHO, 2005).

Figura 2. Planta e frutos de *Ocotea odorifera*: a) indivíduo adulto; b) indivíduo regenerante; c) fruto imaturo; d) fruto em três estágios – início da frutificação, crescimento do fruto e fruto maduro.



Fonte: Registros feitos pela própria autora.

A polinização ocorre por insetos pequenos, principalmente abelhas e a dispersão dos frutos é zoocórica, tendo como principais dispersores os macacos, roedores e aves (CARVALHO, 2005).

A floração e a frutificação de *Ocotea odorifera* acontecem em meses diferentes, dependendo da região de ocorrência. No estado de São Paulo, a floração ocorre entre os meses de agosto a setembro e a frutificação de maio a novembro, em Minas Gerais a floração se dá entre os meses de agosto a dezembro e a frutificação entre maio a julho. No Rio Grande do Sul a floração ocorre de outubro a dezembro e a frutificação de junho a dezembro, em Santa Catarina a floração se estende de dezembro a fevereiro e a frutificação de junho a setembro e no Paraná entre os meses de dezembro a abril para floração e frutificação de junho a setembro (CARVALHO, 2003). Segundo Inoue et al. (1984) a espécie apresenta frutificação irregular, ocorrendo possivelmente em anos alternados, e raramente é abundante, pois os frutos caem precocemente no período de maturação. Existem registros de que o processo reprodutivo da espécie, em plantios, se inicia aos 20 anos de idade, aproximadamente (CARVALHO, 2005).

O sistema reprodutivo, tanto para a família Lauraceae, quanto para o gênero *Ocotea* é pouco conhecido. De acordo com a literatura, a família apresenta características xenógamas, auto-incompatíveis e possui mecanismo de dicogamia sincronizada, os quais previnem a autopolinização espontânea (WANG et al, 2005).

A autopolinização espontânea para o gênero é rara pois, apesar de possuir os dois sexos na mesma flor, elas são protogínicas, ou seja, o gineceu é receptivo ao pólen somente no primeiro dia de antese, quando as anteras ainda estão fechadas. A explicação genética para esse fenômeno é que a reação da incompatibilidade é controlada por um gene S. Quando os alelos são idênticos, a velocidade de crescimento do tubo polínico é lenta, ou até mesmo nula, retardando a sua penetração até o ovário. Assim, ao atingi-lo, dificilmente ocorrerá a fecundação, pois o óvulo em geral já não está mais receptivo (SILVA, 2009). A mesma autora ainda cita que a autopolinização espontânea também pode ser evitada pela hercogamia, ou seja, a fecundação é dificultada devido à disposição dos estames, com relação aos carpelos. As anteras dos estames internos possuem disposição extrosa, evitando o contato direto com o estigma. Este mecanismo é funcional na redução das chances de autopolinização espontânea, principalmente em dias de muito calor, quando as valvas das anteras internas se abrem antes do estigma perder sua viabilidade. As chances de autopolinização espontânea pelas anteras externas, que são introrsas, são mínimas, uma vez que suas valvas só se abrem quando o gineceu já perdeu sua viabilidade.

As flores tem seus verticilos florais visitados por várias espécies de insetos generalistas. Dentre eles estão alguns dípteros da família Shyrphidae, pequenas abelhas das famílias Halictidae e Anthophoridae, que alcançam mais o interior da flor com o aparelho bucal, além de Curculionídeos, Draconídeos e formigas, que transitam por toda parte da planta, inclusive folhas (RANGEL; SILVA, 2013).

### *Importância Econômica*

A canela sassafrás é economicamente conhecida por possuir alto teor de óleo essencial, com propriedades curativas. Essa informação foi descoberta pelo médico e botânico espanhol Nicolás Bautista Monardes (1493 – 1588), em estudos com *Sassafras albidum* (Nutt) Nees, o sassafrás norte-americano (MAAR; ROSENBROCK, 2012). A importância econômica de *Ocotea odorifera* ficou conhecida, mais tarde, por possuir odor e propriedades semelhantes. Em 1959, Otto R. Gottlieb e Mauro Taveira Magalhães descobriram que a planta originária das regiões mais frias de Santa Catarina contém safrol, mas as plantas provenientes de Minas Gerais, São Paulo e Rio de Janeiro não possuem (GOTTLIEB; MAGALHÃES, 1960). Por isso, a grande exploração de sassafrás ocorreu em Santa Catarina.

Otto Grimm desenvolveu um método simples e barato para extração de óleo essencial de sassafrás no estado, o que levou muitos outros produtores a criarem suas instalações. De acordo com Maar; Rosenbrock (2012), o rendimento médio de cada metro cúbico de lenha era de 7 kg, chegando a ter uma média anual de 592.000 quilos de óleo exportado. No auge da produção, o óleo bruto era cotado a US\$ 4,00 por quilograma, e até 1960, o Brasil era o maior exportador desse produto bruto. No total, haviam 200 empresas dedicadas a esse fim em Santa Catarina (MAAR; ROSENBROCK, 2012).

O uso intensivo de *O. odorifera* conduziu a espécie ao esgotamento nas florestas, fazendo com que, em 1990, fosse proibido o corte de sassafrás. O óleo, então, passou a ser importado da China e do Vietnã, que obtém o safrol pelo mesmo processo, porém utilizando outro tipo de canela, a *Cinnamomum camphora* L. (MAAR; ROSENBROCK, 2012).

Além do óleo essencial característico, *O. odorifera* é reconhecida também pela síntese de flavonóides, como o canferol e a quercetina, polipropanóides, esteróides, sesquiterpenos (WATSON; DALLWITS, 2005). De acordo com Carvalho et al. (2005), é utilizada na medicina popular, pois as cascas e as flores da canela-sassafrás apresentam ação estimulante, sudorífera, diurética, carminativa, rubefaciente, analgésica, aromática. Tem, ainda, propriedades depurativas do sangue, auxilia na digestão, na artrite reumatoide, no tratamento de dermatose,

fragilidade no sistema nervoso, no tratamento da sífilis e no combate à halitose (mau hálito) (CARVALHO, 2005). Pode, ainda, ser usada como repelente.

A madeira é empregada para fabricação de móveis, produção de folhas faqueadas para revestimentos internos e decorativos, embalagens, em marcenaria de luxo, e na construção civil (MARQUES, 2001).

### *Fragmentação de habitats e consequências genéticas*

A fragmentação de habitat, processo conhecido pela redução e isolamento da cobertura da vegetação original (HENLE; SARRE; WIEGAND, 2004), é uma consequência histórica da exploração inadequada dos recursos naturais. Este processo se caracteriza como o grande responsável pela vulnerável situação das áreas florestais, hoje transformadas em dispersos remanescentes, inseridos em matrizes desmatadas (FAHRIG, 2003). Essas pequenas porções florestais, resultantes do processo de fragmentação, são submetidas a diferentes impactos antrópicos, que modificam a composição florística e estrutural das comunidades vegetais (ZACHOS, 2012), além de gerar outros impactos sobre a estrutura vegetal, incluindo a dispersão de sementes (BODIN et al., 2006) e a polinização (LOPES et al., 2009).

Os remanescentes florestais pequenos tendem a ser mais vulneráveis, pois estão sujeitos às variações microambientais. De acordo com Laurance; Vasconcelos (2009), as florestas fragmentadas e, principalmente, com formato irregular, sofrem mais com as alterações abióticas que resultam, muitas vezes, em redução na abundância de determinadas espécies e mudanças em processos ecológicos, como ciclagem de nutrientes e padrões reprodutivos e de dispersão. Além disso, a fragmentação florestal pode ter consequências genéticas, que contribuem para o risco de extinção.

A exploração madeireira favorece a remoção de grandes árvores que, geralmente, são as responsáveis pela maior taxa de fecundidade das espécies na floresta. Essa remoção resulta no decréscimo da densidade de espécies e, conseqüentemente, dos agentes polinizadores que, devido ao distanciamento e/ou isolamento de matrizes, acabam não conseguindo realizar a polinização, ocasionando, assim, a redução de diversidade nas florestas (VINSON et al., 2015). Após sucessivas gerações, essa redução levará ao aumento de indivíduos homozigotos, aumento da endogamia, deriva e diferenciação genética entre populações (GANZHORN et al., 2015). Entretanto, esses efeitos podem não ser previsíveis, pois algumas espécies possuem baixas densidades na floresta ou um processo de reprodução descontínuo, o que torna a espécie restrita, não somente devido à fragmentação de habitats (GHAZOUL, 2005). Devido a isso, os

parâmetros genéticos são considerados de extrema importância para caracterização de populações naturais por retratarem, de forma clara, o quanto as alterações ambientais influenciam a diminuição da variabilidade genética populacional.

### *Diversidade, estrutura genética e autocorrelação espacial*

A diversidade genética é definida por meio da variedade de alelos e genótipos encontrados entre indivíduos de uma espécie (FRANKHAM, 2010). Ela possibilita a permanência dos processos evolutivos em uma população natural e, com isso, favorece a adaptação das espécies às modificações ambientais (DIAZ, 2013). Assim, é possível avaliar os níveis de variabilidade genética e como ela é mantida dentro e entre as populações (HAMRICK, 1983), além de verificar os mecanismos de manutenção dessa diversidade.

A distribuição das frequências alélicas em uma população é influenciada por diversos fatores, dentre os quais destacam-se os reprodutivos e os evolutivos. Como fatores reprodutivos, estão a ecologia comportamental dos dispersores de propágulos e seu sucesso migratório; e os mecanismos de interação entre planta e animal, como a anatomia floral e o desenvolvimento dos frutos (GHAZOUL, 2005). Assim, espécies com limitação na dispersão de pólen e restrita dispersão de sementes dentro de grandes populações, tem tendência a gerar uma distribuição não aleatória dos genótipos, na qual o parentesco será maior entre vizinhos mais próximos do que entre indivíduos mais distantes, na mesma população (MEDINA-MACEDO et al., 2015). A longo prazo, esse fator pode aumentar a endogamia e diminuir a diversidade genética das populações (BITTENCOURT e SEBBENN, 2007).

A mutação é o fator evolutivo responsável pelo aumento da diversidade genética nas populações, pois possibilita a inserção de novos alelos, devido aos erros que surgem na replicação do DNA (MOREIRA, 2017). Outros fatores, como a deriva genética e a seleção natural, tendem a diminuir a diversidade genética. O processo de deriva genética pode ser encarado como uma flutuação aleatória na frequência alélica, levando, em alguns casos, à fixação ou perda de alelos (FUTUYMA, 2003). A seleção natural, por outro lado, atua dentro das populações em relação à adaptação ao ambiente, proporcionando variação entre populações e entre indivíduos (TORGGLER et al., 1995).

De acordo com Sant'Anna et al. (2013), a existência de fluxo gênico (migração) entre populações, tanto por meio de dispersão de sementes, quanto pelo fluxo de pólen, reduz a diferenciação genética e aumenta a diversidade e o tamanho efetivo de uma população. Hartl e Clarck (2010) discutem que mesmo que o fluxo gênico seja muito pequeno, as populações ainda

podem se manter como unidades evolutivas, pois defendem que um único migrante por geração é suficiente para anular, mesmo que parcialmente, o efeito divergente da deriva genética. Dessa maneira, em populações naturais, o fluxo gênico pode reduzir os efeitos de deriva genética e ser fonte de novos alelos (SANT'ANNA et al., 2013).

A estrutura genética de populações, segundo Wright (1951), reflete um equilíbrio entre deriva genética e fluxo gênico. Porém, como cada espécie possui uma limitação e/ou um comportamento diferente, considera-se que a variação genética existente entre indivíduos de uma população resulta de um balanço entre forças evolutivas. A diferenciação local pode ser produzida pela deriva genética e pela seleção natural, enquanto que a homogeneização genética entre as populações pequenas tende a ser produzida por meio da migração (SLATKIN, 1987). O fluxo gênico, dessa maneira, tem influência direta na estrutura genética de populações de plantas, contribuindo, para que elas se comportem como populações panmíticas, mesmo que separadas geograficamente (STORFER, 1999).

A estrutura genética espacial pode ser definida como um conjunto de variáveis aleatórias, presentes nos alelos, que são analisadas aos pares de distância (espaço geográfico), a fim de verificar se são mais (autocorrelação positiva) ou menos (autocorrelação negativa) semelhantes do que o esperado para os pares de observação (LEGENDRE, 1993). Supõe-se, com isso, que os alelos idênticos por descendência diminuam à medida que a distância geográfica entre plantas aumente (LOISELLE et al., 1995).

Loveless e Hamrick (1984) afirmam que os padrões de estruturação genética espacial nas populações naturais de plantas são causados pela atuação de fatores ecológicos e evolutivos. Os principais fatores são o fluxo de pólen e de sementes, pois as populações podem ser mais ou menos aparentadas, dependendo da distância de dispersão. Além disso, pode ter influência da densidade de indivíduos adultos, da seleção micro ambiental, regeneração e pelo sistema de reprodução (LOISELLE *et al.*, 1995). Com isso, é possível que ocorra estruturação familiar dentro das populações, devido à ineficiência na dispersão de pólen, além da queda de sementes próximas à árvore matriz (SEBBEN et al., 1998).

O conhecimento sobre a estrutura genética espacial de uma espécie é importante na conservação genética, pois possibilita mitigar os efeitos de práticas de manejo. Assim, em populações naturais, ela pode ser usada para estimar o grau de isolamento dos indivíduos de uma espécie, além de fornecer informações sobre o alcance do fluxo gênico e o tamanho da vizinhança (GONZALES; HAMRICK, 2005), a fim de detectar indivíduos aparentados.

### *Marcadores microssatélites*

A descoberta da molécula de DNA e a elucidação do código genético facilitaram as pesquisas envolvendo conservação dos recursos naturais. Isso foi possível, porque, com o avanço das técnicas de biologia molecular, foram desenvolvidos marcadores moleculares, que são um conjunto de métodos de detecção nas variações das sequências de DNA (CAIXETA et al., 2006). Como são baseados em polimorfismos detectados no genoma, tornou-se possível o estudo das variações na diversidade e na estrutura genética (FIGUEIRA; CASCARDO, 2001).

Dentre os marcadores moleculares desenvolvidos, os microssatélites, ou Repetições Simples de Sequências (SSRs – Simple Sequence Repeats) estão sendo bastante utilizados. Eles são constituídos de sequências curtas repetidas em linha (tandem), abundantes e dispersos por todo o genoma, tanto em regiões codificadoras, quanto nas não codificadoras (GROVER; CHARMA, 2014). Porém, a ocorrência dos microssatélites nas regiões codificadoras é menor, devido à alta taxa de mutação que essas regiões possuem, o que pode comprometer a expressão gênica (EISEN, 1999).

Os marcadores microssatélites revelam polimorfismo em um loco por meio do número de vezes que a sequência de nucleotídeos se repete. Como essas sequências variam bastante no genoma, o conteúdo informativo é alto (SOUSA et al., 2018). A provável explicação para esse polimorfismo elevado se dá pela alta taxa de mutação que esse marcador possui durante a replicação do DNA (ELLEGREN, 2004). De acordo com Sousa et al. (2018), as sequências de nucleotídeos que flanqueiam essas regiões se mantêm dentro de uma espécie e, por isso, torna-se possível a seleção de iniciadores (primers) para a amplificação do DNA via PCR.

Os marcadores microssatélites podem ser amplamente utilizados, devido a sua simplicidade, pois possibilitam rapidez nas análises, grande poder de resolução e altos níveis de polimorfismo (RUFINO, 2005). Porém, seu uso para espécies florestais nativas ainda não é tão amplo, visto que a identificação das regiões microssatélites é um processo trabalhoso e demorado (GUICHOUX et al., 2011). Antigamente, os locos microssatélites eram isolados de bibliotecas genômicas, selecionadas para o genoma da espécie desejada e os clones eram rastreados pela hibridização com as sondas contendo as repetições (ZANE; BARGELLONI; PATARNELLO, 2002). A partir de 2005, com o sequenciamento de nova geração, existem plataformas capazes de gerar informação sobre milhões de pares de bases em uma única corrida, o que economiza tempo e dinheiro (CARVALHO; SILVA, 2010).



## Referências Bibliográficas

- BAITELLO, J. B. Novas espécies de Lauraceae para a flora brasileira. **Acta Botânica Brasilica**, v. 15, p. 445-450, 2001.
- BERTONCELLO, R. et al. A phytogeographic analysis of cloud forests and other forest subtypes amidst the Atlantic forests in south and southeast Brazil. **Biodiversity Conservation**, v. 20, p. 3413 – 3433, 2011.
- BITTENCOURT, J. M.; SEBBENN, A.M. Patterns of pollen and seed dispersal in a small fragmented population of a wind pollinated *Araucaria angustifolia* in southern Brazil. London: **Heredity**, v. 99, n. 6, p.580–591, out. 2007.
- BODIN, O. et al. The value of small size: loss of forest patches and threshold effects on ecosystem services in southern Madagascar. **Ecological Applications**, v. 16 p. 440-451, 2006.
- BROTTO, M. L. e BAITELLO, J. B. A new species of Lauraceae from the Atlantic Forest of Brazil. **Rodriguésia**, v. 63, n. 3, p. 579-585, 2012.
- CAIXETA, E. T. et al. Tipos de marcadores moleculares. In: BORÉM, A.; CAIXETA, E. T. **Marcadores moleculares**. Viçosa: UFV, p. 9 - 78, 2006.
- CARVALHO, P. E. R. **Espécies florestais brasileiras**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, Colombo-PR: Embrapa Florestas, p. 1039, 2003.
- CARVALHO, P. E. R. **Canela-Sassafrás**. Circular técnica. Embrapa CNPF, Brasília, v. 10, p. 1-12, 2005.
- CARVALHO, M. C. da C. G. de; SILVA, D. C. G. da. Next generation DNA sequencing and its applications in plant genomics. Santa Maria: **Ciência Rural**, v.40, n.3, p.735-744, 2010.
- DIAZ, V. SANDRI. **Diversidade genética, estrutura genética espacial e fluxo gênico da erva-mate (*Ilex paraguariensis* A. St. Hil.) em dois fragmentos florestais na área de entorno do Parque Nacional do Iguaçu**. Dissertação de mestrado. Programa de pós graduação em Ciências. Área de concentração: Recursos Florestais. Departamento de Ciências Florestais. Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz. Piracicaba, SP, 2013.
- EISEN, J. A. Mechanistic basics for microsatellites instability. In: GOLDSTEIN, D. B.; SHLÖTTERER, C. (Ed.). **Microsatellites: evolution and applications**. Oxford: Oxford University Press, p. 34 – 48, 1999.
- ELLEGREN, H. Microsatellites: simple sequences with complex evolution. **Nature Reviews Genetics**, v. 5, n. 6, p. 435-445, 2004.
- FAHRIG, L. Effects of habitat fragmentation on biodiversity. Annual Reviews of **Ecology and Systematics**, v. 34 p. 487-515, 2003.
- FIGUEIRA, A. V. O.; CASCARDO, J. C. M. Marcadores moleculares no melhoramento. In: DIAS, L. A. S. (Ed.) **Melhoramento genético do Cacaueiro**. Viçosa: FUNAPE, UFG, p. 385 – 438, 2001.

FRANKHAM, R. Challenges and opportunities of genetic approaches to biological conservation. Barking: **Biological Conservation**, v. 143, n. 9, p. 1919-1927, 2010.

FUTUYMA, D. **Biologia evolutiva**. Ribeirão Preto: FUNPEC, 2003.

GANZHORN, S. M. et al. Spatial genetic structure of *Manilkara maxima* (Sapotaceae), a tree species from the Brazilian Atlantic forest. **Journal of Tropical Ecology**, v. 31, p. 437 - 447, 2015.

GHAZOUL, J. Pollen and seed dispersal among dispersed plants. Oxford: **Biological Review**, v.80, p. 413-443, 2005.

GIANNERINI, A. C.; QUINET, A. e ANDREATA, R. H. P. O gênero *Ocotea* aubl. (Lauraceae) no Parque Nacional do Itatiaia, Brasil. PESQUISAS, São Leopoldo: **Instituto Anchieta de Pesquisas**, 2007.

GONZALES, E.; HAMRICK, J.L. Distribution of genetic diversity among disjunct populations of the rare forest herb. *Trillium reliquum*. **Heredity**, v.95, p.306-314, 2005.

GOTTLIEB, O. R.; MAGALHÃES, M. T. Physiological varieties of *Ocotea pretiosa*. II. Perfumer & Essential Oil Record, v. 51, p. 18-21, 1960.

GROVER, A.; SHARMA, P. C. Development and use of molecular markers: past and present. **Critical reviews in biotechnology**, v. 8551, n. 2, p. 1 – 13, 2014.

GUICHOUX, E. et al. Current trends in microsatellite genotyping. **Molecular Ecology Resources**, v. 11, n. 4, p. 591- 611, 2011.

HAMRICK, J.L. The distribution of genetic variation within and among natural forest population. In: SCHONEWALD-COX, C.M. et al. **Genetic and conservation**. New York, The Benjamin / Cummings, p.335-48, 1983.

HARTL, D. L.; CLARK, A. G. **Princípios de Genética de Populações**. 4ª ed., Porto Alegre: Artmed, 2010.

HENLE, K., SARRE, S. & WIEGAND, K. The role of density regulation in extinction processes and population viability analysis. **Biodiversity and Conservation**, v. 13 p. 9-52, 2004.

INOUE, M. T.; RODERJAN, C. V.; KUNIYOSHI, Y. S. **Projeto Madeira do Paraná**. Curitiba: FUPEF-UFPR, 260 p., 1984.

JOLY, C. A. et al. Diagnóstico da pesquisa em biodiversidade no Brasil. São Paulo: **USP**, n.89, p. 114-133, 2011.

KAGEYAMA, P. Y. et al. Diversidade e autocorrelação genética espacial em populações de *Ocotea odorifera* (Lauraceae). **Scientia Forestalis**; n.64, p.108 – 119, 2003.

LAURANCE, W., VASCONCELOS, H. Consequências ecológicas da fragmentação florestal na Amazônia. **Oecologia Brasiliensis**, v. 13, n.3, p. 434-451, 2009.

- LEGENDRE, P. Spatial autocorrelation: trouble or new paradigm? **Ecology**, v. 74, n. 6., p. 1659-1673, 1993.
- LOISELLE, B.A. et al. Spatial genetic structure of a tropical understory shrub, *Psychotria officinalis* (Rubiaceae). **American Journal of Botany**, Columbus, v. 82, p. 1420-1425, 1995.
- LONGHI, R. A. **Livro de Árvores e Arvoretas do Sul**. Porto Alegre: L&pM, 1995.
- LOPES, A. V. et al. Long-term erosion of tree reproductive trait diversity in edge-dominated Atlantic Forest Fragments. **Biological Conservation**, v. 142 p. 1154-1165, 2009.
- LORENZI, H. **Árvores Brasileiras: Manual de Identificação e Cultivo de Plantas Arbóreas Nativas do Brasil**. 2ª ed. Nova Odessa, SP: Plantarum Ltda. v. 2., 368 p., 2002.
- LOVELESS, M. D. e HAMRICK, J. L. Ecological Determinants of Genetic Structure in Plant Populations. Annual Review of **Ecology and Systematics**, v. 15, p. 65-95, 1984.
- MAAR, J. H.; ROSENBROCK, L. C. C. A química fina que poderia ter sido: a extração de óleo de sassafrás e de safrol no alto e médio vale do Itajaí. São Paulo: **Scientia e Szudia**, v. 10, n. 4, p. 799-820, 2012.
- MARQUES. C. A. Importância Econômica da família Lauraceae Lindl. Rio de Janeiro: **Floresta e Ambiente**, v. 8, n. 1, p.195-206, 2001.
- MARTINS, E. M. **Conservação de *Ocotea catharinensis*, *O. odorifera* e *O. porosa*: espécies de Lauraceae ameaçadas de extinção**. Tese de doutorado, Rio de Janeiro, RJ, 2013.
- MEDINA-MACEDO, L. et al. High levels of genetic diversity through pollen flow of the coniferous *Araucaria angustifolia*: a landscape level study in Southern Brazil. **Tree Genetics & Genomes**, v. 11, n. 814, 2015.
- MOREIRA, R. O. **Desenvolvimento de marcadores microssatélites e análise da diversidade e estrutura genética de populações de Cambuci (*Campomanesia phaea*)**. Programa de pós graduação em Ciências. Área de concentração: Recursos Florestais. Departamento de Ciências Florestais. Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz. Piracicaba, SP, Dissertação de mestrado Piracicaba, SP, 2017.
- MYERS, N., MITTERMEIER, R.A., MITTERMEIER, C.G., FONSECA, G.A.B. & KENT, J. Biodiversity hotspots for conservation priorities. **Nature**. v. 403, p. 853-858., 2000.
- RANGEL, A. C., SILVA, A. G. Estrutura populacional e razão sexual em *Ocotea notata* (Lauraceae) de uma planície arenosa costeira no sudeste do Brasil. **Natureza on line**, v. 11, n. 4, p. 196-202, 2013.
- RUFINO, R. J. N. et al. Marcadores microssatélites para o cafeeiro. In: **IV SIMPÓSIO DE PESQUISA DOS CAFÉS DO BRASIL**, 2005, Londrina. Anais Eletrônicos Londrina. CDROM, 2005.
- SANQUETTA, C. R. et al. Experiências de monitoramento no bioma Mata Atlântica com uso de parcelas permanentes. Curitiba: **FUNDPAR**, 2008.

SANT'ANNA, C.S. et al. Realized pollen and seed dispersal within a continuous population of the dioecious coniferous Brazilian Pine (*Araucaria angustifolia* (Bertol.) Kuntze). Dordrecht: **Conservation Genetics**, v. 14, n. 3, p. 601–613, 2013.

SEBBEN, A. M.; KAGEYAMA, P. Y.; VENCOVSKY, R. Genetic variability, mating system and the spatial genetic structure in *Genipa americana* L. through isozyme markers. **Scientia Forestalis**, n. 53, p. 15-30, 1998.

SILVA, A. D. da. **Ecologia Reprodutiva e Polinização por *Triplex* (thysanoptera) em *Ocotea porosa* (lauraceae), uma espécie ameaçada de extinção.** Dissertação de mestrado. Curitiba, PR. 2009.

SLATKIN, M. Gene Flow and the Geographic Structure of Natural Populations. Washington: **Science**, v. 236, 1987.

SOUSA, L. L. et al. Transferability of microsatellite markers in species of *Psidium*. Jaboticabal: **Ciência & Tecnologia: Fatec-JB**, v.10, n.2, 2018.

STROFER, A. Gene flow and endangered species translocation: a topic revisited. **Biological Conservation**, v. 87, n. 2, p. 173 – 180, 1999.

TORGGLER, M. G. F.; CONTEL, E. P. B.; TORGGLER, S. P. **Isoenzimas: variabilidade genética em plantas.** Ribeirão Preto: SBG, 186 p., 1995.

VINSON, C.C. et al. Impacts of selective logging on inbreeding and gene flow in two Amazonian timber species with contrasting ecological and reproductive characteristics. **Molecular Ecology**, v. 24, p. 38–53, 2015.

WANG, Z.S. et al. Genetic Structure of the Endangered Plant *Neolitsea sericea* (Lauraceae) from the Zhoushan Archipelago Using RAPD Markers. **Annals of Botany**, v. 95, p. 305–313, 2005.

WATSON, L. & DALLWITZ, M.J. The families of flowering plants: descriptions, illustrations, identification, and information retrieval. (1992 onwards) Version: 13th January 2005. <http://delta-intkey.com> <http://deltaintkey.com/angio/www/lauracea.htm> (Acesso em: 29/06/2015).

WRIGHT, S. The genetical structure of populations. **Ann Eugen**, v.15, p.323–354, 1951

ZACHOS, F. E. et al. Genetic analysis of an isolated red deer (*Cervus elaphus*) population showing signs of inbreeding depression. *European Journal of Wildlife Research*, v. 53 p. 61-67, 2007.

ZANE, L.; BARGELLONI, L.; PATARNELLO, T. Strategies for microsatellite isolation: a review. **Molecular Ecology**, v. 11, n. 1, p. 1-16, 2002.

## Diversidade e estrutura genética em populações de *Ocotea odorifera* (Vell.) Rohwer

### Resumo

Os ecossistemas florestais vem sendo modificados em populações pequenas e isoladas, devido à intensa exploração madeireira. Essas populações tendem a sofrer modificação na divergência populacional e aumento da deriva genética, pois resultam da perda da diversidade genética e elevada endogamia. Para investigar a diversidade e estrutura genética de *O. odorifera*, em populações de dois remanescentes florestais foram usados oito marcadores microssatélites. Foram encontrados 128 alelos nos 423 indivíduos analisados. A diversidade genética foi elevada nas duas populações ( $H_e$  entre 0,76 e 0,78;  $H_o$  entre 0,59 e 0,63), porém sem diferença significativa entre os parâmetros. A média no índice de fixação de alelos foi positiva e significativamente diferente de zero entre adultos e regenerantes das populações, com valores entre 0,17 (IC 0,08 - 0,26) e 0,28 (IC 0,14 - 0,43). Houve uma baixa diferenciação entre as populações amostradas, com média de fixação de alelos significativamente diferente de zero e um total de 0,8% para adultos e 10 % para regenerantes. O índice de fixação dentro de cada população apresentou valor médio de  $F_{is} = 0,18$  em adultos e  $F_{is} = 0,19$  para regenerantes, indicando um considerável grau de endogamia. O número de alelos privados foi elevado (17 alelos), principalmente entre os indivíduos adultos, indicando que nem todos estão sendo repassados ao longo das gerações. Por fim, a espécie não parece sofrer com a fragmentação ocorrida, pois apresenta alta diversidade genética, com populações bastante parecidas, o que reflete a ocorrência de fluxo gênico entre elas.

**Palavras-chave:** canela-sassafrás; fragmentação florestal; endogamia; variabilidade genética.

### Abstract

Forest ecosystems have been modified in small and isolated populations due to intense logging. These populations can have changes in population divergence and increase in genetic drift, as they result from the loss of genetic diversity and high inbreeding. To investigate the diversity and genetic structure of *O. odorifera*, eight microsatellite markers were used in populations of two forest fragments. 128 alleles were found in the 423 individuals analyzed. Genetic diversity was high in both populations ( $H_e$  between 0.76 and 0.78,  $H_o$  between 0.59 and 0.63), but with no significant difference between the parameters. The mean allele fixation index was positive and significantly different from zero among adult and regenerating populations, with values between 0.17 (CI 0.08 - 0.26) and 0.28 (CI 0.14-0, 43). There was a low differentiation among the populations sampled, with a mean of allele fixation significantly different from zero and the total of 0.8% for adults and 10% for regenerants. The index of fixation within each population had an average value of  $F_{is} = 0.18$  in adults and  $F_{is} = 0.19$  for regenerants, indicating a considerable degree of inbreeding. The number of private alleles was high (17 alleles), especially among adult individuals, indicating that not all are being passed on over the generations. Finally, the species does not seem to suffer from the fragmentation occurred, since it presents high genetic diversity, with populations very similar, which reflects the occurrence of gene flow between them.

**Keywords:** canela-sassafrás; forest fragmentation; endogamy; genetic variability.

## Introdução

Em diversos lugares do mundo e, mais especificamente, no Brasil, o ecossistema florestal vem sendo bastante modificado. A intensa exploração madeireira resulta em populações pequenas, fragmentadas e, muitas vezes, isoladas, representando uma grave ameaça para a diversidade de espécies animais e vegetais (GUIDUGLI et al., 2016). Assim, muitas espécies, como *Ocotea odorifera* (Vell.) Rohwer, sofreram um declínio considerável no tamanho populacional, devido ao alto valor econômico, tanto pela utilização da sua madeira, quanto pela extração de seu óleo essencial. As populações, que se mantêm pequenas e isoladas ao longo de várias gerações, tendem a sofrer modificações estruturais, a nível demográfico, devido aos processos ecológicos (HANSON et al., 2008), podendo acarretar em consequências genéticas, como aumento da deriva genética, redução no fluxo gênico e endogamia (LOWE, 2005). A longo prazo, as populações que sofreram com essas perturbações ecológicas podem perder a capacidade de responder às pressões de seleção (YOUNG et al., 1996), o que resulta em perdas de indivíduos na população e extinção de espécies.

A diversidade genética, verificada por meio da variação intraespecífica, é um dos níveis de biodiversidade que podem ser afetados com a redução de populações (LAUTERJUNG et al., 2019). Sua perda pode ter sérias consequências na conservação da espécie a longo prazo. Por esse motivo, o estudo da diversidade genética se torna necessário, pois permite verificar os níveis de variabilidade genética dentro das populações (HAMRICK, 1983), e entender como ela está estruturada na paisagem. Isso contribui para o entendimento sobre a história evolutiva e a dinâmica populacional das espécies (CABALLERO et al., 2010).

A forma como a variabilidade genética é distribuída entre e dentro das populações é verificado por meio da estrutura genética (BROWN, 1978), que geralmente ocorre de forma heterogênea nas florestas, indicando possíveis graus de endogamia (ROBINSON, 1998). As principais alterações que ocorrem em uma população, a nível genético, geralmente estão relacionadas a processos evolutivos, como mutação, migração, deriva e seleção natural. Os dois últimos, de acordo com Hamrick (1989), aumentam a diferenciação entre as populações. Assim, espécies que apresentam mecanismos eficientes com relação ao fluxo gênico apresentam, de maneira geral, alta variação genética dentro das populações e baixa entre estas (BODANESE-ZANETTINI; CAVALLI, 2003).

Dessa maneira, esse trabalho pretende avaliar a diversidade e estrutura genética de *O. odorifera*, em populações de dois remanescentes florestais de tamanhos distintos, próximos geograficamente, por meio de marcadores microssatélites. Com isso, pretende-se responder

questões como: a) a diversidade genética é semelhante entre as áreas? b) os processos de endogamia são mais intensos no remanescente menor? c) a diversidade genética dos adultos é semelhante àquela encontrada nos indivíduos regenerantes? d) ocorre fluxo de gênico entre as duas populações?

## **Material e métodos**

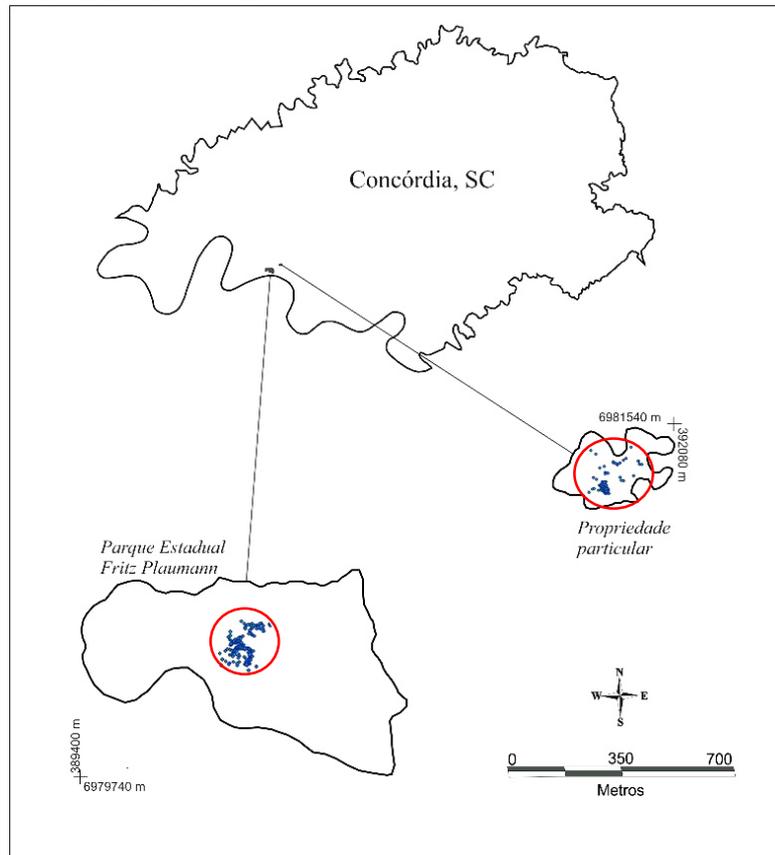
### *Espécie*

*Ocotea odorifera* (Vell.) Rohwer (canela sassafrás), pertence à família Lauraceae, e possui ampla distribuição geográfica, que vai desde o sul da Bahia até o Rio Grande do Sul, abrangendo as formações florestais: Floresta Ombrófila Densa, Floresta Ombrófila Mista, Floresta Estacional Decidual e Floresta Estacional Semidecidual (KAGEYAMA et al., 2003). A canela sassafrás é economicamente conhecida por possuir alto teor de safrol, um óleo essencial com propriedades medicinais e cosméticas (MAAR; ROSENBROCK, 2012). Além disso, sua madeira é empregada para fabricação de móveis, em marcenaria de luxo e na construção civil (MARQUES, 2001). Devido a isso, a espécie encontra-se na lista Oficial de Espécies da Flora Brasileira Ameaçadas de Extinção (CNCFlora, 2016) e na lista de espécies ameaçadas do Brasil (MMA, 2014), na categoria “Em perigo”.

### *Área de estudo*

O estudo foi conduzido em dois remanescentes florestais, no município de Concórdia, SC (Figura 1): um no Parque Estadual Fritz Plaumann (PEFP), com área total de aproximadamente 742 ha e área com remanescente florestal em bom estado de conservação de 80 ha; e o outro em uma propriedade particular (PP) com fragmento florestal de 15 ha. As duas áreas estão distantes aproximadamente 1000 m entre si. A vegetação da região é classificada como Estacional Semidecidual (OLIVEIRA-FILHO et al., 2013) e, de acordo com o sistema de classificação de Köppen, encontra-se na transição entre o clima subtropical úmido e clima temperado, com temperatura média anual em torno de 17,6 °C e uma precipitação anual média de 1912,3 mm (BERNARDI; BUDKE, 2010). O relevo varia entre fortemente ondulado a ondulado, com áreas de alta declividade e pedregosidade e outras não tão acidentadas (STAMBERG et al., 2012).

Figura 1. Mapa de localização da área de estudo, situada no município de Concórdia, SC. Pontos azuis referem-se à distribuição dos indivíduos na área de coleta.



Fonte: Elaborado pela autora, 2019.

### Descrição das áreas de estudo

De acordo com comunicação pessoal, em décadas passadas, haviam algumas instalações para extração do óleo essencial de sassafrás e, para essa finalidade, foi uma espécie que sofreu com a exploração da madeira. Devido a isso e a outros fatores, as áreas estudadas possuem diferentes níveis de conservação, com alguns trechos antropizados e outros bem preservados.

#### *Parque Estadual Fritz Plaumann (PEFP)*

A criação do Parque Estadual Fritz Plaumann (Figura 2) pode ser considerada recente (ocorreu em 2003), e ocorreu como forma de compensação ambiental, pela instalação de uma Usina Hidrelétrica nas margens do rio Uruguai (FATMA, 2005). Com o enchimento do reservatório da usina, mais de 80 propriedades foram atingidas e, destas, 47 tiveram seus limites sobrepostos à área definida para a criação da Unidade de Conservação (SILVA, 2008). A maioria dessas propriedades possui histórico familiar, pois foram passadas ao longo das

gerações e, em todas elas, há evidências de retirada de madeira. Essa remoção da vegetação ocorreu por dois motivos principais na região: para a ampliação de área agricultável e para a exploração de espécies florestais de alto valor econômico (SILVA, 2008). Assim, os remanescentes que formaram o parque possuem níveis de conservação bastante distintos.

Figura 2. Imagem de satélite com delimitação do Parque Estadual Fritz Plaumann (linha verde) e Zona de Amortecimento (linha vermelha).

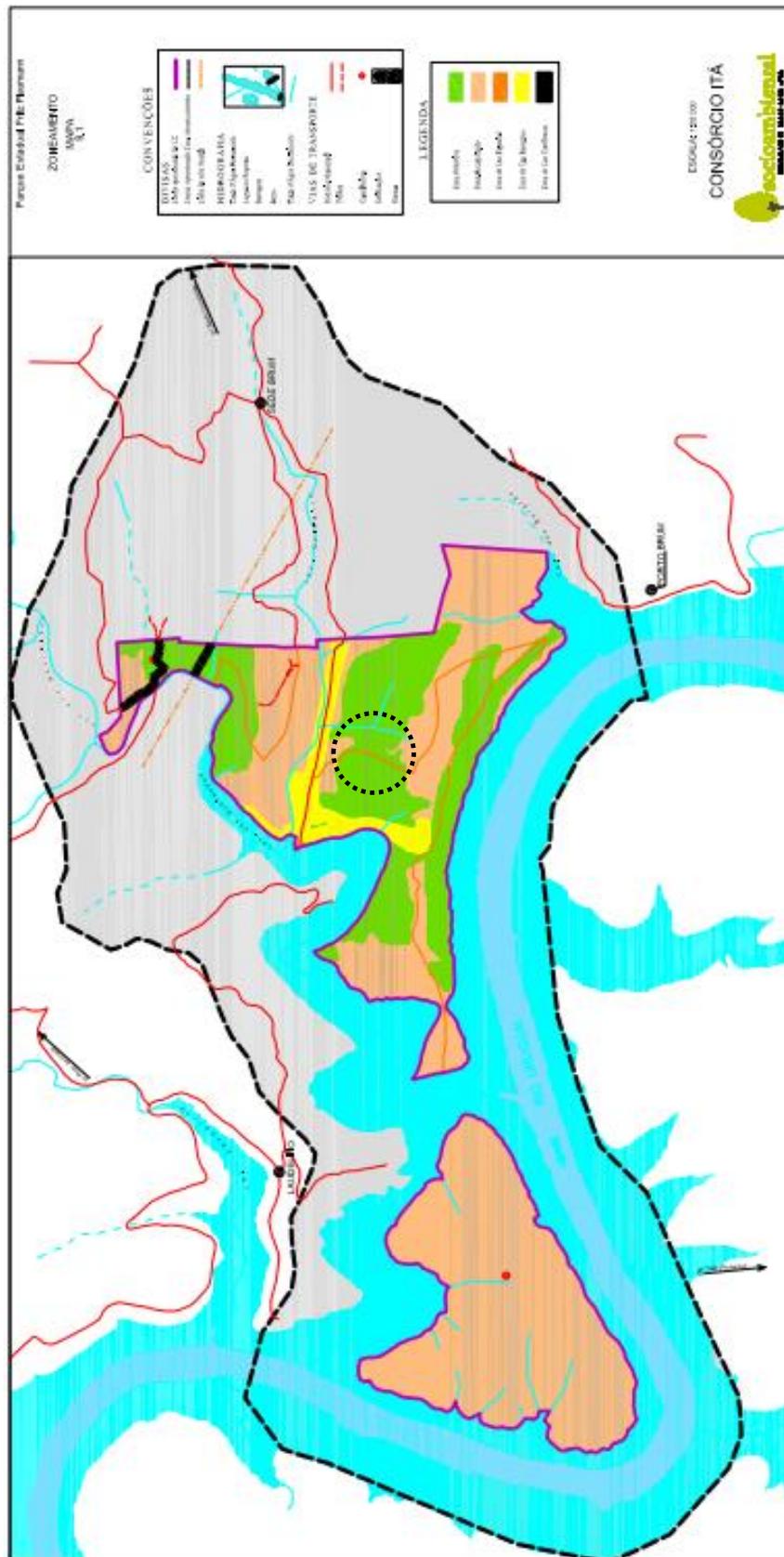


Fonte: elaborado pela autora, 2019.

Para o estudo foi utilizado um remanescente com aproximadamente 80 ha, dos 741,66 ha que compõem o PEFP. Esse fragmento está inserido na área considerada como Zona Primitiva (Figura 3) e foi selecionado por apresentar um estágio sucessional mais avançado, sendo um ambiente característico para se encontrar *O. odorifera*.

A altitude média da área de estudo é de 470 m e o relevo é acidentado, com presença de áreas de alta declividade e pedregosidade (STAMBERG et al., 2012).

Figura 3. Mapa de zoneamento do Parque Estadual Fritz Plaumann. Linha pontilhada na Zona Primitiva (em verde) indica a localização da área de estudo.



Fonte: FATMA, 2005.

### *Propriedade Particular (PP)*

A propriedade particular (Figura 4) possui 15 ha, com um histórico semelhante ao do PEFP, visto que deriva de uma herança passada ao longo das gerações. Além de passar por corte seletivo, em especial de sassafrás, que era encontrado em alta densidade na floresta, esse fragmento fazia parte de um continuum entre floresta e potreiro. No momento em que foi realizado o estudo, não havia mais retirada de espécies arbóreas nesse fragmento e a área florestal estava cercada, a fim de evitar o pisoteio de gado. Apesar disso, esse fragmento pode ser considerado mais suscetível aos efeitos atropicos que o PEFP, pois é circundado por atividades agropecuárias (como pecuária extensiva, plantações de *Ilex paraguariensis* e *Pinus elliottii*).

A altitude média da área é de 560 m, com relevo ondulado a fortemente ondulado, mesclado com patamares de menor declividade e ocorrência de pedregosidade em parte da área, principalmente nas áreas de encosta (STAMBERG et al., 2012).

Figura 4. Imagem de satélite da Propriedade particular. A linha verde indica a área florestal.



Fonte: elaborado pela autora, 2019.

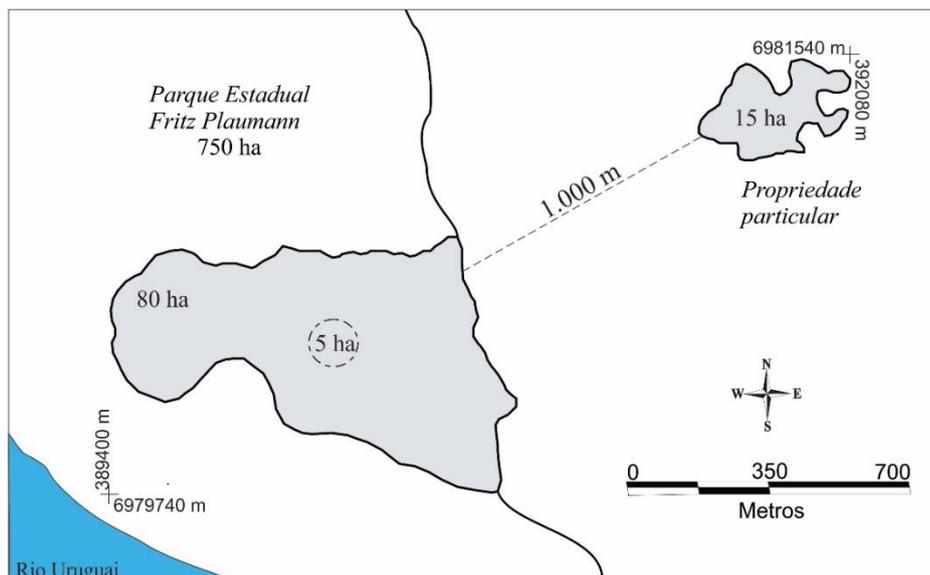
### *Coleta das amostras*

Amostras de folhas frescas de *Ocotea odorifera* foram coletadas nas duas áreas e, em casos de árvores com difícil acesso às folhas, foram retiradas amostras do câmbio vascular da

espécie. Todos os indivíduos considerados como adultos, com perímetro à altura do peito (PAP) superior ou igual a 25 cm foram marcados e georreferenciados. Esse critério de inclusão foi utilizado pois, de acordo com Pagliarini (2015, dados não publicados), indivíduos com PAP  $\geq$  25cm já possuem 20 anos e, por isso, podem ser reprodutivos. Como regenerantes foram considerados indivíduos com até 20 cm de altura, a fim de abranger mais de uma estação reprodutiva. Para a caracterização dos indivíduos, foram coletadas as informações sobre PAP e a altura total de todas as plantas adultas amostradas. Dos regenerantes, foram mensurados os parâmetros: altura total e perímetro à altura do solo (PAS).

Dessa maneira, para a população da PP, foi feita a varredura de todos os indivíduos arbóreos adultos da espécie encontrados na área. Já no PEFP, foi definido o ponto central do fragmento e, a partir dele, foi feito um caminhar para a coleta do material vegetal, até totalizar 100 indivíduos. Ao final, verificou-se que a área amostral do PEFP corresponde a uma parcela circular de aproximadamente 5 ha (Figura 5), ao passo que na PP, apesar de possuir 15 ha, a área ocupada pelos indivíduos de *O. odorifera* não é maior do que 7 ha, conforme verificado na figura 1.

Figura 5. Mapa de localização da área de estudo, situada no município de Concórdia, SC, com representação da metodologia de coleta do material genético.



Fonte: Elaborado pela autora, 2019.

As coordenadas UTM dos indivíduos adultos serviram como base para a definição da área de coleta dos regenerantes. O indivíduo adulto que estava mais centralizado na amostragem foi considerado como ponto central e, a partir dele, foi realizada a varredura (de maneira circular) de todos os regenerantes encontrados, até totalizar 100 indivíduos em cada uma das

áreas. Dessa forma, a área amostral obtida para regenerantes do PEFP foi de 4,15 ha, enquanto que a parcela da PP foi de 1 hectare. Todo o material foi coletado em sacos herméticos individualizados, refrigerado e encaminhado para o laboratório de Genética do CAV – UDESC para a extração do DNA genômico.

#### *Extração, amplificação e genotipagem do DNA*

A extração de DNA genômico de *O. odorifera* seguiu um método CTAB de Mazza e Bitencourt (2000), com algumas alterações para um resultado satisfatório na qualidade de DNA. Para isso, foram utilizados aproximadamente 0,05 g de tecido vegetal. O DNA foi amplificado via reação em cadeia da polimerase (PCR), usando oito locos desenvolvidos para a espécie por Martins et al. (2014) (Tabela 1). Foram otimizadas reações multiplex para os marcadores microssatélites, de acordo com a temperatura de anelamento e tamanho do fragmento de cada um deles, sendo: Mix 1 = Ood 7, Ood 14 e Ood16, Mix 2 = Ood 9, Ood 15 e Ood 20 e Mix 3 = Ood 5 e Ood 17.

Tabela 1. Caracterização dos oito locos microssatélites desenvolvidos por Martins et al. (2014) para *Ocotea odorifera*

SSR Loco	Repetição	Sequência do primer (5'-3')	Ta (°C)	Tamanho do fragmento (bp)	GenBank acesso N°
Ood 05	(GA)7	F:GACACAGTAATGCTGGGGAAA R:ACCCTCAACCTCATCATTGC	57	246-252	KC261494
Ood 07	(GA)25	F:TAATGGGTCCCCTGTTTTGA R:CCCCTTTCTTTCCCTCTCAC	56	206-258	KC261495
Ood 09	(AG)14	F:ATATGCTACTCTTTGGAAGC R:CTAGTAAAATTGTCCAACGA	56	160-186	KC261496
Ood 14	(TC)16	F:CCTTAAACTTCACCCTCTCC R:CCAAGTTCAAAAGAGGAAAA	56	204-236	KC261497
Ood 15	(CT)17	F:AACAGAGTGGACTCGAAGAA R:TATGGAAGTGCCTCTTTCTC	56	146-176	KC261498
Ood 16	(AG)17	F:TCCATTCGGAGAGAAAAATA R:CTCTAGTGACGGAATGGAAG	56	182-226	KC261499
Ood 17	(CT)7CC(CT)9	F:AGTAGCTTCACCAACCAAGA R:TGGCTTGTTTTACTCCCTTA	60	212-252	KC261500
Ood 20	(TC)17	F:TTAGTCTCACCTTCCATTCC R:TGGACACGAGGTTAGTTTCT	56	191-221	KC261501

Fonte: Martins et al., 2014.

A amplificação das amostras via PCR foi feita em um volume total de 12,5 µL, contendo aproximadamente 20 ng de DNA, 0,2 mM de DNTP, 0,2 µM de cada primer, 1x Tampão, 2,5

mM Cloreto de Magnésio, 1 U de Platinum® *Taq* DNA Polimerase (Invitrogen) e água ultrapura. Para a ciclagem, em um termociclador Veriti 96 well Thermal Cycler, foram feitas: desnaturação inicial a 94 °C por 3 minutos, seguido de 30 ciclos a 94 °C por 45 segundos, anelamento à temperatura específica de cada multiplex (Mix 1 = 56 °C, Mix 2 = 57 °C e Mix 3 = 59 °C) por 45 segundos, extensão a 72 °C por 45 segundos e extensão final a 72 °C por 30 minutos.

A genotipagem foi realizada por meio da fluorescência emitida de cada amostra amplificada, em eletroforese capilar, por meio de um Sequenciador Automático ABI 3130 (Applied Biosystems). Para isto, foi feita uma reação contendo 2 µL do produto de PCR, 0,3 µL de GS600 LIZ® e 7,7 µL de formamida HIDITM. Os picos de fluorescência gerados em eletroferogramas definiram o tamanho dos alelos de cada reação. Essas interpretações foram realizadas com o auxílio do software GeneMapper v.3.2 (Applied Biosystems).

#### *Análise de dados*

Para avaliar as classes diamétricas e de altura, levou-se em consideração a densidade absoluta da espécie em cada área amostral, classificando-as de acordo com a amplitude de cada parâmetro. Para a apresentação dos dados, foram elaborados histogramas, distribuindo os indivíduos em classes de diâmetro à altura do peito (DAP) para adultos, diâmetro a altura do solo (DAS) para regenerantes e de altura. As diferenças nas frequências de diâmetro e de altura de cada classe foram observadas utilizando o teste de aderência qui-quadrado ( $\chi^2$ ) no nível de 5% de significância. As análises foram conduzidas no software Past 3 (HAMMER, 2017).

A diversidade genética foi estimada por meio dos seguintes índices: número médio de alelos por loco ( $A$ ), número médio de alelos efetivos por loco ( $A_e$ ), heterozigosidade observada ( $H_o$ ), e heterozigosidade esperada ( $H_e$ ) em equilíbrio de Hardy-Weinberg, índice de fixação de alelos ( $f$ ) e número de alelos exclusivos ( $A_{ex}$ ). A significância dos valores de  $f$  foram calculados por meio de 1000 permutações, e o erro padrão foi estimado por *Jackknife*. Para comparar adultos e regenerantes de cada população com relação aos índices de diversidade, foi utilizado o intervalo de confiança (IC). Assim, em caso de sobreposição entre os valores de IC de cada parâmetro, foi considerada ausência de significância. Todas as análises foram realizadas no software GenAEx 6.5 (PEAKALL e SMOUSE, 2006).

Para avaliar a estrutura genética, foram realizadas as estatísticas  $F$  de Wright (1951), que mensura as variações genéticas e o fluxo gênico existentes entre as populações ( $F_{st}$ ), dentro de cada população ( $F_{is}$ ) e o índice de fixação total ( $F_{it}$ ), com níveis de significância  $p = 0,05$ .

As possíveis diferenças entre os índices foram mensuradas por meio do intervalo de confiança, conforme citado anteriormente. Além disso, verificou-se o número de migrantes ( $N_m$ ) que entram em cada subpopulação a cada geração por meio da estimativa  $N_m = [1/F_{st}] - 1 / 4$ . A existência de diferenças significativas na partição genética entre e dentro de populações foi verificada por meio de Análise de Variância Molecular (AMOVA), com 999 permutações. Essas análises também foram realizadas no software GenAlEx 6.5 (PEAKALL e SMOUSE, 2006).

## Resultados

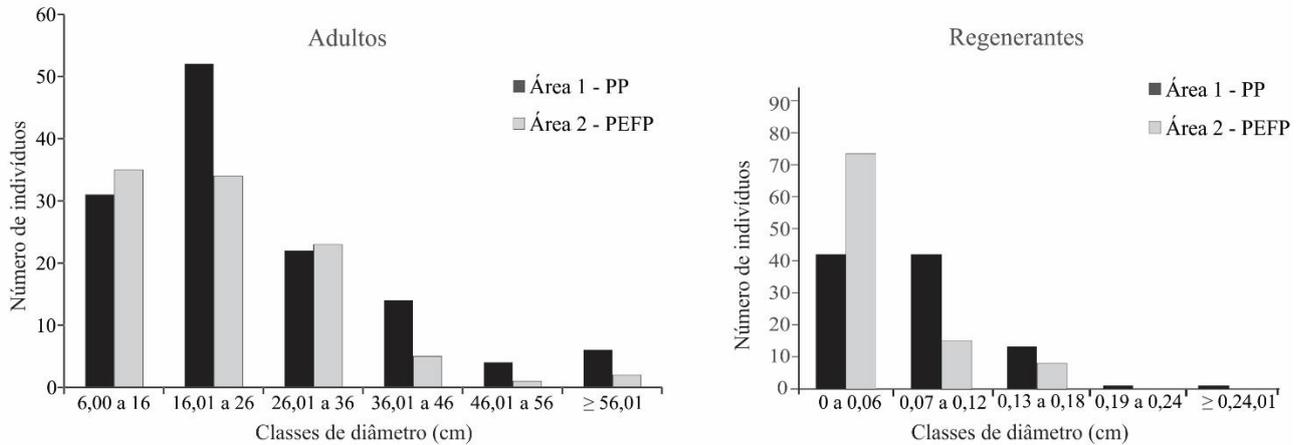
### *Caracterização dos indivíduos*

O número total de indivíduos amostrados nas duas áreas foi de 423. Destes, 227 foram coletados na PP, sendo 130 adultos, com densidade populacional de 18,57 ind./ha e 97 regenerantes (97 ind./ha). Os outros 196 indivíduos foram coletados no PEFP e, destes, 100 são adultos (20 ind./ha) e 96 são regenerantes (23,13 ind./ha).

A distribuição diamétrica dos indivíduos adultos ocorreu de maneira semelhante nas duas áreas, apresentando maior abundância de indivíduos na segunda classe de diâmetros avaliada, seguida de um decréscimo exponencial no número de indivíduos com diâmetros maiores (Figura 6). Isso ocorreu, principalmente, para os diâmetros encontrados entre 16,01 a 26 cm (PP = 52 e PEFP = 34 indivíduos) e para as classes de diâmetros encontrados acima de 36 cm, nas quais a PP apresentou 16 indivíduos a mais do que o PEFP (Figura 3). O PEFP apresentou maior número de indivíduos somente nas classes de 6 a 16 m (PP = 31 indivíduos e PEFP = 35 indivíduos) e 26,01 a 36 m de diâmetro (PP = 22 e PEFP = 23 indivíduos). Contudo, as diferenças entre as áreas, em cada classe diamétrica, não foram significativas em teste  $\chi^2$  ( $p = 0,12$ ).

Já para as populações regenerantes, a PP apresentou o mesmo número de indivíduos nas duas classes iniciais (zero a 0,12 cm – 41 indivíduos), e teve um decréscimo nas classes posteriores. O PEFP teve uma alta densidade de indivíduos na primeira classe, com 73 indivíduos. A partir da segunda classe de diâmetro, sofreu um decréscimo na densidade, com ausência de indivíduos nos diâmetros posteriores a 0,18 cm (Figura 6). Foram observadas diferenças significativas entre as áreas ( $p = 0,0001$ ).

Figura 6. Distribuição diamétrica dos indivíduos adultos de *O. odorifera*, nas duas áreas amostradas em Concórdia, SC.

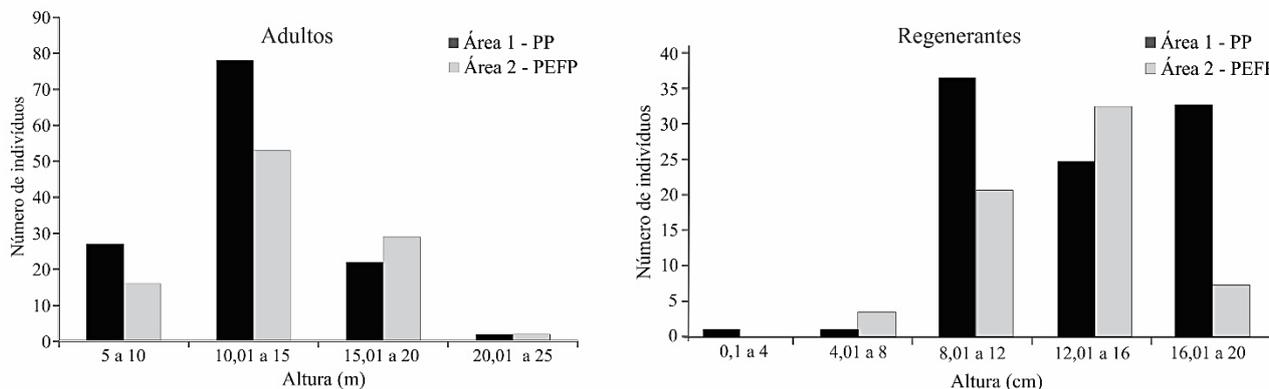


Fonte: Elaborado pela autora, 2017.

Com relação à altura, a classe com maior número de indivíduos para as populações adultas foi de 10 a 15 m (PP = 78 indivíduos e PEFP = 53 indivíduos), seguida da primeira classe de altura (entre 5 e 10 m), que apresentou 27 e 16 indivíduos, respectivamente (Figura 7). O PEFP apresentou maior número de indivíduos somente na classe entre 15 a 20 m, com 29 indivíduos, sendo que a PP apresentou apenas 22. As diferenças de altura entre as duas áreas não foram significativas em teste  $\chi^2$  ( $p = 0,15$ ).

A maior frequência de indivíduos regenerantes ocorreu a partir dos 8 cm de altura, para ambas as populações (Figura 7). O PEFP não apresentou nenhum indivíduo na primeira classe de altura e, dos 4 cm aos 16 cm, teve um aumento na densidade populacional. Já a PP apresentou o maior número de indivíduos na classe entre 8 e 12 cm (37 plantas), decresceu na classe posterior (12,01 a 16 cm – 25 indivíduos) e aumentou a densidade na última classe de altura avaliada (33 indivíduos). Diferenças significativas foram observadas entre as populações ( $p = 0,0001$ ).

Figura 7. Distribuição de altura dos indivíduos de *O. odorifera*, nas duas áreas amostradas em Concórdia, SC.



Fonte: Elaborado pela autora, 2017.

### *Diversidade genética*

O número total de alelos foi de 128 para os oito loci microssatélites, com uma média de 16 alelos por loco e com variação de cinco (Ood5) a 32 (Ood7) alelos entre os loci. Com relação aos indivíduos adultos, o número de alelos efetivos foi de 6,6 alelos na PP e de 4,7 alelos no PEFP (Tabela 2). O mesmo padrão foi verificado para a heterozigosidade observada, com valores de 0,63 na propriedade particular, e 0,59 no PEFP, e para a heterozigosidade esperada, que teve altos valores nas duas populações, ficando com 0,78 na PP e 0,76 no PEFP.

Os indivíduos regenerantes apresentaram o mesmo padrão dos adultos para todos os parâmetros avaliados. O número de alelos efetivos foi de 6,1 alelos na PP e 4,6 no PEFP. As heterozigosidades observada e esperada foram de 0,60 e 0,78, respectivamente, na PP, e de 0,52 e 0,75, respectivamente, no PEFP. Os parâmetros de diversidade genética avaliados não diferiram significativamente entre as populações, tanto para adultos, quanto para regenerantes.

A média no índice de fixação de alelos foi positiva e significativamente diferente de zero na maioria das populações (Tabela 2). Para os indivíduos adultos, o PEFP apresentou fixação de alelos de  $f = 0,20$  (IC = 0,04 – 0,36), enquanto que na PP foi verificada uma fixação de  $f = 0,176$  (IC = 0,08 - 0,26). Os indivíduos regenerantes apresentaram fixação de alelos somente no PEFP, com média de  $f = 0,28$  (IC = 0,14 - 0,43), no PEFP. A população regenerante da PP não apresentou diferença significativamente diferente de zero.

Foram encontrados 17 alelos exclusivos em todas as populações analisadas, sendo que, nas duas áreas, estes estão presentes em maior quantidade na população adulta (Tabela 2). A PP foi a que mais apresentou alelos exclusivos, com nove, de um total de 112 alelos entre

indivíduos adultos e cinco entre os 95 alelos totais encontrados para a população. No PEFP, a população adulta apresentou dois alelos exclusivos e a regenerante apresentou somente um.

Tabela 2. Índices de diversidade genética para duas populações de *O. odorifera*, incluindo indivíduos adultos e regenerantes.

População	<i>n</i>	<i>N<sub>a</sub></i>	<i>A<sub>e</sub></i> (IC)	<i>H<sub>o</sub></i> (IC)	<i>H<sub>e</sub></i> (IC)	<i>f</i> (IC)	<i>A<sub>ex</sub></i>
PP – adultos	130	112	6,621 (3,42 - 9,81)	0,637 (0,55 - 0,72)	0,783 (0,69 - 0,88)	0,176 * (0,08 - 0,26)	9
PP – reg.	97	95	6,119 (3,74 - 8,48)	0,609 (0,49 - 0,71)	0,781 (0,68 - 0,87)	0,190 (-0,02 - 0,40)	5
PEFP – Adultos	100	94	4,713 (3,61 - 5,81)	0,596 (0,46 - 0,72)	0,762 (0,68 - 0,84)	0,206 * (0,04 - 0,36)	2
PEFP – reg.	96	84	4,682 (3,30 - 6,05)	0,522 (0,42 - 0,62)	0,751 (0,66 - 0,83)	0,286 * (0,14 - 0,43)	1
Total	423	128					17

*n*, tamanho da amostra; *N<sub>a</sub>*, número de alelos; *A<sub>e</sub>*, número médio de alelos efetivos por loco; *H<sub>o</sub>*, média de heterozigosidade observada; *H<sub>e</sub>*, média de heterozigosidade esperada; *f*, média de índice de fixação; IC, intervalo de confiança; *A<sub>ex</sub>*, número de alelos exclusivos por população.

### Estrutura genética

A divergência genética entre as duas populações adultas de *O. odorifera* foi baixa, porém significativamente diferente de zero ( $F_{st} = 0,008$ , IC = 0,004 - 0,011), com 0,8% de diferença entre as populações (Tabela 3). O índice de fixação dentro de cada população apresentou valor médio de  $F_{is} = 0,184$  (IC = 0,074 - 0,29), indicando, por meio da AMOVA, que 97% da variação ocorre dentro de cada população e somente 3% ocorre entre as populações. Conseqüentemente, o índice de fixação total foi de  $F_{it} = 0,19$ . Quando comparados os índices  $F_{is}$  e  $F_{st}$ , estes apresentaram diferença significativa. O número de migrantes foi elevado, com média de  $N_m = 71,64$  migrantes por geração.

Tabela 3. Parâmetros de estrutura genética e particionamento entre populações adultas de *Ocotea odorifera*, estimados por oito locus microssatélites, usando estatística F (WRIGHT, 1951) e Análise de Variância Molecular (AMOVA).

Locos	$F_{is}$	$F_{st}$	$F_{it}$	$N_m$
Média	0,184*	0,008*	0,190	71,649
IC (95%)	0,074 - 0,29	0,004 - 0,011	0,078 - 0,30	2,84 - 140,45
AMOVA	97%	3%		

$F_{is}$ , índice de fixação dentro de cada população;  $F_{it}$ , índice de fixação total;  $F_{st}$ , índice de fixação entre populações;  $N_m$ , número de migrantes; IC, intervalo de confiança; \* $p < 0,05$ .

Os indivíduos regenerantes também apresentaram baixa divergência genética entre as duas populações ( $F_{st} = 0,010$ ; IC = 0,006 - 0,014), com média de 1% de divergência. O índice de fixação dentro de cada população foi de 0,194 (IC = 0,08 - 0,30). A comparação entre os

dois parâmetros ( $F_{st}$  e  $F_{is}$ ) indica que há diferença significativa entre eles. A AMOVA indicou que 98% da diversidade genética encontra-se dentro das populações e somente 2% encontra-se entre elas. A média do número de migrantes entre os locos foi de 69,62.

Tabela 4. Parâmetros de estrutura genética e particionamento entre populações de indivíduos regenerantes de *Ocotea odorifera*, estimados por oito locus microssatélites, usando estatística F (WRIGHT, 1951) e Análise de Variância Molecular (AMOVA).

<i>Locus</i>	$F_{is}$	$F_{st}$	$F_{it}$	$N_m$
Média	0,194*	0,010*	0,201	69,623
IC(95%)	0,08 - 0,30	0,006 - 0,014	0,08 - 0,31	-14,67 – 153,91
AMOVA	98%	2%		

$F_{is}$ , índice de fixação dentro de cada população;  $F_{it}$ , índice de fixação total;  $F_{st}$ , índice de fixação entre populações;  $N_m$ , número de migrantes; IC, intervalo de confiança; \* $p < 0,05$ .

## Discussão

### *Caracterização dos indivíduos*

As duas populações adultas de *O. odorifera* apresentaram resultados semelhantes, com alta densidade de indivíduos. Esse fato pode ser explicado ao avaliarmos a distribuição dos indivíduos em ambos os remanescentes. Apesar de a PP abranger uma área de 15 ha, a distribuição dos indivíduos ocorreu em uma parcela com 7 ha, assemelhando-se à área amostral do PEFP. Valores semelhantes aos encontrados já foram relatados em outros trabalhos publicados para o gênero. Kageyama et al (2003) amostraram 20 e 24 ind./ha em populações adultas de *O. odorifera*, inseridas em áreas de Floresta Ombrófila Mista e Floresta Estacional Semidecidual e Bittencourt (2007) estimou que *O. porosa* ocorre em densidades de 27,1 ind./ha na mesma formação florestal.

As populações regenerantes apresentaram uma discrepância na distribuição dos indivíduos entre as áreas. Com base na abrangência amostral, percebe-se que a distribuição dos indivíduos na PP ocorre de maneira mais densa do que no PEFP. Apesar de as duas áreas serem semelhantes com relação ao clima e à altitude, o relevo do PEFP parece ser um pouco mais acidentado, como já mencionado neste trabalho. Esse fator pode contribuir para que a dispersão decorrente da gravidade no PEFP abranja uma área maior do que a da PP, pois a queda dos frutos não ocorre localizada próxima à planta-mãe.

A distribuição em classes de diâmetro tomou um formato semelhante ao de “J” invertido, tanto para adultos, quanto para regenerantes, nas duas áreas. O mesmo padrão ocorreu para as classes de altura dos indivíduos adultos. Isso demonstra que a distribuição da espécie

segue um padrão característico de florestas nativas, onde há potencial para a reposição de indivíduos maiores ao longo das gerações (MONTAGNA, 2018). Apesar disso, no PEFP houve ausência de indivíduos regenerantes nas classes finais avaliadas. Essa falha na distribuição diamétrica pode estar relacionada a dois fatores: o primeiro refere-se à alternância de ciclos reprodutivos da espécie e o segundo, com a retirada de indivíduos potencialmente reprodutivos, na época em que houve exploração madeireira.

A distribuição dos indivíduos regenerantes em classes de altura não seguiu um padrão entre as áreas. Percebe-se que a maior densidade de indivíduos na PP ocorreu entre classes finais de altura analisadas, com número de indivíduos semelhante em cada uma delas. Como o número de indivíduos foi grande em uma área de abrangência pequena (97 ind./ha), esses regenerantes podem ser oriundos de uma estação reprodutiva bastante produtiva, visto que, Inoue et al. (1984) afirmam que o gênero possui intensa regeneração natural no interior da floresta, devido à abundante frutificação.

#### *Diversidade genética*

As duas populações amostradas apresentaram altos índices de diversidade genética, tanto para adultos, quanto para regenerantes. Este resultado está de acordo com o que outros pesquisadores verificaram para a mesma espécie, com marcadores microssatélites (MARTINS et al., 2015) e com isoenzimas (KAGEYAMA, 2003). Resultados semelhantes foram encontrados, também, para outra espécie do gênero, *O. catharinensis* por Montagna et al. (2018), com isoenzimas. Os altos índices de diversidade genética podem estar relacionados com a ampla distribuição geográfica que a espécie possui (MARTINS et al. (2015), e ao seu sistema reprodutivo, possivelmente de cruzamento (KAGEYAMA, 2003). De acordo com Forrest et al. (2017), altos níveis de diversidade genética podem tornar as espécies menos propensas à extinção, pois mantém seu potencial evolutivo e as torna mais adaptadas ao ambiente onde estão inseridas.

O tamanho amostral entre as duas populações estudadas foi semelhante, porém a área do remanescente do PEFP é maior (80 ha com presença de *O. odorifera*), em comparação ao da PP (15 ha). Isso gera uma expectativa de que essa população do PEFP contenha uma diversidade genética superior. Apesar disso, não houve diferença significativa entre as áreas para nenhum dos parâmetros de diversidade genética avaliados, o que indica que os remanescentes pequenos e, de certa forma, isolados tem fundamental importância para a conservação da espécie.

O tamanho da população pode interferir nos padrões de diversidade genética, porém, mesmo que a quantidade de indivíduos diminua, a heterozigosidade pode se manter alta (SOUZA, 2017). Isso acontece porque, geralmente, os alelos perdidos com essa redução são os raros, que contribuem de maneira discreta para o nível de heterozigosidade da espécie (NEI, 1975). As duas populações apresentaram alelos exclusivos, porém, a quantidade verificada na PP foi superior à amostrada no PEFP, o que, de acordo com Bittencourt (2012), pode ser um forte indicativo do isolamento das populações. Além disso, sugere que a população da PP apresenta uma probabilidade maior de perda de alelos devido ao seu tamanho, isolamento e pressão de uso.

Apesar disso, ao comparar adultos e regenerantes, verificou-se que a quantidade de alelos exclusivos entre os indivíduos regenerantes foi menor do que entre indivíduos adultos, demonstrando perda ou fixação de alelos ao longo das gerações. Segundo Futuyama (2009), a presença de alelos exclusivos com baixas frequências pode indicar que estes sejam recentes na população e, por isso, ainda não houve tempo suficiente para que se propagassem por fluxo gênico. Além disso, de acordo com Costa et al. (2015), a presença de alelos exclusivos tanto em adultos, quanto em regenerantes das populações amostradas sugere deriva genética, devido a dois fatores: o primeiro é que nem todos os alelos foram passados ao longo das gerações e o segundo é que os alelos encontrados somente em regenerantes podem ser oriundos de fluxo gênico externo ou de mutações.

A heterozigosidade observada apresentou valores menores que a heterozigosidade esperada, sugerindo um aumento no número de indivíduos homozigotos. Esse resultado pode indicar um processo de endogamia, devido ao elevado índice de fixação de alelos presente nas duas populações. O  $f$  alto nos indivíduos adultos pode ser reflexo da exploração madeireira, sofrida pela região, pois os indivíduos extraídos nessa fragmentação podem ter sido os de maior diversidade genética, restando apenas os mais aparentados. Assim, a tendência é que as próximas gerações apresentem uma diminuição na diversidade genética, devido a cruzamentos endogâmicos (ÁLVARES-CARVALHO et al., 2015). Mesmo com uma diminuição discreta na diversidade para os demais parâmetros analisados, o índice de fixação de alelos aumentou entre os indivíduos das gerações seguintes. Apesar disso, esse elevado  $f$  verificado em indivíduos regenerantes pode ser oriundo de frutificação intensa, gerada por poucas mães nas estações reprodutivas que o estudo contemplou. Ou seja, devido à frutificação da espécie ocorrer, algumas vezes, em anos alternados, as matrizes podem não contribuir com sementes em todos os eventos reprodutivos.

### *Estrutura genética*

A diferenciação genética entre as populações foi baixa, porém significativamente diferente de zero, indicando que, mesmo que em pequena quantidade, ocorre fluxo gênico. Essa divergência pode estar relacionada aos dispersores da espécie, pois segundo Martins et al. (2015), a dispersão de sementes realizada por algumas espécies de macaco pode atingir mais de um quilômetro de distância e cada animal consegue dispersar aproximadamente 50 sementes por dia. Talvez esse motivo justifique o elevado número de migrantes verificado no estudo. De acordo com Hartl; Clarck (2010), o fluxo gênico diminui a divergência genética entre as populações, pois o valor de  $F_{st}$  diminui à medida que o número de migrantes aumenta. Isso porque, segundo os autores, as populações conseguem manter-se como unidades evolutivas, pois um único migrante por geração é suficiente para anular os efeitos divergentes da deriva genética.

A divergência genética dentro de cada população apresentou valores superiores aos verificados entre populações. Como já mencionado anteriormente, isso pode estar relacionado à biologia reprodutiva de *O. odorifera* que, segundo Kageyama et al. (2003), é alógama ou de sistema misto, com predomínio de cruzamentos, o que, conseqüentemente, mantém a maior parte da variação genética dentro das populações e não entre elas. Além disso, a dispersão pode ser realizada por aves de grande porte, como as jacutingas (*Pipile jacutinga*), que permanecem por até dez dias em árvores frutíferas e, como consequência, a maioria das sementes é defecada abaixo da planta mãe (GALETTI et al., 1997).

### **Conclusões**

A espécie apresenta uma alta diversidade genética. Apesar de não haver diferença significativa entre as populações, a PP, que é o menor remanescente, apresentou valores elevados para todos os parâmetros de diversidade avaliados. Esse padrão ocorreu em indivíduos adultos e regenerantes, demonstrando que a diversidade é passada ao longo das gerações.

Apesar da alta diversidade, o índice de fixação foi bastante elevado nas duas populações, tanto para adultos, quanto para regenerantes, evidenciando a ocorrência de processos endogâmicos. Vale destacar, ainda, que mesmo não apresentando diferenças significativas entre

as duas classes e entre as populações, há indícios de que o maior índice de endogamia ocorra entre os regenerantes do PEF, o que não seria esperado, ao verificar a densidade populacional de cada população. Existem duas possíveis explicações para os resultados encontrados neste estudo: a população adulta pode ter sofrido as consequências da fragmentação florestal ocorrida e os regenerantes podem ser provenientes de uma alta frutificação gerada por poucas plantas-mãe, porém o relevo pode ter forte influência na distribuição desses propágulos.

As duas populações são bastante parecidas geneticamente e a maior divergência genética ocorre dentro de cada população. Mesmo tendo uma baixa diferenciação entre populações adultas, esses valores são significativamente diferentes de zero, indicando que ocorre fluxo gênico entre as populações. Isso possivelmente esteja relacionado às características reprodutivas da espécie, que mantém o maior fluxo gênico entre indivíduos próximos, devido aos agentes polinizadores e dispersores, do que entre populações distantes.

Diante do exposto, os resultados mostram a grande importância da conservação dos remanescentes em propriedades particulares. Além de conservar polinizadores e dispersores, podem contribuir para a manutenção da diversidade genética das espécies e contribuir para os processos evolutivos da população.

## Referências bibliográficas

ÁLVARES-CARVALHO, S. V. et al. Structure and genetic diversity of natural Brazilian pepper populations (*Schinus terebinthifolius* Raddi). **Genetics and Molecular Research**, v. 15, n. 2, 2015.

BERNARDI, S., BUDKE, J.C. Estrutura da sinusia epifítica e feito de borda em uma área de transição entre Floresta Estacional Semidecídua e Floresta Ombrófila Mista. **Floresta**, v. 40, p. 81-92, 2010.

BITTENCOURT, R. **Caracterização da estrutura genética interna e aspectos da autoecologia de uma população natural de imbuia (*Ocotea porosa*—Lauraceae)**. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Santa Catarina – Pós Graduação em Recursos Genéticos Vegetais, Florianópolis, SC, 2007

BITTENCOURT, R. **Distribuição da diversidade genética e estratégias para conservação de quatro espécies da floresta ombrófila mista ameaçadas no estado de Santa Catarina**. Tese de Doutorado submetida ao Programa de Pós-Graduação em Recursos Genéticos Vegetais. Florianópolis: Universidade Federal de Santa Catarina, 2012. 124 p.

BODANESE-ZANETTINI, M. H.; CAVALLI, S. S. **Variabilidade genética em função do modo de reprodução**. In: Freitas LB e Bered F (eds) *Genética e Evolução Vegetal*. 1ª ed. Porto Alegre: UFRGS, p. 177-188, 2003.

BROWN, A. H. D. Isozymes, plant population genetic structure and genetic conservation. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 52, n. 4, p. 145–57, 1978.

CABALLERO, A.; RODRÍGUEZ-RAMILO, S. T.; ÁVILA, V.; FERNÁNDEZ, J. Management of genetic diversity on subdivided populations in conservation programmes. Dordrecht: **Conservation Genetics**, v. 11, p. 409 – 419, 2010.

CNCFlora. *Ocotea odorifera* in Lista Vermelha da flora brasileira versão 2012.2 Centro Nacional de Conservação da Flora. Disponível em <[http://cncflora.jbrj.gov.br/portal/pt-br/profile/Ocotea odorifera](http://cncflora.jbrj.gov.br/portal/pt-br/profile/Ocotea%20odorifera)>. Acesso em 21 janeiro 2019.

COSTA, N. C. F. et al. Efeitos da paisagem de campo e florestamento com *Pinus* na diversidade e estrutura genética de pequenas populações remanescentes de *Araucaria angustifolia*. **Scientia Forestalis**, Piracicaba, v. 43, n. 107, p. 551 – 560, 2015.

FATMA, Fundação do Meio Ambiente. **Plano de Manejo do Parque Estadual Fritz Plaumann**. Florianópolis, 2005.

FORREST, A. et al. Testing the hypothesis of low genetic diversity and population structure in narrow endemic species: the endangered *Antirrhinum charidemi* (Plantaginaceae). **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 183, p. 260–270, 2017.

FUTUYMA, D. J. Population structure and genetic drift. 2<sup>a</sup> ed. Sunderland, MA, **Evolution**, 2009.

GALETTI, M. et al. Ecology and conservation of the jacutinga *Pipile jacutinga* in the Atlantic forest of Brazil. **Biol Conserv**, v. 82, p.31–39, 1997.

GUIDUGLI, M. C. et al. Small but not isolated: a population genetic survey of the tropical tree *Cariniana estrellensis* (Lecythidaceae) in a highly fragmented habitat. **Heredity**, v. 116, p. 339–347, 2016.

HAMMER, Ø. PAleontological Statistics Version 3.15. Reference manual. Natural History Museum. University of Oslo; 253 p., 2017.

HAMRICK J. L.; GODT, M. J. W. **Allozyme diversity in plant species**. In: Brown HD, Clegg MT, Kahler AL, eds. Plant population genetics, breeding and genetic resources. Sunderland, MA: Sinauer Associates, Inc., p. 43–46, 1989.

HAMRICK, J. L.; MURAWSKI, D. A.; NASON, J. D. The influence of seed dispersal mechanisms on the genetic structure of tropical tree populations. **Plant Ecology**, v. 107, n. 1, p. 281-297, 1983.

HANSON, T. R. et al. Pollen dispersal and genetic structure of the tropical tree *Dipteryx panamensis* in a fragmented Costa Rican landscape. **Molecular Ecologic**, v. 17, p. 2060–2073, 2008.

HARTL, D.; CLARK, A. Princípios de Genética de Populações. 4ed. Porto Alegre: **Artmed**, 2010, 660 p.

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

KAGEYAMA, P. Y. et al. Diversidade e autocorrelação genética espacial em populações de *Ocotea odorifera* (Lauraceae). **Scientia Forestalis**; n. 64, p.108 – 119, dez. 2003.

LAUTERJUNG, M. B. et al. Temporal changes in population genetics of six threatened Brazilian plant species in a fragmented landscape. **Forest Ecology and Management**, v. 435, p. 144–150, 2019.

LOWE, A. J. et al. Genetic resource impacts of habitat loss and degradation; reconciling empirical evidence and predicted theory for neotropical trees. **Heredity**, v. 95, p. 255–273, 2005.

MAAR, J. H.; ROSENBROCK, L. C. C. A química fina que poderia ter sido: a extração de óleo de sassafrás e de safrol no alto e médio vale do Itajaí. **Scientia e Szudia**, São Paulo, v. 10, n. 4, p. 799-820, 2012.

MARTINS, E. M. et al. Development and characterization of microsatellite loci for *Ocotea* species (Lauraceae) threatened with extinction. **Genetics and Molecular Research** 13 (3): 5138-5142, 2014.

MARTINS, E. M. et al. Genetic diversity and population genetic structure in three threatened *Ocotea* species (Lauraceae) from Brazil's Atlantic Rainforest and implications for their conservation. **Conservation Genetic**, v. 16, p. 1 – 14, 2015.

MARQUES, C. A. Importância Econômica da família Lauraceae Lindl. **Floresta e Ambiente**, Rio de Janeiro, v. 8, n. 1, p.195-206, 2001.

MAZZA, M.C.M.; BITTENCOURT, J.V. Extração de DNA de tecido de *Araucaria angustifolia* (Araucariaceae). **Boletim de Pesquisa Florestal**, v. 41, p.12-17, 2000.

MMA. Ministério do Meio Ambiente. Portaria MMA nº 443, de 17 de dezembro de 2014. Lista Nacional Oficial de Espécies da Flora Ameaçadas de Extinção, 2014.

MONTAGNA, T. et al. Spatial genetic structure, population dynamics, and spatial patterns in the distribution of *Ocotea catharinensis* from southern Brazil: implications for conservation. **Can. J. For. Res.** v. 48, p. 1–11, 2018.

NEI, M. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. **Genetics**, Austin, v. 89, n. 3, p. 583–590, jul. 1978.

OLIVEIRA-FILHO, A. T. et al. Delving into the variations in tree species composition and richness across South American subtropical Atlantic and Pampean forests. **Journal of Plant Ecology**, p. 1-23, 2013.

PEAKALL, R.; SMOUSE, P. E. GENalEx 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. *Molecular Ecology Notes*; v. 6; p. 288 – 295; 2006.

ROBINSON, I. P. **Aloenzimas na genética de populações de plantas**. In: ALFENAS, A. C. (Ed.). Eletroforese de isoenzimas e proteínas afins: fundamentos e aplicações em plantas e microrganismos. Viçosa, MG: UFV, p. 329-380, 1998.

SILVA, E. H. **As transformações do território a partir dos processos de criação e planejamento do Parque Estadual Fritz Plaumann (Concórdia/SC)**. Dissertação de mestrado. Florianópolis, SC, 2008.

SOUZA, D. **Sistema de reprodução e distribuição da variabilidade genética de Myracrodruon urundeuva (F.F. & M.F. Allemão) em diferentes biomas**. Tese de Doutorado em Recursos Forestais e Engenharia Florestal. Faculdade de Ciências Agrônômicas. Botucatu-Brasil: Universidade Estadual Paulista. 126 p., 2017.

STAMBERG, A. R. P. (Org.) et al. **Análise da dinâmica da agricultura no entorno do Parque Estadual Fritz Plaumann**, Concórdia, SC. Embrapa Suínos e Aves, 71p., 2012.

WRIGHT, S. The genetical structure of populations. **Annual Eugenics**, v. 15, p. 223-354, 1951.

YOUNG, A.; BOYLE, T., BROWN, A. H. D. The population genetic consequences of habitat fragmentation for plants. **Trends Ecol Evol**, v. 11, p. 413–418, 1996.



## Estrutura genética espacial de *Ocotea odorifera* (Vell.) Rower em remanescentes do oeste catarinense

### Resumo

Estudos sobre a estrutura genética espacial de populações permitem inferir como os fatores bióticos, abióticos (como a fragmentação de habitats) e evolutivos influenciam nos padrões de fluxo gênico e, conseqüentemente, nos parâmetros de diversidade de uma população. O objetivo deste trabalho foi avaliar a estrutura genética espacial de duas populações de *O. odorifera* de tamanhos distintos, a fim de verificar se existe parentesco entre as matrizes. Para isso, foi realizada uma análise de autocorrelação, usando o coeficiente de coancestria ( $\theta_{xy}$ ) e a intensidade da estrutura genética espacial foi estimada pela estatística  $S_p$ . O número total de indivíduos de *O. odorifera* amostrados foi de 230. Não houve estrutura genética espacial em nenhuma classe de distância, nas duas populações amostradas e a intensidade da EGE demonstrou fraca relação de parentesco entre indivíduos de cada população, de acordo com as classes de distância ( $S_p$  PEFP = 0,004 e  $S_p$  PP = 0,008). Dessa maneira, percebe-se que manter remanescentes pequenos, mesmo que isolados na paisagem, é muito importante, devido à alta variabilidade genética existente entre as matrizes.

**Palavras-chave:** autocorrelação espacial; variabilidade genética; fragmentação de habitats; coancestria.

### Abstract

Studies on the spatial genetic structure of populations allow us to infer how biotic, abiotic (such as habitat fragmentation) and evolutionary factors influence the patterns of gene flow and, consequently, the diversity parameters of a population. The objective of this study was to evaluate the spatial genetic structure of two *O. odorifera* populations of different sizes in order to verify if there is any relationship between the matrices. For this, an autocorrelation analysis was performed, using the coefficient of coancestry ( $\theta_{xy}$ ) and the intensity of the spatial genetic structure was estimated by the  $S_p$  statistic. The total number of *O. odorifera* individuals sampled was 230. There was no spatial genetic structure in any distance class in the two sampled populations, and the intensity of the EGE showed a weak kinship relationship between individuals of each population, according to the classes of distance ( $S_p$  PEFP = 0.004 and  $S_p$  PP = 0.008). In this way, it is perceived that maintaining small remnants, even if isolated in the landscape, is very importante, due to the high genetic variability among the matrices.

**Keywords:** spatial autocorrelation; genetic variability; habitat fragmentation; coancestry.

## Introdução

*Ocotea odorifera* (Vell.) Rohwer (canela-sassafrás) pertence à família Lauraceae e apresenta ampla distribuição geográfica, sendo encontrada da Bahia até o Rio Grande do Sul, com povoamentos na Argentina e no Paraguai (KAGEYAMA et al., 2003). A espécie possui dificuldade na regeneração natural, devido à fatores de reprodução e dispersão, como produção irregular de sementes, grande distanciamento entre matrizes, redução de agentes polinizadores, predação de frutos e sementes recalcitrantes, que possuem baixo vigor (AUER e GRAÇA, 1995). Apesar disso, a canela-sassafrás possui alto valor comercial, devido à qualidade da madeira e à produção de um óleo essencial, o safrol, que é extraído de todas as partes da planta, inclusive da raiz. Por esse motivo, a espécie sofreu intensa exploração, principalmente em Santa Catarina, que é um estado onde as plantas possuem alto conteúdo de óleo, visto que sua composição química varia de acordo com a região (CARVALHO, 1994).

Os impactos antrópicos sobre a natureza geram pequenos remanescentes florestais fragmentados e isolados entre si (SOOMERS et al., 2013). A primeira consequência da fragmentação de habitats é demográfica e pode acarretar em perda de biodiversidade (HABEL; ZACHOS, 2012), pois torna as plantas mais vulneráveis às modificações ambientais e afeta, principalmente, espécies que possuem dificuldade na produção e dispersão de propágulos (TERBORGH et al., 2011). Tudo isso reflete na diversidade genética, o que contribui para o risco de extinção.

A densidade populacional e a distribuição espacial dos indivíduos estão relacionadas com fatores reprodutivos da espécie, como a dispersão, tanto de pólen, quanto de sementes e com o comportamento dos polinizadores, que exercem grande influência sobre o fluxo de pólen (RICHARDS, 1997). Em espécies polinizadas por abelhas e dispersas de forma zoocórica, a interação entre animais e plantas são maiores e tendem a minimizar a ocorrência de cruzamentos entre aparentados, proporcionando maior fluxo gênico (BERNARDI, 2015). Dessa forma, os padrões de dispersão dos genes nas populações que apresentam distribuição contínua, com alta densidade, podem ser significativamente diferentes daqueles que formam agrupamentos (MARTINS, 1987).

A dispersão das sementes tem influência direta na estrutura genética de determinadas espécies (HAMRICK; MURAWSKI; NASON, 1993), pois ela possibilita a chegada de propágulos a locais mais favoráveis ao seu estabelecimento. Dessa maneira, quanto mais distantes estiverem de indivíduos da mesma espécie, maior a chance de sobrevivência, pois aumentam as possibilidades de produzirem descendentes geneticamente diferentes (BARBOSA

et al., 2009). A distância de dispersão, portanto, afeta a taxa de fluxo gênico, comprometendo, consequentemente, a estrutura genética de uma população.

Estudos sobre a estrutura genética espacial de populações são muito importantes, pois permitem inferir como os fatores bióticos, abióticos (como a fragmentação de habitats) e evolutivos influenciam nos padrões de fluxo gênico e, consequentemente, nos parâmetros de diversidade de uma população (GUILLOT et al., 2005). Devido a isso e ao conhecimento sobre os fatores reprodutivos da espécie, o objetivo deste trabalho foi avaliar a estrutura genética espacial de duas populações de *O. odorifera* de tamanhos distintos, no oeste catarinense, a fim de verificar se existe parentesco entre as matrizes amostradas. Partimos do pressuposto de que: a) a população existente no remanescente menor (PP) possui maior grau de parentesco do que a população do remanescente maior (PEFP), devido ao tamanho e isolamento do fragmento; b) existe estrutura genética espacial nas duas populações.

## **Material e métodos**

A coleta de dados e de amostras ocorreu nas mesmas áreas e seguiu o mesmo padrão que foi citado anteriormente. Os procedimentos laboratoriais foram realizados conforme descrito no capítulo anterior. Apesar disso, para este capítulo, foi utilizada somente a amostragem dos indivíduos adultos, visto que a coleta de regenerantes foi insuficiente para avaliar a estrutura genética espacial da área como um todo.

### *Análise de dados*

A estrutura genética espacial (EGE) para as duas populações foi estimada por meio de uma análise de autocorrelação, usando o coeficiente de coancestria ( $\theta_{xy}$ ) descrito por Loiselle et al. (1995). Esse coeficiente verifica a probabilidade de que dois alelos amostrados aleatoriamente, em dois indivíduos diferentes, sejam idênticos por descendência (GONÇALVES et al., 2010). Os valores de coancestria foram calculados para a média de pares de indivíduos em dez classes, sendo as distâncias para cada população, estimadas aleatoriamente. Para verificar a significância estatística de  $\theta_{xy}$  foi construído um envelope de confiança a 95% com 1000 permutações dos indivíduos nas diferentes classes de distância. O correlograma foi construído com base nos valores médios de coancestria obtidos e no intervalo de confiança.

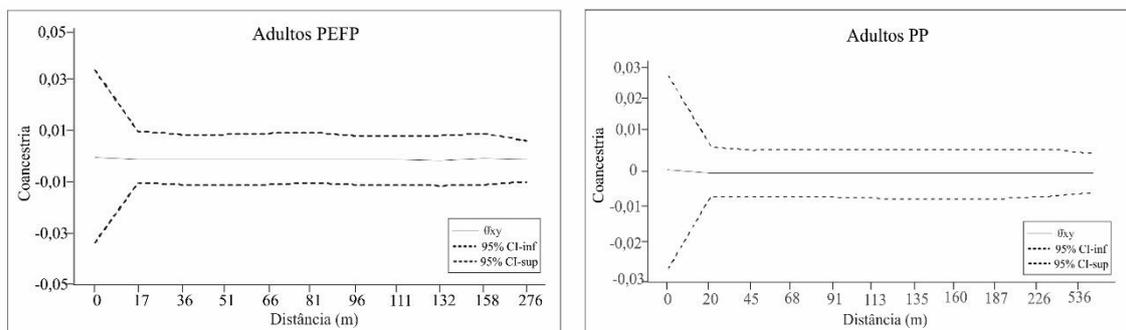
A intensidade da estrutura genética espacial foi estimada pela estatística  $S_p$ , por meio da fórmula:  $S_p = -b_{\log} / (1 - F_1)$  (VEKEMANS e HARDY, 2004), que verifica a magnitude dos níveis do coeficiente de parentesco entre indivíduos e compara com o aumento das distâncias geográficas. O  $b_{\log}$  é o valor da inclinação da curva de regressão do coeficiente *kinship* de coancestria e  $F_1$  indica a média do coeficiente de coancestralidade entre os indivíduos na primeira classe de distância avaliada. Quando  $b_{\log} = 0$ , aceita-se a hipótese nula de EGE aleatória. A ausência de EGE foi testada em cada classe de distância, por meio de 10.000 permutações. Todas essas análises foram realizadas no software SPAGeDi versão 1.5 (HARDY e VEKEMANS, 2002).

## Resultados

O número total de indivíduos de *O. odorifera* amostrados foi de 230 (Tabela 1). Destes, 100 encontram-se no PEFP e possuem uma densidade populacional de 20 ind./ha e 130 indivíduos foram coletados na PP, com uma densidade de 18,57 ind./ha.

Os indivíduos da propriedade particular apresentaram classes de distâncias maiores do que as encontradas no PEFP, com valores de 536 m e 276 m, respectivamente. De acordo com o coeficiente de coancestria, não houve estrutura genética espacial em nenhuma classe de distância, nas duas populações amostradas, sendo que os valores médios para esse coeficiente foram de 0,0007 na PP e 0,001 no PEFP (Figura 1). Os intervalos de confiança demonstraram não haver relação significativa entre os loci.

Figura 1. Relação entre coeficiente de coancestria ( $\theta_{xy}$ ) e classes de distância (m), para os indivíduos adultos das duas áreas amostradas.



Ao avaliar a intensidade da estrutura genética espacial, verificou-se que existe uma fraca relação de parentesco entre indivíduos de cada população, de acordo com as classes de distância

(Tabela 1). Os valores de  $b_{log}$  (PEFP = -0,003 e PP = -0,009) e da estatística  $Sp$  (PEFP = 0,004 e PP = 0,008) foram baixos e pouco representativos.

Tabela 1. Parâmetros espaciais usados para quantificar a estrutura genética espacial dentro de cada uma das populações.

Fragmento	$n$	$D$	$F_1$	$b_{log}$	$Sp$
<i>Parque Estadual Fritz Plaumann – PEFP</i>	100	20	-0,0005	-0,003	0,004
<i>Propriedade particular – PP</i>	130	18,57	-0,0002	-0,009	0,008

$n$ , número de indivíduos;  $D$ , densidade (número de indivíduos por hectare);  $F_1$ , valor de coancestria pelo coeficiente *kinship* para a primeira classe de distância;  $b_{log}$ , coeficiente de regressão para o logaritmo de parentesco;  $Sp$ , estatística que mede o grau de estrutura genética espacial existente.

## Discussão

A estrutura genética espacial de uma espécie é diretamente influenciada por padrões ecológicos e demográficos e, por isso, pode ser facilmente alterada (COLLEVATTI et al., 2010). Alguns parâmetros, como dispersão de sementes, densidade populacional e sistema reprodutivo modificam a distribuição dos genótipos de uma população no espaço (HARDY et al., 2006). A densidade populacional encontrada nesse estudo foi alta nas duas áreas (PEFP = 20 ind./ha e PP = 18,57 ind./ha), se comparadas aos dados sobre *O. odorifera* extraídas do Inventário Florístico Florestal de Santa Catarina (VIBRANS et al., 2010), que apresentou 6 ind./ha e semelhante ao que Kageyama et al (2003) encontraram (22 ind./ha) sobre a mesma espécie. De acordo com Kageyama e outros colaboradores (2003), espécies secundárias, como a *O. odorifera*, possuem ciclo de vida longo e menor densidade populacional e, com isso, apresentam fluxo gênico intermediário, com moderada divergência genética entre populações.

Diversos estudos sobre espécies arbóreas revelam que a estrutura genética espacial está, realmente, relacionada a fatores reprodutivos. A dispersão de sementes é um dos principais fatores responsáveis por esse padrão, visto que, geralmente, elas são levadas para longe das matrizes, a uma distância na qual a competição e a predação são menores (ARAÚJO et al., 2017). Dessa maneira, agentes dispersores como a gravidade e os animais, tem influência direta com a distância da dispersão das sementes (WANG; SMITH, 2002). Com base nisso, o conhecimento dos fatores reprodutivos de *O. odorifera* explica a falta de estrutura genética espacial, em ambas as populações, verificada nesse estudo. A espécie possui um fruto aromático e atrativo à fauna e, por isso é dispersada por grandes aves, que possuem voos longos e por mamíferos (CARVALHO, 2003). A dispersão, dessa maneira, pode atingir longas distâncias e

contribuir para que a espécie não tenha um padrão agregado na distribuição, aumentando, assim, a variabilidade genética.

A ação antrópica pode, também, ser responsável por uma ausência de estruturação espacial. Os indivíduos restantes em uma população alterada podem ser oriundos de germinações em eventos reprodutivos diferentes (CHOO et al., 2012). Assim, mesmo que sejam descendentes de uma mesma matriz, os regenerantes mais aparentados podem ser eliminados com a fragmentação de habitats, ou por não terem tido as condições necessárias para o recrutamento. As populações de *O. odorifera* da região sofreram com uma exploração desenfreada, ocorrida na década de 60, devido ao alto valor da madeira e ao óleo essencial que era extraído da espécie, tornando, dessa maneira, as populações menores. Essa redução da espécie pode ser percebida na PP, onde o fragmento é menor, porém com indivíduos adultos distribuídos de forma menos densa que no PEFP. Assim, mesmo que a amostragem tenha sido realizada somente com indivíduos adultos e que, possivelmente, muitos já faziam parte da floresta no momento da fragmentação, o padrão de estruturação genética espacial pode ter sofrido forte influência.

## **Conclusões**

Não houve estrutura genética espacial em nenhum dos remanescentes avaliados. Mesmo com alta densidade de indivíduos nas populações, os resultados demonstraram que as matrizes não possuem grau de parentesco. Apesar disso, os loci apresentaram uma pequena estruturação espacial, principalmente no PEFP, porém, com uma intensidade muito baixa e pouco representativa. Por esse motivo, mesmo que o período histórico desde a fragmentação florestal ocorrida seja curto, se tratando de florestas, os remanescentes tem se mostrado suficientes para suprir a manutenção da espécie.

## Referências Bibliográficas

- ARAÚJO, M. R. G. et al. Fine-scale spatial genetic structure and gene flow in *Acrocomia aculeata* (Arecaceae): Analysis in na overlapping generation. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 71, p. 147 a 154, 2017.
- AUER, C. G. e GRAÇA, M. E. C. **Método para produção de mudas de canela-sassafrás a partir de mudas de regeneração natural**. Colombo: Embrapa Florestas. Boletim de Pesquisa Florestal, n. 30/31, p.75-77, 1995.
- BARBOSA, J. M.et al. **Ecologia da Dispersão de Sementes em Florestas Tropicais**. In: S.V. Martins. (Org.). Ecologia de Florestas Tropicais do Brasil. 1 ed. Viçosa: Editora UFV, v. 1, p. 52-73, 2009.
- BERNARDI, A. P. **Estrutura genética e demográfica de *Podocarpus lambertii* klotzch ex endl. em uma paisagem de campo**. Dissertação de mestrado em Recursos Genéticos Vegetais, Centro de Ciências Agrárias. Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, SC, 128 p., 2015.
- CARVALHO, P. E. R. **Espécies florestais brasileiras: recomendações silviculturais, potencialidades e uso da madeira**. Curitiba: EMBRAPA/CNPQ, 640 p., 1994.
- CARVALHO, P.E.R. **Espécies Arbóreas Brasileiras**. Coleção Espécies Arbóreas Brasileiras, vol. 1. Brasília: Embrapa Informações Tecnológica; Colombo, PR: Embrapa Florestas, v. 1, 039 p., 2003.
- CHOO, J.; JUENGER, T. E.; SIMPSON, B. B. Consequences of frugivore-mediated seed dispersal for the spatial and genetic structures of a neotropical palm. **Molecular Ecology**, v. 21, n. 4, p. 1019-1031, 2012.
- COLLEVATTI, R. G.et al. Spatial Genetic Structure and life history traits in Cerrado tree species: Inferences for conservation. Rio de Janeiro: **Natureza & Conservação**, v. 8, n. 1, p. 54-59, 2010.
- GONÇALVES, A. G et al. Estrutura genética espacial em populações naturais de *Dimorphandra mollis* (Fabaceae) na região norte de Minas Gerais, Brasil. **Revista Brasil. Bot.**, v.33, n.2, p.325-332, 2010.
- GUILLOT, G.; ESTOUP, A.; MORTIER, F.; COSSON, J. F. A spatial statistical model for landscape genetics. Baltimore: **Genetics**, v. 170, p.1261– 1280, 2005.

- HABEL, J. C., ZACHOS, F. E. Habitat fragmentation versus fragmented habitats. **Biodiversity and Conservation**, v. 21, n. 11, p. 2987-2990, 2012.
- HAMRICK, J. L.; MURAWSKI, D. A.; NASON, J. D. The influence of seed dispersal mechanisms on the genetic structure of tropical tree populations. **Vegetatio**, v. 107/108, p. 281-297, 1993.
- HARDY, O. J. et al. Fine-scale genetic structure and gene dispersal inferences in 10 Neotropical tree species. Oxford: **Molecular Ecology**, v. 15, p. 559-571, 2006.
- HARDY, O.J. e VEKEMANS, X. **SPAGeDi**: a versatile computer program to analyse spatial genetic structure at the individual or population levels. *Molecular Ecology Notes*, v. 2, p. 618-620, 2002.
- KAGEYAMA, P. Y. et al. Genetic diversity and spatial autocorrelation in *Ocotea odorifera* (Lauraceae) populations. **Scientia Forestalis**, n. 64, p. 108-119, 2003.
- KAGEYAMA, P. Y. et al. Diversidade genética em espécies arbóreas tropicais de diferentes estágios sucessionais por marcadores genéticos. **Scientia Forestalis**, n. 64, p. 93-107, 2003.
- LOISELLE, B.A. et al. Spatial genetic structure of a tropical understory shrub, *Psychotria officinalis* (Rubiaceae). Columbus: **American Journal of Botany**, v. 82, p. 1420-1425, 1995.
- MARTINS, P. S. Estrutura populacional, fluxo gênico e conservação "in situ". **IPEF**, n.35, p.71-78, 1987.
- RICHARDS, A. J. **Plant Breeding Systems**. London: Chapman & Hall, 1997.
- SOOMERS, H. et al. The effect of habitat fragmentation and abiotic factors on fen plant occurrence. **Biodiversity and Conservation**, v. 22 p. 405-424, 2013.
- TERBORGH, J. et al. Decomposing dispersal limitation: limits on fecundity or seed distribution? **Journal of Ecology**, v. 99 p. 935-944, 2011.
- VEKEMANS, X.; HARDY, O.J. New insights from fine-scale spatial genetic structure analyses in plant populations. **Molecular Ecology**, v. 13, p. 921-935, 2004.
- VIBRANS, A.C. S. (org.) et al. **Inventário Florístico Florestal de Santa Catarina (IFFSC): aspectos metodológicos e operacionais**. Pesquisa Florestal Brasileira 30: 291-302, 2010.
- WANG, B.C.; SMITH, T.B. Closing the seed dispersal loop. **Tree**, v. 17, p. 379-385, 2002.

## Considerações finais

Para compreender os processos que ocorrem em uma floresta, é preciso ter o conhecimento sobre dois fatores principais: o histórico da área e a biologia reprodutiva da espécie que se deseja trabalhar. Esses dados, ajudam a formular inferências sobre questões demográficas, genéticas e evolutivas. A fragmentação florestal é um dos fatores que causa maior vulnerabilidade nas florestas.

Apesar da exploração, há uma alta diversidade genética da espécie dentro das populações, principalmente entre os indivíduos do menor remanescente florestal amostrado. Contudo, a espécie possui índice de endogamia elevado. Esse cenário pode ser preocupante a longo prazo, por representar risco à manutenção da variabilidade genética e, conseqüentemente, do potencial adaptativo da espécie.

A divergência genética entre as populações é baixa, porém significativa, com número de migrantes bastante elevado, indicando que, por mais que as populações sejam semelhantes, ainda há fluxo gênico entre elas. Apesar das semelhanças, as populações não apresentam estrutura genética espacial, o que indica que as matrizes não são idênticas por descendência. Percebe-se, dessa maneira, uma forte influência dos fatores reprodutivos da espécie, principalmente do fluxo gênico, seja na dispersão de pólen ou na propagação das sementes. O maior fluxo ocorre, possivelmente, entre indivíduos próximos, devido à dificuldade na polinização e na dispersão de propágulos, do que entre populações distantes. Por esse motivo, não há distância mínima entre matrizes que deve ser respeitada na coleta de sementes, para estudos ou plantios que visem a variabilidade genética da espécie.

Os resultados obtidos neste trabalho refletem a importância da conservação de pequenos remanescentes florestais que, por mais que estejam inseridos em uma paisagem alterada por diferentes tipos de uso, abrigam populações bem estruturadas, com alta variabilidade genética e com grande potencial evolutivo. Dessa maneira, a ampliação dos estudos seria interessante para a verificação sobre o fluxo de pólen. Apesar disso, ações de conservação como a preservação de fragmentos que não estão inseridos em Unidades de Conservação na área de ocorrência da espécie e a continuidade na proibição do corte de *O. odorifera* (mesmo nos estados em que ela não está ameaçada de extinção) são interessantes pois ajudam a manter a variabilidade genética da espécie. Além disso, auxiliam na conservação da fauna responsável pelo fluxo gênico da espécie.