

GUILHERME OLIVEIRA SANTOS FERRAZ DE ARRUDA

GENÉTICA DE POPULAÇÕES DE *Mimosa scabrella* Benth.

Tese apresentada ao Programa de Pós Graduação em Produção Vegetal do Centro de Ciências Agroveterinárias da Universidade do Estado de Santa Catarina, como requisito parcial para obtenção do título de Doutor em Produção Vegetal.

Orientador: Dr. Adelar Mantovani

**LAGES
2018**

Ficha catalográfica elaborada pelo(a) autor(a), com
auxílio do programa de geração automática da
Biblioteca Setorial do CAV/UDESC

Arruda, Guilherme Oliveira Santos Ferraz de
GENÉTICA DE POPULAÇÕES DE *Mimosa scabrella* Benth.
/ Guilherme Oliveira Santos Ferraz de Arruda. -
Lages, 2018.
164 p.

Orientador: Adelar Mantovani
Tese (Doutorado) - Universidade do Estado de Santa
Catarina, Centro de Ciências Agroveterinárias,
Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal, Lages,
2018.


1. Bracatinga. 2. Sistema reprodutivo. 3.
Diversidade genética. 4. Autofecundação. 5.
Polinização aberta. I. Mantovani, Adelar. II.
Universidade do Estado de Santa Catarina. Programa
de Pós-Graduação. III. Título.

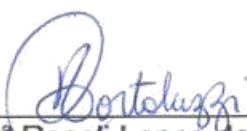
GUILHERME OLIVEIRA SANTOS FERRAZ DE ARRUDA

GENÉTICA DE POPULAÇÕES DE *Mimosa scabrella* Benth.

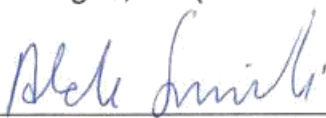
Tese apresentada ao curso de Doutorado em Produção Vegetal da Universidade do Estado de Santa Catarina, como requisito parcial para obtenção do título de Doutor em Produção Vegetal.

Banca Examinadora:

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

Membros: 
Prof.ª Dr.ª Roseli Lopes da Costa Bortoluzzi
UDESC/Lages, SC (Titular interno)

Prof. Dr. Márcio Carlos Navroski
UDESC/Lages, SC (Titular interno)


Prof. Dr. Alexandre Siminski
UFSC/Curitiba, SC (Titular externo)


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

Lages, SC, 30 de julho de 2018

Aos meus pais,
Cyro (*in memoriam*)
e Zuleika (*in memoriam*),
por tudo que me proporcionaram na vida,

DEDICO.

À minha esposa Renata e ao meu filho
Vinícius, pelo incondicional apoio, carinho e
compreensão, em todos os nossos
momentos,

OFEREÇO.

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador, professor Dr. Adelar Mantovani, por acreditar e apoiar desde o início, pela seriedade, tranquilidade na orientação, muitos ensinamentos e amizade.

À Universidade do Estado de Santa Catarina e ao Centro de Ciências Agroveterinárias, pela oportunidade oferecida, marcando mais uma etapa da vida.

Aos coordenadores do Programa de Pós Graduação em Produção Vegetal do CAV, que, durante o período do doutorado, sempre demonstraram respeito e atenção comigo durante o percurso destes anos, desde 2014/1: Prof^a. Aike, Prof. Leonardo, Prof^a. Cileide e Prof. Ricardo.

Aos professores, pelos valiosos ensinamentos em sala de aula, pela inteira disponibilidade em qualquer horário e pela ótima convivência diária no CAV. Todos, sem exceção, faço questão de expressar os seus nomes, cada um ao seu estilo, todos excelentes profissionais: Altamir Frederico Guidolin (Biologia Molecular Vegetal e Biotecnologia), Fábio Nascimento da Silva e Cleimon Eduardo do Amaral Dias (Seminários), Mari Inês Carissimi Boff e Pedro Boff (Tópicos Especiais em Produção Vegetal), Cláudio Roberto Franco (Manejo Integrado de Pragas), Adelar Mantovani (Uso e Conservação de Espécies Florestais e Genética de Populações de Espécies Florestais) e Roseli Lopes da Costa Bortoluzzi (Uso e Conservação de Espécies Florestais – aula prática).

Ao prof. Ricardo Trezzi Casa e Melissa Pierdoná Casa, grandes amigos que tenho no CAV.

Aos colegas que contribuíram com seus conhecimentos e um pouco de suor e cansaço, mas sempre de bom grado. Aqui vão eles: Flávia Saiki, Thiely Corazza, Thyana Lays Brancher, Lilian Iara Bet Stédille, Newton Costa, Júnior Caldart, Oieler Felipe Vargas, Rodrigo Buss, bolsistas da graduação Lucas da Luz, Luigi Da Cas e Lucas Bonez de Lemos.

Aos novos colegas do CCA-UFSC – Florianópolis, Tiago Montagna e Alison Paulo Bernardi, que foram fundamentais nas análises isoenzimáticas no Laboratório de Fisiologia do Desenvolvimento e Genética Vegetal (LFDGV) e ao Miguel Busarello Lauterjung e Bruno Bittencourt Chagas que deram uma força quando puderam, em 2016 e 2017. Agradecimento especial ao prof. responsável pelo

LFDGV/CCA/UFSC que gentilmente autorizou o uso do Laboratório para estas análises.

Um agradecimento ao Eng. Agrônomo Giovanni Guessser e à Bióloga Michelle Pelozato, gestores do Parque Natural Municipal de Lages – PARNAMUL, no período deste estudo, pelo apoio às atividades no local.

Agradecimento especial à FUMDES - Fundo de Apoio à Manutenção e ao Desenvolvimento da Educação Superior, pela concessão da bolsa de doutorado.

RESUMO

ARRUDA, Guilherme Oliveira Santos Ferraz de. **Genética de populações de *Mimosa scabrella* Benth.**, 2018. 164 p. Tese (Doutorado em Produção Vegetal) – Universidade do Estado de Santa Catarina, Programa de Pós Graduação em Produção Vegetal, Lages, SC, 2018.

Genética de populações é uma ciência que trata de princípios genéticos aplicados em estudos de populações inteiras. A tese envolveu três estudos com população de *Mimosa scabrella* Benth. (bracatinga), uma espécie multiuso de ocorrência principal no Sul do Brasil, em locais de elevada altitude e clima frio, como em Lages SC. Os objetivos foram: i- Investigar o tipo de sistema reprodutivo da espécie em uma população natural, com base em análises isoenzimáticas em duas estações reprodutivas consecutivas; ii- Analisar a diversidade genética em duas populações da espécie em locais diferentes do mesmo município de Lages SC, inseridas em dois cenários distintos, como área de paisagem rural manejada e área de floresta natural em Unidade de Conservação; iii- Estimar a quantidade média de flores por inflorescência, analisar a produção de frutos e sementes geradas por autofecundação e por polinização aberta e avaliar a germinação das sementes geradas por estas formas de fecundação. O estudo do sistema reprodutivo em 2015 e 2016, ocorreu na Fazenda Experimental do CAV. O estudo de diversidade genética da espécie envolveu populações da Fazenda Experimental do CAV e do Parque Natural, em Lages SC, com históricos diferentes de uso e de conservação de paisagens. O terceiro estudo foi na Fazenda Experimental do CAV, para análise de produção de frutos e sementes gerados por autofecundação e por polinização aberta, além de estudos sobre o número de flores por inflorescência e de germinação das sementes obtidas. Dentre os parâmetros do sistema reprodutivo, nas estações reprodutivas de 2015 e 2016, destacam-se respectivamente: taxa de cruzamento multiloco 0,924752 e 0,845228; taxa de cruzamento uniloco 0,783149 e 0,675069; taxa de cruzamento entre aparentados 0,141634 e 0,170158 e taxa de autofecundação 0,075248 e 0,154778. Para diversidade genética, na população da Fazenda Experimental e do Parque Natural, destacam-se respectivamente: número de alelos por loco 3,555 e 3,444, heterozigosidade observada 0,427 e 0,309 e heterozigosidade esperada 0,469 e 0,362. O número médio de flores por inflorescência foi 53,2 e os percentuais de germinação de sementes oriundas de autofecundação e de polinização aberta, foram respectivamente 72,09% e 80,24%. Conclui-se que *Mimosa scabrella* Benth. possui sistema reprodutivo misto com predominância de cruzamentos; que não há evidências de diferença significativa na diversidade genética da espécie entre as populações da Fazenda Experimental e do Parque Natural; que a espécie não possui autoincompatibilidade; que a espécie gera maior quantidade de frutos e sementes por polinização aberta do que por autofecundação e que os percentuais médios de germinação nas sementes oriundas de autofecundação e de polinização aberta, não diferem significativamente.

Palavras-chave: Sistema reprodutivo. Diversidade genética. Autofecundação. Polinização aberta.

ABSTRACT

ARRUDA, Guilherme Oliveira Santos Ferraz de. **Genetics of populations of *Mimosa scabrella* Benth.**, 2018. 164 p. Thesis (Doctorate in Plant Production) – University of Santa Catarina State, Postgraduate Program in Plant Production, Lages, SC, 2018.

Genetics of Population is a science that deals with genetic principles with application in studies of entire populations. The thesis involved three studies with population of *Mimosa scabrella* Benth. (bracatinga), a multipurpose species of main occurrence in the Southern of Brazil, in high altitude and cold climates sites, as Lages city in Santa Catarina State. The objectives of this study were: i- to investigate the type of reproductive system of this species in a natural population, based on isoenzymatic analyzes in two consecutive reproductive seasons; ii- to analyze the genetic diversity in two populations of the species in different locations of the same municipality of Lages SC, inserted in two distinct scenarios, such as managed rural landscape area and natural forest in Conservation Unit area; iii- to estimate the average number of flowers in each inflorescence, analyze how fruit and seed productions are influenced by self-fertilization and open pollination, and evaluate the germination of the seeds generated by these forms of fertilization. The study of the reproductive system in 2015 and 2016, occurred at the CAV's Experimental Farm. The study of genetic diversity of this species involved populations of the CAV's Experimental Farm and of the Natural Park, in Lages city, with different historical of use and conservation of landscapes. The third study was carried out at the CAV's Experimental Farm, to analyze the production of fruits and seeds generated by self-pollination and by open pollination, besides complementary studies of number of flowers per inflorescence and germination of the seeds obtained. Among the parameters of the reproductive system, in the reproductive seasons of 2015 and 2016, the following stand out respectively: multiloco crossing rate 0.924752 and 0.845228; uniloco crossing rate 0.783149 and 0.675069; crossing rate between related individuals 0.141603 and 0.170159 and self-pollination rate 0.075248 and 0.154778. For genetic diversity, in the Experimental Farm and Natural Park population, the following stand out respectively:: number of alleles per locus 3,555 and 3,444, observed heterozygosity 0,427 and 0,309 and expected heterozygosity 0,469 and 0,362. The average number of flowers per inflorescence was 53.2 and seed germination from self-pollination and open pollination respectively were 72.09% and 80.24%. It is concluded that *Mimosa scabrella* Benth. has a mixed reproductive system with predominance of crosses; does not show a significant difference in the genetic diversity between the populations of the Experimental Farm and the Natural Park; does not have self-incompatibility; generates larger amounts of fruits and seeds by open pollination than by self-pollination and that the average percentage of germination, in seeds from self-pollination and open pollination, does not differ significantly.

Keywords: Reproductive system. Genetical diversity. Self-fertilization. Open pollination.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

| | | |
|-------------|--|-----|
| Figura 1 - | Perfil da região fitoecológica Floresta Ombrófila Mista..... | 30 |
| Figura 2 - | Área de ocorrência natural de <i>Mimosa scabrella</i> | 31 |
| Figura 3 - | Localização do município de Lages no estado de SC..... | 36 |
| Figura 4 - | Adensamento de <i>Mimosa scabrella</i> em floração na área do estudo..... | 37 |
| Figura 5 - | A - Seleção das sementes para semeadura; B - Dimensões das sementes antes e após tratamento de superação de dormência.... | 39 |
| Figura 6 - | Progênie da semeadura complementar: A - 31 dias; B - 74 dias.. | 41 |
| Figura 7 - | A - Amido de milho e moldes para o gel; B - Gel polimerizado e liquefeito vertido nos moldes..... | 45 |
| Figura 8 - | “Wicks” com amostras solubilizadas para carregamento do gel..... | 46 |
| Figura 9 - | A - Inserção dos “wicks” com o macerado na placa de gel; B - Gel carregado com amostras, pronto para a eletroforese..... | 47 |
| Figura 10 - | Placa de gel com as amostras em eletroforese..... | 48 |
| Figura 11 - | A - Fatiamento da placa de gel após a eletroforese; B - Colocação da solução de revelação na lâmina de gel..... | 50 |
| Figura 12 - | Padrão eletroforético revelado no gel pelo sistema isoenzimático IDH para duas “famílias” de <i>Mimosa scabrella</i> | 51 |
| Figura 13 - | Áreas da Fazenda Experimental com <i>M. scabrella</i> amostrada..... | 77 |
| Figura 14 - | Representação do Parque Natural com <i>M. scabrella</i> amostrada.... | 78 |
| Figura 15 - | Contagem dos botões florais em uma inflorescência..... | 102 |
| Figura 16 - | Ensacamento de inflorescências para avaliar autofecundação..... | 103 |
| Figura 17 - | A - Inflorescências ensacadas; B - Inflorescências somente marcadas..... | 103 |
| Figura 18 - | Plântulas com 70 dias, obtidas por sementes oriundas de autofecundação e de polinização aberta..... | 113 |
| Figura 19 - | Plântulas com 134 dias. A – por sementes oriundas de autofecundação; B – por sementes oriundas de polinização aberta..... | 114 |

LISTA DE TABELAS E QUADROS

| | | |
|-------------|---|-----|
| Quadro 1 - | Características do substrato comercial utilizado na produção de progênies..... | 40 |
| Tabela 1 - | Sistemas isoenzimáticos utilizados para análises de <i>Mimosa scabrella</i> | 44 |
| Tabela 2 - | Voltagens durante a eletroforese com sistema tampão de eletrodo/gel Tris-Citrato (TC)..... | 49 |
| Tabela 3 - | Médias dos parâmetros do sistema reprodutivo na população do estudo, nas estações reprodutivas de 2015 e 2016..... | 52 |
| Tabela 4 - | Caracterização da diversidade genética em <i>M. scabrella</i> nas populações da Fazenda Experimental e do Parque Natural..... | 83 |
| Tabela 5 - | Número de alelos por loco e número total de alelos nas duas populações do estudo..... | 83 |
| Tabela 6 - | Frequência de alelos por loco nas duas populações do estudo... | 84 |
| Tabela 7 - | Nº de locos, polimorfismo nos locos, nº de alelos por loco e heterozigosidade esperada, para espécies florestais..... | 96 |
| Tabela 8 - | Estimativas médias de locos polimórficos, nº de alelos por loco, nº de alelos “efetivos” por loco e heterozigosidade esperada, por categorias de espécies arbóreas..... | 97 |
| Tabela 9 - | Médias do nº de flores por inflorescência, por árvore e geral, com as variações por árvore..... | 105 |
| Tabela 10 - | A.F.: Nº de inflorescências (<i>In</i>) ensacadas, nº de frutos (<i>Fr</i>) e nº de sementes (<i>Se</i>) obtidos em cinco árvores de <i>M. scabrella</i> | 106 |
| Tabela 11 - | A.F.: Estimativas do potencial e do efetivo nº de frutos obtidos e de sementes extraídas de cinco árvores de <i>M. scabrella</i> | 106 |
| Tabela 12 - | P.A.: Nº de inflorescências (<i>In</i>) somente marcadas, nº de frutos (<i>Fr</i>) e nº de sementes (<i>Se</i>) obtidos em <i>M. scabrella</i> | 107 |
| Tabela 13 - | P.A.: Estimativas do potencial e do efetivo nº de frutos e de sementes obtidos em cinco árvores de <i>M. scabrella</i> | 108 |
| Tabela 14 - | Taxa de germinação das sementes de <i>M. scabrella</i> obtidas por autofecundação e por polinização aberta | 108 |

LISTA DE SÍMBOLOS E ABREVIATURAS

| | |
|-----------------|---|
| A | Número de alelos |
| Â | Número de alelos por loco |
| Â _e | Número de alelos efetivos por loco |
| β-EST | Beta esterase |
| CAV | Centro de Ciências Agroveterinárias |
| CCA | Centro de Ciências Agrárias |
| CO ₂ | Dióxido de Carbono |
| DAP | Diâmetro à altura do peito |
| DIA | Diaforase |
| DNA | Ácido Desoxirribonucleico |
| DP | Desvio padrão |
| EC | Enzyme commission |
| EHW | Equilíbrio de Hardy-Weinberg |
| EP | Erro padrão |
| F | Índice de fixação |
| FECAV | Fazenda Experimental do CAV |
| FOM | Floresta Ombrófila Mista |
| H | Altura |
| He | Heterozigosidade esperada |
| Ho | Heterozigosidade observada |
| IDH | Isocitrato desidrogenase |
| LFDGV | Laboratório de Fisiologia do Desenvolvimento e Genética Vegetal |
| mA | Miliampere |
| MDF | Medium density fiber |
| ME | Enzima málica |
| MG | Minas Gerais |
| MLTR | Multilocus Mating System Program |
| NaOH | Hidróxido de Sódio |

| | |
|-------|--|
| Nep | Número de árvores efetivamente polinizadoras |
| NPK | Nitrogênio, Fósforo, Potássio |
| OSB | Oriented Strand Board |
| P% | Percentual de polimorfismo nos locos |
| PGI | Fosfoglucoase isomerase |
| PGM | Fosfoglucomutase |
| PIA | Proporção de irmãos por autofecundação |
| PIC | Proporção de irmãos completos |
| PMI | Proporção de meio irmãos |
| PR | Paraná |
| PRX | Peroxidase |
| PVPP | Polivinilpolipirrolidone |
| 6PGDH | 6-Fosfogluconato desidrogenase |
| RJ | Rio de Janeiro |
| RS | Rio Grande do Sul |
| SC | Santa Catarina |
| SKDH | Xiquimato desidrogenase |
| SP | São Paulo |
| TC | Tris-Citrato |
| TM | Trade Mark |
| tm | Taxa de cruzamento multiloco |
| ts | Taxa de cruzamento uniloco |
| UC | Unidade de Conservação |
| UDESC | Universidade do Estado de Santa Catarina |
| UFSC | Universidade Federal de Santa Catarina |
| V | Volts |

SUMÁRIO

| | | |
|--------------|--|-----------|
| 1 | INTRODUÇÃO | 23 |
| 2 | CAPÍTULO I – SISTEMA REPRODUTIVO DE UMA POPULAÇÃO DE <i>Mimosa scabrella</i> Benth. EM LAGES, SC, ANALISADO EM DUAS ESTAÇÕES REPRODUTIVAS CONSECUTIVAS..... | 25 |
| 2.1 | RESUMO..... | 25 |
| 2.2 | INTRODUÇÃO..... | 26 |
| 2.3 | MATERIAL E MÉTODOS..... | 36 |
| 2.3.1 | Local e população do estudo | 36 |
| 2.3.2 | Escolha das árvores matrizes | 38 |
| 2.3.3 | Coleta de frutos | 38 |
| 2.3.4 | Produção de progênies..... | 39 |
| 2.3.5 | Coleta de folhas para análises | 42 |
| 2.3.6 | Análise com isoenzimas..... | 43 |
| 2.3.7 | Análise estatística para sistema reprodutivo..... | 51 |
| 2.4 | RESULTADOS E DISCUSSÃO..... | 52 |
| 2.4.1 | Resultados..... | 52 |
| 2.4.2 | Discussão..... | 53 |
| 2.4.2.1 | Índice de fixação..... | 53 |
| 2.4.2.2 | Taxa de cruzamento multiloco..... | 54 |
| 2.4.2.3 | Taxa de cruzamento uniloco..... | 57 |
| 2.4.2.4 | Taxa de cruzamento entre aparentados..... | 59 |
| 2.4.2.5 | Correlação de autofecundação..... | 62 |
| 2.4.2.6 | Correlação multiloco de paternidade..... | 62 |
| 2.4.2.7 | Número de árvores polinizadoras | 64 |
| 2.4.2.8 | Proporção de irmãos por autofecundação..... | 66 |
| 2.4.2.9 | Proporção de meio irmãos..... | 68 |
| 2.4.2.10 | Proporção de irmãos completos..... | 70 |
| 2.5 | CONCLUSÕES..... | 72 |
| 3 | CAPÍTULO II - DIVERSIDADE GENÉTICA EM DUAS POPULAÇÕES DE <i>Mimosa scabrella</i> Benth. EM LAGES-SC, EM ÁREA COM PAISAGEM MANEJADA E EM UNIDADE DE CONSERVAÇÃO..... | 73 |
| 3.1 | RESUMO..... | 73 |
| 3.2 | INTRODUÇÃO..... | 74 |
| 3.3 | MATERIAL E MÉTODOS..... | 77 |

| | | |
|---------|---|-----------|
| 3.3.1 | Locais do estudo..... | 77 |
| 3.3.2 | As duas populações de <i>Mimosa scabrella</i> | 79 |
| 3.3.3 | Escolha das árvores para análise..... | 80 |
| 3.3.4 | Coleta de folhas para análises..... | 81 |
| 3.3.5 | Análise isoenzimática..... | 81 |
| 3.3.6 | Análise estatística para diversidade genética..... | 82 |
| 3.4 | RESULTADOS E DISCUSSÃO | 82 |
| 3.4.1 | Resultados..... | 82 |
| 3.4.2 | Discussão..... | 85 |
| 3.4.2.1 | Número de locos..... | 85 |
| 3.4.2.2 | Número de alelos (total, por loco e efetivos)..... | 85 |
| 3.4.2.3 | Polimorfismo nos locos (P%)..... | 87 |
| 3.4.2.4 | Número de heterozigotos..... | 88 |
| 3.4.2.5 | Heterozigosidade observada (H_o) | 89 |
| 3.4.2.6 | Heterozigosidade esperada (H_e)..... | 90 |
| 3.4.2.7 | Índice de fixação (F)..... | 91 |
| 3.4.2.8 | Frequência alélica..... | 93 |
| 3.4.2.9 | Alelos raros e alelos exclusivos..... | 94 |
| 3.5 | CONCLUSÕES..... | 97 |
| 4 | CAPÍTULO III - AUTOFECUNDAÇÃO E POLINIZAÇÃO ABERTA EM <i>Mimosa scabrella</i> Benth. E SUA INFLUÊNCIA NA GERAÇÃO DE FRUTOS, SEMENTES E GERMINAÇÃO..... | 99 |
| 4.1 | RESUMO..... | 99 |
| 4.2 | INTRODUÇÃO..... | 100 |
| 4.3 | MATERIAL E MÉTODOS..... | 101 |
| 4.3.1 | Experimento I – Número de flores por inflorescência em <i>Mimosa scabrella</i> Benth. | 101 |
| 4.3.2 | Experimento II – Produção de frutos e sementes de <i>Mimosa scabrella</i> gerados por autofecundação e por polinização aberta..... | 102 |
| 4.3.3 | Experimento III – Porcentagem de germinação das sementes oriundas de autofecundação e de polinização aberta..... | 104 |
| 4.4 | RESULTADOS E DISCUSSÃO..... | 105 |
| 4.4.1 | Resultados..... | 105 |
| 4.4.2 | Discussão..... | 109 |
| 4.4.2.1 | Experimento I | 109 |
| 4.4.2.2 | Experimento II | 109 |
| 4.4.2.3 | Experimento III..... | 112 |

| | | |
|-----|----------------------------------|------------|
| 4.5 | CONCLUSÕES..... | 114 |
| 5 | CONSIDERAÇÕES FINAIS..... | 117 |
| | REFERÊNCIAS..... | 119 |
| | APÊNDICES..... | 137 |
| | ANEXO..... | 163 |

1 INTRODUÇÃO

Desde os tempos mais remotos até os dias atuais, as árvores sempre tiveram vínculo com o ser humano e, mesmo com mudanças profundas no modo de vida do homem, estas nunca perderam sua importância. Desta forma, quanto maior o conhecimento sobre estas, maior a possibilidade de sua conservação e uso adequado.

Conhecer o sistema reprodutivo de uma espécie arbórea é fundamental, pois este é o responsável por transferir as informações genéticas às gerações descendentes (SEBBENN, 2002). As formas de reprodução em arbóreas são diversas, como por cruzamentos aleatórios, cruzamentos endogâmicos, cruzamentos correlacionados, autofecundação ou fecundação mista com cruzamento e autofecundação, além da apomixia (SEBBENN, 2006). Aspectos de biologia floral e de fenologia, entre outros, contribuem na eficiência reprodutiva de plantas mas não dispensam novos estudos, como os de genética populacional.

Uma vegetação pode ter suas características originais modificadas ao longo do tempo, em consequência de eventos antropogênicos que alteram o ambiente onde está inserida. Impactos negativos, como grandes desmatamentos, avanço de áreas urbanas sobre limites rurais, expansões agropecuárias e grandes obras civis sobre áreas de florestas, podem fragmentar, reduzir e isolar populações vegetais e interferir na regeneração das espécies.

Acredita-se que as espécies arbóreas tropicais sejam vulneráveis aos efeitos da degradação do seu habitat, devido as suas características demográficas e reprodutivas (LOWE et al., 2005), assim como há evidências de que a perturbação humana pode impactar negativamente na interação planta-polinizador (ECKERT et al., 2009). A antropização está entre as principais causas da perda de diversidade genética em espécies arbóreas, podendo gerar alterações em frequências alélicas e deterioração das reservas genéticas de populações, com o passar das gerações.

Entretanto, populações vegetais protegidas, como as situadas em Unidades de Conservação, tendem a manter sua diversidade ao formar estoque de material genético para possíveis adaptações ao meio (SCHAFFER et al., 2011). Em estudos de conservação, conhecer os padrões do movimento de pólen é fundamental para entender como o estande remanescente e indivíduos isolados estão geneticamente conectados (MORAES; SEBBENN, 2011).

Considera-se necessário incrementar as pesquisas com genética de populações de espécies florestais em nosso país, com foco em conservação e uso sustentável. Desta forma, propôs-se o estudo de uma espécie arbórea brasileira de uso múltiplo, com importância ecológica e socioeconômica, em especial aos produtores rurais das regiões de ocorrência natural: a *Mimosa scabrella* Benth.

Este trabalho está estruturado em três capítulos, com estudos sobre: I – o sistema reprodutivo da espécie arbórea brasileira *Mimosa scabrella* baseado em análises de matrizes e progênies com marcadores isoenzimáticos, em duas estações reprodutivas consecutivas; II – a diversidade genética em duas populações de *Mimosa scabrella* em ambientes com diferentes cenários e históricos de perturbação no mesmo município; III- aspectos sobre a biologia floral da espécie, sobre o potencial e a efetiva produção de frutos e sementes por autofecundação e por polinização aberta e sobre a germinação das sementes.

O objetivo geral foi obter informações sobre o sistema reprodutivo e sobre a diversidade genética desta espécie em população. Especificamente, os objetivos foram: I - investigar o sistema reprodutivo de *Mimosa scabrella* em uma população, com base em análises com isoenzimas referentes a duas estações reprodutivas consecutivas; II - analisar a diversidade genética em duas populações de *Mimosa scabrella* em quadrantes geográficos diferentes do mesmo município, com cenários distintos: área com paisagem rural manejada e área de vegetação em unidade de conservação; III - estimar a quantidade média de flores por inflorescência; analisar o potencial teórico e a efetiva produção de frutos e sementes de *Mimosa scabrella* gerados por autofecundação e por polinização aberta, e avaliar a germinação das sementes obtidas por estas formas de fecundação.

Neste contexto, foram formuladas algumas hipóteses: I - o sistema reprodutivo de *Mimosa scabrella* não é alterado após consecutivas estações reprodutivas; II – pode haver diferença na diversidade genética de *Mimosa scabrella* em função do tipo e histórico da paisagem onde a população está inserida; III - a produção de frutos e de sementes de *Mimosa scabrella* e a taxa de germinação das suas sementes, podem ser diferentemente influenciadas pela autofecundação e pela polinização aberta.

2 CAPÍTULO I - SISTEMA REPRODUTIVO DE UMA POPULAÇÃO DE *Mimosa scabrella* Benth. EM LAGES, SC, ANALISADO EM DUAS ESTAÇÕES REPRODUTIVAS CONSECUTIVAS

2.1 RESUMO

Este capítulo objetivou investigar o sistema reprodutivo da espécie arbórea brasileira *Mimosa scabrella* Benth. (bracatinga) em população na Fazenda Experimental do Centro de Ciências Agroveterinárias, da Universidade do Estado de Santa Catarina, em Lages, Região Serrana Catarinense. Por análise de isoenzimas, interpretaram-se genótipos de 368 indivíduos (23 árvores matrizes e 345 progênes) da espécie em estudo, utilizando-se nove sistemas isoenzimáticos (PGI, 6PGDH, PGM, SKDH, IDH, PRX, ME, β -EST e DIA) em cada uma das estações reprodutivas consecutivas (2015 e 2016). Utilizou-se o programa estatístico Multilocus MLTR, que analisa modelos de cruzamento misto e de cruzamentos correlacionados para caracterizar o sistema reprodutivo de espécie arbórea em população. Para as duas estações reprodutivas analisadas, (2015 e 2016), foram obtidas respectivamente as médias dos principais parâmetros, como taxa de cruzamento multiloco (t_m): 0,924752 e 0,845228; taxa de cruzamento uniloco (t_s): 0,783149 e 0,675069; taxa de cruzamento entre indivíduos aparentados (t_m-t_s): 0,141603 e 0,170159; taxa de autofecundação (s): 0,075248 e 0,154778; número efetivo de árvores polinizadoras (N_{ep}): 4,90 e 3,17; proporção de irmãos por autofecundação (PIA): 0,075248 e 0,154772; proporção de meio irmãos (PMI): 0,736121 e 0,578722 e proporção de irmãos completos (PIC): 0,188631 e 0,266506. Pelos resultados das estações reprodutivas consecutivas, conclui-se que a espécie arbórea *Mimosa scabrella* Benth. possui sistema reprodutivo misto, com predominância de cruzamentos na população.

Palavras-chave: Bracatinga. Isoenzimas. Taxas de cruzamento. Sistema misto.

2.2 INTRODUÇÃO

O sistema reprodutivo de uma espécie é um fator determinante na variação da sua estrutura genética entre e dentro das populações (ALVES, 2002). Em espécies florestais, conhecê-lo ganha importância por auxiliar no conhecimento dos descendentes, na sua estrutura genética, (MORAES; KAGEYAMA; SEBBENN, 2007) e do potencial evolutivo das populações, pelo padrão de união dos gametas (LIENGSIRI; BOYLE; YEH, 1998). Quando o objetivo é a conservação ou melhoramento genético de uma espécie, o primeiro passo é ter conhecimento do seu sistema de cruzamento, pois este determina como os genes são transmitidos e reorganizados nos descendentes (SEBBENN et al., 2000).

Nas plantas angiospermas, a reprodução sexuada pode ser classificada em três tipos de sistema, determinados pelas formas de cruzamento e suas taxas: i- sistema autógamo (em plantas com taxa de cruzamento até 5%); ii- sistema alógamo (em plantas com taxa de cruzamento acima de 95%) e iii- sistema misto (em plantas que realizam fecundação cruzada com taxas de cruzamento entre 5% e 95%, mas também se autofecundam) (BARBOSA, 2014; KARASAWA, 2009). Referente ao sistema reprodutivo misto, as populações com este sistema diferem das outras populações completamente alógamas ou autógamas por serem uma mistura de indivíduos com diferentes níveis de endogamia e graus de parentesco (VENCOVSKY et al., 2001). Existem evidências de que o sistema reprodutivo misto seja favorecido em relação ao autógamo, uma vez que forte depressão por endogamia opõe-se à evolução da autofecundação (GOODWILLIE; KALISZ; ECKERT, 2005). As estimativas e a caracterização das taxas de cruzamentos são importantes no estudo da dinâmica dos alelos em populações (ALVES, 2002) e possibilita inferir sobre possíveis ocorrências no ambiente das populações, analisar suas descendências e auxiliar em tomadas de decisão.

A estratégia reprodutiva nas plantas angiospermas é diversificada, fato notado pela morfologia floral. Em particular, o grupo das monoicas apresenta 72% das plantas com flores hermafroditas, 11% com flores unissexuadas e 17% das plantas com flores unissexuadas e hermafroditas simultaneamente, podendo ser andromonoicas (com flores masculinas e hermafroditas), ginomonoicas (com flores femininas e hermafroditas) ou trimonoicas (com flores masculinas, femininas e hermafroditas) (KARASAWA, 2009).

O sistema de cruzamento de espécies florestais é analisado com base nos genótipos da árvore matriz e das suas progênes (MOREIRA, 2009). Ao analisar geneticamente as progênes, pode-se conhecer como uma espécie recombina seus genes nos eventos reprodutivos e as características herdadas, incluindo as de interesse econômico (SEBBENN; KAGEYAMA; ZANATTO, 2001), permitindo inferências mais precisas para tomadas de decisões em ações conservacionistas. Informações genéticas como vizinhança reprodutiva, taxas de cruzamentos e de autofecundação, entre outras, facilitam o entendimento sobre o comportamento reprodutivo de indivíduos arbóreos em população, sendo úteis em planejamentos de coleta de sementes para fins de recuperação de áreas, para banco de germoplasma ou para testes de progênes em melhoramento florestal (MORAES; KAGEYAMA; SEBBENN, 2007).

Fatores externos e internos às plantas podem influenciar no sistema reprodutivo de uma espécie vegetal, afetando a taxa de cruzamento e a correlação de paternidade em populações. Entre os fatores externos há os vetores de polinização e os seus comportamentos e entre os fatores internos há a fenologia, a alocação de recursos nos frutos (MILLAR et al., 2000) e a autoincompatibilidade (GIBBS; OLIVEIRA; BIANCHI, 1999). Em espécies arbóreas é comum o sistema reprodutivo ser misto (SOBIERAJSKI; KAGEYAMA; SEBBENN, 2006) mas com elevadas taxas de cruzamentos para populações de espécies folhosas (SEBBENN, 2003), em cujo grupo se inserem as de flores hermafroditas, como a *Mimosa scabrella*.

Métodos de análises moleculares são utilizados em estudos de sistema reprodutivo e de diversidade genética de populações de espécies florestais por serem elucidativos em programas de conservação das espécies e manejo (MORI et al., 2013). Marcadores genéticos são características qualitativas de herança mendeliana simples e de fácil reconhecimento, cuja expressão não se influencia pelo ambiente (CONTE, 2004). Os marcadores podem ser classificados em grupos bioquímicos, proteicos e moleculares (BRAMMER, 2000). Historicamente as décadas de 1960 e de 1970 foram revolucionárias com o desenvolvimento de marcadores bioquímicos e moleculares (CONTE, 2004) e, de modo particular, a década de 1970 foi o início da era das “Novas Biotecnologias”, com inovações em tecnologias e com os marcadores bioquímicos sendo bem aceitos pela comunidade científica (BRAMMER, 2000). As isoenzimas, por não serem DNA mas sim proteínas

visualizadas em gel após a eletroforese, são consideradas marcadores do grupo bioquímico por alguns autores (HOFFMANN; BARROSO, 2006).

Por definição, isoenzimas são enzimas que possuem diferentes formas moleculares mas com funções metabólicas específicas e representam um grupo especializado de proteínas (BRAMMER, 2000). Estas diferem entre si nas sequências de aminoácidos, embora catalisem a mesma reação química. O termo “isoenzima” foi proposto em 1959 e a “Enzyme Commission for the International Union of Biochemistry” recomendou o uso deste termo somente nas formas diferentes que surgissem de alterações estruturais das proteínas (PIMENTEL, 1988).

As isoenzimas são marcadores genéticos convenientes por exibirem propriedades interessantes, como ter alelos com expressão codominante e padrão mendeliano, além da técnica de execução rápida e barata (GANDARA, 1996). Mesmo com a técnica que utiliza o DNA, a separação das formas moleculares das enzimas por eletroforese continua sendo bem utilizada em análises genéticas de populações vegetais. Estudos de genética populacional com espécies florestais têm dado suporte à importante constatação de que marcadores enzimáticos são úteis e confiáveis para estimar parâmetros genéticos como os do sistema de reprodução em plantas, observando-se congruências entre marcadores isoenzimáticos e microsatélites em análise comparativa (CONTE et al., 2008). A técnica com isoenzimas pode fornecer respostas auxiliaadoras em quantificação de proteínas e identificação de enzimas, sendo a grande força desta técnica a capacidade de visualizar diretamente a atividade isoenzimática, detectando produtos de genes catalizadores de uma mesma reação (NÓBREGA et al., 1999).

As isoenzimas são controladas geneticamente por alelos que estão em diferentes locos (sistemas isoenzimáticos) (MONTAGNA et al., 2013), possibilitando aos pesquisadores, a partir de fenótipos isoenzimáticos, identificarem genes com funções importantes ainda na fase de plântula (BRAMMER, 2000). Os padrões de diferentes isoenzimas e das proteínas têm sido utilizados para auxiliar na identificação de espécies, cultivares e linhagens, já que a maioria dos alelos apresenta expressão codominante, o que permite distinguir os heterozigotos dos homozigotos, sendo esta uma vantagem que poucos marcadores genéticos apresentam (NÓBREGA et al., 1999). As isoenzimas, utilizadas como marcadores genéticos, podem fornecer informações sobre as magnitudes das taxas de

cruzamento e de autofecundação, do nº de árvores polinizadoras, entre outras, favorecendo a caracterização do sistema reproduzível (SEBBENN et al., 2000).

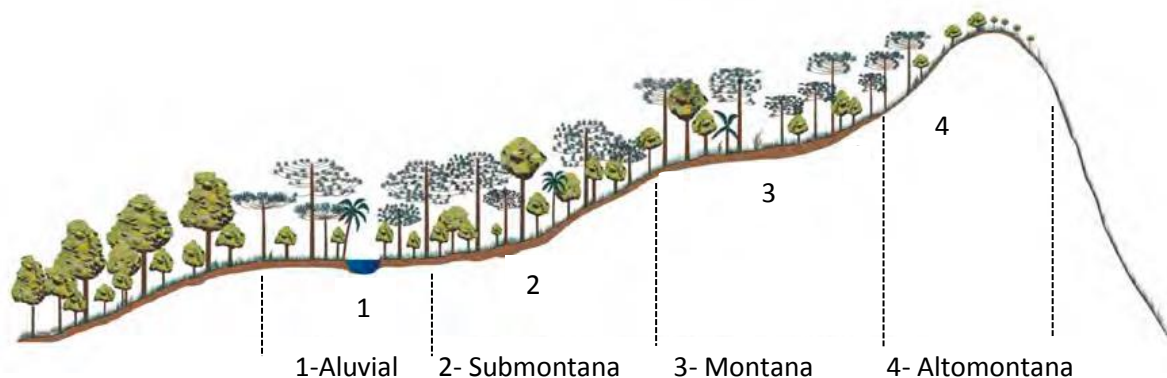
Na análise estatística para caracterizar o sistema reprodutivo em plantas, um dos programas utilizados com análise isoenzimática é o Multilocus Mating System Program – MLTR 3.2 (RITLAND, 2008), que abrange o modelo de cruzamentos mistos (RITLAND; JAIN, 1981) e o modelo de cruzamentos correlacionados (RITLAND, 1989). O modelo de cruzamentos mistos admite que uma parte das progênes é gerada por cruzamentos (aleatórios e sistemáticos ou biparentais) e outra parte é gerada por autofecundação. Dos cruzamentos aleatórios originam-se progênes de meio-irmãos e dos cruzamentos sistemáticos ou biparentais, originam-se irmãos completos. O modelo de cruzamentos correlacionados só abrange os cruzamentos, não envolve autofecundação e admite que as progênes são indivíduos meio-irmãos e irmãos completos (SOBIERAJSKI, 2004).

A espécie *Mimosa scabrella*, objeto deste estudo, tem como ambiente fitoecológico de ocorrência a Floresta Ombrófila Mista (FOM), inserida no bioma brasileiro Mata Atlântica (MMA, 2016). A FOM, ou Floresta com Araucária, representa a fitofisionomia florestal existente nos planaltos da região Sul do Brasil, onde é encontrada predominantemente entre 800 e 1200 m e só eventualmente ocorre acima deste limite (RODERJAN et al., 2002). Em menor proporção, e de forma mais pontual, a FOM também ocorre nas Serras do Mar e Mantiqueira na região Sudeste, em disjunções florísticas (RODERJAN et al., 2002; IBGE, 2012).

As formações “propriamente ditas” da FOM delimitam-se por critérios altitudinais como Aluvial, Submontana, Montana e Altomontana (Figura 1). A formação Aluvial ocorre em terraços antigos associados à rede hidrográfica; formação Submontana ocorre em locais abaixo de 400 m de altitude, em disjunções; formação Montana ocorre em altitudes entre 400 e 1000 m e formação Altomontana em altitudes acima de 1000 m (IBGE, 2012).

Uma das características da FOM é a coexistência de representantes das floras tropical e temperada, como os gêneros arbóreos primitivos australásicos *Araucaria* e *Drimys* e o afroasiático *Podocarpus* (IBGE, 2012). A espécie destaque é *Araucaria angustifolia* (Bertol.) Kuntze (Araucariaceae), quase sempre associada com espécies de gêneros arbóreos importantes, como *Ocotea*, *Nectandra*, *Ilex*, *Cedrela* e *Mimosa* e outros (RODERJAN et al., 2002; IBGE, 2012).

Figura 1- Perfil da região fitoecológica Floresta Ombrófila Mista



Fonte: Adaptada de IBGE (2012).

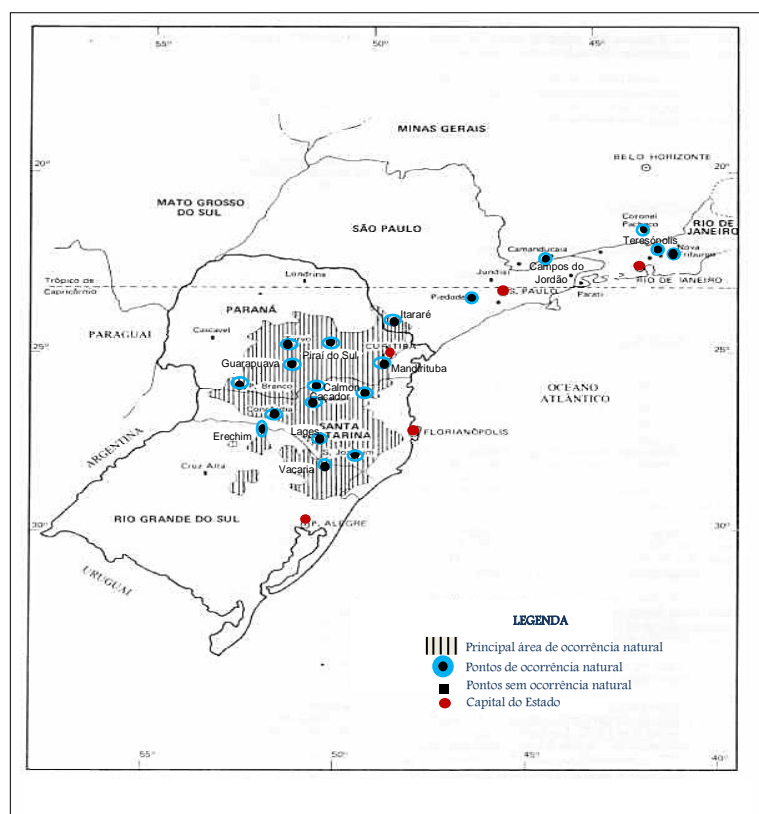
O gênero *Mimosa* L. ocorre com predomínio na região Neotropical do planeta (DOURADO; CONCEIÇÃO; SANTOS-SILVA, 2013) e no Brasil é representado por 358 espécies (DUTRA; MORIM, 2015). A espécie *Mimosa scabrella* Benth. (Fabaceae, subfamília Caesalpinioideae, clado Mimosoide) (LPWG, 2013; ESCOBAR; SILVA; TOZZI, 2017), é um representante arbóreo deste gênero em vegetação secundária da FOM. O nome popular, bracatinga, significa “árvore de mato com muitas plumas” na língua Guarani, provavelmente devido às inflorescências globosas do tipo capítulo (FOELKEL, 2012). Recebe outros nomes como abracatinga e anizeiro no estado de MG, bracatinho e mandengo no estado do RJ, maracatinga (Biguaçu, SC) e paracatinga (CARVALHO, 2002). O epíteto específico *scabrella* refere-se à leve aspereza das folhas ao tato (FOELKEL, 2012; CARPANEZZI et al., 1988).

Trata-se de uma espécie brasileira, com maior ocorrência nos estados do PR, SC e RS, mas também na região Sudeste, com menor frequência, em localidades de altitudes elevadas dos estados de MG, RJ e SP (DUTRA; MORIM, 2015). De uma forma geral, a *Mimosa scabrella* distribui-se entre as latitudes 21°30' e 29°50' S e longitudes 48°30' e 53°50' W (ROTTA; OLIVEIRA, 1981; CARVALHO, 2002), tendo como referência para o seu limite de ocorrência ao Norte, o município de Coronel Pacheco, MG (CARPANEZZI et al., 1988) (Figura 2).

Nos planaltos da região Sul e em serras da região Sudeste, ocorre preferencialmente em altitudes acima dos 700 m (CARPANEZZI et al., 1988), inclusive em pontos bem mais elevados, superiores a 1000 m (CARVALHO 2002) em vegetação de Floresta Ombrófila Mista Montana e Altomontana.

Por ser quase exclusiva de vegetação secundária em Floresta Ombrófila Mista (BARTOSZECK, 2000), é pouco abundante em áreas ainda não perturbadas, onde a vegetação de *Araucaria angustifolia* (Bertol.) Kuntze é primária (CARVALHO, 2002). Em áreas parcialmente devastadas pela exploração pode tornar-se abundante (REITZ; KLEIN; REIS, 1988), assim como em clareiras naturais, formando adensamentos monoespecíficos conhecidos como bracatingais (BAGGIO et al., 1995), caracterizados pela densidade elevada de indivíduos de *Mimosa scabrella* na fase inicial de desenvolvimento.

Figura 2 - Área de ocorrência natural de *Mimosa scabrella* Benth.



Fonte: Adaptada de Carpanezzi et al.(1988).

Estudos relatam densidade de 87% de indivíduos da espécie com idades de um a quatro anos nos adensamentos mas que sofrem drástica redução com o decorrer do tempo (STEENBOCK et al., 2011).

Seu crescimento é rápido, típico das espécies pioneiras, sendo surpreendente nos seis anos iniciais (MAZUCHOWSKI, 1988), seguido por um patamar de crescimento mais lento por alguns anos, quando entra numa fase de declínio vital (CARPANEZZI et al., 1988). Segundo Carpanezzi et al. (1988), o ponto

máximo da curva de crescimento correspondente a 8,6 anos de idade, indicando um aumento anual de matéria seca até este ponto. As árvores podem atingir de 15 a 20 m de altura e DAP de 20 a 30 cm, mas raramente atingem 40 cm (REITZ; KLEIN; REIS, 1988).

A idade reprodutiva é alcançada aos três anos, embora possa iniciar o florescimento mais precocemente em condições ambientais excepcionais (CARPANEZZI; PAGANO; BAGGIO, 1997; CARPANEZZI et al., 1988), como aos 18 meses, com formação de frutos aos 21 meses e início do seu amadurecimento aos 23 meses (BERTALOT, 1997). A floração apresenta o fenômeno “mass-flowering”, que produz muitas flores em curto período de antese (HARTER-MARQUES; ENGELS, 2003).

A polinização de suas flores é feita principalmente por abelhas, com destaque para espécies brasileiras sem ferrão como *Trigona spinipes* (irapuá) e *Melipona quadrifasciata* (mandaçaia), além de híbridos africanizados de *Apis mellifera* (CATHARINO; CRESTANA; KAGEYAMA, 1982). Em um estudo, com 54 horas de observação em São Francisco de Paula, RS, os polinizadores mais abundantes de *Mimosa scabrella* foram as abelhas nativas sem ferrão *Plebeia saiqui* (mirim) e *Plebeia emerina* (mirim), e a introduzida *Apis mellifera* (HARTER-MARQUES; ENGELS, 2003).

As estações reprodutivas no Planalto Serrano Catarinense normalmente ocorrem de junho a setembro, podendo haver alguma variação. No estado de SC, observam-se os botões florais iniciando sua formação em março, com abertura das primeiras flores em junho (FABROWSKI et al., 2005). O fruto da espécie é classificado como craspédio (BARROSO et al., 1999; CARVALHO, 2002) e torna-se maduro a partir de dezembro, mesmo período que no estado do PR. Nos estados de SP e RS há alguma variação e amadurecem a partir de novembro (FABROWSKI, et al, 2005; CARVALHO, 1994). A espécie possui síndrome de dispersão de sementes por autocoria, com as sementes liberadas do fruto naturalmente (CARVALHO, 2002). Entende-se por síndrome de dispersão o processo que frutos e sementes são transportados, à maior ou menor distância da planta-mãe (STEFANELLO; BULHÃO; MARTINS, 2009) e, entende-se por autocoria, quando a própria planta lança as sementes nas proximidades por mecanismo particular ou quando se desprendem de forma natural (BIZERRIL, 2000; ALMEIDA, 2008). A autocoria com mecanismo particular “explosivo” faz com que as sementes sejam expulsas do fruto maduro por

ruptura abrupta do pericarpo. Já no modo “não explosivo” da autocoria, as sementes soltam-se naturalmente por gravidade e passam por fendas do pericarpo. Em *Mimosa scabrella*, ocorre a fragmentação transversal do pericarpo do craspédio em artículos monospermicos, formando fendas por onde sai cada semente, e tal fragmentação segmenta o pericarpo mas não atinge as bordas do carpelo, deixando-as íntegras e persistentes, lembrando uma moldura (BARROSO et al., 1999).

A longevidade da *Mimosa scabrella* é baixa para uma espécie florestal. A senilidade tem início em torno dos 17 a 18 anos de idade (WEBER, 2007; FOELKEL, 2012), quando começam morrer por senescência (FOELKEL, 2012) e termina seu ciclo de vida em torno dos 25 anos de idade, quando praticamente desaparece da floresta (SIMINSKI; MAZUCHOWSKI, 2014; SILVA et al., 2016) ou, no máximo, 30 anos (CARPANEZZI et al., 1988; MACHADO et al., 2006).

A espécie tem importância socioeconômica e ecológica, sendo considerada de uso múltiplo (DAHMER et al., 2013), gerando benefícios diretos e indiretos com produtos madeiráveis e não madeiráveis. O cultivo da *Mimosa scabrella*, tanto em sistema florestal como agroflorestal, é importante fonte de renda de muitos produtores rurais familiares, principalmente em SC e PR (MAZUCHOWSKI; RECH; TORESAN, 2014). Em assentamentos agrários no planalto catarinense, cerca de 50% da renda das famílias origina-se de produtos de bracatingais sob manejo (STEENBOCK, 2009; STEENBOCK et al., 2011), com a produção, uso e comercialização de produtos, madeiráveis ou não. O manejo dos bracatingais revela uma lógica para conservar a espécie e obter renda (STEENBOCK et al., 2011b).

A biomassa aérea é a porção de madeira passível de ser utilizada para gerar energia, como lenha e carvão (SOUZA, 2011). A madeira de *Mimosa scabrella* tem bom poder calorífico (4569-4890 kcal.kg⁻¹) (CARPANEZZI et al., 1988; QUIRINO et al., 2005), sendo bastante utilizada para queima direta como lenha doméstica ou em indústrias, olarias e até locomotivas (MAZUCHOWSKI et al., 2014a). Como fonte energética, também é utilizada na forma de carvão vegetal, cujo poder calorífico é maior (7234-7559 kcal.kg⁻¹) (CARPANEZZI et al., 1988).

Sua madeira serrada é utilizada tanto em movelaria rústica como de padrão superior e para alcançar mercados maiores, como nos estados de SP e RJ, chega a receber o nome de “amêndola” como estratégia comercial para “sofisticar” a denominação (MAZUCHOWSKI et al., 2014a). A madeira da bracatinga tem características de textura e cor superiores a de espécies exóticas plantadas

comercialmente no Brasil e utilizadas na indústria moveleira, tendo qualidade para aplicação em partes aparentes dos móveis e, pela fácil trabalhabilidade, tem aptidão para móveis maciços (ZAMARIAN, 2008). Também com madeira serrada são produzidos pisos (assoalho, parquet, taco e outras classificações), painéis (compensados, laminados, aglomerados, OSB e MDF), caixotaria, paletes e embalagens leves (KRETSCHEK, 2004; MAZUCHOWSKI; TORESAN, 2014). Já a madeira roliça tem bom uso em obras da construção civil (escoras e pontaletes) e na olericultura (varas como tutor de plantas trepadeiras) (CARPANEZZI et al., 1988).

Para fins não madeiráveis, sua biomassa foliar pode ser utilizada na alimentação complementar do gado em período de pastagens escassas, por ser fonte de proteína bruta (249 g.kg^{-1} matéria seca) (NIANG et al., 1996) e estar disponível quando as pastagens estão secas (BAGGIO et al., 1986).

Como planta apícola é destaque na região Sul do Brasil (CARVALHO, 1994; MAZUCHOWSKI et al., 2014b), pelo reconhecimento de sua importância por apicultores desta região de ocorrência (PEGORARO et al., 2011). É valorizada pela intensa floração justamente no inverno, quando disponibiliza néctar e pólen (MARTINS; ORTH, 2004) em período de pouca oferta de flores de outras espécies melíferas (WEBER, 2007). Estudos apontam a *Mimosa scabrella* como espécie néctar-polinífera, pelos percentuais médios de néctar, pólen e ambos, coletados por abelhas no forrageamento (PEGORARO et al., 2011). Desta forma, a espécie torna-se uma valiosa fonte nutricional para colmeias em períodos de escassez de pólen, néctar e água às abelhas (CARPANEZZI et al., 1988; PEGORARO et al., 2011). Em estudo sobre a atratividade floral da *Mimosa scabrella* para abelhas *Apis mellifera*, quantificou-se que 28,0% das operárias forrageiras capturadas nas inflorescências coletaram néctar, 21,3% coletaram pólen, 27,0% ambos os recursos e 23,6% nenhum deles (PEGORARO et al., 2011).

Além das flores, outras partes desta arbórea também fornecem recursos alimentares aos insetos. Fuste e galhos ofertam exsudatos vegetais, assim como exsudatos adocicados expelidos por cochonilhas dos gêneros *Tachardiella* (Homoptera) (MARTINS, 2005) e *Stigmacoccus* (Hemiptera) (WOLFF; WITTER; LISBOA, 2015) ao sugarem seiva do floema. Estes escorrem pela árvore e são matérias primas para abelhas na produção de um mel rico em açúcares, conhecido por “melato” (MAZUCHOWSKI et al., 2014b). A presença de compostos fenólicos antioxidantes dão ao mel de melato características físico-químicas e sensoriais

diferenciadas do mel floral (SERAGLIO, 2016). Alguns extrativos da *Mimosa scabrella* têm uso industrial, entre eles a galactomanana, um polissacarídeo que atua como reserva de energia no endosperma, extraído da goma da semente para uso como espessante na indústria cosmética, alimentícia, têxtil e farmacêutica, entre outras aplicações (VENDRUSCOLO, 2005; PETCOWICZ et al., 2011).

Ecologicamente a espécie desempenha papel importante como facilitadora sucessional, por ocupar rapidamente áreas alteradas, contribuir na melhoria das condições edafoclimáticas e favorecer o processo de avanço da sucessão ecológica da vegetação (FERREIRA, 2015). Por estes motivos é bem recomendada para recuperação de solos degradados e pouco férteis, pois, além da rapidez de ocupação e crescimento, deposita no solo boa quantidade de folheto como fonte de material orgânico (CARPANEZZI et al., 1988). Também fixa nitrogênio atmosférico no solo, aceitando bem a associação com bactérias dos gêneros *Rhizobium* (CARPANEZZI et al., 1988; FRANCO et al., 1995) e *Burkholderia* (PRIMIERY, 2016), com boa nodulação nas raízes e incrementando seu potencial de espécie recuperadora de solos.

Um bracatingal também atua como mitigador dos efeitos negativos das mudanças climáticas, contribuindo com o ambiente (FEISTAUER et al., 2004; URBANO, 2007). Agrupamentos de *Mimosa scabrella* possuem potencial de sequestrar CO₂ da atmosfera pela sua biomassa foliar (MELLO et al., 2012) e de estocar o carbono nestes maciços, onde o CO₂ capturado do ar é fixado na biomassa é representado pelo carbono nas árvores (SOUZA, 2011). Estes são serviços ambientais, cuja mensuração e valoração são possíveis por mecanismos de compensação ambiental, os quais poderão reverter em benefícios aos proprietários rurais que adotam práticas conservacionistas (FERREIRA, 2015).

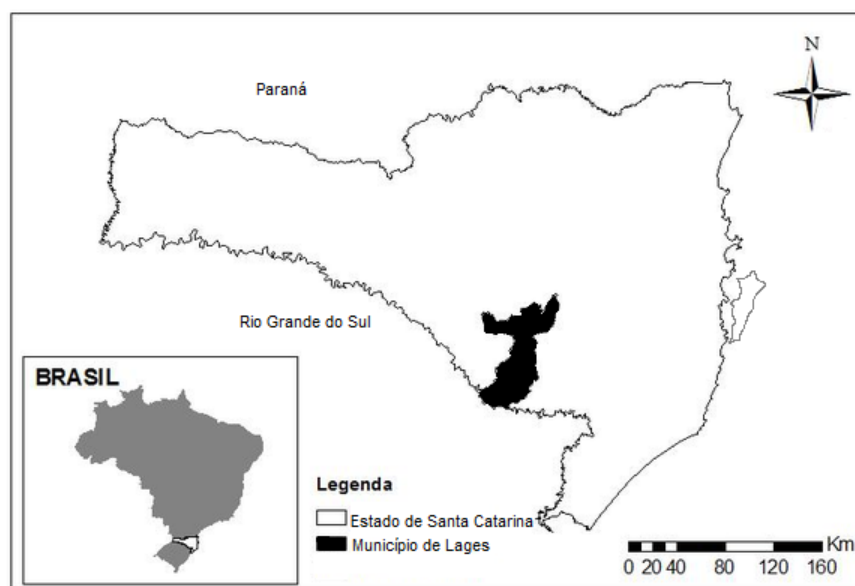
O objetivo do estudo neste capítulo foi investigar o sistema reprodutivo de *Mimosa scabrella* com base em marcadores isoenzimáticos, durante duas estações reprodutivas consecutivas, em uma população no Planalto Serrano Catarinense.

2.3 MATERIAL E MÉTODOS

2.3.1 Local e população do estudo

A população de *Mimosa scabrella* deste estudo localiza-se no município de Lages SC, (Figura 3), inserido na Mesorregião Serrana Catarinense. A escolha deste município para o estudo da espécie justifica-se por ser uma das principais áreas de sua ocorrência natural. O município possui temperatura média anual 16,6° C, precipitação média anual de 1441 mm (CLIMATE, 2018), altitude média de 916 m e sua classificação climática é Cfb (Köppen), com clima temperado, úmido e chuvas uniformemente distribuídas no ano (ALVARES et al., 2013).

Figura 3 - Localização do município de Lages no estado de SC



Fonte: Elaborada pelo autor, 2018

O local do estudo é a Fazenda Experimental do Centro de Ciências Agroveterinárias (FECAV), da Universidade do Estado de Santa Catarina (UDESC), distante 26 km do campus, com acesso pela rodovia BR 282 (km 195), que possui área total de 191 ha e é composta por três áreas denominadas Norte, Leste e Sul (UDESC, 2012). Situa-se na latitude 27°44''S e longitude 50°05''W, com altitude entre 853 m e 895 m, possui vegetação arbórea natural constituída por remanescentes de Floresta Ombrófila Mista Montana distribuídos em fragmentos,

principalmente em matas ciliares e alguns capões preservados, compondo as Áreas de Preservação Permanente e de Reserva Legal.

Na área do estudo também ocorre vegetação campestre formada em época anterior à aquisição pelo CAV/UEDESC, para provável atividade pecuária. Existe na área uma boa reserva hídrica, com cursos d'água perenes que em determinado local formam um represamento importante para a fauna local. A população de *Mimosa scabrella* apresenta indivíduos adultos, juvenis e plântulas, preferencialmente nas bordas dos remanescentes em vegetação ciliar.

No geral, os indivíduos de *Mimosa scabrella* distribuem-se na área de forma descontínua pelos fragmentos arbóreos remanescentes, com exceção em dois adensamentos de indivíduos da espécie, com predominância de árvores adultas, formando faixas lineares (Figura 4).

Figura 4 - Adensamento de *Mimosa scabrella* em floração na área do estudo



Fonte: Acervo de Thiely Corazza, 2015.

Pela característica de indivíduos de *Mimosa scabrella* em agrupamento, estas duas formações ciliares foram consideradas pequenos bracingais, onde as árvores apresentam altura maior do que a maioria das demais fora dos agrupamentos, porém com copas menores.

2.3.2 Escolha das árvores matrizes

No período de setembro a dezembro/2015 realizaram-se a escolha e a marcação das árvores matrizes da população de *Mimosa scabrella* para serem utilizadas neste estudo. Com base em critérios previamente definidos, como estar em idade reprodutiva, ter bom aspecto fitossanitário, não apresentar sinais de senescência e ter distância mínima de 50 m entre elas, escolheram-se 35 árvores matrizes que foram marcadas (MSC 01 a 35), registradas as coordenadas geográficas e mensuradas a altura total (H) e o diâmetro à altura do peito (DAP) (APÊNDICE A).

A partir da escolha das matrizes, planejou-se a coleta de frutos, produção de progênie e coleta de folhas como material biológico para as análises por isoenzimas, referentes às estações reprodutivas de 2015 e de 2016, visando informações para caracterizar o sistema reprodutivo da espécie.

2.3.3 Coleta de frutos

Referente à estação reprodutiva de 2015, o acompanhamento periódico da maturação dos craspédios nas 35 árvores matrizes selecionadas teve início em outubro/2015. A coleta dos craspédios maduros ocorreu entre a última semana de dezembro/2015 e a segunda semana de janeiro/2016. Como critério visual para a coleta, adotou-se o momento em que os craspédios apresentassem coloração marrom ferrugínea e antes de iniciarem a ruptura dos segmentos para liberação das sementes.

Os frutos coletados foram acondicionados e identificados no campo em embalagens plásticas separadas por matriz. Posteriormente foram colocados em recipientes abertos em local com boa ventilação para concluir a secagem. Para acelerar a secagem natural, colocaram-se os frutos ao sol por dois dias, pois, em *Mimosa scabrella*, mesmo com aparência de maduros, podem apresentar teor de umidade de 20 a 25% um pouco antes de liberar as sementes (CARPANEZZI et al., 1988). Para estes autores, a simples exposição dos frutos ao sol por dois dias pode reduzir para 14% a sua umidade e facilitar a extração manual das sementes.

Referente à estação reprodutiva de 2016, o desenvolvimento morfológico e a maturação dos craspédios nas mesmas 35 árvores matrizes selecionadas, foram

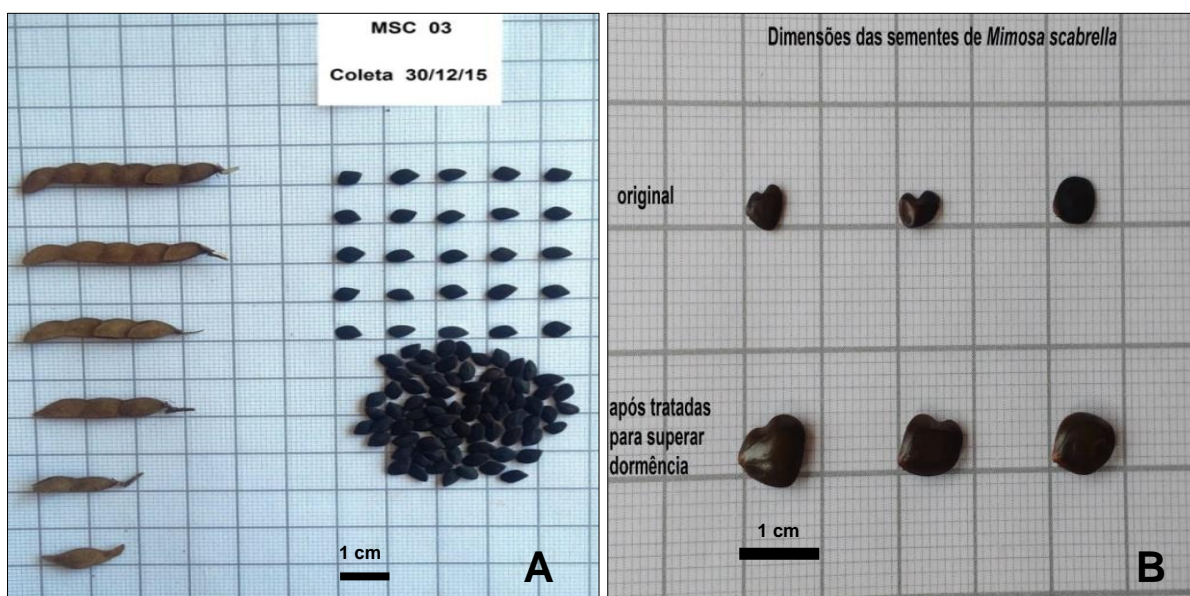
monitorados a partir de outubro/2016, prolongando-se até a segunda semana de janeiro/2017. Nesta ciclo, o amadurecimento dos craspédios foi mais tardio em duas semanas do que o do ano anterior e, por este motivo, a coleta dos frutos ocorreu entre a segunda e a quarta semana de janeiro/2017. Os procedimentos para coletar, acondicionar e secar os frutos, foram iguais aos realizados no ano anterior.

2.3.4 Produção de progênes

Referente à estação reprodutiva de 2015, o preparo dos materiais e insumos para a produção das progênes, foi realizado no viveiro florestal do CAV/UDESC. Utilizaram-se substrato composto comercial (Quadro 1), vermiculita expandida com granulometria fina e fertilizante de liberação controlada com NPK 14-14-14.

O preparo das sementes para semeadura envolveu a seleção das mesmas (Figura 5), desinfestação fitossanitária (solução de hipoclorito de sódio 1% por 3 minutos) e tratamento para superação da dormência tegumentar, cujas atividades foram em laboratório. Como método para superação de dormência das sementes, optou-se pela escarificação térmica em água a 80° C, com posterior repouso na mesma água em temperatura ambiente por 18h (CARPANEZZI et al., 1988; CARVALHO, 2003), ficando as sementes hidratadas para a semeadura (Figura 5).

Figura 5 - A - Seleção de sementes para produção de progênes; B - Dimensões das sementes antes e após o tratamento de superação de dormência



Fonte: Elaborada pelo autor, 2016.

Quadro 1- Características do substrato comercial utilizado na produção de progênes

| Matérias primas | Densidade (kg/m ³) | pH | Umidade máx. (% peso/peso) | Capacidade de retenção de água (% peso/peso) |
|--|-----------------------------------|-----------|-------------------------------|---|
| Casca de pinus, fibra de coco, carvão vegetal, cinza e vermiculita expandida | 285 | 6,5 ± 0,5 | 50 | 150 |

Fonte: Elaborado pelo autor, 2018.

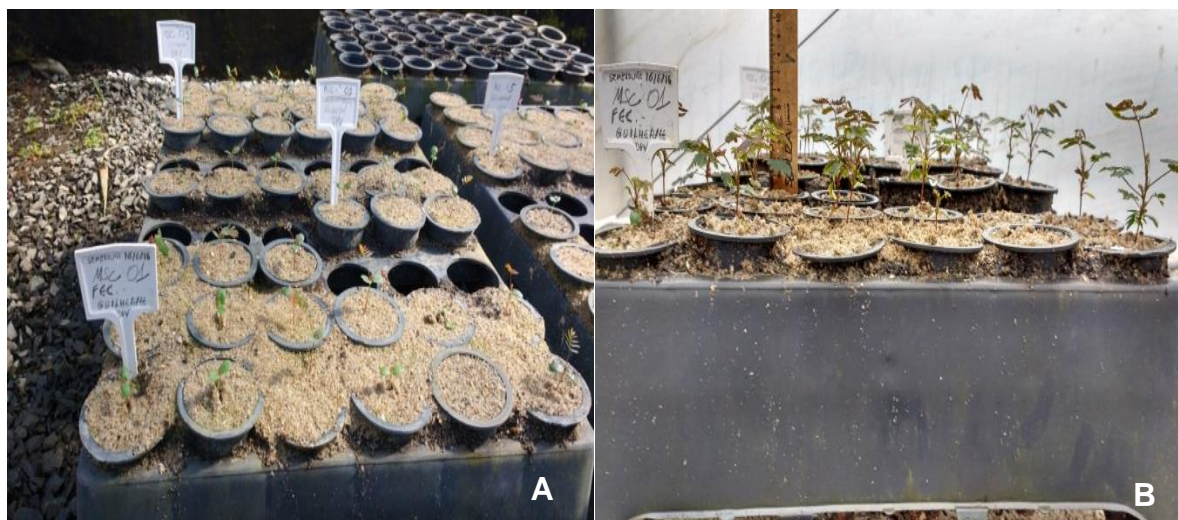
A irrigação por microaspersão foi programada para cinco vezes ao dia (duas matinais e três vespertinas) durante 10 minutos cada e a emergência das primeiras plântulas iniciou cinco dias após a semeadura, em conformidade com os estudos de germinação de sementes de *Mimosa scabrella* de Carpanezzi et al. (1988) e Avrella et al. (2017).

O desenvolvimento inicial das progênes ocorreu em casa de vegetação não climatizada, com cobertura e cortinas laterais de filme plástico leitoso (modelo estufa). Após 35 dias neste ambiente, fez-se a transferência das progênes para a casa de vegetação com cobertura e laterais de tela de polietileno preta 33%.

Em meados de junho/2016 fez-se uma semeadura complementar, visando repor as perdas de progênes por motivos bióticos e abióticos. Devido ao fato de cinco árvores matrizes (MSC 08, 14, 15, 21 e 24) terem produzido quantidade reduzida de frutos na estação reprodutiva de 2015 e não terem deixado sobra de sementes, estas não foram ressemeadas, possibilitando a semeadura complementar somente de 30 matrizes. A quantidade semeada de cada matriz foi variada, pois algumas matrizes tiveram mais perdas de progênes e/ou falhas de germinação do que outras. Para esta semeadura complementar, utilizou-se o mesmo substrato comercial, em iguais proporções, adicionado de vermiculita expandida e de fertilizante de liberação controlada utilizadas na semeadura inicial. Todos os procedimentos operacionais foram idênticos aos da semeadura inicial.

Por ser uma semeadura no final do outono, época de baixas temperaturas no local e em ambiente não climatizado, a emergência das progênes iniciou mais tardiamente, aos 11 dias após a semeadura. Também se observou que o desenvolvimento das plântulas desta semeadura complementar foi mais lento (Figura 6), quando comparado com a semeadura inicial no verão, fato já esperado pela estação do ano.

Figura 6 - Progênies da semeadura complementar: A- 31 dias; B- 74 dias



Fonte: Elaborada pelo autor, 2016.

Referente à estação reprodutiva de 2016, no viveiro florestal do CAV/UDESC repetiram-se os procedimentos para a produção de progênies com as sementes coletadas nesta estação reprodutiva. Foram separadas 1400 sementes, assim como os mesmos insumos e materiais necessários para a produção de progênies no ano anterior, já descritos. Da mesma forma, os procedimentos para a desinfestação fitossanitária e tratamento das sementes para superação de dormência tegumentar foram idênticos aos realizados no ano anterior.

A semeadura foi realizada na segunda semana de fevereiro/2017, seguindo-se os mesmos procedimentos operacionais do ano anterior. Com a intenção de assegurar uma maior quantidade de progênies para cada matriz e garantir o fornecimento de folhas para as análises isoenzimáticas, foram semeadas 40 sementes / matriz.

O desenvolvimento inicial das progênies igualmente foi em casa de vegetação com cobertura plástica não climatizada, anteriormente descrita, onde as plântulas iniciaram a emergência também após cinco dias de semeadas. A irrigação automática teve a mesma programação que a do ano anterior (cinco vezes ao dia, por 10 minutos cada vez).

Na produção de progênies da estação reprodutiva de 2016, antecipou-se a transferência das progênies para a casa de vegetação não climatizada com cobertura de tela de polietileno preta 33%. A transferência ocorreu com 15 dias após

a sementeira, devido às elevadas temperaturas diurnas no interior da casa de vegetação com cobertura plástica, no mês de fevereiro.

Mesmo sem perdas excessivas de progênies, na quarta semana de março/2017 fez-se uma sementeira complementar como garantia de produção, já que em cinco matrizes (MSC 02, 19, 23, 28 e 29), até aquele momento (42 dias após a sementeira), havia quantidades de plântulas abaixo do estipulado para as análises.

2.3.5 Coleta de folhas para análises

Em meados de setembro/2016, antes da análise isoenzimática das amostras da estação reprodutiva de 2015, fez-se um levantamento quali-quantitativo das progênies disponíveis para análise. Verificou-se que, da sementeira complementar de junho/2016, nem todas as progênies estavam aptas a fornecer folhas para análise, pois diversas plântulas apresentavam desenvolvimento vegetativo incipiente, com folhas diminutas ou somente primórdios foliares, devido ao período de baixas temperaturas pós sementeira complementar.

No geral, verificou-se que, das 35 matrizes amostradas na população, 12 delas tinham menos de 15 progênies com folhas disponíveis para as análises isoenzimáticas. Diante deste fato, definiu-se que a quantidade de progênies a serem analisadas seria de 15 indivíduos por matriz, o que gerou a exclusão de 12 matrizes das análises (MSC 04; 05; 06; 08; 09; 10; 13; 14; 15; 20; 21 e 24), por terem menos indivíduos do que a quantidade estipulada, em condições de análise isoenzimática.

Diante deste critério, na véspera da análise isoenzimática, fez-se a coleta de folhas nas outras 23 matrizes que preenchiam o requisito da quantidade mínima de progênies (MSC 01; 02; 03; 07; 11; 12; 16; 17; 18; 19; 22; 23; 25; 26; 27; 28; 29; 30; 31; 32; 33; 34 e 35), enquanto no viveiro florestal coletaram-se folhas de 15 progênies de cada uma destas matrizes. Neste novo arranjo, cada “família” a ser analisada ficou constituída por 16 indivíduos (a matriz + 15 progênies), totalizando 368 amostras (23 de matrizes e 345 de progênies).

No procedimento de coleta de folhas, separaram-se duas folhas inteiras de árvores matrizes e de progênies, embalou-se em sacos plásticos com identificação individualizada e colocou-se em bolsa térmica com barras de “gelo espuma” para melhor conservação durante o procedimento.

Ao final da coleta, as amostras foliares ficaram em geladeira até o momento do seu transporte ao local das análises, o qual foi igualmente feito com caixas térmicas com barras de “gelo espuma” e camadas de jornais para preservar as características de material fresco.

Referente à estação reprodutiva de 2016, para a coleta de folhas das progênes e de suas respectivas matrizes, repetiram-se os procedimentos do ano anterior, já descritos. Desta forma, na terceira semana de julho/2017 foram coletadas folhas das 23 famílias, formadas pelas mesmas 23 matrizes analisadas no ano anterior e por 15 novas progênes de cada matriz, compondo assim o novo lote de amostras para a nova rodada de análises isoenzimáticas da mesma população de *Mimosa scabrella*.

2.3.6 Análise com isoenzimas

As análises isoenzimáticas das amostras de matrizes e progênes de *Mimosa scabrella* da população em estudo foram realizadas no Laboratório de Fisiologia do Desenvolvimento e Genética Vegetal (LFDGV), do Centro de Ciências Agrárias (CCA), da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC) em Florianópolis, SC. As análises referentes às estações reprodutivas de 2015 e 2016 foram realizadas respectivamente em setembro/2016 e julho/2017, cujos procedimentos basearam-se nos protocolos utilizados pelo LFDGV/CCA/UFSC, onde as principais etapas foram:

a) Preparo das soluções tampão e dos sistemas isoenzimáticos

Seguiram-se os protocolos existentes para quatro tipos de soluções necessárias a este processo: tampão de extração, tampão do gel de amido, tampão da cuba de eletroforese (ou “sistema eletrodo-gel”) e tampão de revelação. Ressalta-se que a solução tampão de extração também deve agir na manutenção da atividade catalítica das enzimas e na prevenção de oxidação de possíveis compostos fenólicos associados, e que a solução tampão do “sistema eletrodo-gel” é utilizada no preparo do gel e na cuba de eletroforese com os eletrodos.

As soluções tampão podem ser preparadas antecipadamente em volumes maiores e armazenadas em geladeira, exceto o tampão de revelação (MONTAGNA et al., 2013).

Preliminarmente às análises, testaram-se 12 sistemas isoenzimáticos com base em protocolos para análises de isoenzimas de espécies florestais utilizados no LFDGV/CCA/UFSC. Após os testes iniciais, definiu-se por nove sistemas isoenzimáticos com base na qualidade da resolução da atividade das enzimas no gel (Tabela 1). A composição detalhada de cada sistema enzimático é apresentada no Anexo A.

Tabela 1- Sistemas isoenzimáticos utilizados para as análises de *Mimosa scabrella*

| | Sistema | Enzima | Código da enzima |
|---|--------------|--------------------------------|------------------|
| 1 | PGI | Fosfoglucoase isomerase | (*EC 5.3.1.9) |
| 2 | 6PGDH | 6-Fosfogluconato desidrogenase | (*EC 1.1.1.44) |
| 3 | PGM | Fosfoglucomutase | (*EC 2.7.5.1) |
| 4 | SKDH | Xiquimato desidrogenase | (*EC 1.1.1.25) |
| 5 | IDH | Isocitrato desidrogenase | (*EC 1.1.1.42) |
| 6 | PRX | Peroxidase | (*EC 1.11.1.7) |
| 7 | ME | Enzima málica | (*EC 1.1.1.40) |
| 8 | β -EST | Beta esterase | (*EC 3.1.1.1) |
| 9 | DIA | Diaforase | (*EC 1.8.1.4) |

*(EC) Enzyme commission: código internacional das enzimas com base nas reações que catalisam
Fonte: Elaborada autor, 2016.

b) Preparação do gel

Utilizou-se amido de milho PenetroseTM 30 a 13% no preparo do gel onde as enzimas devem migrar, por constituir um substrato com boa resolução e compatível com diferentes soluções tampão, além do baixo custo. A preparação do gel seguiu os procedimentos da rotina do LFDGV/CCA/UFSC.

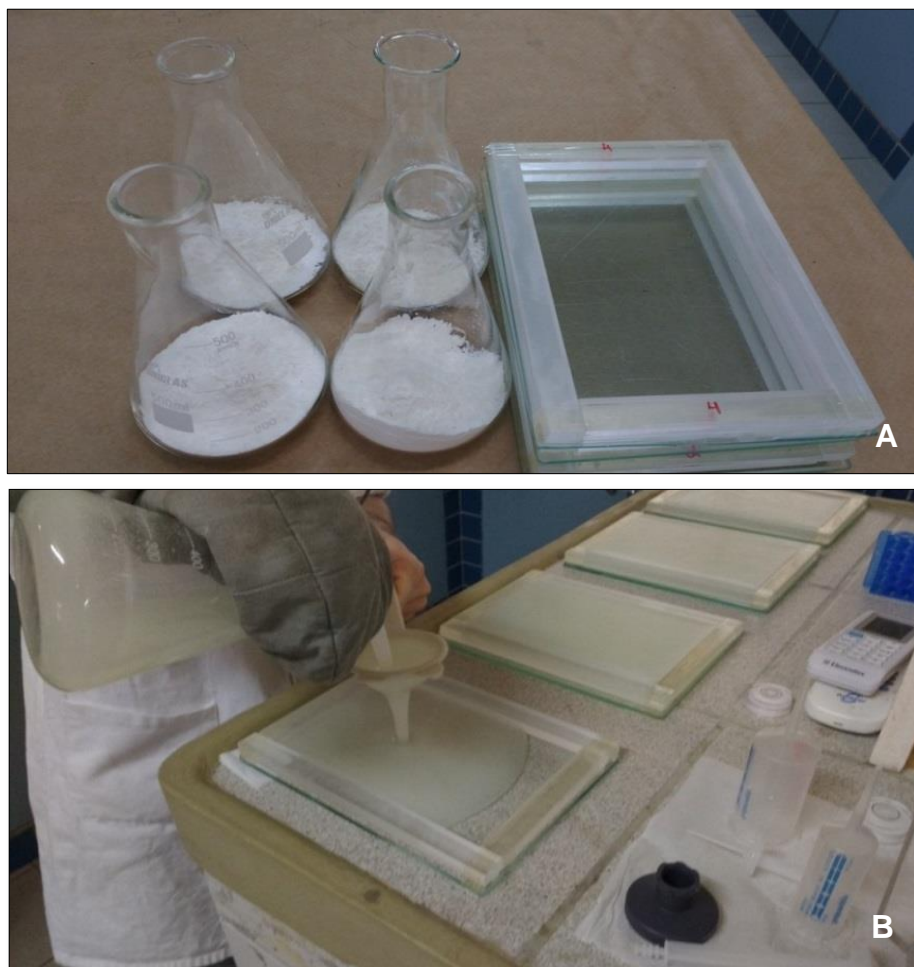
Para cada placa de gel, misturou-se 39 g de amido (Figura 7) com 300 ml da solução tampão do gel em frasco Erlenmayer de 500 ml. A solução tampão do gel foi a mesma solução do eletrodo com Tris-Citrato (TC) utilizada na cuba eletrolítica, porém com diluição a 3,5%. A solução tampão do eletrodo com TC é constituída por 27 g/L de Tris e 16,52 g/L de ácido cítrico, titulada com NaOH até pH 7,5 (MONTAGNA et al., 2013).

A mistura homogeneizada foi aquecida sucessivamente por 40 segundos em forno de micro-ondas (três vezes seguidas), sendo intercalada com intensa agitação do frasco, manualmente. Os aquecimentos sucessivos tiveram continuidade, mas com o tempo de 20 segundos por vez (três vezes seguidas), sendo intercalados com forte agitação do frasco. Nesta fase, a mistura apresentava consistência viscosa.

Para finalizar o preparo do gel, o aquecimento continuou até os primeiros sinais de ebulição, momento em que o frasco deve ser retirado do forno de micro-ondas, impedindo a fervura. Esta etapa de interrupção da fervura foi repetida por três vezes consecutivas, quando o gel de amido ficou fluído e pronto para ser vertido nas formas (moldes), previamente preparadas. O tempo total desta etapa com aquecimentos sucessivos foi de cinco minutos.

O gel foi vertido em formas retangulares com superfície de vidro liso e bordas acrílicas removíveis (Figura 7), iniciando a fase de seu resfriamento.

Figura 7- A - Amido de milho e moldes para o gel; B - Gel polymerizado e liquefeito vertido nos moldes



Fonte: Elaborada pelo autor, 2016.

Inicialmente o gel resfriou em temperatura ambiente por 30 minutos e posteriormente em geladeira, a 5 °C, adquirindo consistência firme. Recomenda-se preparar o gel na véspera de seu uso, para agilizar o processo de análise. A placa de gel é retirada da geladeira no momento do seu “carregamento” com as amostras solubilizadas.

c) Maceração foliar, extração e solubilização das enzimas

Conforme protocolo do LFDGV/CCA/UFSC, em cada tubo de amostra foram colocados 10 mg de Polivinilpolipirrolidone (PVPP), três gotas da solução de extração nº 1 (ALFENAS, 1998), um a dois folíolos de amostra fresca de *Mimosa scabrella* e cinco “beads” de aço inoxidável para romperem mecanicamente os tecidos vegetais durante a maceração. Na escolha dos folíolos para maceração, deve-se evitar aqueles tenham tons avermelhados, pela possibilidade de conterem mais compostos secundários prejudiciais ao processo de extração das enzimas. Utilizou-se o equipamento macerador / homogeneizador de tecidos biológicos Precellys™ Bertin Corp. com programação de 6800 rpm por 15 segundos (MONTAGNA et al., 2013).

As amostras maceradas e solubilizadas foram colocadas sobre tiras de papel filtro cromatográfico absorvente Whatman™ nº 3, cortados em dimensões de 2 mm X 20 mm (“wicks”) (Figura 8).

Figura 8 - “Wicks” com amostras solubilizadas para carregamento do gel



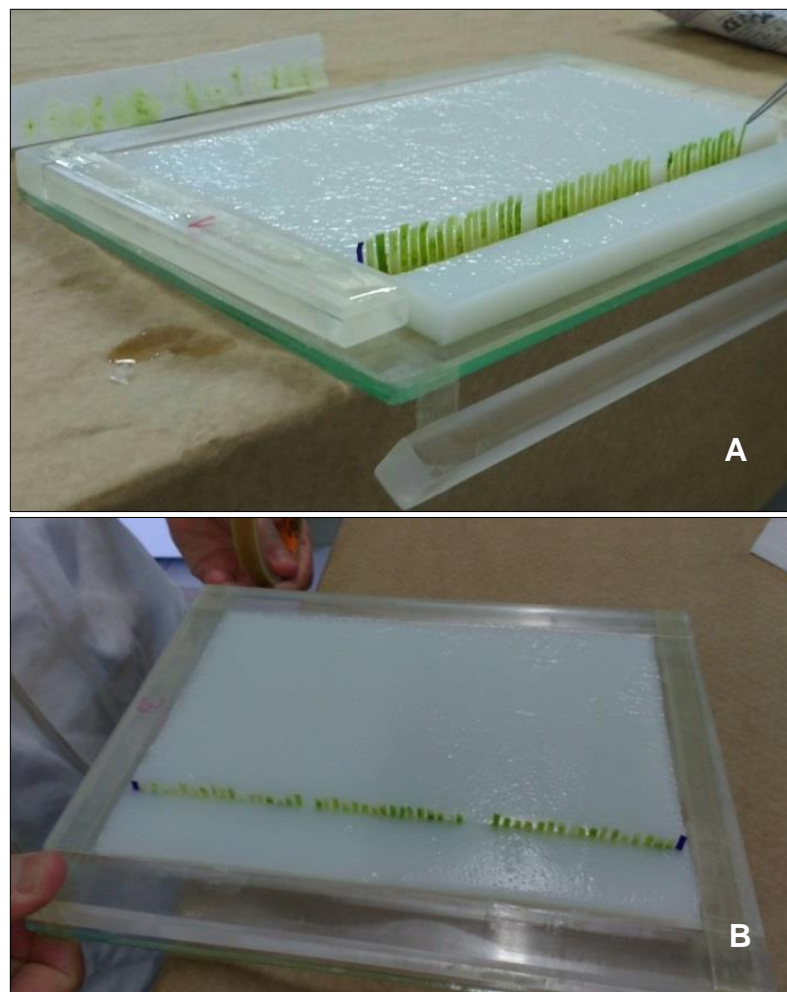
Fonte: Elaborada pelo autor, 2016.

d) Carregamento do gel com material foliar macerado e solubilizado

Inicialmente fez-se um corte reto na placa de gel, paralelo ao seu maior lado, de uma extremidade à outra. O corte, a 3,5 cm da borda do gel, o separa em duas partes, onde a maior será o campo de migração das enzimas durante a eletroforese.

Os “wicks” embebidos com o material biológico solubilizado de cada matriz e de suas progênies, foram inseridos na parte cortada do gel, ficando aderidos lado a lado no gel (Figura 9). Como padrão de inserção dos “wicks” no gel, alinhou-se sempre a amostra da matriz como o primeiro “wick” à esquerda, seguidos pelos 15 “wicks” das progênies. Em cada extremidade da placa de gel, colocou-se um “wick” embebido em solução de azul de bromofenol a 1% para marcar a migração das enzimas, servindo como “wicks” balizadores (Figura 9).

Figura 9 - A - Inserção dos “wicks” com o macerado na placa de gel; B – Gel carregado com amostras, pronto para a eletroforese



Fonte: Elaborada pelo autor, 2016.

e) Eletroforese

A eletroforese é um “processo chave” na análise isoenzimática, cujas etapas foram realizadas de acordo com o protocolo para espécies florestais do LFDGV/CCA/UFSC.

A placa de gel, carregada com as amostras, foi colocada em geladeira (5 °C), sobre uma cuba eletrolítica com a solução tampão de “corrida” e conectada a uma fonte de corrente elétrica externa. Cria-se um campo de migração enzimática, onde as enzimas tendem a se deslocar do eletrodo negativo (ânodo) ao positivo (cátodo), convencionados pelas cores preta e vermelha respectivamente (Figura 10). A solução tampão fica em contato com a placa de gel, por meio de um tecido poroso que funciona como uma “ponte úmida”.

Figura 10 - Placa de gel com as amostras em eletroforese



Fonte: Elaborada pelo autor, 2016.

A corrente elétrica, aplicada para as moléculas das enzimas migrarem no gel de amido, deve ser regulada na fonte geradora externa. Recomenda-se regular a voltagem de 100 a 180 V em três etapas, durante a eletroforese que utiliza o sistema tampão de eletrodo/gel Tris-Citrato (TC) (Tabela 2), com amperagem de 53 mA (MONTAGNA et al., 2013).

Tabela 2 - Voltagens durante a eletroforese com sistema tampão de eletrodo/gel Tris- Citrato (TC)

| Parâmetro | Etapas | | |
|-----------|------------------------------|---------------------------|--------------------------------|
| | 1 (do início até 20 min.) | 2 (dos 20 aos 40 min.) | 3 (dos 40 min. até o final) |
| Voltagem | 100 V | 140 V | 180 V |

Fonte: Elaborada pelo autor, 2016.

Os “wicks” da placa de gel são retirados após 20 minutos do início da eletroforese, momento em que também é feito o umedecimento do gel com a solução tampão de “corrida” existente na cuba. Como reforço para manter a baixa temperatura do gel em eletroforese, uma barra de “gelo espuma” foi colocada sobre o gel, apoiada em placa de vidro, evitando seu aquecimento pela passagem da corrente elétrica e a consequente degradação das enzimas (ALFENAS, 1998). O processo de cada eletroforese foi monitorado, cuja duração foi de cinco horas, em média, para a migração das enzimas pelos poros do gel de amido.

f) Corte do gel em lâminas (“fatiamento”)

Finalizada a eletroforese, o gel foi cortado em camadas laminares, onde posteriormente as reações enzimáticas são reveladas. Para este procedimento, utilizaram-se linha de nylon 0,20 mm e um “gabarito” para padronizar a espessura da lâmina do gel em dois milímetros. O “gabarito” é uma placa retangular de madeira, com dois conjuntos de réguas plásticas iguais e sobrepostas nas laterais. No espaço entre as réguas, encaixa-se a placa de gel, apoiada em superfície de vidro liso.

Para o corte de uma lâmina do gel, a linha esticada na horizontal é introduzida na extremidade do gel e faz o corte nivelado pela altura das réguas laterais, que servem como guia (Figura 11). Para um novo corte, retira-se uma régua de cada lado e repete-se a operação. Cada placa de gel produziu seis lâminas íntegras.

g) Revelação das enzimas e interpretação dos zimogramas

Para cada sistema isoenzimático, foi colocada uma lâmina do gel em travessa refratária de fundo branco, para visualização das bandas enzimáticas, na qual foi adicionada a solução de revelação, deixando a lâmina do gel imersa (Figura 11).

Figura 11 - A - Fatiamento da placa de gel após a eletroforese; B - Colocação da solução de revelação na lâmina de gel



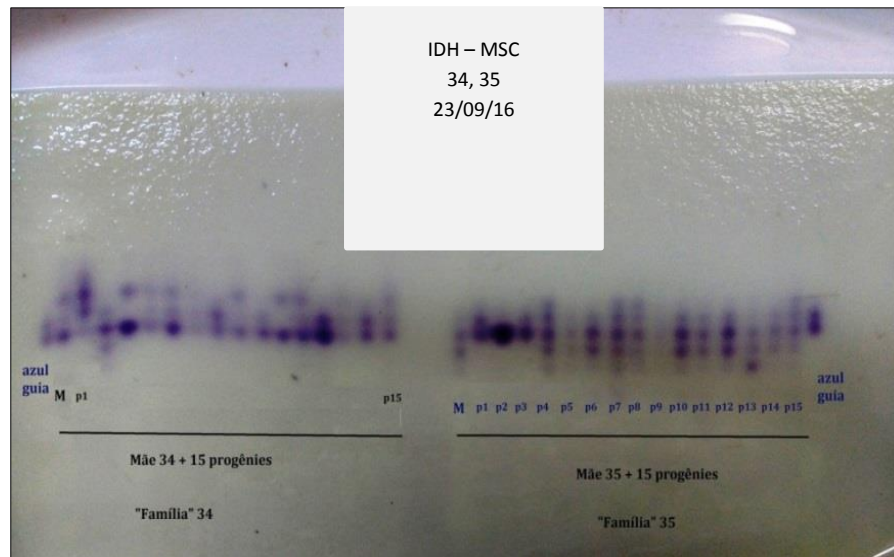
Fonte: Elaborada pelo autor, 2016.

A lâmina de gel imersa na solução de revelação foi colocada em estufa a 37°C, no escuro, durante 20 a 30 minutos, até revelar as atividades enzimáticas. Após a revelação, a solução foi drenada e o gel lavado com água destilada. Cada lâmina de gel foi identificada com o nome do sistema enzimático, da espécie, das amostras e data.

As bandas enzimáticas reveladas foram interpretadas por meio da visualização do produto resultante da reação catalisada pelas isoenzimas (Figura 12) e anotadas em formulário específico, compondo um zimograma. A interpretação dos alelos, possibilita conhecer o mais provável genótipo dos indivíduos amostrados, para cada sistema isoenzimático.

No momento da interpretação, registrou-se com foto as bandas enzimáticas reveladas, pois, enzimas degradam-se em temperatura ambiente e perde-se a nitidez no gel. Este registro é um recurso útil em caso de eventuais dúvidas.

Figura 12 - Padrão eletroforético revelado no gel pelo sistema isoenzimático IDH para duas “famílias” de *Mimosa scabrella*



Fonte: Elaborada pelo autor, 2016.

2.3.7 Análise estatística para o sistema reprodutivo

Para caracterizar o sistema reprodutivo, nas estações reprodutivas de 2015 e de 2016, utilizou-se o programa estatístico Multilocus Mating System – MLTR 3.2 (RITLAND, 2008), com erro padrão das médias (EP) baseado em 500 bootstraps. Os métodos multilocos são utilizados pela menor variância estatística e maior robustez contra a violação dos pressupostos (RITLAND, 2002). O MLTR gerou dados que foram comparados pelos Intervalos de Confiança (IC) para 95% de nível de confiabilidade e os IC não sobrepostos indicam diferença significativa entre as médias comparadas.

Adotou-se neste estudo, como referencial comparativo, estimativas de populações de *Mimosa scabrella* obtidos por Moreira (2009) em populações de Calmon, SC e Matos Costa, SC e por Sobierajski (2004) em populações de Itararé, SP; Piraí do Sul, PR; Lapa, PR; Turvo, PR; Mandirituba, PR; Honório Serpa, PR; Ituporanga, SC e Caçador, SC.

2.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

2.4.1 Resultados

Os resultados das análises estatísticas para os parâmetros do sistema reprodutivo, nas duas estações reprodutivas, estão compilados na Tabela 3.

Tabela 3 - Médias dos parâmetros do sistema reprodutivo na população do estudo, nas estações reprodutivas de 2015 e 2016

| Parâmetro | Estação reprodutiva | | | |
|--|-------------------------|--------------------|------------------------|--------------------|
| | 2015 | | 2016 | |
| | Média | IC | Média | IC |
| Total de árvores matrizes analisadas: | 23 | | 23 | |
| Índice de fixação nas matrizes: F_M | -0,146019* | -0,1678 -0,1243 | - 0,066178* | -0,0704 -0,0620 |
| Taxa de cruzamento multiloco: tm | 0,924752* | 0,9137 0,9358 | 0,845228* | 0,8352 0,8553 |
| Taxa de cruzamento uniloco: ts | 0,783149* | 0,7668 0,7995 | 0,675069* | 0,6654 0,6848 |
| Taxa de cruzamento entre parentes: $tm - ts$ | 0,141603* | 0,1301 0,1531 | 0,170158* | 0,1625 0,1778 |
| Taxa de autofecundação: $s = 1 - tm$ | 0,075248* | 0,0642 0,0863 | 0,154772* | 0,1447 0,1648 |
| Correlação de autofecundação: rs | 0,070475* | 0,0284 0,1126 | 0,160079* | 0,1301 0,1901 |
| Correlação multiloco de paternidade: $rp(m)$ | 0,203980* | 0,1806 0,2774 | 0,315307* | 0,2926 0,3380 |
| Correlação uniloco de paternidade: $rp(s)$ | -0,987970 ^{ns} | -1,0030 -0,9729 | -0,99804 ^{ns} | -1,0004 -0,9956 |
| Número efetivo de árvores polinizadoras (Nep): $1/rp(m)$ | 4,90* | 4,5418 5,2631 | 3,17* | 2,9127 3,4303 |
| Proporção de irmãos por autofecundação: (PIA = s): $1 - tm$ | 0,075248* | 0,0642 0,0863 | 0,154772* | 0,1447 0,1648 |
| Proporção de meio irmãos: (PMI): $tm \cdot [1 - rp(m)]$ | 0,736121* | 0,7093 0,7629 | 0,578722* | 0,5586 0,5988 |
| Proporção de irmãos completos: (PIC): $tm \cdot rp(m)$ | 0,188631* | 0,1686 0,2087 | 0,266506* | 0,2496 0,2834 |

IC: : limite inferior e superior do Intervalo de Confiança com 95% de nível de confiança;

* diferença significativa entre médias na mesma linha; ns: diferença não significativa

Fonte: Elaborada pelo autor, 2018. .

Pelas amostras analisadas das populações nas estações reprodutivas, foram interpretados os genótipos para os indivíduos amostrados. Os genótipos mais prováveis das 23 “famílias” (matriz e progênes) analisadas, para as duas estações reprodutivas, estão disponibilizados nos APÊNDICES B e C, sendo cada “família” composta pela árvore matriz e 15 progênes.

2.4.2 Discussão

2.4.2.1 Índice de fixação

Em ambas as estações reprodutivas analisadas (2015 e 2016), as médias dos índices de fixação nas árvores matrizes apresentaram-se como diferentes a 5% de probabilidade de erro e com sinal negativo (Tabela 3). Infere-se que os resultados foram favoráveis à espécie em ambas as estações reprodutivas e tal inferência está em conformidade com Antiqueira e Kageyama (2015) e Gusson, Sebbenn e Kageyama (2006), para os quais, este parâmetro, quando tem resultado negativo, indica menor quantidade de pares de alelos homozigotos em relação aos heterozigotos. De acordo com os autores citados, o índice de fixação reflete a deficiência ou excesso de homozigotos em relação ao esperado para uma população em equilíbrio pelo princípio de Hardy-Weinberg, conforme seu valor negativo ou positivo respectivamente. Como o índice F_M continuou negativo em 2016, apesar da variação de 54,6% entre um ano e outro, deduz-se que a deficiência de homozigotos nas árvores matrizes permaneceu, fato interpretado como favorável à população em relação à endogamia.

Em *Mimosa scabrella* a dispersão de sementes ocorre por autocoria, propiciando que indivíduos se estabeleçam próximos da árvore “mãe” e entre si, inclusive formando adensamentos estruturados em famílias. Esta situação pode justificar variações nos níveis de endogamia com o decorrer das gerações, cujo fato está apoiado em Murawski, Dayanandan e Bawa (1994). Para estes autores, uma maior endogamia ocorre devido aos cruzamentos entre indivíduos aparentados e biparentais e se a dispersão genética for limitada, como na síndrome por autocoria.

Para a variabilidade genética da espécie, considera-se favorável a continuidade desta situação com deficiência de homozigotos, o que significará a predominância de heterozigotos a cada ciclo reprodutivo. Tal inferência é

corroborada por Barbosa (2014), quando afirmou que os heterozigotos são essenciais à recombinação gênica.

2.4.2.2 Taxa de cruzamento multiloco

Determinados critérios possibilitam fazer comparação mais abrangente de taxas de cruzamento de diferentes espécies arbóreas. Estes critérios podem ser o elo para agrupá-las por afinidades, como ser folhosa ou conífera, tropical ou temperada, monoica ou dioica e de reprodução mista ou alógama, possibilitando comparativos mais abrangentes, mas com ressalvas, respeitando-se as particularidades das espécies e do ambiente.

Também é possível comparar taxas de cruzamento de uma mesma espécie arbórea, analisando um conjunto de populações, sejam estas de diferentes localidades de um mesmo município ou de diferentes procedências regionais, igualmente com as ressalvas por particularidades ambientais dos locais. Neste contexto, mencionam-se taxas de cruzamento multiloco (t_m) que podem ser úteis em comparativos mais abrangentes:

a) t_m 0,880 para arbóreas angiospermas, média obtida de 42 espécies (SEBBENN, 2000), cujo autor a considerou de magnitude alta.

b) t_m 0,913 para arbóreas folhosas de sistema reprodutivo misto, média obtida de 24 espécies (SEBBENN, 2003), que foi considerada alta pelo autor.

c) t_m 0,971 para *Mimosa scabrella*, média obtida de nove populações em áreas de ocorrência nos estados de SP, PR e SC (SOBIERAJSKI, 2004), cujo autor a considerou de magnitude alta.

d) t_m 0,806 para *Mimosa scabrella*, média de duas populações em municípios de SC (MOREIRA, 2009), considerada de magnitude alta pelo autor.

Referente ao estudo, considera-se que as taxas de cruzamento multiloco foram de magnitude alta em ambas as estações reprodutivas. Este fato está em concordância com as avaliações de Sobierajski (2004) para *Mimosa scabrella* e com Sebbenn (2003); Alves (2002); Sebbenn (2000) e Gandara (1996) para outras diversas arbóreas folhosas, pois igualmente obtiveram elevadas taxas de cruzamento multiloco, assim como consideraram este fato como frequente no grupo de arbóreas folhosas. Ressalta-se que, taxas de cruzamento multiloco elevadas costumam ocorrer até mesmo em espécies de sistema reprodutivo misto, para o qual

considera-se a taxa de 0,95 como limite máximo de cruzamento (BARBOSA, 2014; KARASAWA, 2009). No entanto, não se descarta a possibilidade de que determinadas espécies arbóreas possam apresentar taxas superestimadas. Caso ocorra seleção contra homozigotos no período desde a polinização até o momento de avaliação das progênies, a estimativa de autofecundação poderá ficar menor e, como consequência, aumentará a estimativa de cruzamento multiloco. Tal possibilidade baseia-se em Sobierajski, Kageyama e Sebbenn (2006), em inferências sobre taxas altas de cruzamento multiloco em populações de *Mimosa scabrella*.

Com base nas taxas obtidas no presente estudo, é possível deduzir que houve recombinação gênica durante a reprodução de 2015, pela alta taxa de cruzamento multiloco, sendo este um fato positivo em termos de variabilidade genética da espécie na população estudada. Esta inferência alinha-se com Gusson, Sebbenn e Kageyama (2006), ao afirmarem que a recombinação dos genes pode significar maior potencial evolutivo para as espécies arbóreas e fazer frente à seleção natural nos diversos ambientes onde ocorrem.

As estimativas médias deste parâmetro indicam um decréscimo na taxa da estação reprodutiva de 2016 em relação a taxa de 2015. Os resultados, cuja diferença numérica foi de 8,5%, apresentaram-se como significativamente diferentes, pois não houve sobreposição dos Intervalos de Confiança (IC) a 95%, assim como não houve alteração na magnitude das estimativas médias.

De uma forma geral, a diminuição da taxa de cruzamento em populações arbóreas não é uma ocorrência favorável às mesmas, pela importância que representam os cruzamentos em níveis elevados para a variabilidade genética da espécie. No entanto, podem ocorrer oscilações ao longo do ciclo reprodutivo, influenciadas por fatores inerentes à própria planta e/ou externos a ela. Referente ao decréscimo da taxa de cruzamento multiloco observado de 2016, no campo das hipóteses, existe a possibilidade de ter ocorrido algum evento influenciador na reprodução desta espécie, a partir do final da reprodução de 2015, refletido nas estimativas de 2016. Esta inferência alinha-se com Millar et al. (2000), quando consideraram que o sistema reprodutivo de espécies vegetais pode ser influenciado pela disponibilidade de recursos alimentares aos polinizadores e pelo comportamento e densidade destes.

Acredita-se que fatores climáticos, como ventanias e chuvas fortes nas fases de formação das inflorescências e de floração de *Mimosa scabrella*, podem até mesmo comprometer o microambiente da reprodução (a copa), com quebra de galhos e queda de inflorescências. De acordo com Caramori, Androcioli e Leal (1996), galhos novos desta espécie são pouco resistentes ao vento e, ao quebrarem, pode influenciar na produção de frutos. Este conjunto de eventos pode interferir na rotina e comportamento dos polinizadores, cuja dedução está em conformidade com Bugalho (2009) e Winston (2003), que comprovaram diminuição ou interrupção do forrageamento de *Apis mellifera* em dias de ventos fortes e chuva, ao estudarem o comportamento deste polinizador em relação às variações climáticas. Para Mori et al. (2013), a densidade dos polinizadores também pode causar a variação na taxa de cruzamento de espécies arbóreas.

Segundo Bugalho (2009) é provável que os efeitos do vento e da chuva sejam semelhantes sobre este polinizador, fazendo que selecione os recursos alimentares mais próximos de suas colmeias. O mesmo autor ainda observou que em dias chuvosos as operárias forrageiras permanecem na colmeia e trocam o habitual comportamento forrageiro pelo comportamento higiênico, com tarefas de menor gasto energético, mesmo não sendo esta a sua prioridade. Diante disso, em períodos de adversidades climáticas, a alteração no comportamento e na densidade dos polinizadores, provoca redução nas saídas destes para coletar recursos e, consequentemente, pode reduzir a polinização.

No estudo deste capítulo, as estimativas obtidas para os principais parâmetros relacionados ao sistema reprodutivo de *Mimosa scabrella*, em duas estações reprodutivas consecutivas (Tabela 3), também foram comparadas com os resultados obtidos por Moreira (2009) e por Sobierajski (2004) em análises isoenzimáticas desta espécie em populações dos estados de SP, PR e SC, que serviram como referencial comparativo em parte das discussões.

Na estação reprodutiva de 2015, a taxa de cruzamento multiloco da população de *Mimosa scabrella* foi considerada de magnitude elevada e dentro de padrões esperados para espécies arbóreas com sistema reprodutivo misto com predominância de cruzamentos. Comparando-a com taxas de cruzamento multiloco de *Mimosa scabrella* obtidas por Moreira (2009), verifica-se que a mesma foi 15,6% e 10,0% maior respectivamente que a das populações de Calmon, SC (0,780) e de Matos Costa, SC (0,832). Em comparação com as taxas deste parâmetro obtidas por

Sobierajski (2004), a taxa do estudo foi 7,1% maior que a da população de Turvo, PR (0,859). Porém, foi menor em 2,6% que a de Itararé, SP (0,949), em 8,1% que as das populações de Piraí do Sul, PR (1,000), Lapa, PR (1,000), Mandirituba, PR (1,000) e Ituporanga, SC (1,000), assim como foi menor em 2,19% que a de Caçador, SC (0,945) e em 5,8% que a de Honório Serpa, PR (0,979). As estimativas com valor máximo (1,000) indicam que a totalidade das fecundações das quatro populações com esta taxa ocorreu por cruzamentos entre indivíduos, portanto sem autofecundações.

A taxa de cruzamento multiloco do estudo na estação reprodutiva de 2015 indica que ocorreram cruzamentos em elevada proporção entre os indivíduos da população analisada. Tal fato é positivo para uma espécie com flores hermafroditas, como *Mimosa scabrella*, pelos ganhos genéticos que resultam de elevadas taxas de cruzamento, estando em concordância com Manoel et al. (2012). Para os referidos autores, cruzamentos favorecem a manutenção e a ampliação da diversidade genética nas populações devido à recombinação de genótipos. A elevada taxa de cruzamento pode traduzir também uma boa disponibilidade de pólen e a eficiência dos insetos polinizadores desta espécie arbórea no local do estudo.

Na estação reprodutiva de 2016, a magnitude da taxa de cruzamento multiloco da espécie também foi considerada alta. Em um comparativo com taxas de cruzamento multiloco de populações da mesma espécie arbórea nos estados de SP, PR e SC, igualmente analisadas por isoenzimas, verifica-se que ela foi maior em 7,7% e 1,5% respectivamente que as das populações em Calmon, SC e em Matos Costa, SC, ambas estimadas por Moreira (2009). Porém, em comparação com populações de Itararé, SP, Turvo, PR, Honório Serpa, PR e Caçador, SC, ela foi menor em 12,2%, 1,6%, 15,8% e 11,8% respectivamente. O mesmo parâmetro nesta estação reprodutiva também foi menor em 18,3% que os das populações de Piraí do Sul, PR, Lapa, PR, Mandirituba, PR e Ituporanga, SC, todas com estimativa máxima, obtidas por Sobierajski (2004).

2.4.2.3 Taxa de cruzamento uniloco

Taxas de cruzamento uniloco (t_s) para espécies arbóreas podem ser úteis como referências em comparativos mais amplos, com as devidas ressalvas pelas particularidades das espécies e do ambiente. Como exemplo, é possível mencionar:

a) t_s 0,822 média para o conjunto de 42 espécies arbóreas angiospermas (SEBBENN, 2000);

b) t_s 0,895 para *Mimosa scabrella*, média de nove populações nos estados de SP, PR e SC (SOBIERAJSKI, 2004);

c) t_s 0,629 para *Mimosa scabrella*, média de duas populações em municípios de SC (MOREIRA, 2009).

Referente às taxas de cruzamento uniloco do estudo, houve decréscimo da taxa média na estação reprodutiva de 2016 em relação à estação reprodutiva do ano anterior. As taxas médias, cuja diferença numérica foi de 13,8%, apresentaram-se significativamente diferentes, pois não houve sobreposição dos IC a 95%.

Neste estudo, nas duas estações reprodutivas consecutivas, as taxas de cruzamento uniloco foram menores que as taxas de cruzamento multiloco, sugerindo endogamia nos indivíduos parentais. Tal inferência é corroborada por Ribeiro e Lovato (2004) e Moraes e Monteiro (2002), para os quais, taxa de cruzamento uniloco menor que taxa de cruzamento multiloco sugere endogamia nas matrizes e quando taxas de cruzamento uniloco e multiloco são iguais, indica ausência de endogamia biparental. Também é possível associar a ocorrência de taxas de cruzamento uniloco menores que as de cruzamento multiloco, com a possibilidade de espécies arbóreas com flores hermafroditas, como a *Mimosa scabrella*, realizarem autofecundações, incluindo-as no grupo de sistema reprodutivo misto. Este fato está de acordo com Gusson, Sebbenn e Kageyama (2006), que afirmaram haver evidências de não existirem mecanismos de autoincompatibilidade em arbóreas com flores hermafroditas polinizadas por abelhas.

A taxa de cruzamento uniloco do estudo na estação reprodutiva de 2015, comparada com taxas das populações da mesma espécie analisadas por isoenzimas de outras localidades já mencionadas, é 20,9% e 18,2% maior respectivamente que a da população de Calmon, SC (0,619) e de Matos Costa, SC (0,640), obtidas por Moreira (2009). Entretanto, em relação às populações de Itararé, SP (0,877), Turvo, PR (0,801), Piraí do Sul, PR (0,985), Lapa, PR (0,913), Honório Serpa, PR (0,917), Mandirituba, PR (0,923), Ituporanga, SC (0,926) e Caçador, SC (0,933), analisadas por Sobierajski (2004), a taxa deste estudo foi menor respectivamente em 11,9%, 2,2%, 25,7%, 16,5%, 17,0%, 17,8%, 18,2% e 19,1%.

Referente à estação reprodutiva de 2016, a taxa de cruzamento uniloco do estudo, quando comparada com o mesmo parâmetro em populações de Calmon, SC

e de Matos Costa, SC, obtidas por Moreira (2009), foi maior respectivamente em 8,3% e 5,1%. No comparativo com os resultados obtidos por Sobierajski (2004) em Itararé, SP, Turvo, PR, Piraí do Sul, PR, Lapa, PR, Honório Serpa, PR, Mandirituba, PR, Ituporanga, SC e Caçador, SC, a taxa deste estudo foi menor respectivamente 29,9%, 18,6%, 45,9%, 35,2%, 35,8%, 36,7%, 37,1% e 38,2% que estas.

2.4.2.4 Taxa de cruzamento entre aparentados

A taxa de cruzamento entre aparentados procura quantificar a proporção de indivíduos considerados parentes na população que também fizeram cruzamentos entre si. Tal parâmetro é estimado pela diferença entre as taxas de cruzamento multiloco e uniloco, conforme a equação $t_m - t_s$.

Da mesma forma que o mencionado em parâmetros anteriores, exemplos de estimativas desta taxa para espécies arbóreas folhosas, apresentadas por Sebbenn (2001) e, especificamente para *Mimosa scabrella*, analisadas por Sobierajski (2004), podem ser úteis em comparativos:

a) $t_m - t_s$ média 0,059 obtida para um conjunto de 34 espécies arbóreas angiospermas (SEBBENN, 2000);

b) $t_m - t_s$ média 0,076 para *Mimosa scabrella*, de nove populações da espécie em diferentes municípios dos estados de SP, PR e SC (SOBIERAJSKI, 2004).

Referente aos indicadores do estudo, houve um acréscimo na referida taxa da estação reprodutiva em 2016 em relação à da estação reprodutiva de 2015. Os resultados médios, cuja variação numérica foi de 20,16%, apresentaram-se como significativamente diferentes, pois não houve sobreposição dos IC a 95%. O aumento de cruzamentos entre indivíduos aparentados não é favorável à população, pois representa que mais indivíduos com parentesco trocaram alelos entre si na reprodução em 2016, aumentando os cruzamentos endogâmicos. Tal fato, se continuar em progressão, pode levar à troca de alelos de forma menos aleatória em futuros cruzamentos, o que potencializaria a elevação do nível de endogamia nas próximas gerações.

Em 2015 e 2016 as taxas de cruzamentos entre indivíduos aparentados apresentaram valores positivos, sugerindo a possibilidade de haver alguma estruturação genética na população do estudo. Esta dedução é corroborada por Mori et al. (2013), ao considerarem que o sinal positivo em taxa de cruzamento entre

aparentados indica uma provável estrutura genética intrapopulacional. Para Rodrigues (2007), estrutura genética é a maneira pela qual a variabilidade genética é repartida dentro da população e entre populações, com distribuição espacial ou temporal dos genótipos. Para Sebbenn (2000), a distribuição espacial refere-se à distribuição física dos indivíduos na área, considerando a distância entre eles. Trata-se de uma característica de cada espécie e, devido a ela, há maior ou menor grau de parentesco dentro dos grupos de indivíduos. Já a distribuição genética temporal refere-se à subdivisão de gerações no local, como pais e filhos, plântulas e indivíduos juvenis, indivíduos juvenis e adultos, ou então as várias gerações contidas num mesmo local, como em banco de sementes ou de germoplasma.

Embora não avaliada neste estudo, uma possível estruturação genética pode ser justificada pela disposição espacial dos indivíduos de *Mimosa scabrella* na população analisada. Pelo fato de ocorrer dispersão de sementes por autocoria nesta espécie, observa-se no local do estudo que as sementes liberadas naturalmente do fruto permanecem nas proximidades da árvore matriz, pois não possuem estruturas morfológicas ou atratividade suficiente à fauna, que favoreça seu transporte para mais longe da árvore matriz. Desta forma, os indivíduos de diferentes estações reprodutivas tendem a se estabelecer próximos entre si e das suas matrizes, possibilitando futuros cruzamentos entre parentes e endogamia nos descendentes.

Estes fatos estão em concordância com Sobierajski, Kageyama e Sebbenn (2006), Sobieraski (2004) e Sebbenn (2003), quando afirmaram que sementes dispersadas próximas à árvore “mãe” aumenta a probabilidade das plantas “filhas” se estabelecerem na sua vizinhança, contribuindo assim para a formação de estrutura genética espacial dentro da população e de endogamia. No local do estudo, os indivíduos adultos de *Mimosa scabrella* encontram-se distribuídos descontinuamente nos remanescentes florestais, porém não a longas distâncias entre si. Também existem na área, muitos indivíduos da espécie convivendo agrupados, formando maciços arbóreos em dois locais da área. Nas principais regiões de distribuição natural, a *Mimosa scabrella* ocorre em formações agrupadas (bracatingais), sendo esta uma das características desta espécie. Este fato torna-se discordante, em parte, de Murawski, Dayanandan e Bawa (1994), para quem os agrupamentos de uma mesma espécie arbórea em florestas naturais são atípicos.

Na estação reprodutiva de 2015 deste estudo, a taxa de cruzamento entre árvores aparentadas quando comparada ao mesmo parâmetro em outras populações da mesma espécie, como as obtidas por Moreira (2009) na população em Calmon, SC (0,161) e na população em Matos Costa, SC (0,192), nota-se que ela foi menor em 13,6% e 35,5% respectivamente. No entanto, em relação às taxas obtidas por Sobierajski (2004) para populações da espécie em Itararé, SP (0,072), Turvo, PR (0,058), Piraí do Sul, PR (0,015), Lapa, PR (0,087), Honório Serpa, PR (0,062), Mandirituba, PR (0,077), Ituporanga, SC (0,074) e Caçador, SC (0,012), verifica-se que a taxa do estudo foi respectivamente maior em 49,1%, 59,0%, 89,4%, 38,58%, 56,2%, 45,6%, 47,7% e 91,5% que as mencionadas.

A simples detecção deste tipo de taxa de cruzamento indica a ocorrência de troca de gametas entre indivíduos parentes na população, nesta estação reprodutiva. Tal fato pode ser explicado pelo tipo de dispersão de sementes por autocoria em *Mimosa scabrella*, onde estas são depositadas próximas da árvore mãe e conseqüentemente próximas entre si. Com os descendentes estabelecendo-se em proximidade, favorece a formação de uma estrutura genética na população, que, por sua vez, oportunizam cruzamentos entre indivíduos aparentados, fato alinhado com considerações de Sobierajski (2004).

Mesmo com estimativa maior que outros cruzamentos entre aparentados aqui exemplificados, considera-se que esta taxa não foi de magnitude elevada para a estação reprodutiva de 2015, representando um aspecto favorável à população, pois quanto menor esta taxa, menores são as possibilidades de endogamia.

Referente à estação reprodutiva de 2016, a taxa de cruzamento entre indivíduos aparentados do estudo ao ser confrontada com estimativas do mesmo parâmetro em outras populações da mesma espécie, como as obtidas por Moreira (2009), verifica-se que ela foi 5,3% maior que a da população em Calmon, SC, porém foi 12,84% menor que a de Matos Costa, SC. No entanto, em relação às estimativas obtidas por Sobierajski (2004) em populações de Itararé, SP, Turvo, PR, Piraí do Sul, PR, Lapa, PR, Honório Serpa, PR, Mandirituba, PR, Ituporanga, SC e Caçador, SC, esta taxa foi maior que estas em 57,6%, 65,9%, 91,1%, 48,8%, 63,5%, 54,7%, 56,5% e 92,9% respectivamente.

2.4.2.5 Correlação de autofecundação

Para fins comparativos, pode-se mencionar como referencial o valor de 0,091 ($\pm 0,005$) para a correlação de autofecundação, que representou a média de nove populações de *Mimosa scabrella* em localidades dos estados de SP, PR e SC, analisadas por Sobierajski (2004).

A estimativa obtida para tal parâmetro no estudo, foi considerada de baixa magnitude na estação reprodutiva de 2015, sugerindo que a proporção de progênies de autofecundação foi baixa. Mesmo assim, indica que não há autoincompatibilidade na espécie, sendo tal inferência apoiada na avaliação de Sobierajski (2004), que concluiu ser de magnitude baixa o valor 0,091 ($\pm 0,005$), obtido da média em nove populações analisadas.

Nota-se que ocorreu um acréscimo na estimativa da correlação de autofecundação da estação reprodutiva de 2016 em relação a do ano de 2015. As estimativas médias, cuja variação numérica foi de 127,1%, apresentaram-se como significativamente diferentes, pois não houve sobreposição dos IC a 95%. O aumento na estimativa deste parâmetro não é favorável à população, pois sugere que foi maior a proporção de progênies geradas por autofecundação na estação reprodutiva de 2016, cujo fato ocorreu e pode ser observado nas proporções de irmãos por autofecundação do estudo. Caso esta tendência continue nas próximas estações reprodutivas, poderá haver reflexo desfavorável quanto à endogamia e variabilidade genética.

2.4.2.6 Correlação multiloco de paternidade

A correlação multiloco de paternidade, segundo Antiqueira e Kageyama (2015) e Mori et al. (2013), serve para demonstrar a ocorrência de cruzamentos biparentais, dos quais geram-se irmãos completos. Neste contexto, a estimativa obtida para tal parâmetro, significa que foi detectado cruzamento biparental nas duas estações reprodutivas. Isto sugere que as fecundações cruzadas não foram exclusivamente aleatórias, pois também geraram indivíduos irmãos completos pelos cruzamentos biparentais. Portanto, dentre os descendentes de cruzamentos deve haver uma mistura de graus de parentesco (meio irmãos com irmãos completos). Esta inferência está em concordância com Antiqueira e Kageyama (2015) e

Sobierajski (2004), quando afirmaram que é aparentemente comum em espécies arbóreas tropicais de polinização aberta, que os descendentes de cruzamentos não sejam exclusivamente de indivíduos meio irmãos. Para Giudice Neto, Sebbenn e Kageyama (2005), este fato é discordante da hipótese que assumia como aleatórios todos os cruzamentos de espécies arbóreas em população natural, que produzia unicamente indivíduos meio irmãos.

Estas informações são relevantes, por exemplo, para o planejamento da coleta de sementes de arbóreas tropicais de polinização aberta, para fins de conservação genética, melhoramento florestal e plantios de recuperação de áreas, pois considera-se a existência de vários graus de parentesco entre os descendentes de fecundação cruzada, como meio irmãos e irmãos completos, além dos gerados por autofecundação.

Para fins comparativos de *Mimosa scabrella*, pode-se mencionar estimativas de correlação multiloco de paternidade desta espécie, obtidas por Sobierajski (2004) com nove populações em municípios dos estados de SP, PR e SC:

- a) rp_m 0,513 representando a média de todas as estimativas, considerada de magnitude alta pelo autor;
- b) rp_m 0,695 representando a maior estimativa obtida, considerada de magnitude alta;
- c) rp_m 0,153 representando a menor estimativa obtida, considerada de magnitude média pelo autor.

No presente estudo, as correlações multiloco de paternidade nas estações reprodutivas de 2015 e de 2016, podem ser consideradas de magnitude média em 2015 e com tendência a alta em 2016. As estimativas de tal correlação demonstram, respectivamente, que 20,3% e 31,5% dos pares de progênies da população foram originados por cruzamentos correlacionados de forma sistemática entre os mesmos pais, originando uma parte dos descendentes com grau de parentesco de irmãos completos. Esta dedução está em concordância com Ribeiro e Lovato (2004) e Mori et al. (2013), quando afirmaram que a correlação multiloco de paternidade é um indicativo de cruzamentos sistemáticos entre as mesmas duplas de parentais.

Referente à estação reprodutiva de 2016, houve aumento da estimativa média deste parâmetro em relação à estimativa do ano anterior, refletindo a intensificação de cruzamentos biparentais na estação de 2016. Tais médias, com diferença

numérica de 54,5%, apresentaram-se significativamente diferentes, pois não houve sobreposição dos IC a 95%.

De um modo geral, este tipo de cruzamento correlacionado pode ser decorrente de fatores internos e externos às espécies arbóreas, como assincronismo no florescimento das árvores, poucas árvores ofertando recursos alimentares nas proximidades e alterações ambientais que impactam no comportamento forrageador e na densidade populacional dos polinizadores. Isso provoca aumento de visitas não aleatórias dos polinizadores e de modo sistemático nas mesmas árvores.

2.4.2.7 Número de árvores polinizadoras

Este parâmetro representa quantos indivíduos de *Mimosa scabrella* em idade reprodutiva, em média, contribuíram efetivamente como doadores de pólen na fecundação das flores hermafroditas em cada árvore matriz da população. Este índice possibilita ter noção quantitativa dos indivíduos reprodutivos que desempenharam a função masculina nos cruzamentos de cada matriz, assim como da disponibilidade de pólen e do comportamento dos polinizadores na floração.

Para comparações abrangentes e com as ressalvas pelas particularidades ambientais de cada local, mencionam-se estimativas médias do nº de árvores polinizadoras em cruzamentos em *Mimosa scabrella*. Referem-se a nove populações dos estados de SP, PR e SC, analisadas por Sobierajski (2004) e a duas populações analisadas por Moreira (2009) no estado de SC:

a) Nep 1,95, representando a média de nove populações em SP, PR e SC (SOBIERAJSKI, 2004), foi considerado de magnitude restrita pelo autor.

b) Nep 6,54 e 1,44 referentes à maior e à menor estimativa entre as populações (SOBIERAJSKI, 2004), considerados respectivamente de magnitudes baixa e restrita pelo autor.

c) Nep 4,38 referente à média de duas populações em SC (MOREIRA, 2009), considerado pelo autor como de magnitude baixa.

O número de árvores polinizadoras, quando é considerado de magnitude baixa, reforça um possível comportamento dos agentes polinizadores para realizarem cruzamentos sistemáticos entre duas árvores, depositando repetitivamente pólen da mesma árvore doadora em flores da mesma árvore

receptora, resultando em maior proporção de irmãos completos entre os descendentes (FERES, 2009).

No estudo, observa-se um decréscimo da estimativa em 2016 em relação à estação reprodutiva de 2015 (Tabela 3). A variação numérica entre as estimativas médias equivale a 35,3%, sendo que apresentaram-se como significativamente diferentes, pois não houve sobreposição dos IC a 95%. Esta diminuição, por se tratar de um parâmetro que quantifica as árvores que atuam como doadoras de pólen nos cruzamentos, não é favorável à população arbórea e tal fato sugere a possibilidade de interferência na polinização de 2016. Igualmente, em duas estações reprodutivas consecutivas em uma mesma área, Medeiros (2010) obteve alteração no número de árvores polinizadoras ao analisar *Tabebuia aurea* (Bignoniaceae), que passou de 4,8 a 8,1 árvores polinizadoras no ano seguinte. Desta forma, pode-se deduzir que tal parâmetro pode ser altamente variável na população, em função do que acontece em cada estação reprodutiva, como a quantidade de flores produzidas, por exemplo.

Como observação de campo durante o monitoramento de floração em 2016 na população do estudo, verificou-se que algumas matrizes escolhidas como amostra para análises, e também outras não escolhidas, apresentaram secamento parcial na copa, além da quebra de galhos sadios após dias de fortes ventos com chuva. Embora não quantificado no estudo, supõe-se que tal secamento de ramos, não visualizado em 2015 nas árvores amostradas, possa indicar o início de senescência nestes indivíduos, pois a espécie tem ciclo de vida curto e não havia indícios de doença ou pragas nas mesmas. Trata-se de uma inferência corroborada por Ferreira et al. (2009), quando observaram que algumas espécies arbóreas pioneiras apresentaram sinais visíveis de senescência aos 13 anos, com perda de vigor, galhos mortos, copa perdendo folhas e soltura de casca, demonstrando declínio vital, semelhantes aos sinais de senescência de *Mimosa scabrella*.

Neste contexto, deduz-se a possibilidade de que tais ocorrências na copa tenham contribuído, em parte, para menor produção de flores e oferta de recursos alimentares às abelhas polinizadoras da espécie na estação reprodutiva de 2016 e, de alguma forma, tenham influenciado no comportamento forrageador, refletido na diminuição deste parâmetro. Esta inferência está de acordo com Medeiros (2010), quando considerou que a variação na intensidade da floração em cada estação

reprodutiva, é um fator que provavelmente interfere no número de árvores efetivamente polinizadoras.

A média de 4,9 árvores doadoras de pólen na estação reprodutiva de 2015 foi mais elevada do que na maioria das populações de *Mimosa scabrella* comparadas neste estudo. Como exemplo, foi respectivamente 1,4% e 19,8% maior que o número estimado para as populações em Calmon, SC (4,83) e em Matos Costa, SC (3,93), estudadas por Moreira (2009). Esta média também foi maior em 60,8%, 57,1%, 54,4%, 16,3%, 57,1%, 58,7% e 70,6% que as estimativas obtidas por Sobierajski (2004) para tal parâmetro, respectivamente em populações da espécie em Itararé, SP (1,92), Turvo, PR (2,10), Piraí do Sul, PR (2,23), Honório Serpa, PR (4,10), Mandirituba, PR (2,10), Ituporanga, SC (2,02) e Caçador, SC (1,44). Entretanto, foi menor em 33,4% que a estimativa na população de Lapa, PR (6,54).

O número médio de árvores polinizadoras na estação reprodutiva de 2015 não foi elevado mas foi fator preponderante para assegurar a ocorrência de cruzamentos e em taxas elevadas. Tal fato condiz com o padrão observado para a espécie, com base em Moreira (2009) e Sobierajski (2004).

Na estação reprodutiva de 2016, embora a estimativa do número de árvores polinizadoras de 3,17 tenha sido menor que a do ano anterior, ao compará-lo com as outras populações mencionadas, tal quantidade foi maior que as obtidas em Itararé, SP, Turvo, PR, Piraí do Sul, PR, Mandirituba, PR, Ituporanga, SC e Caçador, SC (1,44), analisadas por Sobierajski (2004), correspondendo respectivamente a 39,4%, 33,7%, 29,6%, 33,7%, 36,2% e 54,5% maior que estas. Porém tal estimativa foi 106,3% e 29,3% menor que as obtidas pela mesma autora nas populações de Lapa, PR (6,54) e Honório Serpa, PR (4,10) respectivamente.

Da mesma forma, o número médio desta estação reprodutiva (3,17) foi inferior em 52,3% e 23,9% respectivamente que o das populações da espécie em Calmon, SC (4,83) e em Matos Costa, SC (3,93), analisadas por Moreira (2009).

2.4.2.8 Proporção de irmãos por autofecundação

Os irmãos por autofecundação representam os descendentes gerados de óvulos fecundados por grãos de pólen da mesma árvore, fato possível por se tratar de espécie com flores hermafroditas, sem autoincompatibilidade.

Em uma mesma árvore adulta de *Mimosa scabrella* os grãos de pólen de uma determinada flor são transportados pelos polinizadores para outras flores hermafroditas da mesma inflorescência e também para flores hermafroditas de outras inflorescências, mas dentro da mesma árvore. O grão de pólen de uma flor hermafrodita ainda pode ser levado do estame ao estigma da sua própria flor e fecundá-la, desde que haja sincronismo entre a receptividade do estigma e a disponibilização de pólen naquela flor.

Com finalidade comparativa, mencionam-se exemplos de proporção de irmãos por autofecundação resultantes da análise de *Mimosa scabrella* em várias populações de SP, PR e SC obtidas por Sobierajski (2004) e por Moreira (2009):

a) PIA 0,029, representando a média das nove populações (SOBIERAJSKI, 2004), considerada de magnitude baixa pelo autor.

b) PIA 0,141 e 0,021, referentes à maior e à menor estimativa respectivamente entre as nove populações (SOBIERAJSKI, 2004), consideradas de magnitude baixa.

c) PIA 0,194, referente à média de duas populações em SC (MOREIRA, 2009), considerada de magnitude baixa pelo autor.

Referente ao estudo das duas estações reprodutivas, as estimativas indicam que aumentou a proporção de irmãos por autofecundação em 2016 em relação à estação reprodutiva de 2015. A variação numérica entre as médias foi 105,6%, sendo estas significativamente diferentes, pois não houve sobreposição dos IC a 95%.

Este aumento de descendentes por autofecundação não é favorável para a população, tendendo a refletir em aumento do nível de endogamia. Por sua vez, quanto maior a endogamia, representa maior a presença de homozigotos, em prejuízo da variabilidade genética da espécie, indo para o caminho contrário ao desejável geneticamente. Tal consideração está em conformidade com Barbosa (2014) quando afirmou que a autofecundação é a forma mais extrema de gerar endogamia, por reduzir a frequência de heterozigotos, tão essenciais na recombinação gênica. No entanto, apesar do aumento nas autofecundações em 2016, verifica-se que o índice de fixação F_M continuou negativo (Tabela 3), possibilitando inferir que a deficiência de homozigotos nas matrizes deixa a situação ainda não preocupante para o momento, em relação à endogamia.

Referente à estação reprodutiva de 2015 deste estudo, a proporção obtida de irmãos por autofecundação representa que para cada 100 descendentes, foram gerados 7,5 indivíduos por autofecundação, portanto ocorreu efetivamente o fornecimento de pólen da mesma árvore para fecundar suas próprias flores hermafroditas. Comparando-se com outras estimativas do mesmo parâmetro em populações de *Mimosa scabrella* nos estados de SP, PR e SC, verifica-se que a estimativa da população do estudo, na estação reprodutiva de 2015, foi menor em 192,3% e 123,2% respectivamente que a obtidas por Moreira (2009) nas populações de Calmon, SC (0,220) e de Matos Costa, SC (0,168). O resultado também foi menor em 87,38% quando comparado com a população de Turvo, PR (0,141), analisada por Sobierajski (2004). No entanto, tal proporção deste estudo foi maior do que em outras populações de *Mimosa scabrella* avaliadas por Sobierajski (2004), como em Itararé, SP (0,051), Honório Serpa, PR (0,021) e Caçador, SC (0,055), onde foi maior respectivamente em 32,2%, 72,0% e 26,9%. Não se comparou a proporção de irmãos por autofecundação com as das populações de Piraí do Sul, PR (0,000), Lapa, PR (0,000), Mandirituba, PR (0,000) e Ituporanga, SC (0,000), por não apresentarem descendentes por autofecundação.

Referente à estação reprodutiva de 2016, ao confrontar a estimativa obtida no estudo com resultados do mesmo parâmetro para a mesma espécie, tal proporção foi menor 42,1% e 8,5% que as obtidas por Moreira (2009) nas populações de Calmon, SC e de Matos Costa, SC. No entanto, em relação às populações analisadas por Sobierajski (2004) em Itararé, SP, Turvo, PR, Honório Serpa, PR e Caçador, SC, a proporção de irmãos por autofecundação da referida estação reprodutiva foi maior respectivamente 67,0%, 8,9%, 86,4% e 64,4%.

2.4.2.9 Proporção de meio irmãos

Os indivíduos meio irmãos representam os descendentes de cruzamentos que ocorreram entre diversas árvores doadoras de pólen com uma mesma árvore que foi a receptora destes pólenes.

Da mesma forma que nos parâmetros anteriores, mencionam-se como referencial comparativo, exemplos de proporção de meio irmãos em *Mimosa scabrella*, como as obtidas por Moreira (2009) e por Sobierajski (2004) em análise de populações da espécie em algumas localidades dos estados de SP, PR e SC:

a) PMI 0,473 representando a média de nove populações em SP, PR e SC (SOBIERAJSKI, 2004), considerada de magnitude baixa pelo autor.

b) PMI 0,847 e 0,289 referente à maior e à menor estimativa entre as nove populações (SOBIERAJSKI, 2004), consideradas respectivamente de magnitudes alta e baixa.

c) PMI 0,6185 referente à média de duas populações no estado de SC (MOREIRA, 2009), considerada de magnitude alta pelo autor.

No estudo ocorreu um decréscimo na proporção de meio irmãos na estação reprodutiva de 2016 em relação ao mesmo período de 2015. Entre as médias houve variação numérica de 21,3%, sendo estas significativamente diferentes, pois não houve sobreposição dos IC a 95%.

Ao analisar isoladamente este fato, a menor proporção de meio irmãos na estação reprodutiva de 2016 representa ser desfavorável geneticamente à espécie na população, pois sugere provável diminuição de cruzamentos aleatórios na estação reprodutiva de 2016, resultando em menos heterozigotos na recombinação gênica. Deduz-se que algum fator, intrínseco à espécie arbórea ou ambiental, influenciou fortemente no comportamento forrageiro dos polinizadores na população de *Mimosa scabrella* do local, de modo a tornar as visitas destes às árvores menos aleatórias. Esta inferência corrobora Antiqueira e Kageyama (2015), quando consideraram que polinizadores podem visitar menos aleatoriamente as árvores para coletar recursos alimentares, quando são afetados por fatores ambientais ou internos da planta.

Em comparativo com outras populações de *Mimosa scabrella*, cujo sistema reprodutivo também foi investigado por análise isoenzimáticas, a proporção de meio irmãos obtida em 2015 foi maior respectivamente em 16,0% e 15,9% que as das populações de Calmon, SC (0,618) e de Matos Costa, SC (0,619), analisadas por Moreira (2009). Igualmente tal estimativa deste estudo foi maior em 38,1% que a da população de Itararé, SP (0,455); em 38,8% que a de Turvo, PR (0,450); em 25,1% que a de Piraí do Sul, PR (0,551); em 28,9 % que a de Mandirituba, PR (0,523); em 31,4% que a de Ituporanga, SC (0,505) e maior em 60,7% que a de Caçador, SC (0,289), todas analisadas por Sobierajski (2004). Entretanto, em relação às populações de Lapa, PR (0,847) e de Honório Serpa, PR (0,746), a proporção de meio irmãos da estação de 2015 foi menor respectivamente em 15,0% e 1,3%.

Referente a estação reprodutiva de 2016, a proporção de meio irmãos obtida quando comparada com populações de *Mimosa scabrella* analisadas por Moreira (2009), como a de Calmon, SC e de Matos Costa, SC, verifica-se que a mesma foi menor respectivamente em 6,7% e 6,9% que estas mencionadas. Igualmente teve estimativa menor em relação às populações analisadas por Sobierajski (2004), como a de Lapa, PR e de Honório Serpa, PR, cujas diferenças corresponderam respectivamente a 46,3% e 28,9%. No entanto, em comparativo com outras também analisadas por Sobierajski (2004), como em Itararé, SP, Turvo, PR, Piraí do Sul, PR, Mandirituba, PR, Ituporanga, SC e Caçador, SC, tal parâmetro nesta estação reprodutiva foi maior respectivamente em 21,3%, 22,2%, 4,7%, 9,6%, 12,7% e 50,0% que as mencionadas.

2.4.2.10 Proporção de irmãos completos

Os irmãos completos representam os descendentes gerados de cruzamentos que ocorrem sistematicamente entre as mesmas duas árvores. Com a finalidade de comparações abrangentes, mencionam-se exemplos de proporção de irmãos completos em *Mimosa scabrella*, resultantes da análise de nove populações dos estados de SP, PR e SC, analisadas por Sobierajski (2004) e da média de duas populações analisadas por Moreira (2009) no estado de SC:

a) PIC 0,498, representando a média das nove populações em SP, PR e SC (SOBIERAJSKI, 2004), considerada de magnitude alta pelo autor.

b) PIC 0,656 e 0,153, referentes à maior e à menor estimativa respectivamente entre as populações (SOBIERAJSKI, 2004), consideradas respectivamente de magnitudes alta e baixa.

c) PIC 0,186 referente à média de duas populações em municípios diferentes em SC (MOREIRA, 2009), considerada de magnitude baixa pelo autor.

Referente às estimativas do estudo, ocorreu um aumento na proporção de irmãos completos em 2016 em relação à estação reprodutiva de 2015, com variação numérica de 41,2% e diferença significativa entre as médias, pois não houve sobreposição dos IC a 95%.

Considera-se que este aumento de irmãos completos não é favorável à população, pois sinaliza que os cruzamentos biparentais foram mais frequentes em 2016, em detrimento dos cruzamentos aleatórios. Este fato, refletido nas estimativas,

possibilita inferir em alguma ocorrência importante na população em estudo, a ponto de alterar o comportamento dos polinizadores. Sugere ter ocorrido forrageamento mais concentrado em poucas árvores, de forma sistemática entre os mesmos indivíduos parentais, contrapondo com a diminuição dos cruzamentos aleatórios, conforme refletem as proporções de meio irmãos e de irmãos completos neste comparativo entre as estações reprodutivas. Esta dedução está de acordo com Antiqueira e Kageyama (2015), quando atribuíram a ocorrência de cruzamentos biparentais ao comportamento dos polinizadores, quando estes priorizam visitas sistemáticas em árvores vizinhas, atribuindo também ao reduzido número de árvores vizinhas próximas, assim como a algum fator inerente à planta, como falta de sincronismo na floração.

Mesmo com as alterações nas estimativas de uma estação reprodutiva para outra do ano seguinte, as proporções dos descendentes permaneceram na mesma ordem, com maior quantidade de meio irmãos, seguido de irmãos completos e com menores proporções de irmãos de autofecundação.

Em um comparativo com algumas populações de *Mimosa scabrella* mencionadas na discussão em parâmetros anteriores, verifica-se que o resultado estimado para a proporção de irmãos completos na estação reprodutiva de 2015 foi maior em 14,6% que o da população de Calmon, SC (0,161) mas menor em 11,8% que o de Matos Costa, SC (0,211), obtidos por Moreira (2009). Em relação às populações analisadas por Sobierajski (2004), a proporção de irmãos completos do estudo em 2015 foi igualmente menor que as de Itararé, SP (0,494), Turvo, PR (0,409), Piraí do Sul, PR (0,449), Honório Serpa, PR (0,239), Mandirituba, PR (0,477), Ituporanga, SC (0,495) e Caçador, SC (0,656), correspondendo a 161,8%, 116,8%, 138,0%, 26,7%, 152,8%, 162,4% e 247,7% respectivamente menor. Em relação aos irmãos completos para a população de Lapa, PR (0,153), obtidos por Sobierajski (2004), a proporção na estação reprodutiva de 2015 foi maior em 18,8%.

Referente à estação reprodutiva de 2016, ao confrontar a proporção de irmãos completos da população do estudo com estimativas de outras populações da mesma espécie já mencionadas, verifica-se que a mesma foi maior em 39,5% e 20,8% respectivamente que a de Calmon, SC e a de Matos Costa, SC, analisadas por Moreira (2009). Da mesma forma, a estimativa do estudo foi maior que as das populações de Lapa, PR e de Honório Serpa, PR em 42,5% e 10,3% respectivamente, obtidos por Sobierajski (2004). No entanto, tal estimativa do estudo

em 2016 foi menor que as de outras populações de *Mimosa scabrella* também analisadas por Sobierajski (2004) e aqui comparadas, como as de Itararé, SP, Turvo, PR, Piraí do Sul, PR, Mandirituba, PR, Ituporanga, SC e Caçador, SC, respectivamente em 85,3%, 53,4%, 68,4%, 78,9%, 85,7% e 146,1%.

2.5 CONCLUSÕES

Com os resultados do estudo do sistema reprodutivo de *Mimosa scabrella*, nas estações reprodutivas consecutivas de 2015 e 2016, concluiu-se que:

- a) o sistema reprodutivo de *Mimosa scabrella* é misto, com predominância de cruzamentos;
- b) os cruzamentos ocorrem em taxas elevadas na população desta espécie, onde a maioria dos descendentes gerados por cruzamentos é de meio irmãos;
- c) ocorrem autofecundações em *Mimosa scabrella* em população, comprovando que a espécie não possui autoincompatibilidade;
- d) o número de árvores doadoras de pólen para cada matriz de *Mimosa scabrella*, não é considerado elevado, mas garante os cruzamentos de forma predominante e a continuidade da sobrevivência da espécie a cada estação reprodutiva;
- e) a população de *Mimosa scabrella* apresentou diferenças significativas entre as médias de quase todos os parâmetros do sistema reprodutivo, nas estações reprodutivas consecutivas analisadas.

3 CAPÍTULO II - DIVERSIDADE GENÉTICA EM DUAS POPULAÇÕES DE *Mimosa scabrella* Benth. EM LAGES-SC, EM ÁREA COM PAISAGEM MANEJADA E EM UNIDADE DE CONSERVAÇÃO

3.1 RESUMO

O estudo deste capítulo objetivou caracterizar a diversidade genética em duas populações de *Mimosa scabrella* Benth. (bracatinga) em Lages-SC, distantes 31 km entre si e inseridas em Floresta Ombrófila Mista Montana com paisagens distintas. A população da espécie na Fazenda Experimental do CAV / UDESC está em área restrita à pesquisa e apresenta histórico recente de uso com agricultura e pecuária. A população da espécie no Parque Natural Municipal está em área pública que abriga a Unidade de Conservação, apresentando-se em grande parte aglomerada e circundada pela floresta natural protegida da área, embora tenha ocorrido no passado exploração seletiva de madeira. Por análise de isoenzimas, interpretaram-se genótipos de 100 árvores adultas (50 de cada população) para nove locos isoenzimáticos (PGI, 6PGDH, PGM, SKDH, IDH, PRX, ME, β -EST e DIA). Utilizou-se o programa estatístico GenAlEx. 6.5 para as estimativas dos principais parâmetros de diversidade genética da espécie em ambas as populações e os valores médios foram comparados pelos Intervalos de Confiança a 95%. Dentre os parâmetros de diversidade genética para a espécie, algumas das estimativas para as populações da Fazenda Experimental e do Parque Natural foram respectivamente: número de alelos por loco (\hat{A}): 3,555 (EP 0,556) e 3,444 (EP 0,412), Heterozigosidade observada (H_o): 0,427 (EP 0,066) e 0,309 (EP 0,052) e Heterozigosidade esperada (H_e): 0,469 (EP 0,070) e 0,362 (EP 0,063). Conclui-se que não há evidências de que as paisagens, com diferentes históricos de perturbação, influenciaram diferentemente na diversidade genética de *Mimosa scabrella* destas populações.

Palavras-chave: Bracatinga. Floresta Ombrófila Mista. Alelos. Heterozigosidade.

3.2 INTRODUÇÃO

O termo biodiversidade tornou-se cada vez mais valorizado com a velocidade do desenvolvimento de todo o planeta. O modo de produção agropecuária e florestal madeireira no Brasil ainda está associado, por motivos históricos, à ações prejudiciais ao meio ambiente em vários níveis, mesmo sendo praticada por minorias setorializadas. A expansão de áreas agrícolas de maneira inadequada sobre áreas de florestas naturais ainda é uma realidade brasileira, como ocorre em regiões de Mata Atlântica, Cerrado e Amazônia. A situação agrava-se quando não se observam aspectos biológicos, reprodutivos, de regeneração e o padrão de distribuição genética das espécies florestais, o que pode levar à redução da base genética destas e comprometer os ecossistemas onde estão inseridas. O fluxo gênico pode tornar-se restrito em populações mantidas isoladas ou estruturadas em pequenos grupos, impactando na erosão da variação genética e na endogamia, aspectos que devem ser considerados nas estratégias de conservação (CABALLERO et al., 2010). Teorias de isolamento reprodutivo prevêem perda de diversidade genética e aumentos na endogamia e na estrutura genética espacial em tais populações (SEBBENN et al. 2010).

Os estudos de genética em populações de espécies arbóreas visam conhecer os níveis de variabilidade genética existente em uma determinada espécie para auxiliar no planejamento de ações de conservação e uso.

Diversidade genética refere-se a toda variação biológica hereditária acumulada durante o processo de evolução, sob a ação de forças evolutivas presentes como mutação, seleção natural, migração ou fluxo gênico e deriva genética. A diversidade genética pode ser compreendida como a variedade de alelos e genótipos presentes nas populações, geralmente descrita em termos de frequências alélicas, número de alelos e heterozigosidade (BARBOSA, 2014). A diversidade de uma espécie envolve a variação entre indivíduos da mesma população, assim como variação entre populações da mesma espécie que estão separadas espacialmente, onde tais variações podem ser de ordem morfológica, comportamental ou genética, entre outras (RIBEIRO et al., 2016).

No entanto, pelo mau uso dos recursos naturais, pode haver perdas consistentes de espécies nos ecossistemas, incluindo-se as espécies florestais, cujo agravamento ocorre com o aumento do desmatamento, especialmente em florestas

tropicais, onde se concentra a maior parte da biodiversidade (GANEM, 2011). Aliado a isto, estudos de fragmentação da vegetação são conclusivos em afirmar que, nestes casos, há diminuição na diversidade genética em plantas (AGUILAR, 2008).

Com a redução de ecossistemas e biomas, pode haver diminuição da diversidade biológica nos mesmos e comprometer o processo evolutivo das espécies, pois há perda de variabilidade genética e do potencial de adaptação das populações naturais às mudanças ambientais (MOURA, 2005). Considera-se que a perda de biodiversidade é uma crise silenciosa cuja interrupção é necessária para não levar à homogeneização biótica do planeta (GANEM, 2011). Para este autor, as evidências dessa crise são manifestadas pelo declínio das populações biológicas, ameaça de extinção de espécies, perda de diversidade genética em espécies e degradação de ecossistemas com perda de habitats.

Quando as características originais de um determinado local são alteradas por ação humana, como em vegetação e/ou solo, gera-se uma área antropizada, onde tal ação antrópica não só prejudica o ecossistema, como também suas áreas adjacentes (BOAKES et al., 2010). A intensiva exploração de recursos florestais de forma seletiva, atividades do agronegócio promovendo mudanças no uso da terra e a expansão urbana sobre as áreas de florestas estão entre os principais fatores que promovem perda na diversidade de espécies arbóreas (RIBEIRO et al., 2016).

Estima-se que nos últimos 10.000 anos, aproximadamente metade da superfície terrestre do planeta (excluindo-se as áreas polares com gelo) foi convertida ou consideravelmente modificada por atividades humanas (LAMBIN; GEIST; LEPPERS, 2003). O processo antropogênico em áreas com florestas naturais ocorre de forma globalizada e acelerada, promovendo modificações no ambiente pelo fato da capacidade do homem em alterar rapidamente ambientes naturais ser muitas vezes superior à capacidade de recomposição destes (COSTA, 2014). Entretanto, devido ao fato das vegetações florestais serem tão importantes e a ação do homem ser tão intensiva sobre elas, quase sempre por interesses econômicos, a situação das florestas do mundo continuam sendo estudadas.

Buscar respostas às alterações de habitats em populações de espécies-chaves é fundamental para conservação de paisagens fragmentadas (HANSON et al., 2008), onde inclui-se a investigação da diversidade genética das espécies.

Estudos para conservação de recursos genéticos florestais são fundamentais, pois a pressão do desenvolvimento urbano e agropecuário sobre as florestas naturais é crescente no Brasil. A conservação da diversidade genética é uma preocupação fundamental em Biologia da Conservação, pois refere-se à matéria-prima para a mudança evolucionária, portanto, ao potencial para se adaptar a ambientes em mudança (AGUILAR et al., 2008). Estes estudos, que focam a conservação genética, fundamentam as melhores formas de preservação da diversidade dentro das espécies (SAIKI, 2016), os quais têm na diversidade genética um parâmetro populacional indispensável (MELLO, 2012).

Quando se pensa no conflito de interesses sobre os recursos florestais, existem, no mínimo, duas correntes opostas, onde um lado quer usar e o outro lado quer proteger. O ideal é o equilíbrio entre a manutenção das vegetações naturais com sustentabilidade e a pressão pela demanda por seus produtos e serviços ambientais. Em áreas não conservadas adequadamente, há o agravamento do processo de degradação ambiental e esgotamento dos recursos naturais disponíveis, notando-se um aumento da preocupação com os danos ambientais causados na reprodução e diversidade genética das espécies arbóreas (RIBEIRO et al., 2016).

A criação de espaços protegidos pelos governos federal, estadual e municipal ou por iniciativas particulares, sob a forma de Unidades de Conservação (UC), é uma alternativa lenta mas extremamente benéfica à conservação dos recursos genéticos da flora e fauna ameaçados. Unidades de Conservação são espaços territoriais com recursos naturais relevantes, que buscam assegurar a representatividade das diferentes populações, habitats e ecossistemas do país, preservando o patrimônio biológico existente (MMA, 2018). Desta forma, estudos de diversidade genética com espécies arbóreas nativas em populações, as quais são importantes para a manutenção da biodiversidade e da estruturação da floresta (SEOANE, 2007), possibilitam obter dados e informações relevantes para estratégias de sua conservação e uso.

O objetivo deste estudo (capítulo II) foi caracterizar e comparar a diversidade genética de duas populações de *Mimosa scabrella* localizadas em paisagens com diferentes históricos de perturbação, no mesmo município.

3.3 MATERIAL E MÉTODOS

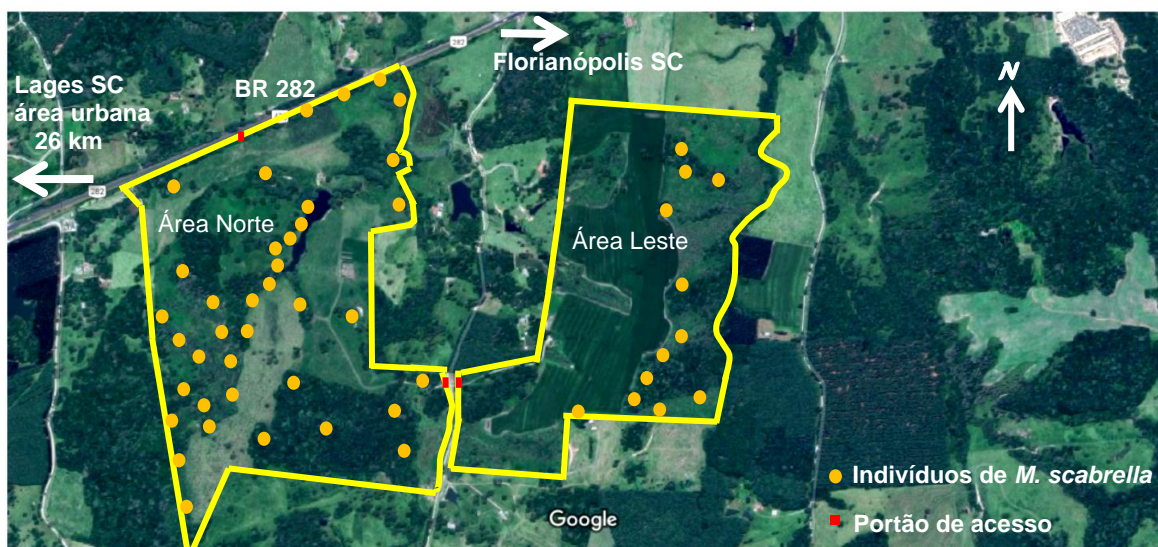
3.3.1 Locais do estudo

Este estudo teve como locais a Fazenda Experimental do CAV e o Parque Natural Municipal João José Theodoro da Costa Neto, ambos em Lages, SC.

A Fazenda Experimental destina-se às atividades de pesquisa, ensino e extensão do CAV/UDESC e localiza-se no setor leste do município, com acesso principal pela rodovia BR 282 (Km 195), distante 26 km do campus. Possui 191 ha e apresenta sinais de antropização, com parte da vegetação florestal original alterada pela agricultura e pecuária em período anterior à aquisição pela UDESC. A vegetação arbórea remanescente é característica de Floresta Ombrófila Mista (FOM) e mantém-se em fragmentos nas matas ciliares e em capões de vegetação, compondo as Áreas de Preservação Permanente (APPs) e de Reserva Legal (RL).

Para o presente estudo de diversidade genética, foram amostrados indivíduos da população de *Mimosa scabrella* distribuídos pelas áreas Norte e Leste (Figura 13). A área Norte, apresenta parte dos seus 52,36 ha com relevo ondulado e abriga experimentos agrícolas e florestais, enquanto que a área Leste, confrontante com a área Norte, com 42,27 ha, possui a maior parte do terreno mecanizável com cultivo agrícola experimental, além de experimentos florestais.

Figura 13 - Áreas da Fazenda Experimental com *M. scabrella* amostrada

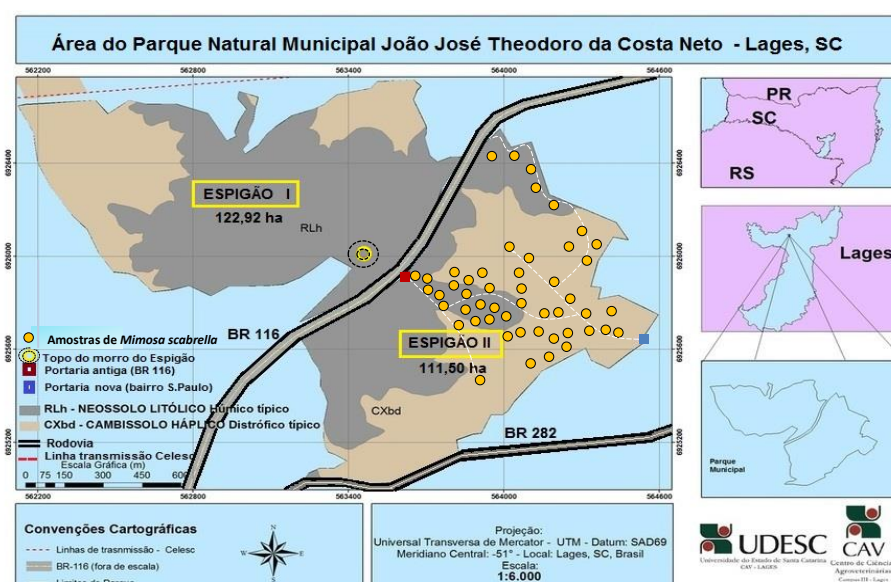


Fonte: Adaptada de Google Earth (2018).

O Parque Natural Municipal é uma Unidade de Conservação (UC) de proteção integral, criada por Lei Complementar Municipal nº 59 de 04/06/1997 como Parque Ecológico e alterado para Parque Natural por Lei Complementar nº 228 de 30/03/2005 (LIMA, 2007). Sua criação objetivou resguardar atributos excepcionais e proteger recursos naturais, conciliando com seu uso educacional, científico e recreativo. Além da vegetação de FOM e da fauna, a hidrologia local também foi beneficiada com a criação da UC, por abrigar dois sistemas de vertentes que compõem a bacia do Rio Caveiras: sistema ao Norte da UC com o Rio Amola Faca e sistema ao Sul da UC com o Rio Passo Fundo (LIMA, 2007). Ambos são afluentes do Caveiras, um rio importante para Lages e região, que deságua no Rio Canoas.

A UC localiza-se no setor noroeste do município, próximo ao entroncamento das rodovias BR 116 com BR 282, em região conhecida como Boqueirão. A rodovia BR 116 cruza o Parque Natural no sentido NE-SW por aproximadamente 1300 m, entre as cotas altimétricas 982 m e 1040 m do Morro do Espigão, com seu topo na cota 1222 m inserido na UC (LIMA, 2007). A rodovia separa a UC em duas partes, conhecidas como Espigão I e II, popularmente referenciadas como “parte de cima” e “parte de baixo” da BR 116 respectivamente (Figura 14), devido ao relevo.

Figura 14 - Representação do Parque Natural com *M. scabrella* amostrada



Fonte: Adaptada de Spiazzi e Ramos (2011).

A área Espigão I (122,92 ha) é zona intangível da UC e a Espigão II (111,50 ha) possui zona primitiva e zona de recuperação e manejo, onde se permitem

pesquisas científicas, além de zona de uso intensivo com trilhas e área para interpretação ambiental, lazer ecológico e recreação. A entrada principal da UC situa-se no bairro S. Paulo, na latitude 27°47'S, longitude 50°20'W e altitude 922 m.

A UC está sob o domínio da Floresta Ombrófila Mista Montana e mesmo com vegetação menos exuberante que as florestas tropicais (EMBRAPA, 2004), várias espécies sobressaem-se no local, como a *Araucaria angustifolia* e a *Mimosa scabrella* em bracatingal na área Espigão II. A área da UC insere-se na unidade geomorfológica do Planalto de Lages, integrante da Região do Planalto Centro-Oriental de Santa Catarina (EMBRAPA, 2004) e os solos predominantes no local são do grupo dos Cambissolos (LIMA, 2007; FERREIRA, 2015). Um estudo específico de solos desta UC concluiu-se que predominam o Cambissolo Háplico Distrófico típico e o Neossolo Litólico Húmico típico, além de inclusões de Cambissolo Húmico Alumínico típico, Neossolo Litólico Hístico típico e Gleissolo Melânico (SPIAZZI; RAMOS, 2011). A precipitação média anual é de 1.441 mm, o clima é do tipo Cfb (Köppen) e a temperatura média anual é 16,6 °C (CLIMATE, 2018).

3.3.2 As duas populações de *Mimosa scabrella*

Ambas as populações de *Mimosa scabrella* do presente estudo localizam-se em regiões distintas do município. A população da Fazenda Experimental do CAV/UDESC situa-se no quadrante leste do município e a do Parque Natural Municipal de Lages no quadrante noroeste, distantes 31 km entre si e com a área urbana localizada entre elas. Para fins deste estudo, ambos os locais foram referidos como Fazenda Experimental e Parque Natural.

Referente à população da Fazenda Experimental, a área de amostragem de *Mimosa scabrella* abrangeu 94,63 ha e englobou as áreas Norte e Leste, obedecendo o critério de 50 m de distância mínima entre cada árvore amostrada. As árvores desta população distribuem-se descontinuamente na formação de FOM, cujos fragmentos remanescentes são de origem antrópica pelo uso agropecuário, que transformaram as características originais da vegetação em paisagem manejada. Os indivíduos de *Mimosa scabrella* ocupam, na maior parte, as matas ciliares e outros fragmentos, dentre estes, dois pequenos agrupamentos característicos de um bracatingal na área Norte, descritos anteriormente (capítulo I).

Referente à população no Parque Natural, a espécie *Mimosa scabrella* está no grupo de arbóreas identificadas no levantamento florístico desta UC (LIMA, 2007; KLAUBERG et al., 2010; SANTOS et al., 2015). Na área Espigão II, os indivíduos desta espécie encontram-se em um grande agrupamento adulto, assim como também esparsos pela área.

A maior parte da população de *Mimosa scabrella* na área apresenta-se em formação agrupada, constituindo um característico bracatingal, cujos indivíduos formam um expressivo maciço, visualmente diferenciado e destacado no Parque Natural. Há fortes indícios que este bracatingal surgiu da colonização da espécie em uma clareira originada entre 2005 e 2006, após a seca sincronizada de final de ciclo do taquaral de *Merostachys multiramea* Hackel (SANTOS et al., 2015), cuja planta é semélpara (MEDEIROS, 2017). A formação adensada apresenta árvores altas (média 17,86 m), com o sub-bosque reocupado pelo taquaral de *M. multiramea* em novo ciclo após a mencionada seca sincronizada. Com base em Ferreira (2015) e Santos et al. (2015), estima-se que a idade atual dos indivíduos do bracatingal seja entre 13 a 14 anos. Esta parcela aglomerada de *Mimosa scabrella* está “confinada” na floresta natural da UC, cercada por espécies arbóreas características de FOM (SANTOS et al., 2015; KLAUBERG et al., 2010), algumas em situação especial, como *Oreopanax fulvum* Marchal em vulnerabilidade (KLAUBERG et al., 2010) e *Araucaria angustifolia* (Bertol.) Kuntze, *Dicksonia sellowiana* Hook e *Ocotea porosa* (Ness) Barroso, em perigo de extinção (KLAUBERG et al., 2010; LIMA, 2007).

Externamente ao bracatingal adensado, também ocorrem indivíduos adultos de *Mimosa scabrella* em diversos setores da UC, com menor altura média (12,30 m) do que os indivíduos agrupados. As árvores esparsas estão em locais que recebem mais luz, como margens de rodovia, de aceiros de divisa e de trilhas, onde também há juvenis e plântulas, mostrando a característica colonizadora desta espécie.

3.3.3 Escolha das árvores para análise

A amostragem é um aspecto importante, que se deve dar atenção no planejamento das atividades, para que o nível de variação existente nas populações possa ser indicado de forma eficaz (MANTOVANI; MORELLATO; REIS, 2006). Recomendam-se pelo menos 50 indivíduos por população por espécie, de modo que os desvios associados às estimativas sejam compatíveis e adequados (CARLINI-

GARCIA; VENCOVSKY; COELHO, 2001). Definiu-se por amostrar 50 árvores adultas de cada população e os critérios para a escolha foram: ser indivíduo adulto, ter bom aspecto fitossanitário, não ser senescente e ter distância mínima de 50 m entre elas. Os indivíduos foram identificados com plaquetas e tiveram registradas suas coordenadas geográficas, altura total (H) e diâmetro à altura do peito (DAP).

3.3.4 Coleta de folhas para análises

Nas duas populações de *Mimosa scabrella* deste estudo, coletaram-se folhas nas 50 árvores marcadas, na véspera da análise isoenzimática (julho/2017). Duas folhas inteiras de cada árvore foram separadas e armazenadas em sacos plásticos individuais, em bolsas térmicas com barras de “gelo espuma” no campo e posteriormente em geladeira. O transporte do material até o local das análises foi em caixas térmicas com “gelo espuma”, evitando a degradação das enzimas.

3.3.5 Análise isoenzimática

As análises isoenzimáticas deste estudo de diversidade genética, foram realizadas no Laboratório de Fisiologia do Desenvolvimento e Genética Vegetal (LFDGV) da UFSC, em Florianópolis, SC. Ressalta-se que tais análises foram realizadas em julho/2017, na mesma rodada de análises para o estudo do sistema reprodutivo da estação reprodutiva de 2016. Na ocasião, incluíram-se as 50 amostras do Parque Natural e mais outras 27 amostras de novas árvores da Fazenda Experimental, que juntaram-se às amostras das 23 árvores anteriormente definidas para o estudo do sistema reprodutivo, totalizando 100 amostras.

As análises isoenzimáticas das amostras de *Mimosa scabrella* das duas populações, envolveu as etapas: a) preparo das soluções tampão e dos sistemas isoenzimáticos; b) preparo do gel de amido; c) maceração dos tecidos foliares, extração e solubilização das enzimas; d) carregamento do gel com “wicks” embebidos com o macerado solubilizado; e) eletroforese; f) fatiamento do gel; g) revelação dos alelos nas bandas isoenzimáticas no gel e interpretação dos genótipos e h) registro fotográfico. Todas as etapas seguiram os protocolos utilizados pelo LFDGV/CCA/UFSC, descritos em detalhes no capítulo I.

3.3.6 Análise estatística para diversidade genética

Na caracterização da diversidade genética das duas populações de *Mimosa scabrella* do estudo, utilizou-se o programa estatístico “GenAlEx” 6.5 (PEAKALL; SMOUSE, 2012) e os dados foram os genótipos interpretados na análise isoenzimática (100 amostras em nove sistemas isoenzimáticos). Dentre os parâmetros de diversidade genética estimados, encontram-se: número de alelos por loco ou “Riqueza média” (\hat{A} : obtido pela divisão entre n° total de alelos e o n° de locos analisados); número de alelos “efetivos” por loco (\hat{A}_e : obtido pela equação $1/\sum p_i^2$ onde p_i = frequência do i ésimo alelo); heterozigosidade observada (H_o : obtido pela divisão entre o n° total de heterozigotos e o n° total de genótipos analisados); heterozigosidade esperada (H_e : obtido pela equação $1-\sum p_i^2$, onde p_i = frequência do i ésimo alelo) e índice de fixação [F : obtido pela equação $1 - (H_o / H_e)$], além da frequência dos alelos, incluindo os alelos raros (alelos com frequências até 5% nos locos) e alelos exclusivos (alelos com frequências em apenas uma população). As médias dos parâmetros \hat{A} , \hat{A}_e , H_o , H_e e F foram comparadas pelos limites dos Intervalos de Confiança (IC) com 95% de nível de confiança, onde a sobreposição destes representa não haver diferença significativa entre as médias.

Parâmetros como o número de locos (equivalente ao n° de sistemas isoenzimáticos utilizados); polimorfismo nos locos ($P\%$: divisão entre o total de locos polimórficos e o número de locos analisados, multiplicado por 100); número total de alelos diferentes ou “riqueza de alelos” (A : somatório dos alelos diferentes em todos os locos) e o número total de heterozigotos (somatório dos genótipos heterozigotos em todos os locos), tiveram os resultados obtidos diretamente junto aos genótipos interpretados nas análises isoenzimáticas.

3.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.4.1 Resultados

A análise isoenzimática de 100 amostras, em nove locos, resultou na interpretação de 900 genótipos, cuja análise estatística destes dados gerou os resultados dos parâmetros de diversidade genética (Tabela 4).

Tabela 4 - Caracterização da diversidade genética em *M. scabrella* na população da Fazenda Experimental e do Parque Natural

| Parâmetro | Estimativas | | | |
|---|-----------------------------------|------------------|-----------------------------------|------------------|
| | Fazenda Experimental | IC | Parque Natural | IC |
| Total de árvores amostradas | 50 | | 50 | |
| Nº de locos | 9 | | 9 | |
| Polimorfismo nos locos (P%) | 88,8 | | 100 | |
| Nº total de heterozigotos | 189 | | 128 | |
| Total de alelos diferentes [Riqueza (A)] | 32 | | 31 | |
| Nº de alelos por loco [Riqueza média (\hat{A})] | 3,555 ^{ns} (EP 0,556) | 2,5224 4,5886 | 3,444 ^{ns} (EP 0,412) | 2,6782 5,3924 |
| Nº de alelos efetivos por loco (\hat{A}_e) | 2,108 ^{ns} (EP 0,234) | 1,6730 2,5430 | 1,707 ^{ns} (EP 0,182) | 1,3678 2,7259 |
| Heterozigosidade observada (Ho) | 0,427 ^{ns} (EP 0,066) | 0,3047 0,5489 | 0,309 ^{ns} (EP 0,052) | 0,2115 0,4457 |
| Heterozigosidade esperada (He) | 0,469 ^{ns} (EP 0,070) | 0,3392 0,5981 | 0,362 ^{ns} (EP 0,063) | 0,2454 0,5192 |
| Índice de fixação (F) | 0,088 ^{ns} (EP 0,035) | 0,0232 0,1520 | 0,123 ^{ns} (EP 0,052) | 0,0268 0,1018 |

IC: limite inferior e superior do Intervalo de Confiança com 95% de nível de confiança; ns: diferença não significativa entre médias na mesma linha; (EP): Erro padrão.

Fonte: Elaborada pelo autor, 2018.

Os resultados referentes ao número de alelos por loco e totais (Tabela 5) e à frequência dos alelos por loco (Tabela 6), foram compilados visando inferências no comparativo das populações.

Tabela 5 - Número de alelos por loco e total de alelos nas duas populações

| Loco | Nº de alelos | |
|--------------|----------------------|----------------|
| | Fazenda Experimental | Parque Natural |
| PGI | 7 | 6 |
| 6PGDH | 4 | 4 |
| PGM | 4 | 4 |
| SKDH | 4 | 4 |
| IDH | 4 | 3 |
| PRX | 3 | 3 |
| ME | 1 | 2 |
| β -EST | 3 | 3 |
| DIA | 2 | 2 |
| Total | 32 | 31 |

Fonte: Elaborada pelo autor, 2018

Tabela 6 - Frequência dos alelos por loco nas duas populações do estudo

| Loco | Alelo | Frequência alélica | |
|-------|-------|----------------------|----------------|
| | | Fazenda Experimental | Parque Natural |
| PGI | | (N=50) | (N=50) |
| | 1 | 0,150 | 0,170 |
| | 2 | R, E 0,010 | 0,000 |
| | 3 | 0,480 | 0,560 |
| | 4 | 0,130 | R 0,020 |
| | 5 | R 0,040 | 0,160 |
| | 6 | 0,160 | 0,080 |
| 6PGDH | 7 | R 0,030 | R 0,010 |
| | | (N=50) | (N=48) |
| | 1 | 0,070 | R 0,042 |
| | 2 | 0,560 | 0,719 |
| | 3 | 0,280 | 0,188 |
| PGM | 4 | 0,090 | 0,052 |
| | | (N=49) | (N=46) |
| | 1 | 0,255 | 0,304 |
| | 2 | 0,694 | 0,652 |
| | 3 | R 0,041 | R 0,033 |
| SKDH | 4 | R 0,010 | R 0,011 |
| | | (N=50) | (N=47) |
| | 1 | 0,110 | 0,085 |
| | 2 | 0,520 | 0,500 |
| | 3 | 0,340 | 0,394 |
| IDH | 4 | R 0,030 | R 0,021 |
| | | (N=49) | (N=45) |
| | 1 | 0,122 | 0,156 |
| | 2 | 0,500 | 0,822 |
| | 3 | 0,337 | R 0,022 |
| PRX | 4 | R, E 0,041 | 0,000 |
| | | (N=48) | (N=35) |
| | 1 | 0,323 | 0,071 |
| | 2 | 0,646 | 0,886 |
| ME | 3 | R 0,031 | R 0,043 |
| | | (N=50) | (N=50) |
| | 2 | 1,000 | 0,980 |
| β-EST | 3 | 0,000 | R, E 0,020 |
| | | (N=50) | (N=46) |
| | 1 | 0,730 | 0,815 |
| | 2 | 0,140 | 0,098 |
| DIA | 3 | 0,130 | 0,087 |
| | | (N=46) | (N=49) |
| | 1 | 0,217 | 0,153 |
| | 2 | 0,783 | 0,847 |

(N): nº de amostras válidas analisadas por loco; R: alelo raro; E: alelo exclusivo

Fonte: Elaborada pelo autor, 2018.

Os dados de coordenadas geográficas, altitude, DAP e altura das árvores amostradas nas populações da Fazenda Experimental e do Parque Natural, em Lages SC, foram disponibilizados nos APÊNDICES D e E respectivamente. Os 900 genótipos interpretados, referentes às 50 árvores de cada população, encontram-se disponibilizados nos APÊNDICES F e G.

3.4.2 Discussão

Caracterizar a diversidade genética das populações de *Mimosa scabrella* da Fazenda Experimental e do Parque Natural, é considerado importante por ser esta uma espécie brasileira reconhecida pelos produtores rurais das regiões de ocorrência, especialmente por seu múltiplo uso, como melífera, recuperadora de solos e como fonte de energia calorífica. Ao conhecer os índices de diversidade genética, estes podem auxiliar em tomadas de decisão, principalmente na fase de planejamento de ações de conservação e uso da espécie. Estas considerações estão em concordância com Almeida et al. (2015), para os quais as espécies arbóreas mais conhecidas e mais disponíveis tornam-se alvo de coleta de sementes para estudos, geralmente desconhecendo-se informações genéticas e os seus significados práticos.

3.4.2.1 Número de locos

Os nove locos para ambas as populações de *Mimosa scabrella* deste estudo, correspondeu à quantidade de sistemas isoenzimáticos utilizados (Tabela 4).

3.4.2.2 Número de alelos (total, por loco e efetivos)

Este índice corresponde à quantidade de alelos diferentes em uma população. O total do número de alelos diferentes é denominado “riqueza alélica” (A) da população. Já o número de alelos diferentes por loco é denominado “riqueza média” (\hat{A}), havendo também o número de alelos “efetivos” por loco (\hat{A}_e), estimados em função da existência de alelos raros (frequência $< 0,05$).

Para a população de *Mimosa scabrella* da Fazenda Experimental, o número de alelos por loco (\hat{A}) variou de um a sete, tendo o loco ME apresentado um alelo enquanto o loco PGI apresentou sete alelos. Além destes, verificaram-se quatro alelos nos locos 6PGDH, PGM, SKDH e IDH; três alelos nos locos PRX e β -EST e dois alelos no loco DIA (Tabela 5).

Para a população do Parque Natural, o nº de alelos por loco (\hat{A}) variou de dois a seis, com os locos ME e DIA possuindo dois alelos enquanto o loco PGI teve seis alelos (Tabela 6). Nos demais locos, detectaram-se três alelos nos locos IDH, PRX e β -EST e quatro alelos nos locos 6PGDH, PGM e SKDH (Tabela 5).

Comparando-se as duas populações, os resultados obtidos para o número total de alelos diferentes (A) (“riqueza”) e para o número de alelos por loco (\hat{A}) (“riqueza média”) foram numericamente muito próximos (Tabela 4). Já as médias do número de alelos por loco (\hat{A}), para ambas as populações, não apresentaram diferença significativa entre si, pois houve sobreposição dos IC a 95% de nível de confiança. Igual situação ocorreu para o número de alelos “efetivos” por loco (\hat{A}_e), que não apresentou diferença significativa entre as médias das duas populações (Tabela 4).

Confrontando os índices do parâmetro neste estudo com outros obtidos para a mesma espécie arbórea, como as analisadas por Moreira (2009), verificou-se que o número total de alelos (A) detectados pela autora apresentou média de 21,6 alelos para 13 populações exploradas por manejo tradicional em assentamentos de Calmon, SC / Matos Costa, SC (variação de 20 a 25 alelos) e apresentou 21 alelos para uma população sem intervenção na Estação Experimental da Epagri de Caçador SC. Neste comparativo com as populações analisadas por Moreira (2009), as populações da Fazenda Experimental e do Parque Natural apresentaram maior “riqueza” (A) e maior “riqueza média” (\hat{A}), sugerindo um nível maior de diversidade genética destas em relação às populações analisadas pelo citado autor. Não se descarta a possibilidade de que os históricos de uso destas áreas tenham influenciado nas estimativas destes índices de diversidade genética. Esta inferência está em concordância com Caballero et al. (2010), por considerarem a “riqueza alélica” como um dos critérios para medir a diversidade genética e também por recomendá-la como um parâmetro chave em programas de conservação da biodiversidade, embora sua estimação seja muito dependente do tamanho amostral. A inferência também está em conformidade com Mello (2012) e Spencer, Neigel e Leberg (2000), pois, para estes autores, a “riqueza alélica” é um bom indicador de mudanças demográficas em uma população.

Ainda confrontando com outras populações de *Mimosa scabrella*, como as analisadas por Sobierajski (2004) nos estados de SP, PR e SC, verificou-se que o índice médio destas para o número total de alelos (A) foi 25,7 (variação de 24 a 27 alelos), portanto foi menor que os índices (A) das duas populações de Lages, SC (Tabela 4). Com as estimativas deste parâmetro, deduz-se que ambas as populações do estudo em Lages, SC, apresentam nível de diversidade genética melhor que os das populações estudadas por Sobierajski (2004) em Itararé, SP,

Turvo, PR, Piraí do Sul, PR, Lapa, PR, Honório Serpa, PR, Mandirituba, PR, Ituporanga, SC e Caçador, SC.

A magnitude das estimativas do número de alelos por loco (\hat{A}) da Fazenda Experimental e do Parque Natural foi considerada alta. A dedução está em conformidade com avaliações de Moreira (2009), que considerou como altos os índices de (\hat{A}) (2,63 e 2,37) para bracatingais de Calmon, SC / Matos Costa, SC juntos e de Caçador, SC, respectivamente, cujas estimativas foram menores que as obtidas nas duas populações do presente estudo. A inferência também apoiou-se em considerações de Sobierajski (2004), que avaliou como alto o índice (\hat{A}) (3,860) representando a média das populações de SP, PR e SC mencionadas, cuja estimativa foi semelhante às deste estudo.

Quanto ao número de alelos “efetivos” por loco (\hat{A}_e) da Fazenda Experimental e do Parque Natural, este apresentou estimativas menores do que o parâmetro número de alelos por loco (\hat{A}), o que sugere ser efeito da presença de alelos raros. Esta dedução está em concordância com Sobierajski (2004), que considerou que a presença de alelos raros (frequência < 0,05) no conjunto de genótipos, torna o número de alelos “efetivos” por loco (\hat{A}_e) menor que o número de alelos por loco (\hat{A}).

3.4.2.3 Polimorfismo nos locos ($P\%$)

O polimorfismo expressa numericamente o quanto existe de locos polimórficos no conjunto da amostra. Um loco é considerado polimórfico quando possui mais de um alelo, tendo o alelo mais comum frequência $\leq 0,99$. Pode ser obtido pelo diagnóstico das frequências alélicas e/ou genotípicas dos locos analisados (MELLO, 2012).

A população amostrada da Fazenda Experimental não apresentou a estimativa máxima de polimorfismo, diferentemente do Parque Natural (Tabela 4). O loco de enzima málica (ME) revelou total ausência de heterozigotos, apresentando genótipos homozigotos com o alelo “2” em todas as 50 árvores amostradas (APÊNDICE F). Na população do Parque Natural, o polimorfismo nos locos analisados foi total, demonstrado pela presença de mais de um alelo (de dois a seis alelos) em todos os locos isoenzimáticos do estudo (Tabela 5 e APÊNDICE G).

Confrontando com outras populações de *Mimosa scabrella*, como as analisadas por Moreira (2009) em SC, com 100% dos locos polimórficos, o índice de

polimorfismo (P%) na população da Fazenda Experimental foi menor em 11,1% que estas. Mesmo não sendo a estimativa máxima, considera-se que o percentual de polimorfismo (P%) obtido para a população da Fazenda Experimental (88,88%) foi alto. Já a população do Parque Natural mostrou o percentual máximo de locos polimórficos (P) nas amostras, igual à estimativa (100%) obtida por Moreira (2009). Em relação às populações analisadas por Sobierajski (2004), em localidades de SP, PR e SC, a situação foi idêntica às considerações anteriores para as populações analisadas por Moreira (2009), pois também teve o máximo percentual de polimorfismo.

No entanto, há restrições quanto a melhor aplicação do índice de polimorfismo (P) como medida de diversidade genética. Neste contexto, Brown e Weir (1983) inferiram sobre algumas limitações do índice P, considerando-o muito dependente do tamanho amostral e também do número e dos tipos de enzimas. Para Moura (2005), o índice de polimorfismo (P) é útil para caracterizar a variação intrapopulacional, principalmente quando a análise envolver um grande número de indivíduos e de locos.

3.4.2.4 Número de heterozigotos

Considera-se heterozigoto um indivíduo que tem alelos diferentes nos cromossomos homólogos. Para a população de *Mimosa scabrella* da Fazenda Experimental, a análise isoenzimática das 50 árvores amostradas, em nove locos, apresentou os 189 genótipos heterozigotos (Tabela 4) assim distribuídos pelos locos: 32 heterozigotos no PGI; 29 heterozigotos no 6PGDH; 18 heterozigotos no PGM; 32 heterozigotos no SKDH; 23 heterozigotos no IDH; 20 heterozigotos no PRX; 19 heterozigotos no β -EST e 16 heterozigotos no DIA. O loco ME não revelou heterozigotos (APÊNDICE F). Para a população do Parque Natural, em igual amostragem e análise, contabilizou-se que os 128 genótipos heterozigotos (Tabela 4) apresentaram a seguinte distribuição nos locos isoenzimáticos: 24 heterozigotos no PGI; 20 heterozigotos no 6PGDH; 19 heterozigotos no PGM; 23 heterozigotos no SKDH; 12 heterozigotos no IDH; oito heterozigotos no PRX; dois heterozigotos no ME; 13 heterozigotos no β -EST e sete heterozigotos no DIA (APÊNDICE G).

Ao comparar as duas populações quanto ao nº de heterozigotos, a população amostrada na Fazenda Experimental apresentou 61 genótipos heterozigotos a mais

que a população amostrada do Parque Natural, cuja diferença, (47,6%), sinaliza para a existência de maior variabilidade genética na população da Fazenda Experimental, o que é favorável à mesma.

3.4.2.5 Heterozigosidade observada (H_o)

A heterozigosidade observada (H_o) é um índice que refere-se à proporção de indivíduos heterozigotos encontrada nas amostras da população. Para estimar este índice, o programa estatístico considerou como válidos 442 genótipos na população da Fazenda Experimental, portanto oito genótipos foram considerados “dados perdidos” de quatro locos isoenzimáticos (APÊNDICE F). Para a população do Parque Natural, foram validados pelo programa estatístico um total de 416 genótipos, portanto 34 genótipos foram “dados perdidos” de sete locos isoenzimáticos (APÊNDICE G). Considerou-se como “dado perdido” aquele genótipo que não foi possível interpretar na análise isoenzimática.

No comparativo entre os índices de heterozigosidade observada (H_o) nas duas populações de *Mimosa scabrella* do estudo (Tabela 4), as médias deste parâmetro em ambas as populações não apresentaram diferença significativa entre si, pois houve sobreposição dos IC a 95%. Neste caso, infere-se que não há evidências de que a heterozigosidade observada em alguma das populações apresente vantagem de variabilidade genética sobre a outra.

Ao confrontar as estimativas deste parâmetro com índices outras populações de *Mimosa scabrella* em SC, como as de Calmon, SC / Matos Costa, SC juntas (H_o : 0,256) e de Caçador (H_o : 0,235), analisadas por Moreira (2009), verifica-se que, numericamente, as estimativas da Fazenda Experimental e do Parque Natural foram mais elevadas (Tabela 4). Tal resultado indica que a carga de genótipos heterozigotos é maior do que a de homozigotos, o que possivelmente é favorável às duas populações de Lages, SC. A dedução é corroborada por McManus et al. (2011), que afirmaram que o índice de heterozigosidade observada reflete a proporção de indivíduos heterozigotos obtida nas amostras da população. Por sua vez, ao ter mais heterozigotos, implica que ocorre maior recombinação de genes, um fato essencial para a espécie frente à presença das forças evolutivas.

Os índices de heterozigosidade observada nas populações da Fazenda Experimental e do Parque Natural (Tabela 4) possuem magnitude alta. Esta

inferência está em conformidade com Moreira (2009), que avaliou como altas as estimativas deste parâmetro na média das populações de Calmon, SC / Matos Costa, SC juntas (H_o : 0,256) e na de Caçador, SC (H_o : 0,235), cujos valores foram menores que os obtidos nas populações da Fazenda Experimental e do Parque Natural.

Confrontando com a média deste parâmetro entre diversas populações de *Mimosa scabrella* (H_o : 0,530) analisadas por Sobierajski (2004), verifica-se que as populações da Fazenda Experimental e do Parque Natural tiveram índices menores (H_o : 0,427 e 0,309 respectivamente) do que a média mencionada, embora também sejam de magnitude alta. Deduz-se, neste caso, que ambos os índices deste estudo refletem desvio no Equilíbrio de Hardy-Weinberg (EHW) para excesso de homozigotos, devido as heterozigosidades observadas serem menores do que as heterozigosidades esperadas ($H_o < H_e$) (Tabela 4).

3.4.2.6 Heterozigosidade esperada (H_e)

A heterozigosidade esperada (H_e) é uma medida de variação genética que indica a expectativa da proporção de indivíduos heterozigotos para uma população sob o Equilíbrio de Hardy-Weinberg. Portanto é um índice de previsão de heterozigotos, baseado em frequência alélica de dois alelos mais comuns. Para Moura (2005), o parâmetro tem certa insensibilidade ao tamanho amostral, não é influenciado por migração, seleção, mutação ou tipo de sistema reprodutivo e tem fácil interpretação. Tais condições são vantajosas e, conforme Moraes e Derbyshire (2003), permite seu emprego em qualquer situação. Tal parâmetro é referido por Nei (1978) como “índice de diversidade genética”, dando maior relevância ao mesmo.

Para Nei (1978), a heterozigosidade esperada é prevista com base em frequências conhecidas para a espécie, sob os pressupostos do EHW. O índice H_e foca para a situação das populações em termos de tamanho, conservação, distribuição espacial dos indivíduos, existência ou não de vegetação do entorno e o histórico de uso da área, entre outros. A dedução está em conformidade com Mantovani, Morellato e Reis (2006), ao considerarem que as diferenças de heterozigosidade esperada entre populações de uma mesma espécie arbórea, podem estar associadas à história de cada população ou ao registro de exploração de cada área.

Comparando-se as heterozigosidades esperadas neste estudo (Tabela 4), considera-se que as médias deste parâmetro em ambas as populações não apresentaram diferença significativa entre si, pois houve sobreposição dos IC a 95%. Em relação à magnitude das estimativas do parâmetro H_e , em ambas as populações estes foram considerados altos (Tabela 4). Esta inferência é coerente com a avaliação de Moreira (2009), que avaliou os índices H_e (0,376) e H_e (0,311) como sendo de magnitudes altas, nas média das populações de Calmon, SC / Matos Costa, SC juntas e para a população de Caçador SC, respectivamente, cujos valores são menores do que o da população da Fazenda Experimental (H_e : 0,469) e semelhantes ao do Parque Natural (H_e : 0,362).

Na análise das heterozigosidades observada e esperada, ambas as populações de *Mimosa scabrella* do estudo apresentaram índices de heterozigosidade observada menores do que os índices de heterozigosidade esperada (Tabela 4). O fato dos índices H_e e H_o não serem iguais, sugere haver desvios em relação ao EHW para ambas as populações arbóreas.

Desta forma, no presente estudo com $H_o < H_e$, infere-se que tais desvios refletem o excesso de homozigotos nas duas populações. Na população da Fazenda Experimental, a heterozigosidade observada foi menor em 8,9% do que a da heterozigosidade esperada pelo EHW, enquanto que na população do Parque Natural, a heterozigosidade observada apresentou-se menor em 14,6% do que a heterozigosidade esperada. Em termos práticos, estas diferenças entre os índices H_o e H_e , em ambas as populações, são comumente verificadas para espécies arbóreas, que raramente têm $H_o = H_e$, devido à ação existente das forças evolutivas (mutação, migração, seleção natural e deriva genética) na frequência alélica a cada geração. Esta inferência é corroborada por Hartl e Clark (2010), os quais consideraram que as forças evolutivas podem modificar as frequências dos alelos ao longo do tempo, em modelos mais “realísticos, enquanto que pelo modelo “referencial” do Equilíbrio de Hardy-Weinberg, isso não se pressupõe.

3.4.2.7 Índice de fixação (F)

O índice de fixação (F) (WRIGHT, 1965) é um coeficiente utilizado para estimar a endogamia, baseado na relação entre a heterozigosidade observada (H_o) e a heterozigosidade esperada (H_e), demonstrada por: $1-(H_o / H_e)$ ou $(H_e-H_o) / H_e$.

No comparativo deste parâmetro, para as condições deste estudo, para 50 árvores amostradas em cada população (Tabela 4), em ambas os valores numéricos médios para o índice de fixação foram maiores que zero. Diante disto, sugere-se que, devido ao sinal positivo nos resultados, possa haver excesso de homozigose em ambas as populações, representando algum nível de endogamia.

As médias do índice de fixação (F), em ambas as populações, não apresentaram diferença significativa entre si, por haver sobreposição dos IC a 95%. Ressalta-se porém que, para espécies arbóreas de sistema reprodutivo misto com predominância de cruzamentos, pode-se esperar algum nível de endogamia, pela possibilidade de autofecundações e de cruzamentos entre indivíduos aparentados. Esta inferência é corroborada por Sebbenn et al. (2000), ao concluírem que, em espécies com sistema reprodutivo misto com predominância de cruzamentos, a causa principal de endogamia são os cruzamentos entre indivíduos aparentados, embora com efeitos menos drásticos do que a autofecundação.

Os índices de fixação para *Mimosa scabrella* da Fazenda Experimental e do Parque Natural são considerados de magnitude baixa e mediana, respectivamente (Tabela 4), quando comparados com a avaliação de Moreira (2009), que considerou alto o índice F (0,245) para uma das populações da mesma espécie.

Comparados com outras populações da mesma espécie, os índices F, nas duas populações do estudo, apresentaram-se mais reduzidos do que os obtidos por Moreira (2009) (F: 0,322 e 0,245) em populações de SC já mencionadas. São índices menores mas não menos preocupantes, pois sugerem endogamia e levantam outros questionamentos sobre as dinâmicas reprodutivas nas populações e do futuro destas, referente à conservação genética nos respectivos locais.

Confrontando com a média do índice de fixação das populações de *Mimosa scabrella* avaliadas por Sobierajski (2004) em SP, PR e SC (F: 0,080), os índices F das duas populações do estudo apresentam duas situações diferentes. O índice F na população da Fazenda Experimental (F: 0,088) teve quase o mesmo valor do índice médio para as populações analisadas pela citada autora e o índice F da população do Parque Natural (F: 0,123) foi maior do que o índice médio destas populações de SP, PR e SC. Em todas as populações de *Mimosa scabrella* utilizadas como comparativo, os índices de fixação revelam endogamia, com níveis não muito dissociados, exceto o índice médio para as populações de Calmon, SC /

Matos Costa, SC juntas ($F: 0,322$), analisado por Moreira (2009), que apresentou elevado índice de fixação.

Para a população da espécie no Parque Natural, o índice de fixação obtido sugere a possibilidade de que tal população de *Mimosa scabrella* possa ser originária a partir de sementes armazenadas no solo da clareira formada com a seca de final de ciclo da taquara *Merostachys multiramea*, distribuída na área. Possivelmente gerou-se um banco de plântulas no espaço deixado pelo taquaral seco e, devido a isso, os indivíduos de *Mimosa scabrella*, de forma aglomerada, ficaram “confinados” na vegetação de FOM preservada, ocasionando provavelmente um fluxo gênico mais restrito entre os indivíduos deste adensamento. Já na população da espécie na Fazenda Experimental, há possibilidade de maior fluxo gênico, por estar situada em uma área mais aberta devido a paisagem manejada no entorno, onde os indivíduos da espécie estão distribuídos de forma mais esparsa.

3.4.2.8 Frequência alélica

Trata-se de uma informação que estima a frequência em que um determinado alelo ocorre em uma população. Geralmente é expressa em proporção.

Na tabela 6, observa-se que na população de *Mimosa scabrella* amostrada na Fazenda Experimental, foram revelados alelos nos nove locos isoenzimáticos, da seguinte maneira: i- o loco PGI apresentou sete alelos em 50 amostras válidas e o alelo 3 teve maior frequência; ii- no loco 6PGDH foram quatro alelos em 50 amostras válidas e o alelo 2 teve maior frequência; iii- no loco PGM foram quatro alelos em 49 amostras válidas (uma amostra “perdida”) e o alelo 2 teve maior frequência; iv- no loco SKDH foram quatro alelos em 50 amostras válidas e o alelo 2 teve a maior frequência; v- no loco IDH foram quatro alelos em 49 amostras válidas (uma amostra “perdida”) e o alelo 2 teve a maior frequência; vi- no loco PRX foram três alelos em 48 amostras válidas (duas amostras “perdidas”) e o alelo 2 teve a maior frequência; vii- no loco ME foi um alelo em 50 amostras válidas; viii- no loco β -EST foram três alelos em 50 amostras válidas e o alelo 1 teve a maior frequência, e ix- no loco DIA foram dois alelos em 46 amostras válidas (quatro amostras “perdidas”) e o alelo 2 teve a maior frequência.

Para a população amostrada do Parque Natural, os alelos tiveram a seguinte distribuição por loco: i- o loco PGI apresentou seis alelos em 50 amostras válidas e

o alelo 3 teve maior frequência; ii- no loco 6PGDH foram quatro alelos em 48 amostras válidas (duas amostras “perdidas”) e o alelo 2 teve maior frequência; iii- no loco PGM foram quatro alelos em 46 amostras válidas (quatro amostras “perdidas”) e o alelo 2 teve maior frequência; iv- no loco SKDH foram quatro alelos em 47 amostras válidas (três amostras “perdidas”) e o alelo 2 teve a maior frequência; v- no loco IDH foram três alelos em 45 amostras válidas (cinco amostras “perdidas”) e o alelo 2 teve a maior frequência; vi- no loco PRX foram três alelos em 35 amostras válidas (quinze amostras “perdidas”) e o alelo 2 teve a maior frequência; vii- no loco ME foram dois alelos em 50 amostras válidas; viii- o loco β -EST foram três alelos em 46 amostras válidas (quatro amostras “perdidas”) e o alelo 1 teve a maior frequência, e ix- no loco DIA foram dois alelos em 49 amostras válidas (uma amostra “perdida”) e o alelo 2 teve a maior frequência.

3.4.2.9 Alelos raros e alelos exclusivos

Alelo raro é aquele que apresenta frequência de no máximo 0,05 em um determinado loco. Na análise de frequências alélicas, para as duas populações deste estudo, detectaram-se alelos com frequências abaixo de 0,05, caracterizando os respectivos alelos como raros.

Na população de *Mimosa scabrella*, amostrada na Fazenda Experimental, verificou-se que os alelos “2”, “3”, “4”, “5” e “7” apresentaram-se como alelos raros e distribuíram-se nos locos da seguinte forma (Tabela 6): alelos “2”, “5” e “7” no loco PGI; alelos “3” e “4” no loco PGM; alelo “4” no loco SKDH; alelo “4” no loco IDH e alelo “3” no loco PRX. Esta distribuição mostra que um mesmo alelo pode revelar-se como raro em mais do que um loco, como o alelo “4” que foi raro em três locos (PGM, SKDH e IDH) e o alelo “3”, raro em dois locos (PGM e PRX). Esta situação de ser raro em mais de um loco não se verificou com os alelos raros “2”, “5” e “7”.

Para fins comparativos, em pesquisa restrita às três populações adultas de *Mimosa scabrella* em bracatingais com manejo tradicional, em locais com antropismo por assentamentos rurais (Calmon SC / Matos Costa SC), analisadas por Moreira (2009), verificaram-se três frequências alélicas abaixo de 0,05, que envolveram especificamente dois alelos distribuídos em três locos isoenzimáticos (IDH, PRX e DIA), onde um alelo foi raro em dois locos. Ressalta-se que o autor

analisou também quatro populações jovens e seis senescentes nas mesmas localidades, mas neste comparativo foram priorizadas as populações adultas.

Na população amostrada no Parque Natural, detectou-se que os alelos “1”, “3”, “4” e “7” apresentaram-se como raros e tiveram a seguinte distribuição nos locos (Tabela 6): alelos “4” e “7” no loco PGI; alelo “1” no loco 6PGDH; alelos “3” e “4” no loco PGM; alelo “4” no loco SKDH; alelo “3” no loco IDH; alelo “3” no loco PRX e alelo “3” no loco ME. Tal distribuição revela a presença de um mesmo alelo raro em vários locos, como o alelo “3” em quatro locos (PGM, IDH, PRX e ME) e o alelo “4” em três locos (PGI, PGM e SKDH). Com os alelos raros “1” e “7” não se verificou esta situação de raridade em mais que um loco. Verificou-se também que três alelos foram raros em um mesmo loco nas duas populações: o alelo “3” (raro nos locos PGM e PRX), o alelo “4” (raro nos locos PGM e SKDH) e o alelo “7” (raro no loco PGI). Dos nove locos isoenzimáticos analisados, dois não apresentaram alelos raros (β -EST e DIA). Comparativamente, Moreira (2009), em população natural adulta de *Mimosa scabrella* não manejada em área da Epagri (Caçador, SC), verificou duas frequências alélicas abaixo de 0,05, que envolveram especificamente dois alelos distribuídos em dois locos isoenzimáticos (IDH e PGM).

Diante da análise, resume-se que os alelos raros de ambas as populações de Lages SC em estudo, apresentaram-se em situação semelhante. Para a Fazenda Experimental, verificaram-se oito frequências alélicas abaixo de 0,05 envolvendo cinco alelos diferentes e cinco locos, detalhados anteriormente. Para o Parque Natural foram nove frequências estimadas abaixo de 0,05 que envolveram quatro alelos diferentes e sete locos, já detalhados. Determinados alelos revelaram-se como raros em mais de um loco, assim como determinados alelos foram raros no mesmo loco nas duas populações.

É possível que a existência de alelos raros nestas populações indique a ação de forças evolutivas ao longo do tempo sobre o fluxo gênico, de modo a alterar as frequências de determinados alelos a ponto de torná-los raros. Esta inferência segue a mesma linha de raciocínio de Moreira (2009) em estudos com *Mimosa scabrella*, quando considerou que a presença de alelos raros pode ser um indicador da ocorrência de deriva genética durante o estímulo do banco de sementes no solo ou de migração durante o fluxo gênico, via polinização.

Considera-se importante criar uma sequência anual de estudo das frequências alélicas das duas populações, para fornecerem mais subsídios à novas inferências sobre estas alterações em frequências alélicas ao longo do tempo.

Já o alelo exclusivo (ou privativo) é o alelo de um loco que está restrito somente a uma das populações analisadas. Quando a frequência é “zero” para um determinado alelo em um loco de uma população, comprova-se que tal alelo não está presente neste loco e que está restrito ao referido loco da outra população, de forma exclusiva. Neste estudo detectaram-se três alelos exclusivos, em três locos, que podem ser observados pelas frequências alélicas das populações (Tabela 6).

Na população amostrada da Fazenda Experimental, foram revelados dois alelos exclusivos: o alelo “2” no loco PGI e o alelo “4” no loco IDH. Na população do Parque Natural, detectou-se somente o alelo “3” como exclusivo no loco ME. De acordo com Sobierajski (2004), acredita-se que genótipos portadores de alelos exclusivos são de importância singular, pois atuam na manutenção dos níveis de heterozigidade ao serem disseminados pelo fluxo gênico, a outras subpopulações.

Para fins complementares e de caráter ilustrativo, compilaram-se médias de parâmetros de diversidade genética de diversas espécies florestais que ocorrem no Brasil (Tabela 7). Com o mesmo objetivo, igualmente foram estimados parâmetros de diversidade genética de um grupo de 322 espécies arbóreas estudadas por Hamrick, Godt e Sherman-Broyles (1992) e os resultados separados por categorias, com base em afinidades diversas, como botânicas, geográficas, biológicas e ecológicas (Tabela 8).

Tabela 7 - Nº de locos, polimorfismo nos locos, nº de alelos por loco e heterozigidade esperada para algumas espécies florestais

| Espécie | NL | P% | Â | He |
|---|----|------|------|-------|
| 1- <i>Ocotea porosa</i> (Nees) Barroso | 14 | 75 | 2,60 | 0,274 |
| 2- <i>Xylopia emarginata</i> Mart | 11 | 100 | 1,72 | 0,410 |
| 3- <i>Caryocar brasiliense</i> Camb. | 10 | 100 | 2,80 | 0,499 |
| 4- <i>Cariniana legalis</i> [(Mart.) O. Ktze] | 14 | 100 | 2,87 | 0,355 |
| 5- <i>Euterpe edulis</i> Mart. | 7 | 87,5 | 2,98 | 0,466 |
| 6- <i>Cedrela fissilis</i> Vell. | 8 | 76,9 | 2,31 | 0,243 |
| 7- <i>Bauhinia forficata</i> Link. | 4 | 100 | 3,75 | 0,451 |

Nomes comuns: 1-imbuia; 2-pindaíba d' água; 3-pequizeiro; 4-jequitibá rosa; 5-palmito; 6-cedro; 7-pata de vaca. Autores: 1- Bittencourt (2007); 2- Jaeger (2004); 3-Melo Júnior et al. (2004); 4-Sebbenn (2000); 5- Reis (1996); 6- Gandara (1996); 7- Santos (1994).

Fonte: Elaborada pelo autor, 2018.

Tabela 8 - Médias das estimativas de locos polimórficos, nº de alelos por loco, nº de alelos “efetivos” por loco e heterozigosidade esperada de 322 espécies arbóreas, separadas por afinidades

| Categoria | P% | Â | Â_e | He |
|---|-----------|----------|----------------------|-----------|
| Gimnosperma | 71,1 | 2,38 | 1,22 | 0,169 |
| Angiosperma | 59,5 | 2,10 | 1,26 | 0,183 |
| Faixa Temperada | 63,5 | 2,27 | 1,22 | 0,166 |
| Faixa Temperada – Tropical | 62,2 | 1,89 | 1,21 | 0,169 |
| Faixa Tropical | 57,9 | 1,87 | 1,28 | 0,191 |
| Sistema reprodutivo autógamo | 11,0 | 1,15 | 1,03 | 0,025 |
| Sistema reprodutivo misto (polinização por insetos) | 29,9 | 1,51 | 1,12 | 0,075 |
| Sistema reprodutivo alógamo (polinização por insetos) | 63,2 | 2,18 | 1,30 | 0,211 |
| Dispersão de sementes por gravidade | 61,9 | 2,48 | 1,26 | 0,144 |
| Dispersão de sementes por gravidade (mecanismo explosivo) | 40,5 | 1,61 | 1,18 | 0,133 |
| Dispersão de sementes por animal (via corpo) | 62,7 | 2,16 | 1,28 | 0,204 |
| Dispersão de sementes por animal (por ingestão) | 67,8 | 2,07 | 1,34 | 0,231 |
| Dispersão de sementes pelo vento | 66,2 | 2,24 | 1,21 | 0,160 |
| Pioneira | 44,6 | 1,67 | 1,17 | 0,137 |
| Secundária | 65,6 | 2,18 | 1,23 | 0,171 |
| Clímax | 66,0 | 2,27 | 1,25 | 0,182 |

Fonte: Adaptada de Hamrick, Godt e Sherman-Broyles (1992).

Os dados exemplificados como informações complementares, visam colaborar no entendimento de que a diversidade genética nas espécies arbóreas pode apresentar alterações em seus índices, não só pelas características biológicas de cada espécie, mas também por outros aspectos, incluindo as características dos ambientes onde estão inseridas.

3.5 CONCLUSÕES

Pela caracterização da diversidade genética de *Mimosa scabrella* nas populações da Fazenda Experimental e do Parque Natural, em Lages SC, permite-se concluir que:

a) nas condições deste estudo, as duas populações de *Mimosa scabrella* não apresentaram diferenças significativas entre as estimativas médias dos parâmetros de diversidade genética, como em número de alelos por loco; número efetivo de

alelos por loco; heterozigosidade observada; heterozigosidade esperada e índice de fixação, comparados por Intervalos de Confiança;

b) não há evidências de que as paisagens dos dois locais influenciaram diferentemente na diversidade genética de *Mimosa scabrella*, mesmo ambos tendo diferentes históricos de perturbação da vegetação.

4 CAPÍTULO III - AUTOFECUNDAÇÃO E POLINIZAÇÃO ABERTA EM *Mimosa scabrella* Benth. E SUA INFLUÊNCIA NA GERAÇÃO DE FRUTOS, SEMENTES E GERMINAÇÃO

4.1 RESUMO

Espécies hermafroditas possuem a capacidade de produzir frutos e sementes por autofecundação e por polinização aberta em função de sua estrutura floral reprodutiva. Os objetivos deste estudo foram estimar a quantidade de flores por inflorescência, avaliar a produção de frutos e sementes por autofecundação e por polinização aberta e também avaliar a germinação das sementes obtidas por autofecundação e por polinização aberta. O local do estudo foi a Fazenda Experimental do CAV, em Lages SC, em árvores de *Mimosa scabrella* em população. A contagem de flores das 100 inflorescências para estimar o número médio por inflorescência foi em laboratório. A semeadura e a avaliação da germinação das sementes obtidas de autofecundação e polinização aberta foi no viveiro florestal do CAV. Os resultados indicaram um número médio de 53,4 flores por inflorescência. Também indicaram que a autofecundação ocorre em reduzidas proporções, produzindo quantidade inferior de frutos e sementes, quando comparadas com a polinização aberta. A taxa de germinação de sementes por autofecundação foi de 72,09% e para sementes oriundas de polinização aberta foi de 80,24%. Concluiu-se que o número médio de flores por inflorescência está dentro da normalidade para espécie; que a espécie não possui autoincompatibilidade, embora produza reduzida quantidade de frutos exclusivamente por autofecundação e maior quantidade de frutos por polinização aberta; que parte dos frutos gerados por autofecundação não desenvolvem suas sementes e que não há evidências de que haja diferença significativa entre os percentuais médios de germinação das sementes oriundas de autofecundação e de polinização aberta.

Palavras chave: Hermafrodita. Autopolinização. Cruzamentos. Germinação.

4.2 INTRODUÇÃO

Uma fase de extrema importância para espécies arbóreas é seu período reprodutivo, pelo que representa à sobrevivência da mesma (LENZI; ORTH, 2004). A Biologia Floral é a ciência que estuda as manifestações das flores em seu período de existência, a qual pode juntar-se com a Ecologia da Polinização e abranger a interação entre as flores e seus polinizadores (ZEN; ACRA, 2005). É de fundamental importância o conhecimento das características morfológicas das estruturas florais e os elementos biológicos associados, envolvidos no período reprodutivo, pois os estudos nesta área buscam a melhor compreensão das estratégias de sobrevivência de espécies vegetais.

A espécie *Mimosa scabrella* (Fabaceae) é popularmente conhecida como bracatinga, embora receba outros nomes regionalizados. Sua maior ocorrência é nos estados do Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul, principalmente em regiões de planaltos, mas ocorre também, de maneira mais pontual, em localidades de altitude elevada em áreas serranas dos estados do Rio de Janeiro, São Paulo e Minas Gerais (CARPANEZZI et al., 1988).

Mimosa scabrella possui flores minúsculas, com comprimento em torno de dois milímetros, agrupadas em inflorescência pedunculada denominada capítulo. As inflorescências ocorrem geralmente em trios nos nós terminais ou axilares, possuem forma globosa, diâmetro entre seis a sete milímetros, onde estão inseridas flores hermafroditas e masculinas em grande quantidade. Tanto nas flores masculinas como nas hermafroditas, existe glândula nectarífera localizada internamente à corola e ao tubo estaminífero, o que as tornam muito atrativas aos insetos polinizadores. Quanto ao nº de flores por capítulo, há divergências, com base nos trabalhos de biologia floral da espécie (ROTTA; IEDE; KUNIYOSHI, 1983; CARPANEZZI et al., 1988; ROTTA; MENDES, 1990 e HARTE-MARQUES; ENGELS, 2003). Cada flor é tetrâmera, actinomorfa e gamopétala (CATIE, 1991), tem cálice glabro, corola com 4-5 meras, tem 4 estames (4-6 mm comprimento), com filetes alternando-se com estaminódios e anteras elípticas ou globosas.

A espécie começa a florescer a partir dos três anos, embora haja relatos de início mais precoce, a partir de oito meses, especialmente em plantas com altura superior a 2,5 m. Relatos apontam para a formação das primeiras flores entre 18 e

24 meses, em plantios na Costa Rica (CARPANEZZI et al., 1988). Nos estados da região Sul do Brasil, as épocas de formação de botões e floração são semelhantes. No PR e SC, o surgimento dos botões florais normalmente acontece em março e floresce de junho a setembro, enquanto no RS floresce de julho a outubro e no estado de SP o florescimento é em julho (BACKES; NARDINO, 1998). A duração de cada flor, após a antese, é de cinco dias (HARTER-MARQUES; ENGELS, 2003) ou seis dias (CARPANEZZI et al., 1988), seguido pela senescência floral.

O grão de pólen de *Mimosa scabrella* é classificado como tétrade tetraédrica, muito pequena e hialina, descrita como suboblata, radiossimétrica, levemente heteropolar e sem poros evidentes. O diâmetro da tétrade tem 13 µm, o eixo polar tem seis µm e o eixo equatorial oito µm (LEONHARDT; LORSCHETTER, 2008).

A atratividade sobre os polinizadores é intensa e sua flor não possui morfologia específica para algum polinizador especializado. Os principais polinizadores da espécie são abelhas sem ferrão dos gêneros *Trigona*, *Melipona* e *Plebeia*, além de híbridos africanizados de *Apis mellifera* (CATHARINO; CRESTANA; KAGEYAMA, 1982; HARTE-MARQUES; ENGELS, 2003).

Os objetivos deste estudo foram: estimar a quantidade média de flores por inflorescência; analisar a produção potencial (teórica) e a efetiva de frutos e sementes de *Mimosa scabrella* por autofecundação e por polinização aberta e avaliar a porcentagem de germinação das sementes oriundas de autofecundação e de polinização aberta.

4.3 MATERIAL E MÉTODOS

4.3.1 Experimento I – Número de flores por inflorescência em *Mimosa scabrella* Benth.

Para este experimento, coletaram-se 100 inflorescências fechadas, em cinco árvores matrizes na Fazenda Experimental do CAV (MSC 28, 27, 30, 26 e 24), em agosto/2017, cujas características do local foram descritas nos capítulos anteriores.

As amostras foram identificadas na coleta e posteriormente, em laboratório, retiraram-se os botões florais de cada inflorescência, para a contagem (Figura 15).

Figura 15 - Contagem dos botões florais em uma inflorescência



Fonte: Elaborada pelo autor, 2017

4.3.2 Experimento II – Produção de frutos e sementes de *Mimosa scabrella* gerados por autofecundação e por polinização aberta

O experimento foi instalado em agosto/2017, em cinco árvores matrizes da Fazenda Experimental. Para fins deste experimento, as mesmas foram denominadas de árvores 1, 2, 3, 4 e 5.

Os critérios de escolha destas árvores envolveram a disponibilidade de inflorescências, a arquitetura da copa e a facilidade de acesso às mesmas, para favorecer o ensacamento de, no mínimo, 50 inflorescências com flores fechadas (para avaliar a autofecundação) e da marcação de, no mínimo, outras 50 inflorescências igualmente com flores fechadas (para avaliar a polinização aberta).

Para o ensacamento de cada ramo com as inflorescências, utilizou-se um material conhecido como “tecido não tecido” (“TNT”), semelhante a um tecido poroso, com fibras vegetais aglomeradas, não orientadas e fixadas, o qual revestiu uma armação de arame liso resistente, fixada nos ramos em forma de espiral (Figura 16). No momento do ensacamento dos ramos, o conjunto de inflorescências protegido apresentava-se imaturo, sem nenhuma flor aberta, para se ter certeza de que os frutos ali gerados seriam exclusivamente por autofecundação.

Figura 16 - Ensacamento de inflorescências para avaliar autofecundação



Fonte: Elaborada pelo autor, 2017

Após o ensacamento, fez-se a anotação do número de inflorescências protegidas e a vedação final do TNT, sem deixar frestas (Figura 17).

Figura 17 - A - Inflorescências ensacadas; B - Inflorescências somente marcadas



Fonte: Elaborada pelo autor, 2017

Da mesma forma, identificaram-se as inflorescências para a polinização aberta (não ensacadas) (Figura 17). Ao final, em cada árvore foram ensacados cinco ramos com inflorescências antes da antese das flores. Em outros cinco ramos, as inflorescências fechadas não foram ensacadas e somente foram marcadas.

Acompanhou-se a floração até o final da estação reprodutiva, quando não havia mais flores receptivas. Em meados de outubro/2017 retiraram-se os sacos de TNT, pois não havia mais flores e sim alguns frutos em formação.

A partir de dezembro/2017 foi monitorada a maturação dos frutos, sendo que a coleta destes no experimento foi realizada entre a última semana de dezembro/2017 e a segunda semana de janeiro/2018, quando maduros. Ressalta-se que o amadurecimento não ocorreu ao mesmo tempo, sendo mais tardio nas árvores 4 e 5 em duas semanas.

Antes da extração das sementes, fez-se a contagem dos frutos obtidos por autofecundação e por polinização aberta. No momento da coleta, os frutos ainda estavam fechados e foram separados por ramo em cada árvore, sem risco de misturá-los para a contagem. Posteriormente, extraíram-se as sementes, registrando as respectivas quantidades por árvore.

4.3.3 Experimento III – Porcentagem de germinação das sementes oriundas de autofecundação e de polinização aberta

O experimento foi realizado no viveiro florestal do CAV/UDESC, em Lages, SC, com a semeadura de parte das sementes obtidas no Experimento II (172 por autofecundação e 329 por polinização aberta). Utilizaram-se os mesmos insumos e materiais para a produção de mudas de *Mimosa scabrella*, descritos no capítulo I. Os tratamentos de desinfestação fitossanitária e para superação da dormência tegumentar foram idênticos aos realizados com as sementes de *Mimosa scabrella* nos dois anos consecutivos, descritos no capítulo I.

A semeadura foi realizada em 26/02/2018 e a irrigação continuou com duas aspersões pela manhã e três no período da tarde, durante 10 minutos cada vez. Cinco dias após a semeadura, as primeiras plântulas emergiram e tal período foi semelhante ao observado nas semeaduras realizadas anteriormente (capítulo I), nas mesmas condições de local, insumos, irrigação e época do ano.

A avaliação da porcentagem de germinação foi realizada no início de abril/2018 (36 dias após semeadura) e os percentuais médios de germinação foram comparados pelos Intervalos de Confiança com 95% de nível de confiança, onde a sobreposição destes indica que não há diferença significativa entre os dados. Após a avaliação, as plântulas continuaram sob manejo no viveiro (Figuras 18 e 19), para provável utilização em outros experimentos de genética de população.

4.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.4.1 Resultados

Referente ao experimento I, os resultados obtidos para o número de flores / inflorescência; número de flores / árvore; variação do número de flores / árvore e a média geral do número de flores / inflorescência, considerando 100 inflorescências coletadas em cinco árvores de *Mimosa scabrella*, foram organizados na Tabela 9.

Tabela 9 - Médias do nº de flores por inflorescência, por árvore e geral, com as variações por árvore

| Árvore matriz | Nº inflorescências coletadas | Nº de flores por inflorescência (média) | Nº máximo e mínimo de flores por inflorescência |
|--------------------|------------------------------|---|---|
| MSC28 | 20 | 54,1 | 59-49 |
| MSC27 | 20 | 53,5 | 60-48 |
| MSC30 | 20 | 52,9 | 58-45 |
| MSC26 | 20 | 53,4 | 59-47 |
| MSC24 | 20 | 53,1 | 57-46 |
| Média geral | | 53,4 | |

Fonte: Elaborada pelo autor, 2018.

Referente ao experimento II, os resultados com a produção de frutos e sementes gerados exclusivamente por autofecundação, foram compilados em duas tabelas (Tabelas 10 e 11). A Tabela 10 contém os dados referentes ao número de inflorescências ensacadas, número de frutos e número de sementes, por ramo, em cada árvore de *Mimosa scabrella* amostrada. A Tabela 11 contém as estimativas do potencial teórico e do número de frutos efetivamente gerados e de sementes extraídas destes frutos, nas cinco árvores amostradas desta espécie.

Tabela 10 – A.F.: N° de inflorescências (*In*) ensacadas, n° de frutos (*Fr*) e n° de sementes (*Se*), obtidos em cinco árvores de *M. scabrella*

| Ramo Ensacado | Elemento | Árvore 1 | Árvore 2 | Árvore 3 | Árvore 4 | Árvore 5 | Média Geral |
|---------------------------|-----------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|-------------|
| Ramo 1 | <i>In</i> | 51 | 53 | 53 | 53 | 53 | |
| | <i>Fr</i> | 6 | 0 | 5 (mf) | 2 (mf) | 12 | |
| | <i>Se</i> | 12 | 0 | 0 | 0 | 24 | |
| Ramo 2 | <i>In</i> | 52 | 53 | 54 | 51 | 53 | |
| | <i>Fr</i> | 3 | 0 | 0 | 10 | 2 (mf) | |
| | <i>Se</i> | 6 | 0 | 0 | 22 | 1 | |
| Ramo 3 | <i>In</i> | 53 | 53 | 54 | 52 | 54 | |
| | <i>Fr</i> | 3 | 4 (mf) | 2 (mf) | 17 | 29 | |
| | <i>Se</i> | 7 | 0 | 0 | 15 | 40 | |
| Ramo 4 | <i>In</i> | 51 | 51 | 53 | 54 | 52 | |
| | <i>Fr</i> | 2 (mf) | 0 | 1 (mf) | 3 (mf) | 7 | |
| | <i>Se</i> | 1 | 0 | 0 | 2 | 17 | |
| Ramo 5 | <i>In</i> | 51 | 50 | 52 | 53 | 56 | |
| | <i>Fr</i> | 6 | 1 (mf) | 0 | 16 | 3 | |
| | <i>Se</i> | 3 | 0 | 0 | 14 | 8 | |
| Total (média/árv.) | <i>In</i> | 258 (51,6) | 260 (52,0) | 266 (53,2) | 263 (52,6) | 268 (53,6) | (52,6) |
| Total (média/árv.) | <i>Fr</i> | 20 (4) | 5 (1) | 8 (1,6) | 48 (9,6) | 53 (10,6) | (26,8) |
| Total (média/árv.) | <i>Se</i> | 29 (5,8) | 0 (0) | 0 (0) | 53 (10,6) | 90 (18) | (34,4) |

A.F: Autofecundação; *In*: Inflorescências ensacadas; *Fr*: Frutos obtidos; *Se*: Sementes obtidas; mf: fruto mal formado

Fonte: Elaborada pelo autor, 2018.

Tabela 11- A.F.: Estimativas do potencial e do efetivo n° de frutos obtidos e de sementes extraídas em cinco árvores de *M. scabrella*

| Árv. | N° Ramos ensac. | N° Infloresc ensac. | ¹ potencial N° Flores M + Herm. | ² potencial N° Frutos | N° Frutos obtidos | % Frutos obtidos | N° Sementes extraídas | N° Semente/ fruto |
|--------------|-----------------|---------------------|--|----------------------------------|-------------------|------------------|-----------------------|-------------------|
| 1 | 5 | 258 | 13777 | 7770 | 20 | 0,26 | 29 | 1,45 |
| 2 | 5 | 260 | 13884 | 7830 | 5 | 0,06 | 0 | 0 |
| 3 | 5 | 266 | 14204 | 8011 | 8 | 0,10 | 0 | 0 |
| 4 | 5 | 263 | 14044 | 7921 | 48 | 0,61 | 53 | 1,10 |
| 5 | 5 | 268 | 14311 | 8071 | 53 | 0,66 | 90 | 1,70 |
| Total | 25 | 1315 | 70221 | 39604 | 134 | | 172 | |

A.F: Autofecundação; Ensac.:ensacados(as); M:masculinas; Herm:hermafroditas;¹Potencial de 53,4 flores / inflorescência; ²Potencial de 56,4% de flores hermafroditas / inflorescência (ROTTA; MENDES, 1990).

Fonte: Elaborada pelo autor, 2018.

No mesmo experimento II, os resultados referentes à polinização aberta, também foram organizados em duas tabelas (Tabelas 12 e 13). A Tabela 12 contém os dados referentes ao número de inflorescências somente marcadas (não ensacadas), número de frutos e de sementes obtidos, por ramo e por árvore amostrada.

Tabela 12 – P.A.: N° de inflorescências (*In*) somente marcadas, n° de frutos (*Fr*) e n° de sementes (*Se*) obtidos em *M. scabrella*

| Ramo | Elemento | Árvore 1 | Árvore 2 | Árvore 3 | Árvore 4 | Árvore 5 | Média geral |
|----------------------|-----------|---------------|---------------|---------------|----------------|---------------|-------------|
| Ramo 1 | <i>In</i> | 52 | 55 | 50 | 55 | 55 | |
| | <i>Fr</i> | 94 | 48 | 25 | 68 | 71 | |
| | <i>Se</i> | 22 | 8 | 4 | 99 | 101 | |
| Ramo 2 | <i>In</i> | 51 | 54 | 50 | 50 | 50 | |
| | <i>Fr</i> | 114 | 9 | 20 | 83 | 42 | |
| | <i>Se</i> | 23 | 1 | 3 | 139 | 95 | |
| Ramo 3 | <i>In</i> | 50 | 55 | 52 | 50 | 53 | |
| | <i>Fr</i> | 59 | 19 | 19 | 64 | 69 | |
| | <i>Se</i> | 18 | 1 | 2 | 85 | 86 | |
| Ramo 4 | <i>In</i> | 50 | 54 | 54 | 50 | 52 | |
| | <i>Fr</i> | 132 | 22 | 11 | 74 | 81 | |
| | <i>Se</i> | 35 | 3 | 2 | 111 | 136 | |
| Ramo 5 | <i>In</i> | 50 | 54 | 50 | 52 | 52 | |
| | <i>Fr</i> | 65 | 23 | 20 | 63 | 74 | |
| | <i>Se</i> | 56 | 3 | 2 | 128 | 102 | |
| Total (média) | <i>In</i> | 253 (50,6) | 272 (54,4) | 256 (51,2) | 257 (51,4) | 262 (52,4) | (52,0) |
| Total (média) | <i>Fr</i> | 464 (92,8) | 116 (23,2) | 95 (19) | 352 (70,4) | 337 (67,4) | (54,5) |
| Total (média) | <i>Se</i> | 154 (30,8) | 16 (3,2) | 13 (2,6) | 562 (112,4) | 520 (104) | (50,6) |

P.A: Polinização aberta; *In*: Inflorescências marcadas; *Fr*: Frutos obtidos; *Se*: Sementes obtidas
 Fonte: Elaborada pelo autor, 2018.

A Tabela 13 contém as estimativas do potencial teórico e do efetivo número de frutos gerados por polinização aberta e de sementes extraídas destes, em cinco árvores de *Mimosa scabrella*.

Tabela 13 – P.A.: Estimativas do potencial e do efetivo nº de frutos e sementes obtidos em cinco árvores de *M. scabrella*

| Árv. | Nº Ramos | Nº Infloresc. marcadas | 1potencial Nº Flores M + Herm. | 2potencial Nº Frutos | Nº Frutos obtidos | % Frutos obtidos | Nº Sementes extraídas | Nº Semente/ fruto |
|--------------|-----------|------------------------|--------------------------------|----------------------|-------------------|------------------|-----------------------|-------------------|
| 1 | 5 | 253 | 13510 | 7619 | 464 | 6,09 | 154 | 0,33 |
| 2 | 5 | 272 | 14525 | 8192 | 116 | 1,42 | 16 | 0,14 |
| 3 | 5 | 256 | 13670 | 7710 | 95 | 1,23 | 13 | 0,14 |
| 4 | 5 | 257 | 13724 | 7740 | 352 | 4,55 | 562 | 1,59 |
| 5 | 5 | 262 | 13991 | 7891 | 337 | 4,27 | 520 | 1,54 |
| Total | 25 | 1300 | 69420 | 39152 | 1364 | | 1265 | |

P.A: Polinização aberta; Árv: Árvore; M: masculinas; Herm: hermafroditas; ¹Potencial baseado em 53,4 flores / inflorescência; ²Potencial baseado em 56,4% de flores hermafroditas / inflorescência (ROTTA; MENDES, 1990).

Fonte: Elaborada pelo autor, 2018.

Referente ao experimento III, os resultados foram agrupados na Tabela 14, contendo os dados de semeadura e percentual de germinação das sementes de *Mimosa scabrella*, oriundas de autofecundação e de polinização aberta.

Tabela 14 - Taxa de germinação das sementes de *M. scabrella*, obtidas por autofecundação e por polinização aberta

| Árv. | Sementes | | | | Sementes | | | |
|--------------|----------------------------|------------|---------------------------|----------------|--------------------------------|------------|---------------------------|----------------|
| | Oriundas de autofecundação | | | | Oriundas de polinização aberta | | | |
| | Semeada | Germ. | % Germ. | IC | Semeada | Germ. | % Germ. | IC |
| 1 | 29 | 24 | 79,31 | | 100 | 78 | 78,00 | |
| 2 | - | - | - | | 16 | 6 | 37,50 | |
| 3 | - | - | - | | 13 | 3 | 23,08 | |
| 4 | 53 | 43 | 77,36 | | 100 | 93 | 93,00 | |
| 5 | 90 | 57 | 61,11 | | 100 | 84 | 84,00 | |
| Total | 172 | 124 | - | | 329 | 264 | - | |
| Média | | | 72,09^{ns} | 65,39 78,80 | | | 80,24^{ns} | 75,94 84,55 |

Árv: árvore; Germ: germinada; IC: limite inferior e superior do Intervalo de Confiança com 95% de nível de confiança; ns: diferença não significativa entre médias na mesma linha.

Fonte: Elaborada pelo autor, 2018.

4.4.2 Discussão

4.4.2.1 Experimento I

Comparando as cinco árvores entre si, as médias do número de flores / inflorescência são próximas, onde a menor foi 52,9 flores / inflorescência na árvore MSC30 e a maior foi 54,1 flores / inflorescência na árvore MSC28. Em cada conjunto amostral de 20 inflorescências por árvore, houve variação entre os números máximo e mínimo de flores / inflorescência, com amplitude média de 11,6 flores (Tabela 9).

Embora raros os estudos de biologia floral de *Mimosa scabrella*, foi possível comparar com resultados de Rotta, Iede e Kuniyoshi (1983), que obtiveram média de 58,5 flores / inflorescência nesta espécie, sendo tal resultado maior do que a média de 53,4 flores / inflorescência do presente estudo. Para os mesmos autores, o maior e o menor número de flores / inflorescência foram 75 e 30 flores respectivamente, indicando variação com amplitude de 45 flores. Referente ao presente estudo, a maior variação entre as quantidades máxima e mínima de flores / inflorescência foi de 13 flores (58-45) na árvore MSC30 (Tabela 9). O número de flores em cada uma das 20 inflorescências das árvores matrizes MSC 28, 27, 30, 26 e 24 está disponibilizado no Apêndice H. Para a mesma espécie em Colombro, PR, Rotta e Mendes (1990) consideraram a média de 52 flores / inflorescência, cujo valor é próximo da média de 53,4 flores / inflorescência obtida neste experimento I.

Com os resultados de 58,5 flores / inflorescência (ROTTA, IEDE; KUNIYOSHI, 1983), 52 flores / inflorescência (ROTTA; MENDES, 1990), 55 flores / inflorescência (HARTER-MARQUES; ENGELS, 2003) e 53,4 flores / inflorescência do presente estudo, infere-se que são valores próximos e oscilam, em geral, entre 50 a 60 flores. Entre as 100 inflorescências deste experimento I, as quantidades foram semelhantes entre si e variaram entre 45 e 60 flores / inflorescência (Tabela 9 e APÊNDICE H).

4.4.2.2 Experimento II

Para avaliar exclusivamente a autofecundação, o número de inflorescências (I) ensacadas variou de 50 a 56 nos 25 ramos ensacados, cuja média foi 52,6 inflorescências / ramo (Tabela 10).

O número de frutos (F) obtidos das inflorescências ensacadas / árvore foi extremamente reduzido em relação ao potencial teórico, estimado pelo nº de flores de cada inflorescência. O total de frutos (F) de autofecundação foi 134, gerados nas árvores 1, 2, 3, 4 e 5 nas respectivas quantidades de 20, 5, 8, 48 e 53 frutos. A média de frutos (F) de autofecundação / árvore foi 26,8 (Tabela 10).

O número de sementes (Se) obtidas de autofecundação / árvore também foi bem reduzido, devido aos poucos frutos obtidos. Do total de sementes (Se) extraídas (172), as árvores 1, 4 e 5 produziram respectivamente as quantidades de 29, 53 e 90 sementes. Nas árvores 2 e 3 não houve sementes extraídas, pela não produção de frutos ou pelo não desenvolvimento completo da semente em frutos mal formados. Situação semelhante foi observada por Harter-Marques e Engels (2003), em frutos de *Mimosa scabrella* obtidos por autofecundação manual, onde houve sementes que não se desenvolveram. A média de sementes (Se) de autofecundação / árvore foi 34,4 (Tabela 10).

Os resultados deste experimento de produção de frutos e sementes por autofecundação e as estimativas do potencial de produção foram reunidos na Tabela 11. Para estimar o potencial teórico de produção de frutos, considera-se somente o percentual de flores hermafroditas / inflorescência, por destas flores possuírem a estrutura reprodutiva feminina para gerar frutos. Considerou-se, em média, que 56,4% das flores são hermafroditas em cada inflorescência de *Mimosa scabrella* (ROTTA; MENDES, 1990) e que existem, em média, 53,4 flores / inflorescência.

Pela Tabela 11, observa-se que o número de inflorescências ensacadas (1315), multiplicado pelo número médio de flores / inflorescência do experimento (53,4), estima o potencial teórico total de flores (masculinas e hermafroditas) das inflorescências (70221). Este, por sua vez, quando multiplicado por 0,564 (ROTTA; MENDES, 1990), resulta no número teórico possível de frutos, pois considera somente as flores hermafroditas. Desta forma, o potencial estimado é de 39604 frutos possíveis, supondo que todas as flores hermafroditas sejam fecundadas.

A produção efetiva de frutos foi de 134, dos quais foram extraídas 172 sementes, morfológicamente normais. Comparando-se a produção efetiva de frutos (134) com o potencial de produção destes (39604), resulta em 0,34% de frutos efetivamente obtidos.

Para avaliar a polinização aberta, o número de inflorescências (*I*) somente marcadas, desenvolvidas ao natural (não ensacadas), variou de 50 a 55 nos ramos ensacados. A média foi 52,0 inflorescências / ramo (Tabela 12), praticamente igual à média obtida por autofecundação (52,6).

O número de frutos (*F*) obtidos das inflorescências somente marcadas / árvore foi superior ao número de frutos por autofecundação. O total de frutos (*F*) de polinização aberta foi 1364, coletados nas árvores 1, 2, 3, 4 e 5 nas respectivas quantidades de 464, 116, 95, 352 e 337 frutos. Este total de frutos correspondeu a cerca de 10 vezes mais do que o total de frutos obtidos por autofecundação (134). A média de frutos (*F*) gerados de polinização aberta / árvore foi 272,8 (Tabela 12).

O número de sementes (*Se*) obtidas de polinização aberta / árvore também foi superior ao número obtido por autofecundação. O total de sementes extraídas dos frutos por polinização aberta foi 1265, produzido nas árvores 1, 2, 3, 4 e 5, nas respectivas quantidades de 154, 16, 13, 562 e 520, cuja média foi 253 sementes / árvore (Tabela 12). Este total de sementes corresponde a 7,3 vezes mais do que o total de sementes por autofecundação (172).

Pela Tabela 13, observa-se que o número de inflorescências marcadas (1300) quando multiplicado pelo número médio de flores / inflorescência obtido no estudo (53,4), estima o potencial total de flores das inflorescências, com as masculinas e hermafroditas juntas (69420). Este total, por sua vez, ao ser multiplicado por 0,564 (ROTTA; MENDES, 1990), para considerar somente as flores hermafroditas, resulta na estimativa potencial teórica de 39152 frutos possíveis, se todas as flores hermafroditas fossem fecundadas. A efetiva produção de frutos por polinização aberta foi 1364, dos quais se extraíram 1265 sementes. Nem todos os frutos tiveram sementes extraídas e um dos motivos foi a predação de sementes por larvas dentro dos frutos, fato observado no momento da extração manual das sementes. Harter-Marques e Engels (2003) também observaram o ataque de parasitas em sementes de *Mimosa scabrella* e consideraram que o fato pode influenciar na produção destas.

Comparando-se a efetiva produção de frutos (1364) com o potencial teórico de produção destes (39152), a partir das flores hermafroditas, resulta em 3,48% de frutos gerados por polinização aberta. Tal porcentagem está em acordo com Carpanezzi et al., (1988) ao concluírem que, no geral, os frutos efetivamente produzidos correspondem a menos de 10% das flores que podem ser fecundadas.

Os percentuais de frutos efetivamente obtidos (0,34% por autofecundação e 3,48% por polinização aberta) representam que a produção de frutos por polinização aberta foi 10,2 vezes maior do que a produção obtida por autofecundação, mesmo sendo este um percentual pequeno. Os resultados sugerem que, em percentuais, a formação de frutos é reduzida em ambas as situações analisadas e que a autofecundação ocorre em taxas extremamente reduzidas. Mesmo assim, comprovou-se que a espécie efetivamente produz frutos por autofecundação, confirmando que *Mimosa scabrella*, além do sistema misto, não possui autoincompatibilidade.

4.4.2.3 Experimento III

Referente à autofecundação, vale ressaltar que as árvores 2 e 3 não produziram sementes e as árvores 1, 4 e 5 tiveram todas as sementes obtidas semeadas. Referente à polinização aberta, as árvores 2 e 3 produziram poucas sementes e todas foram semeadas, enquanto das árvores 1, 4 e 5 foram semeadas 100 sementes, embora tenham produzido quantidades maiores (Tabela 14).

Os percentuais de germinação para as sementes obtidas por autofecundação, indicam que as sementes das árvores 1 e 4, germinaram com taxas aceitáveis para *Mimosa scabrella*, enquanto que as sementes da árvore 5 apresentaram taxa inferior ao esperado para a espécie. Não foram obtidas sementes por autofecundação nas árvores 2 e 3.

Os percentuais de germinação para as sementes obtidas por polinização aberta, indicam taxa elevada para as sementes da árvore 4, taxas compatíveis para as sementes das árvores 5 e 1 e taxas reduzidas para sementes das árvores 2 e 3.

Na avaliação das médias gerais de germinação, nas sementes oriundas de autofecundação (72,09%) o percentual ficou abaixo do esperado para a espécie, que, por ser pioneira e facilitadora sucessional, costuma ser elevado. Entretanto, para as sementes oriundas de polinização aberta, a média geral de germinação (80,24%) apresentou percentual adequado para a espécie. Tal inferência é corroborada por Carpanezzi et al. (1988), para os quais a germinação em *Mimosa scabrella* usualmente é superior a 80%, quando as sementes são colhidas no ponto correto de maturação.

As médias dos percentuais de germinação para as sementes de autofecundação e de polinização aberta foram comparadas pelos limites dos Intervalos de Confiança (IC) a 95% e não apresentaram evidências de diferença significativa entre si, pois houve sobreposição dos valores dos intervalos. Ressalta-se que, embora não se tenha obtido sementes por autofecundação das árvores nº 2 e nº 3, as mesmas produziram reduzida quantidade de sementes por polinização aberta e também apresentaram reduzida taxa de germinação (Tabela 14). Este é um indicativo que existe variação entre plantas na capacidade de produzir sementes. Entretanto, a espécie mostrou capacidade, mesmo que reduzida, de produzir sementes viáveis exclusivamente por autofecundação e de deixar descendentes por esta forma de fecundação, comprovando não ter autoincompatibilidade.

Figura 18 - Plântulas com 70 dias, obtidas por sementes oriundas de autofecundação e de polinização aberta



Fonte: Elaborada pelo autor, 2018

Figura 19 - Plântulas com 134 dias. A - por sementes oriundas de autofecundação
B – por sementes oriundas de polinização aberta



Fonte: Elaborada pelo autor, 2018.

4.5 CONCLUSÕES

Os resultados obtidos nos experimentos do capítulo III possibilitam concluir, para tais condições, que:

a) O número médio de flores em cada inflorescência de *Mimosa scabrella* representa um elevado potencial teórico para a espécie gerar frutos e sementes;

- b) Apesar do elevado potencial para gerar frutos, a produção efetiva destes tem percentuais reduzidos, tanto por polinização aberta e como por autofecundação;
- c) Inflorescências de *Mimosa scabrella* expostas à polinização aberta produzem cerca de 10 vezes mais quantidade de frutos em relação às inflorescências protegidas artificialmente (ensacadas);
- d) *Mimosa scabrella* demonstra ter boa eficiência reprodutiva, o que lhe garante a perpetuação da espécie a cada estação reprodutiva;
- e) A existência de frutos gerados por autofecundação comprova que *Mimosa scabrella* não possui autoincompatibilidade e que seu sistema reprodutivo é misto;
- f) Frutos de *Mimosa scabrella* gerados por autofecundação produzem sementes viáveis em número bem reduzido, havendo também a interrupção do desenvolvimento das sementes;
- g) Os percentuais médios obtidos para a germinação das sementes de *Mimosa scabrella*, oriundas de autofecundação e de polinização aberta, não evidenciaram diferenças significativas entre si.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Com base nos estudos deste trabalho, permite-se ressaltar a importância dos estudos de Genética de Populações com espécies arbóreas com potencial para fornecer benefícios diretos ou indiretos ao homem ou que já demonstrem importância socioeconômica e ecológica.

Sugere-se a continuidade dos estudos abordando o sistema reprodutivo e a diversidade genética de *Mimosa scabrella*, se possível, com as mesmas populações em novos períodos reprodutivos consecutivos, visando monitorar o comportamento da espécie e consolidar os conhecimentos.

Em estudos propostos para uso e conservação de *Mimosa scabrella*, deve ser levado em consideração que, para uma mesma população, as estações reprodutivas consecutivas não são iguais em função de fatores associados ao ambiente e aos intrínsecos à espécie.

É importante que novos estudos verifiquem o comportamento dos indivíduos de *Mimosa scabrella* gerados exclusivamente por autofecundação, em comparação com os gerados por polinização aberta.

REFERÊNCIAS

- AGUILAR, R. et al. Genetic consequences of habitat fragmentation in plant populations: susceptible signals in plant traits and methodological approaches. **Molecular Ecology**, Oxford, v. 17, n. 24, p. 5177–5188, 2008.
- ALFENAS, A. C (editor). **Eletroforese de isoenzimas e proteínas afins – Fundamentos e aplicações em plantas e microorganismos**. Viçosa: Ed. UFV, 1998. 574 p.
- ALMEIDA, F. V. et al. Diversidade genética entre e dentro de populações de *Cenostigma tocanthum* Ducke. **Scientia Forestalis**, Piracicaba, v. 43, n. 108, p. 753-762, 2015.
- ALMEIDA, S. R. de. Florística e síndromes de dispersão de um remanescente de Floresta Ombrófila Mista em sistema faxinal. **Ambiência**, Guarapuava, PR, v. 4 n. 2, p. 289-297, maio/ago. 2008.
- ALVARES, C. A. et al. Köppen's climate classification map for Brazil. **Meteorologische Zeitschrift**, Stuttgart, v. 22, n. 6, p. 711–728, 2013.
- ALVES, R. M. **Caracterização genética de populações de cupuaçuzeiro *Theobroma grandiflorum* (Wild. ex. Spreng.) Schum., por marcadores microssatélites e descritores botânico-agronômicos**. 2002. 146 p. Tese (Doutorado em Agronomia) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiróz, Universidade de São Paulo, Piracicaba.
- ANTIQUERA, L. M. O. R.; KAGEYAMA, P. Y. Reproductive system and pollen flow in progenies of *Qualea grandiflora* Mart., a typical species of the Brazilian cerrado. **Revista Árvore**, Viçosa-MG, v. 39, n. 2, p. 337-344, 2015.
- AVRELLA, E. D. et al. Estresse hídrico e salinidade na germinação de sementes de *Mimosa scabrella* Benth. **Revista Espacios**, Caracas, v. 38, n. 47, p. 24, 2017.
- BACKES, A.; NARDINO, M. **Árvores, arbustos e algumas lianas nativas no Rio Grande do Sul**. São Leopoldo: Ed. da UNISINOS, 1998. 202 p.
- BAGGIO, A. J. et al. Levantamento de espécies lenhosas em sub-bosques de bracatingais. **Boletim de Pesquisa Florestal**, Colombo, n. 30/31, p. 69-74, 1995.

BAGGIO, A. J. et al. Sistema agroflorestal tradicional da bracatinga com culturas agrícolas anuais. **Boletim de Pesquisa Florestal**, Colombo, n. 12, p. 73-82, jun. 1986.

BARBOSA, A. C. O. F. **Estrutura genética e sistema de cruzamento em *Eugenia dysenterica* DC. (Myrtaceae)**. 2014. 126 f. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas) – Universidade Federal de Goiás, Goiânia.

BARROSO, G. M. et al. **Frutos e sementes: morfologia aplicada à sistemática de dicotiledôneas**. Viçosa: UFV-Universidade Federal de Viçosa, 1999. 443 p.

BARTOSZECK, A. C. de P. e S. **Evolução da relação hipsométrica e da distribuição diamétrica em função dos fatores idade, sitio e densidade inicial em bracatingais da Região Metropolitana de Curitiba**. 2000. 214 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Florestal) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba.

BERTALOT, M. J. A. **Crescimento e avaliação nutricional de leguminosas arbóreas potenciais para ecossistemas agroflorestais num solo de cerrado**. 1997. 63 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Faculdade de Ciências Agronômicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu.

BITTENCOURT, R. **Caracterização da estrutura genética interna e aspectos da autoecologia de uma população natural de Imbuia (*Ocotea porosa* – Lauraceae)**. 2007. 83 p. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis.

BIZERRIL, M. X. A. O estudo da frugivoria e da dispersão de sementes: qual a sua importância e o que investigar? **Universitas Biociências**, Brasília, n. 1, v. 1, p. 69-80, 2000.

BOAKES, E. H. et al. Extreme contagion in global habitat clearance. **Proceedings of the Royal Society B**, Londres, v. 277, p. 1081-1085, 2010.

BRAMMER, S.P. **Marcadores moleculares: princípios básicos e usos em programas de melhoramento genético vegetal**. Passo Fundo: Embrapa Trigo, 2000. 7 p. (Documentos Online 03). Disponível em: <http://www.cnpt.embrapa.br/biblio/p_do03.pdf>. Acesso em: 03 Jan. 2018.

BROWN, A. H. D.; WEIR, B. S. Measuring genetic variability in plant population. In: TANSKLEY, S. D.; ORTON, T. J. (Ed.). **Isozymes in plants genetics and breeding**. Amsterdam: Elsevier, 1983. p. 219-239. Disponível em:

<https://www.researchgate.net/publication/280056927_Measuring_genetic_variation_in_plant_populations>. Acesso em: 01 jun. 2018.

BUGALHO, V. de A. **Influência das precipitações pluviométricas e da atividade forrageira das abelhas africanizadas (*Apis mellifera* L.) no comportamento higiênico**. 2009. 108 p. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto.

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

CARAMORI, P. H.; ANDROCIOLI, F. A.; LEAL, A. C. Coffee shade with *Mimosa scabrella* Benth. for frost protection in southern Brazil. **Agroforestry Systems**, Dordrecht, v. 33, p. 205-214, 1996.

CARLINI-GARCIA, L. A.; VENCOVSKY, R.; COELHO, A. S. G. Método Bootstrap aplicados em níveis de reamostragem na estimação de parâmetros genéticos populacionais. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 58, n. 4, p. 785-793, 2001.

CARPANEZZI, A. A. et al. **Manual técnico da bracatinga (*Mimosa scabrella* Benth.)**. Colombo, PR: Embrapa-CNPQ, 1988. 70 p. (Embrapa-CNPQ. Documentos 20).

CARPANEZZI, A. A.; PAGANO, S. N.; BAGGIO, A. J. Banco de sementes de bracatinga em povoamentos do sistema agroflorestal tradicional de cultivo. **Boletim de Pesquisa Florestal**, Colombo, n. 35, p. 3-19, 1997.

CARVALHO, P.E.R. **Espécies florestais brasileiras: recomendações silviculturais, potencialidades e uso da madeira**. Colombo: EMBRAPA-CNPQ; Brasília: EMBRAPA-SPI, 1994. 640 p.

CARVALHO, P.E.R. **Bracatinga**. Colombo: Embrapa Florestas, 2002. 12 p. (Embrapa Florestas, Circular Técnica 59).

CARVALHO, P. E. R. **Cultivo da Bracatinga**. Colombo: EMBRAPA FLORESTAS, sistemas de produção n. 6, versão eletrônica, out. 2003. Disponível em: <http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Bracatinga/CultivodaBracatinga/09_sementes.htm>. Acesso em: 12 nov. 2017.

CATHARINO, E. L. M.; CRESTANA, C. S. M.; KAGEYAMA, P. Y. Biologia floral da bracatinga (*Mimosa scabrella* Benth.). **Silvicultura em São Paulo**, São Paulo, v. 16, p. 525-531, 1982.

CATIE. **Bracatinga**: *Mimosa scabrella* Benth., especie de arbol del uso múltiplo em America Central. Turrialba, Costa Rica: Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza-CATIE, 1991. 50 p. (Informe Técnico/CATIE, 169).

CLIMATE. **Dados climáticos para cidades mundiais**. Oedheim: Climate-Data.org., 2018. Disponível em: <<https://pt.climate-data.org/location/3452/>>. Acesso em: 12 fev. 2018.

CONTE, R. **Estrutura genética de populações de *Euterpe edulis* Mart. submetidas à ação antrópica utilizando marcadores alozímicos e microssatélites**. 2004, 124 p. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiróz – Universidade de São Paulo, Piracicaba.

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

COSTA, N. C. F. **Estrutura genética espacial, sistema de reprodução e fluxo de pólen em *Araucaria angustifolia* (Bertol.) Kuntze em pequenas populações remanescentes em paisagem de campo e plantios florestais**. 2014. 69 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Florestal) – Centro de Ciências Agroveterinárias, Universidade do Estado de Santa Catarina, Lages.

DAHMER, N. et al. Bracatinga” (*Mimosa scabrella* Benth.), a multipurpose tree growing in Southern Brazil: chromosome number and genetic variation. **Genetic Resources and Crop Evolution**, Cham, Switzerland, v. 60, n. 1, p. 377-383, 2013.

DOURADO, D.A.O., CONCEIÇÃO, A.S.; SANTOS-SILVA, J. O gênero *Mimosa* L. (Leguminosae: Mimosoideae) na APA Serra Branca/Raso da Catarina, Bahia, Brasil. **Biota Neotropica**, São Paulo, v. 13, n. 4, p. 225-240, 2013.

DUTRA, V.F.; MORIM, M.P. 2015 *Mimosa* in **Lista de Espécies da Flora do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB100978>>. Acesso em: 02 fev. 2018.

ECKERT, C.G. et al. Plant mating systems in a changing world. **Trends in Ecology and Evolution**, Cambridge, v. 25, n.1, p.35-43, 2009.

EMBRAPA. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **Solos do Estado de Santa Catarina**. Rio de Janeiro: Embrapa Solos, 2004. 721 p. (Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, n. 46).

ESCOBAR, N. A. G.; SILVA, E. D. da.; TOZZI, A. M. G. A. Leguminosae clado mimosoide em um fragmento de floresta estacional semidecidual do sudeste do Brasil. **Rodriguésia**, Rio de Janeiro, v. 4, n. 68, p.1447-1457, 2017.

FABROWSKI, F. J. et al. Anatomia comparativa da madeira das variedades populares da bracatinga (*Mimosa scabrella* Benth). **Ciência Florestal**, Santa Maria, v. 15, n. 1, p. 65-73, 2005.

FEISTAUER, D. et al. Sequestro de carbono de um sistema agroflorestal com bracatinga (*Mimosa scabrella* Benth) na região metropolitana de Curitiba-PR. In: Seminário Brasileiro de Sistemas Agroflorestais. **Anais...** Curitiba, p. 175-177, 2004.

FERES, J. M. **Diversidade genética, sistema reprodutivo e fluxo de pólen em duas populações de *Tabebuia roseo-alba* (Ridl.) Sand**: Implicações para a conservação. 2009. 142 f. Dissertação (Mestrado em Genética) – Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto.

FERREIRA, C. et al. Estabelecimento de mata ciliar às margens do reservatório da Usina Hidrelétrica de Camargos, MG. **Ciência Florestal**, Santa Maria, v. 19, n. 1, p. 69-81, 2009.

FERREIRA, P. I. ***Mimosa scabrella* Benth. (FABACEAE)**: fundamentos para o manejo e conservação. 2015. 140 f. Tese (Doutorado em Produção Vegetal) – Universidade do Estado de Santa Catarina, Centro de Ciências Agroveterinárias, Lages.

FOELKEL, C. Os Eucaliptos e as Leguminosas: parte 02: *Mimosa scabrella* (Bracatinga). In: FOELKEL, C. (Org.). ***Eucalyptus* online Book & Newsletter**. Porto Alegre: Grau Celsius, 2012. Capítulo 26, p.1-75. Disponível em: <http://www.eucalyptus.com.br/eucaliptos/PT26_Bracatinga.pdf>. Acesso em: 10 mar. 2018.

FRANCO, A. A. et al. Uso de leguminosas florestais noduladas e micorrizadas como agentes de recuperação e manutenção da vida do solo: um modelo tecnológico.

Oecologia brasiliensis, Rio de Janeiro, v. I (Estrutura, funcionamento e manejo de ecossistemas brasileiros), p. 459-467, 1995.

GANDARA, F. B. **Diversidade genética, taxa de cruzamento e estrutura espacial dos genótipos em uma população de *Cedrella fissilis* Vell.(Meliaceae)**. 1996. 69 p. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Universidade Estadual de Campinas, Campinas.

GANEM, R. S. (Org.). **Conservação da biodiversidade: legislação e políticas públicas**. Brasília: Edições Câmara, Câmara dos Deputados, 2011. 437 p. (Série memória e análise de leis, n. 2). Disponível em: <http://livroaberto.ibict.br/bitstream/1/708/1/conservacao_biodiversidade.pdf>. Acesso em: 03 jun. 2018.

GIBBS, P.E.; OLIVEIRA, P.E.; BIANCHI, M.B. Postzygotic control of selfing in *Hymenaea stigonocarpa* (Leguminosae – Caesalpinoideae), a bat-pollinated tree of the Brazilian cerrados. **International Journal of Plant Sciences**, Chicago, v.160, p.72-78, 1999.

GIUDICE NETO, J.D.; SEBBENN, A.M.; KAGEYAMA, P.Y. Sistema de reprodução em *Caesalpinia echinata* Lam. implantada em arboreto experimental. **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v. 28, n. 2, p. 409-418, 2005.

GOODWILLIE, C.; KALISZ, S.; ECKERT, C. G. The evolutionary enigma of mixed mating systems in plants: occurrence, theoretical explanations, and empirical evidence. **Annual Review of Ecology, Evolution and Systematics**, Palo Alto, v. 36, p. 47-79, 2005.

GUSSON, E.; SEBBENN, A. M. S.; KAGEYAMA, P. Y. Sistema de reprodução em populações de *Eschweilera ovata* (Cambess.) Miers. **Revista Árvore**, Viçosa-MG, v. 30, n. 4, p. 491-502, 2006.

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

HANSON, T.T. et al. Pollen dispersal and genetic structure of the tropical tree *Dipteryx panamensis* in a fragmented Costa Rican landscape. **Molecular Ecology**, Oxford, v. 17, n. 8, p. 2060-2073, 2008.

HARTER-MARQUES, B.; ENGELS, W. A produção de sementes de *Mimosa scabrella* (Mimosaceae) no planalto das Araucárias, RS, Brasil, depende da polinização das abelhas sem ferrão. **Biociências**, Porto Alegre, v. 11, n. 1, p. 9-16, 2003.

HARTL, D. L.; CARK, A. G. **Princípios de genética de populações**. 4. ed. Porto Alegre: Artmed, 2010, 660 p.

HOFFMANN, L. V.; BARROSO, P. A. V. **Marcadores Moleculares como Ferramentas para Estudos de Genética de Plantas**. Campina Grande: Embrapa Algodão, 2006. 35 p. (Documentos, 147).

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Manual técnico da vegetação brasileira**. Rio de Janeiro: Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística – IBGE, 2. ed. revisada e ampliada, 2012, 275 p.

JAEGER, P. **Caracterização genética e demográfica de populações de *Xylopia emarginata* Mart. (Anonaceae)**. 2004. 113 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Florestal) – Universidade Federal de Lavras, Lavras.

KARASAWA, M. M. G. **Diversidade reprodutiva de plantas**. Ribeirão Preto: Sociedade Brasileira de Genética – SBG, 2009. 113 p.

KLAUBERG, C. et al. Florística e estrutura de um fragmento de Floresta Ombrófila Mista no Planalto. **Biotemas**, Florianópolis, v. 23, n. 1, p. 35-47, 2010.

KRETSCHKEK, O.E. Perspectiva da madeira na indústria florestal de aglomerados. In: SILVA, V. P. et al. (Orgs.). OFICINA SOBRE BRACATINGA NO VALE DA RIBEIRA (CURITIBA: 2004), 1. **Memórias...** Colombo, PR: Embrapa Florestas, Dez. 2006. p. 29-32. (Documentos 134).

LAMBIN, E. F.; GEIST, H. J.; LEPPERS, E. Dynamics of land-use and land-cover change in tropical regions. **Annual Review of Environment and Resources**, Palo Alto. v. 28, p. 205–241, 2003.

LENZI, M.; ORTHIE, A. I. Fenologia reprodutiva, morfologia e biologia floral de *Schinus terebinthifolius* Raddi (Anacardiaceae), em restinga da Ilha de Santa Catarina, Brasil. **Biotemas**, Florianópolis, v. 17, n. 2, p. 67 - 89, 2004.

LEONHARDT, A.; LORSCHUITTER, M.L. Pólen de gimnospermas e angiospermas do perfil sedimentar de uma turfeira em São Francisco de Paula, Planalto Leste do Rio Grande do Sul, sul do Brasil. **Revista Brasil. Bot.**, São Paulo, v. 31, n. 4, p. 645-658, 2008.

LIENGSI, C.; BOYLE, T.J.B.; YEH, F.C. Mating system in *Pterocarpus macrocarpus* Kurz in Thailand. **Journal of Heredity**, Oxford, v.89, n.3, p.216-221, 1998.

LIMA, L. C. de. **Processo de planejamento e implantação do Parque Natural Municipal de Lages-SC com ênfase na conservação de bacias hidrográficas e na percepção da comunidade do entorno**. 2007. 186 p. Tese (Doutorado em Engenharia Ambiental) – Centro Tecnológico, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis.

LOWE, A. J. et al. Genetic resource impacts of habitat loss and degradation, reconciling empirical evidence and predicted theory for Neotropical trees. **Heredity**, London, v.95, n.4, p.255-273, 2005.

LPWG. Legume Phylogeny Working Group. Legume phylogeny and classification in the 21st century: progress, prospects and lessons for other species-rich clades. **Taxon**, Viena, v. 2, n. 62, p. 217-248, 2013.

MACHADO, S. A. et al. Dinâmica da distribuição diamétrica de bracatingais na região metropolitana de Curitiba. **Revista Árvore**, Viçosa, v. 30, n. 5, p. 759-768, 2006.

MANOEL, R. O. et al. Sistema de reprodução, parentesco e tamanho efetivo em sementes de polinização livre de populações fragmentadas de *Copaifera langsdorffii* Desf. por análise de locos microssatélites. **Scientia Forestalis**, Piracicaba, v. 40, n. 94, p. 145-155, jun. 2012.

MANTOVANI, A.; MORELLATO, L. P. C.; REIS, M. S. dos. Internal genetic structure and outcrossing rate in a natural population of *Araucaria angustifolia* (Bert.) O. Kuntze. **Journal of Heredity**, Oxford, v. 97, n. 5, p. 466-472, 2006.

MARTINS, M. **Interação entre *Tachardiella* sp (Homoptera) e *Mimosa scabrella* Benth.(Leguminosae) e a produção de mel de melato por *Apis mellifera* L (Hymenoptera)**. 2005. 93 f. Dissertação (Mestrado em Recursos Genéticos Vegetais) – Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Agrárias, Florianópolis.

MARTINS, M.; ORTH, A. I. Bracatinga: uma espécie para produção de mel e polinização dirigida no planalto catarinense. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE APICULTURA, XV, 2004, CONGRESSO BRASILEIRO DE MELIPONICULTURA, 1, 2004, Natal. **Anais...** Natal, 2004, CD-ROM. Trabalhos técnicos.

MAZUCHOWSKI, J. Z. Introdução. In: CARPANEZZI, A. A. et al. **Manual técnico da bracatinga (*Mimosa scabrella* Benth.)**. Colombo, PR: Embrapa-CNPQ, 1988. 70 p. (Embrapa-CNPQ. Documentos, 20).

MAZUCHOWSKI, J. Z. et al. Usos e potencialidades da madeira de bracatinga. In: MAZUCHOWSKI, J. Z.; RECH, T. D.; TORESAN, L. (Orgs.). **Bracatinga, *Mimosa scabrella* Benth.: cultivo, manejo e usos da espécie**. Florianópolis: Epagri, 2014a, Capítulo 6, p.161-198.

MAZUCHOWSKI, J. Z. et al. Atributos alternativos da bracatinga. In: MAZUCHOWSKI, J. Z.; RECH, T. D.; TORESAN, L. (Orgs.). **Bracatinga, *Mimosa scabrella* Benth.: cultivo, manejo e usos da espécie**. Florianópolis: Epagri, 2014b. Capítulo 7, p.199-228.

MAZUCHOWSKI, J. Z.; TORESAN, L. Aspectos econômicos. In: MAZUCHOWSKI, J. Z.; RECH, T. D.; TORESAN, L. (Orgs.). **Bracatinga, *Mimosa scabrella* Benth.: cultivo, manejo e usos da espécie**. Florianópolis: Epagri, 2014. Capítulo 8, p. 229-242.

MAZUCHOWSKI, J. Z.; RECH, T. D.; TORESAN, L. Prefácio. In: MAZUCHOWSKI, J. Z.; RECH, T. D.; TORESAN, L. (Orgs.). **Bracatinga, *Mimosa scabrella* Benth.: cultivo, manejo e usos da espécie**. Florianópolis: Epagri, 2014. Prefácio, p. 5-6.

McMANUS, C. et al. **Estatísticas para descrever genética de populações**. Belo Horizonte: UFMG, Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia- INCT-Pecuária, série técnica Genética, 2011. 50 p.

MEDEIROS, A. C. B. de. **Fluxo de pólen e estrutura genética espacial em uma população de *Tabebuia aurea* (Bignoniaceae) na Estação Ecológica de Águas Emendadas, DF**. 2010. 124 p. Tese (Doutorado em Ciências Genômicas e Biotecnologia) – Universidade Católica de Brasília, Brasília.

MEDEIROS, T. W. **A floração da taquara e sua implicação na disseminação de doenças**. 2017. 70 p. Trabalho de conclusão de curso (Graduação em Ciências Biológicas) – Centro de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis.

MELLO, A. A. et al. Individual Biomass and Carbon Equations for *Mimosa scabrella* Benth. (Bracatinga) in Southern Brazil. **Silva Fennica**, Vantaa, v. 46, n. 3, p. 333-343, 2012.

MELO JÚNIOR, A. F. et al. Estrutura genética de populações de pequizeiro (*Caryocar brasiliense* Camb.). **Scientia Forestalis**, Piracicaba, n. 66, p. 55-65, 2004.

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

MMA. Ministério do Meio Ambiente. **Mata Atlântica**. Brasília: Ministério do Meio Ambiente, 2016. Disponível em: <<http://www.mma.gov.br/biomas/mata-atlantica>>. Acesso em: 12 nov. 2017.

MMA. Ministério do Meio Ambiente. **O que são?** Brasília, DF: MMA, 2018. Disponível em: <<http://www.mma.gov.br/areas-protegidas/unidades-de-conservacao/o-que-sao>>. Acesso em: 11 jun. 2018.

MONTAGNA, T. et al. **Manual de eletroforese de isoenzimas (versão 2013)**. Florianópolis: Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Agrárias, Depto Fitotecnia, P.P.G. em Recursos Genéticos Vegetais, 2013. 39 p. (Documento interno).

MORAES, M. L. T de; KAGEYAMA, P. Y.; SEBBENN, A. M. Sistema de reprodução em pequenas populações fragmentadas e em árvores isoladas de *Hymenaea stigonocarpa*. **Scientia Forestalis**, Piracicaba, n. 74, p. 75-86, jun. 2007.

MORAES, M. L. T. de; SEBBENN, A. M. Pollen dispersal between isolated trees in the Brazilian Savannah: A case study of the neotropical tree *Hymenaea stigonocarpa*. **Biotropica**, Hoboken, v. 43, n. 2, p. 192–199, 2011.

MORAES, P. L. R. de; MONTEIRO, R. Taxas de cruzamento de uma população natural de *Cryptocarya moschata* Ness (Lauracea). **Biota Neotropica**, Campinas, v. 2, n. 2, p. 1-10, 2002.

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

MOREIRA, P. A. **Diversidade, estrutura genética e sistemas de cruzamento de bracatinga (*Mimosa scabrella* Benth. var. *scabrella*) em paisagem manejada em assentamentos rurais**. 2009. 68 f. Dissertação (Mestrado em Recursos Genéticos Vegetais) – Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Agrárias, Florianópolis.

MORI, E. S. et al. Sistema de reprodução em populações naturais de *Peltophorum dubium*. **Scientia Forestalis**, Piracicaba, v. 41, n. 99, p. 307-317, set. 2013.

MOURA, M.C.O. **Distribuição da variabilidade genética em populações naturais de *Eremanthus erythropappus* (DC) MacLeish por isoenzimas e RAPD**. 2005. 165 p. Tese (Doutorado em Engenharia Florestal) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2005.

MURAWSKI, D. A.; DAYANANDAN, B.; BAWA, K. S. Outcrossing rates of two endemic *Shorea* species from Sri Lankan tropical rain forests. **Biotropica**, Washington, v. 26, p. 23-29, 1994.

NEI, M. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. **Genetics**, Rockville, MD, v. 89, p. 583-590, Jul., 1978.
Disponível em:
<<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1213855/pdf/583.pdf>>. Acesso em: 02 jun. 2018.

NIANG, A. et al. Forage potential of eight wood species: intake and growth rates of local young goats in the highland region of Rwanda. ICRAF. **Agroforestry Systems**, v. 34, p. 171-178, 1996.

NÓBREGA, M. B. de M. et al. **Princípios e utilização da técnica de eletroforese em geis de amido e poliacrilamida**. Campina Grande: EMBRAPA-CNPA, 1999. 103 p. (Documentos, 65).

PEAKALL, R.; SMOUSE, P. E. GenAIEx 6.5: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research—an update. **Bioinformatics**, Oxford, v. 28, n. 19, p. 2537–2539, 2012.

PEGORARO, A. et al. Forrageamento da abelha africanizada na florada da bracatinga. **Archives Veterinary Science**, Curitiba, v. 16, n. 2, p. 1-8, 2011.

PETCOWICZ, C. L. O. et al. *Mimosa scabrella*: bracatinga. In: CORADIN, S.; SIMINSKI, A.; REIS, A. (Editores). **Espécies nativas da flora brasileira de valor econômico atual e potencial**: plantas para o futuro-região Sul. Brasília: MMA, 2011. p. 654-662.

PIMENTEL, A. M. Utilização da técnica da eletroforese em genética florestal. **Série Técnica IPEF**, Piracicaba, v. 5, n. 15, p. 1-27, 1988.

PRIMIERY, S. **Seleção e bioprospecção de microrganismos no crescimento de bracatinga (*Mimosa scabrella*)**. 2016. 112 p. Tese (Doutorado em Ciência do Solo) – Centro de Ciências Agroveterinárias, Universidade do Estado de Santa Catarina, Lages, 2016.

QUIRINO, W. F. et al. Poder calorífico da madeira e de materiais ligno-celulósicos. **Revista da Madeira**, Curitiba, n. 89, p. 100-106, 2005.

REIS, M. S. dos. **Distribuição e dinâmica da variabilidade genética em populações naturais de palmitero (*Euterpe edulis* Mart.)**. 1996. 210 p. Tese (Doutorado em Agronomia) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiróz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba.

REITZ, R.; KLEIN, R.M.; REIS, A. **Projeto madeira do Rio Grande do Sul**. Itajaí: Convênio Herbário Barbosa Rodrigues, Superintendência do Desenvolvimento da Região Sul e Secretaria de Agricultura e Abastecimento, 1988, 526 p.

RIBEIRO, N. P. et al. Biodiversidade e conservação de recursos genéticos de espécies arbóreas. **Multitemas**, Campo Grande, v. 21, n. 50, p. 31-49, 2016.

RIBEIRO, R. A.; LOVATO, M. B. Mating system in a neotropical tree species, *Senna multijuga* (Fabaceae). **Genetics and Molecular Biology**, Ribeirão Preto, v. 27, n. 3, p. 418-424, 2004.

RITLAND, K. Extensions of models for the estimation of mating systems using n independent loci. **Heredity**, Edinburgh, v. 88, p. 221–228, 2002.

RITLAND, K. **Multilocus mating system program MLTR**: version 3.2. Vancouver: University of British Columbia, 2008. Disponível em: <<http://kermitzii.com/software/>>; <kermi.ritland@ubc.ca>. Acesso em: 10 mar. 2018.

RITLAND, K. Correlated matings in the partial selfer *Mimulus guttatus*. **Evolution**, Tempe, v. 43, n. 4, p. 848-859, 1989.

RITLAND, K.; JAIN, S. A model for the estimation of outcrossing rate and gene frequencies using n independent loci. **Heredity**, London, v. 47, n. 1, p. 35-52, 1981.

RODERJAN, C. V. et al. As unidades fitogeográficas do Estado do Paraná. **Ciência e Ambiente**, Santa Maria, v. 24, n. 1, p. 75-92, 2002.

RODRIGUES, D. P. **Diversidade genética e sistema de reprodução em progênies elites de pupunheira inerme (*Bactris gasipaes* Kunth.) com marcadores microssatélites: implicações para o melhoramento do palmito**. 2007. 103 f. Tese (Doutorado em Biotecnologia) – Universidade Federal do Amazonas, Manaus.

ROTTA, E.; IEDE, E. T.; KUNIYOSHI, Y. S. **Biologia floral da bracatinga (*Mimosa scabrella* Benth.)**. Curitiba: EMBRAPA - UNIDADE REGIONAL DE PESQUISA FLORESTAL CENTRO-SUL, n. 73, 1983, 1 p. (Documento).

ROTTA, E.; MENDES, E. M. B. Fenologia da floração e frutificação da bracatinga. In: CONGRESSO FLORESTAL BRASILEIRO, 6., 1990, Campos do Jordão, SP. **Anais...** Campos do Jordão, SP, 1990. p. 547-554.

ROTTA, E.; OLIVEIRA, Y. M. M. de. Área de distribuição natural da bracatinga (*Mimosa scabrella*). In: Seminário sobre Atualidades e Perspectivas Florestais, 4. Curitiba, jul. 1981. **Anais...** Curitiba, EMBRAPA/URPFCS, 1981. p. 1-24. (EMBRAPA-URPFCS. Documentos, 5).

SAIKI, F. A. **Desenvolvimento e validação de marcadores microssatélites para *Mimosa scabrella* Benth.** 2016. 91 p. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) – Centro de Ciências Agroveterinárias, Universidade do Estado de Santa Catarina, Lages.

SANTOS, E. M. G. **Ecologia da polinização, fluxo de pólen e taxa de cruzamento em *Bauhinia forficata* Link. (Caesalpinaceae)**. 1994. p. 114. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiróz, Piracicaba.

SANTOS, K. F. et al. Regeneração natural do componente arbóreo após a mortalidade de um maciço de taquara em um fragmento de Floresta Ombrófila Mista em Lages-SC. **Ciência Florestal**, Santa Maria, v. 25, n. 1, p. 107-117, 2015.

SCHAFFER, W. B. et al. Áreas de Preservação Permanente e Unidades de Conservação e Áreas de Risco: O que uma coisa tem a ver com a outra? Brasília: Ministério do Meio Ambiente, Secretaria de Biodiversidade e Florestas, 2011. 96 p.

SEBBENN, A. M. **Estudo de populações de jequitibá [*Cariniana legalis* (Mart.) O. Ktze] em teste de progênies por caracteres quantitativos e isoenzimas.** 2000. 219 p. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" – Universidade de São Paulo, Piracicaba.

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

SEBBENN, A. M. Tamanho amostral para conservação *ex situ* de espécies arbóreas com sistema misto de reprodução. **Revista do Instituto Florestal**, São Paulo, v. 5, n. 2, p. 147-162, 2003.

SEBBENN, A. M. Sistemas de reprodução em espécies tropicais e suas implicações para a seleção de árvores matrizes para reflorestamentos ambientais. In: HIGA, A. H.; SILVA, L. D. **Pomar de sementes de espécies florestais nativas.** Curitiba: FUPEF, 2006. Capítulo 5, p. 93-138.

SEBBENN, A. M. et al. Sistemas de cruzamento em populações de *Cariniana legalis* (Mart.) O. Ktze: implicações para a conservação e o melhoramento genético. **Scientia Forestalis**, Piracicaba, n. 58, p. 25-40, dez. 2000.

SEBBENN, A. M. et al. Low levels of realized seed and pollen gene flow and strong spatial genetic structure in a small, isolated and fragmented population of the tropical tree *Copaifera langsdorffii* Desf. **Heredity**, Londres, v. 106, p. 134–145. 2010.

SEBBENN, A. M.; KAGEYAMA, P. Y.; ZANATTO, A. C. S. Estrutura genética de populações de Jequitibá rosa [*Cariniana legalis* (Mart.) O. Ktze.] a partir de caracteres quantitativos e isoenzimas. **Revista do Instituto Florestal**, São Paulo, v. 13, n. 2, p. 121-134, dez. 2001.

SEOANE, C. E. S. **Efeitos da fragmentação florestal sobre a genética de populações de guarantã.** Colombo: Embrapa Florestas, 2007, 83 p.(Documentos, 159).

SERAGLIO, S. K. T. **Desenvolvimento e validação analítica para determinação de compostos fenólicos utilizando LC-ESI-MS/MS, bioacessibilidade in vitro de**

compostos fenólicos e capacidade antioxidante de mel de melato de bracatinga (*Mimosa scabrella* Benth). 2016. 137 p. Dissertação (Mestrado em Ciências dos Alimentos) – Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis.

SILVA, L. C. R. da et al. Floristic evolution in an agroforestry system cultivation in Southern Brazil. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, Rio de Janeiro, v. 88, n. 2, p. 973-982, 2016.

SIMINSKI, A.; MAZUCHOWSKI, J.Z. Caracterização da espécie. In: MAZUCHOWSKI, J. Z.; RECH, T. D.; TORESAN, L.(Orgs.). **Bracatinga, *Mimosa scabrella* Bentham: cultivo, manejo e usos da espécie**. Florianópolis: Epagri, 2014. Capítulo 1, p. 19-40.

SOBIERAJSKI, G. da R. **Estrutura genética em populações de bracatinga (*Mimosa scabrella* Benth.) por marcador isoenzimático e caracteres quantitativos**. 2004. 128 p. Dissertação (Mestrado em Recursos Florestais) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiróz, Universidade de São Paulo, Piracicaba.

SOBIERAJSKI, G. da R.; KAGEYAMA, P. Y.; SEBBENN, A. M. Sistema de reprodução em nove populações de *Mimosa scabrella* Benth (Leguminosaceae). **Scientia Forestalis**, Piracicaba, n. 71, p. 37- 49, ago. 2006.

SOUZA, R. F. de. **Modelagem da biomassa aérea e do carbono do povoamento de *Mimosa scabrella* Benth em bracatingais nativos da Região Metropolitana de Curitiba**. 2011. 106 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Florestal) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba.

SPENCER, C. C.; NEIGEL, J. E.; LEBERG, P. L. Experimental evaluation of the usefulness of microsatellite DNA for detecting demographic bottlenecks. **Molecular Ecology**, Oxford, v. 9, p. 1517-1528, 2000.

SPIAZZI, F. R., RAMOS, C. E. F. **Parnamul, Brasil SC**. 2011. Disponível em: <<http://parnamul.weebly.com/index.html>>. Acesso em: 22 maio 2018.

STEENBOCK, W. **Domesticação de bracatingais: perspectivas de inclusão social e conservação ambiental**. 2009. 262 f. Tese (Doutorado em Recursos Genéticos Vegetais) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis.

STEENBOCK, W. et al. Ocorrência da bracatinga (*Mimosa scabrella* Benth.) em bracatingais manejados e em florestas secundárias na região do planalto catarinense. **Revista Árvore**, Viçosa-MG, v. 35, n. 4, p. 845-857, 2011.

STEENBOCK, W. et al. *Mimosa scabrella*: bracatinga. In: CORADIN, S.; SIMINSKI, A.; REIS, A. (Editores). **Espécies nativas da flora brasileira de valor econômico atual e potencial**: plantas para o futuro-região Sul. Brasília: MMA, 2011b, p.478-493.

STEFANELLO, D.; BULHÃO, C. F.; MARTINS, S. V. Síndromes de dispersão de sementes em três trechos de vegetação ciliar (nascente, meio e foz) ao longo do rio Pindaíba, MT. **Revista Árvore**, Viçosa-MG, v. 33, n. 6, p. 1051-1061, 2009.

UDESC – Universidade do Estado de Santa Catarina. **FECAV – Fazenda Experimental do CAV**. 2012. Disponível em: <<http://www.cav.udesc.br/?id=344>>. Acesso em: 06 fev. 2018.

URBANO, E. **Quantificação e estimativa da biomassa aérea e do carbono fixado em árvores de bracatingais nativos da região metropolitana de Curitiba**. 2007, 140 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Florestais) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba.

VENCOVSKY, R. et al. Genética e melhoramento de populações mistas. In: **Recursos genéticos e melhoramento – plantas**. Rondonópolis: Fundação MT, 2001. Cap.10, p. 231-281.

VENDRUSCOLO, C. W. **Goma Xantana e Galactomanana (*M. scabrella*): Desenvolvimento de matrizes hidrofílicas para liberação modificada de teofilinas**. 2005. 112 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade do Vale do Itajaí, Itajaí.

WEBER, K. S. Manejo da **Bracatinga (*Mimosa scabrella* Benth.) baseado no crescimento diamétrico de árvores individuais**. 2007. 125 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Florestal)- Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná, Curitiba.

WINSTON, M.L. **A biologia da abelha**. Livraria e Editora Magister. Porto Alegre - RS, 2003, 276p.

WOLFF, V.R. dos.; WITTER, S.; LISBOA, B.B. Reporte de *Stigmacoccus paranaensis* Foldi (Hemiptera, Stigmacoccidae), insecto escama asociado con la

producción de miel de mielato en Rio Grande do Sul, Brasil. **Insecta mundi**, Gainesville, n. 0434, p. 1-7, 2015.

WRIGHT, S. The interpretation of population structure by F-statistics with special regard to system of mating. **Evolution**, Lawrence, v. 19, n. 3, p. 395-420, 1965.

ZAMARIAN, E. H. C. **Características técnicas, estéticas e mercadológicas da Bracatinga (*Mimosa scabrella* Benthham) na fabricação de móveis**. 2008. 134 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Florestal)–Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná, Curitiba.

ZEN, D. M.; ACRA, L. A. Biologia floral e reprodutiva de *Agapanthus africanus*. **Estud. Biolog.**, Curitiba, v. 27, n. 59, abr./jun. 2005.

APÊNDICES

APÊNDICE A - Dados das árvores matrizes no estudo do sistema reprodutivo

| Árvore | Latitude S | Longitude W | Altitude m | DAP cm | Altura m |
|--------|------------|-------------|------------|--------|----------|
| 01 | 27°45'02" | 50°05'00" | 867 | 34,4 | 11,7 |
| 02 | 27°45'00" | 50°05'02" | 864 | 22,6 | 10,3 |
| 03 | 27°45'02" | 50°05'05" | 867 | 25,8 | 12,7 |
| 04 | 27°45'04" | 50°05'04" | 877 | 21,0 | 8,0 |
| 05 | 27°45'06" | 50°05'07" | 873 | 25,6 | 11,3 |
| 06 | 27°45'11" | 50°05'09" | 873 | 26,4 | 11,0 |
| 07 | 27°45'16" | 50°05'11" | 880 | 21,3 | 11,5 |
| 08 | 27°45'19" | 50°05'10" | 888 | 29,3 | 11,0 |
| 09 | 27°45'11" | 50°05'09" | 831 | 27,0 | 10,5 |
| 10 | 27°45'04" | 50°05'10" | 879 | 30,2 | 8,5 |
| 11 | 27°45'07" | 50°05'08" | 874 | 33,4 | 9,5 |
| 12 | 27°45'05" | 50°05'10" | 879 | 27,4 | 9,7 |
| 13 | 27°45'04" | 50°05'12" | 877 | 24,2 | 10,0 |
| 14 | 27°45'10" | 50°04'51" | 813 | 40,4 | 15,5 |
| 15 | 27°45'04" | 50°05'07" | 862 | 16,2 | 8,1 |
| 16 | 27°45'01" | 50°05'08" | 879 | 14,6 | 8,5 |
| 17 | 27°44'59" | 50°05'03" | 863 | 29,6 | 9,5 |
| 18 | 27°44'57" | 50°05'02" | 876 | 31,5 | 9,7 |
| 19 | 27°45'00" | 50°05'11" | 883 | 28,9 | 9,0 |
| 20 | 27°44'56" | 50°05'03" | 872 | 34,7 | 18,0 |
| 21 | 27°44'57" | 50°05'02" | 853 | 27,4 | 11,1 |
| 22 | 27°44'54" | 50°05'00" | 874 | 14,6 | 7,3 |
| 23 | 27°44'51" | 50°05'04" | 888 | 12,7 | 8,6 |
| 24 | 27°44'53" | 50°05'12" | 888 | 31,2 | 13,1 |
| 25 | 27°44'47" | 50°05'01" | 887 | 13,3 | 8,9 |
| 26 | 27°45'03" | 50°04'55" | 873 | 19,7 | 6,4 |
| 27 | 27°44'54" | 50°04'50" | 865 | 12,4 | 7,6 |
| 28 | 27°44'44" | 50°04'51" | 847 | 44,9 | 9,2 |
| 29 | 27°44'45" | 50°04'57" | 827 | 15,3 | 8,0 |
| 30 | 27°44'44" | 50°04'58" | 877 | 21,9 | 12,5 |
| 31 | 27°45'09" | 50°04'48" | 850 | 44,5 | 16,6 |
| 32 | 27°45'12" | 50°05'03" | 892 | 44,9 | 17,0 |
| 33 | 27°45'11" | 50°05'11" | 887 | 22,6 | 8,0 |
| 34 | 27°45'10" | 50°04'49" | 871 | 26,7 | 16,0 |
| 35 | 27°44'51" | 50°04'53" | 858 | 28,6 | 14,4 |

APÊNDICE B - Genótipos mais prováveis de 23 famílias (matriz e 15 progênes cada), após análise isoenzimática referentes à estação reprodutiva de 2015 (análise em set./2016)

| Matriz e progênes | PGI | 6PGDH | PGM | SKDH | IDH | PRX | ME | β-EST | DIA |
|--------------------------|------------|--------------|------------|-------------|------------|------------|-----------|--------------|------------|
| 1! MATRIZ | 33 | 23 | 22 | 12 | 33 | 22 | 22 | 11 | 12 |
| 1 progênie 1 | 33 | 22 | 22 | 13 | 23 | 22 | 12 | 11 | 22 |
| 1 progênie2 | 34 | 23 | 22 | 22 | 33 | 22 | 12 | 11 | 22 |
| 1 progênie3 | 33 | 22 | 0 | 22 | 33 | 22 | 22 | 0 | 12 |
| 1 progênie 4 | 33 | 22 | 22 | 11 | 33 | 22 | 22 | 13 | 12 |
| 1 progênie5 | 35 | 0 | 0 | 22 | 34 | 22 | 0 | 0 | 12 |
| 1 progênie6 | 13 | 23 | 22 | 12 | 33 | 22 | 22 | 11 | 22 |
| 1 progênie7 | 33 | 22 | 22 | 12 | 33 | 22 | 22 | 11 | 11 |
| 1 progênie8 | 33 | 24 | 23 | 12 | 33 | 22 | 22 | 11 | 22 |
| 1 progênie9 | 33 | 22 | 22 | 12 | 34 | 22 | 22 | 11 | 22 |
| 1 progên10 | 33 | 23 | 22 | 12 | 33 | 22 | 22 | 11 | 22 |
| 1 progên11 | 33 | 23 | 22 | 12 | 33 | 22 | 22 | 11 | 11 |
| 1 progên12 | 35 | 23 | 22 | 22 | 33 | 12 | 22 | 11 | 22 |
| 1 progên13 | 34 | 23 | 22 | 11 | 33 | 12 | 22 | 11 | 22 |
| 1 progên14 | 33 | 33 | 23 | 12 | 33 | 12 | 22 | 12 | 22 |
| 1 progên15 | 33 | 22 | 22 | 12 | 34 | 22 | 22 | 11 | 22 |
| 2!,matriz | 16 | 22 | 22 | 22 | 23 | 22 | 22 | 23 | 22 |
| 2, | 16 | 23 | 22 | 22 | 23 | 12 | 12 | 23 | 22 |
| 2, | 36 | 22 | 22 | 22 | 33 | 22 | 22 | 13 | 12 |
| 2, | 36 | 22 | 22 | 22 | 23 | 12 | 22 | 12 | 22 |
| 2, | 13 | 12 | 23 | 22 | 23 | 22 | 22 | 12 | 12 |
| 2, | 16 | 0 | 22 | 23 | 0 | 22 | 22 | 0 | 22 |
| 2, | 13 | 22 | 22 | 22 | 33 | 12 | 22 | 33 | 22 |
| 2, | 13 | 22 | 22 | 23 | 23 | 0 | 22 | 13 | 22 |
| 2, | 13 | 23 | 22 | 23 | 23 | 22 | 22 | 13 | 22 |
| 2, | 13 | 22 | 22 | 22 | 13 | 22 | 22 | 13 | 12 |
| 2, | 36 | 23 | 22 | 22 | 23 | 22 | 22 | 13 | 22 |
| 2, | 36 | 22 | 22 | 22 | 33 | 22 | 22 | 12 | 22 |
| 2, | 46 | 22 | 22 | 23 | 12 | 22 | 22 | 12 | 22 |
| 2, | 16 | 22 | 22 | 22 | 12 | 0 | 22 | 23 | 12 |
| 2, | 36 | 22 | 22 | 22 | 12 | 0 | 22 | 13 | 22 |
| 2, | 16 | 22 | 22 | 22 | 12 | 22 | 22 | 33 | 12 |
| 3!,Matriz | 33 | 22 | 22 | 23 | 33 | 22 | 22 | 11 | 22 |
| 3, | 33 | 22 | 23 | 23 | 33 | 22 | 22 | 11 | 22 |
| 3, | 33 | 22 | 23 | 22 | 33 | 22 | 22 | 13 | 22 |
| 3, | 33 | 22 | 22 | 23 | 33 | 22 | 22 | 11 | 22 |
| 3, | 33 | 23 | 22 | 23 | 33 | 22 | 22 | 11 | 22 |
| 3, | 36 | 22 | 22 | 23 | 33 | 22 | 12 | 11 | 12 |
| 3, | 33 | 23 | 23 | 13 | 33 | 22 | 22 | 11 | 22 |
| 3, | 13 | 22 | 22 | 23 | 13 | 22 | 22 | 11 | 22 |
| 3, | 33 | 23 | 22 | 33 | 33 | 22 | 22 | 11 | 22 |

| | | | | | | | | | |
|------------|----|----|----|----|----|----|----|----|----|
| 3, | 13 | 23 | 22 | 22 | 33 | 22 | 22 | 11 | 12 |
| 3, | 33 | 22 | 22 | 23 | 33 | 22 | 22 | 11 | 22 |
| 3, | 33 | 22 | 22 | 23 | 33 | 22 | 22 | 11 | 22 |
| 3, | 33 | 22 | 22 | 23 | 33 | 22 | 22 | 11 | 22 |
| 3, | 34 | 23 | 22 | 22 | 33 | 22 | 22 | 11 | 12 |
| 3, | 33 | 23 | 22 | 33 | 33 | 22 | 22 | 11 | 22 |
| 3, | 35 | 23 | 22 | 22 | 33 | 22 | 22 | 11 | 22 |
| 7!,Matriz | 16 | 12 | 12 | 22 | 33 | 23 | 22 | 11 | 22 |
| 7, | 13 | 12 | 11 | 22 | 33 | 23 | 22 | 11 | 22 |
| 7, | 36 | 12 | 12 | 22 | 33 | 12 | 22 | 11 | 22 |
| 7, | 36 | 22 | 12 | 22 | 33 | 23 | 22 | 11 | 22 |
| 7, | 36 | 23 | 12 | 12 | 33 | 22 | 22 | 11 | 22 |
| 7, | 13 | 22 | 22 | 22 | 23 | 22 | 22 | 11 | 22 |
| 7, | 36 | 22 | 23 | 23 | 33 | 22 | 22 | 11 | 22 |
| 7, | 36 | 12 | 22 | 0 | 33 | 12 | 22 | 11 | 22 |
| 7, | 36 | 23 | 12 | 23 | 33 | 33 | 22 | 12 | 22 |
| 7, | 46 | 22 | 22 | 22 | 33 | 23 | 22 | 11 | 22 |
| 7, | 14 | 13 | 23 | 22 | 34 | 22 | 22 | 11 | 22 |
| 7, | 15 | 13 | 22 | 12 | 33 | 0 | 22 | 11 | 22 |
| 7, | 14 | 12 | 12 | 22 | 33 | 22 | 22 | 11 | 12 |
| 7, | 36 | 12 | 12 | 22 | 33 | 22 | 22 | 11 | 22 |
| 7, | 13 | 23 | 22 | 23 | 33 | 23 | 22 | 11 | 22 |
| 7, | 36 | 22 | 22 | 12 | 33 | 23 | 22 | 11 | 22 |
| 11!,Matriz | 13 | 23 | 12 | 23 | 23 | 22 | 22 | 11 | 12 |
| 11, | 14 | 23 | 22 | 12 | 35 | 22 | 22 | 11 | 22 |
| 11, | 15 | 23 | 23 | 23 | 34 | 22 | 22 | 11 | 22 |
| 11, | 16 | 23 | 0 | 22 | 0 | 22 | 22 | 11 | 22 |
| 11, | 14 | 23 | 12 | 22 | 13 | 22 | 22 | 11 | 22 |
| 11, | 34 | 23 | 12 | 23 | 0 | 22 | 22 | 13 | 22 |
| 11, | 33 | 22 | 0 | 13 | 34 | 22 | 22 | 11 | 22 |
| 11, | 11 | 22 | 22 | 23 | 23 | 22 | 22 | 11 | 12 |
| 11, | 13 | 24 | 12 | 22 | 14 | 22 | 22 | 13 | 12 |
| 11, | 16 | 22 | 0 | 33 | 23 | 22 | 22 | 11 | 22 |
| 11, | 13 | 23 | 22 | 22 | 23 | 22 | 22 | 11 | 22 |
| 11, | 36 | 22 | 12 | 23 | 33 | 22 | 22 | 11 | 12 |
| 11, | 33 | 23 | 12 | 22 | 23 | 22 | 22 | 11 | 12 |
| 11, | 13 | 23 | 12 | 13 | 13 | 22 | 22 | 11 | 22 |
| 11, | 33 | 23 | 11 | 22 | 34 | 22 | 22 | 11 | 12 |
| 11, | 13 | 22 | 12 | 23 | 34 | 22 | 22 | 13 | 12 |
| 12!,Matriz | 33 | 23 | 22 | 13 | 23 | 22 | 22 | 11 | 12 |
| 12, | 33 | 23 | 22 | 23 | 23 | 22 | 22 | 11 | 0 |
| 12, | 36 | 22 | 23 | 33 | 13 | 12 | 22 | 11 | 22 |
| 12, | 33 | 22 | 22 | 13 | 23 | 22 | 22 | 11 | 22 |
| 12, | 33 | 33 | 22 | 23 | 34 | 22 | 22 | 11 | 22 |
| 12, | 36 | 22 | 22 | 13 | 34 | 22 | 22 | 11 | 22 |
| 12, | 33 | 33 | 22 | 23 | 34 | 22 | 22 | 13 | 12 |

| | | | | | | | | | |
|------------|----|----|----|----|----|----|----|----|----|
| 12, | 33 | 23 | 22 | 33 | 23 | 12 | 22 | 11 | 22 |
| 12, | 13 | 23 | 22 | 23 | 23 | 12 | 22 | 11 | 12 |
| 12, | 13 | 23 | 22 | 33 | 33 | 12 | 22 | 11 | 22 |
| 12, | 34 | 23 | 12 | 23 | 23 | 0 | 22 | 11 | 22 |
| 12, | 33 | 22 | 0 | 23 | 0 | 12 | 22 | 11 | 22 |
| 12, | 33 | 22 | 22 | 33 | 33 | 12 | 22 | 11 | 12 |
| 12, | 13 | 22 | 22 | 23 | 23 | 22 | 22 | 11 | 22 |
| 12, | 33 | 33 | 22 | 12 | 33 | 22 | 22 | 11 | 22 |
| 12, | 13 | 23 | 22 | 33 | 23 | 22 | 22 | 11 | 12 |
| 16!,Matriz | 13 | 34 | 22 | 23 | 23 | 22 | 22 | 12 | 22 |
| 16, | 13 | 23 | 22 | 22 | 33 | 22 | 22 | 11 | 22 |
| 16, | 13 | 24 | 22 | 22 | 23 | 22 | 22 | 11 | 22 |
| 16, | 13 | 24 | 22 | 33 | 22 | 12 | 22 | 11 | 22 |
| 16, | 14 | 24 | 22 | 23 | 23 | 22 | 22 | 11 | 22 |
| 16, | 13 | 44 | 22 | 33 | 23 | 22 | 22 | 13 | 22 |
| 16, | 16 | 23 | 22 | 0 | 12 | 12 | 22 | 23 | 22 |
| 16, | 34 | 23 | 22 | 23 | 33 | 12 | 22 | 11 | 22 |
| 16, | 35 | 23 | 22 | 0 | 23 | 12 | 22 | 11 | 22 |
| 16, | 13 | 23 | 22 | 22 | 13 | 22 | 22 | 22 | 22 |
| 16, | 13 | 23 | 22 | 33 | 13 | 12 | 22 | 11 | 22 |
| 16, | 16 | 23 | 22 | 23 | 23 | 22 | 22 | 11 | 22 |
| 16, | 13 | 23 | 22 | 22 | 22 | 22 | 22 | 11 | 22 |
| 16, | 16 | 23 | 22 | 23 | 23 | 22 | 22 | 11 | 22 |
| 16, | 33 | 34 | 22 | 33 | 33 | 22 | 22 | 12 | 22 |
| 16, | 13 | 23 | 22 | 23 | 33 | 22 | 22 | 11 | 22 |
| 17!,Matriz | 36 | 22 | 22 | 23 | 13 | 22 | 22 | 11 | 12 |
| 17, | 36 | 22 | 22 | 22 | 13 | 22 | 22 | 11 | 12 |
| 17, | 13 | 22 | 22 | 13 | 13 | 22 | 22 | 11 | 22 |
| 17, | 33 | 22 | 22 | 33 | 13 | 22 | 22 | 11 | 22 |
| 17, | 33 | 23 | 22 | 13 | 13 | 22 | 22 | 11 | 22 |
| 17, | 16 | 22 | 22 | 23 | 23 | 22 | 22 | 11 | 22 |
| 17, | 36 | 24 | 22 | 23 | 23 | 23 | 22 | 11 | 12 |
| 17, | 13 | 23 | 22 | 23 | 33 | 22 | 22 | 11 | 22 |
| 17, | 66 | 22 | 22 | 13 | 12 | 22 | 22 | 11 | 12 |
| 17, | 36 | 23 | 22 | 23 | 12 | 22 | 22 | 11 | 22 |
| 17, | 36 | 22 | 22 | 23 | 13 | 22 | 22 | 11 | 12 |
| 17, | 66 | 12 | 22 | 33 | 13 | 12 | 22 | 11 | 12 |
| 17, | 66 | 22 | 22 | 23 | 33 | 12 | 22 | 11 | 12 |
| 17, | 36 | 22 | 22 | 23 | 11 | 22 | 22 | 11 | 12 |
| 17, | 36 | 22 | 22 | 23 | 33 | 22 | 22 | 11 | 12 |
| 17, | 46 | 22 | 22 | 22 | 12 | 22 | 22 | 11 | 12 |
| 18!,Matriz | 33 | 22 | 22 | 23 | 33 | 11 | 22 | 11 | 22 |
| 18, | 33 | 22 | 23 | 22 | 33 | 11 | 22 | 13 | 12 |
| 18, | 33 | 12 | 22 | 23 | 33 | 11 | 22 | 11 | 22 |
| 18, | 33 | 23 | 22 | 33 | 33 | 11 | 22 | 11 | 22 |
| 18, | 13 | 22 | 22 | 13 | 34 | 12 | 22 | 11 | 22 |

| | | | | | | | | | |
|------------|----|----|----|----|----|----|----|----|----|
| 18, | 13 | 22 | 22 | 13 | 33 | 12 | 22 | 11 | 22 |
| 18, | 13 | 22 | 22 | 23 | 33 | 11 | 22 | 11 | 22 |
| 18, | 36 | 22 | 22 | 22 | 23 | 13 | 22 | 13 | 22 |
| 18, | 35 | 12 | 22 | 23 | 33 | 11 | 22 | 11 | 22 |
| 18, | 36 | 22 | 22 | 33 | 33 | 11 | 22 | 11 | 22 |
| 18, | 33 | 22 | 22 | 23 | 33 | 13 | 22 | 11 | 22 |
| 18, | 37 | 22 | 22 | 23 | 33 | 13 | 22 | 11 | 22 |
| 18, | 13 | 23 | 22 | 23 | 33 | 11 | 22 | 11 | 22 |
| 18, | 33 | 22 | 22 | 22 | 23 | 12 | 22 | 11 | 12 |
| 18, | 33 | 22 | 22 | 22 | 33 | 11 | 22 | 11 | 22 |
| 18, | 33 | 12 | 22 | 22 | 33 | 11 | 22 | 11 | 22 |
| 19!,Matriz | 33 | 23 | 22 | 33 | 13 | 33 | 22 | 11 | 22 |
| 19, | 33 | 23 | 23 | 23 | 33 | 0 | 22 | 11 | 22 |
| 19, | 36 | 23 | 12 | 33 | 33 | 33 | 22 | 11 | 22 |
| 19, | 33 | 22 | 22 | 23 | 33 | 33 | 22 | 11 | 22 |
| 19, | 33 | 22 | 22 | 23 | 13 | 23 | 22 | 11 | 22 |
| 19, | 33 | 22 | 12 | 33 | 33 | 0 | 22 | 11 | 22 |
| 19, | 36 | 23 | 12 | 13 | 33 | 0 | 22 | 11 | 22 |
| 19, | 33 | 23 | 22 | 33 | 13 | 33 | 22 | 11 | 22 |
| 19, | 36 | 34 | 22 | 23 | 33 | 23 | 22 | 11 | 22 |
| 19, | 33 | 22 | 22 | 13 | 13 | 33 | 22 | 11 | 22 |
| 19, | 33 | 23 | 22 | 33 | 33 | 23 | 22 | 11 | 22 |
| 19, | 33 | 22 | 23 | 33 | 13 | 33 | 22 | 11 | 22 |
| 19, | 0 | 22 | 22 | 33 | 33 | 23 | 22 | 11 | 22 |
| 19, | 33 | 12 | 12 | 33 | 13 | 33 | 22 | 11 | 22 |
| 19, | 33 | 24 | 22 | 23 | 34 | 0 | 22 | 11 | 22 |
| 19, | 13 | 23 | 22 | 13 | 34 | 23 | 22 | 12 | 22 |
| 22!,Matriz | 33 | 34 | 22 | 23 | 13 | 12 | 22 | 11 | 22 |
| 22, | 33 | 24 | 22 | 23 | 23 | 12 | 22 | 11 | 22 |
| 22, | 34 | 34 | 22 | 23 | 23 | 12 | 22 | 11 | 22 |
| 22, | 33 | 34 | 22 | 23 | 13 | 11 | 22 | 11 | 22 |
| 22, | 33 | 23 | 12 | 22 | 23 | 23 | 22 | 11 | 22 |
| 22, | 0 | 23 | 0 | 23 | 33 | 23 | 22 | 13 | 22 |
| 22, | 34 | 23 | 22 | 23 | 12 | 12 | 22 | 11 | 22 |
| 22, | 33 | 34 | 22 | 33 | 33 | 11 | 22 | 13 | 22 |
| 22, | 34 | 34 | 22 | 23 | 13 | 11 | 22 | 11 | 22 |
| 22, | 33 | 44 | 22 | 23 | 13 | 11 | 22 | 11 | 22 |
| 22, | 33 | 34 | 22 | 22 | 23 | 11 | 22 | 13 | 22 |
| 22, | 33 | 34 | 22 | 33 | 13 | 22 | 22 | 11 | 22 |
| 22, | 33 | 23 | 22 | 33 | 13 | 12 | 22 | 13 | 22 |
| 22, | 33 | 34 | 0 | 33 | 13 | 12 | 22 | 11 | 22 |
| 22, | 33 | 23 | 22 | 23 | 13 | 11 | 22 | 11 | 22 |
| 22, | 33 | 44 | 22 | 22 | 23 | 12 | 22 | 13 | 22 |
| 23!,Matriz | 34 | 23 | 12 | 23 | 33 | 12 | 22 | 23 | 12 |
| 23, | 44 | 23 | 12 | 23 | 33 | 12 | 22 | 23 | 22 |
| 23, | 34 | 23 | 11 | 23 | 33 | 12 | 22 | 33 | 12 |

| | | | | | | | | | |
|------------|----|----|----|----|----|----|----|----|----|
| 23, | 36 | 22 | 0 | 23 | 23 | 11 | 22 | 22 | 12 |
| 23, | 34 | 34 | 11 | 22 | 34 | 22 | 22 | 23 | 12 |
| 23, | 14 | 23 | 12 | 23 | 23 | 12 | 22 | 22 | 22 |
| 23, | 44 | 34 | 11 | 23 | 23 | 11 | 22 | 12 | 12 |
| 23, | 33 | 23 | 12 | 13 | 33 | 11 | 22 | 13 | 22 |
| 23, | 45 | 22 | 12 | 23 | 23 | 12 | 22 | 33 | 22 |
| 23, | 13 | 23 | 12 | 12 | 33 | 0 | 22 | 12 | 22 |
| 23, | 44 | 23 | 22 | 23 | 23 | 0 | 22 | 23 | 12 |
| 23, | 34 | 22 | 22 | 33 | 33 | 11 | 22 | 22 | 22 |
| 23, | 34 | 23 | 12 | 23 | 13 | 12 | 22 | 13 | 22 |
| 23, | 45 | 23 | 22 | 22 | 33 | 12 | 22 | 22 | 22 |
| 23, | 34 | 23 | 22 | 23 | 33 | 11 | 22 | 0 | 22 |
| 23, | 34 | 22 | 22 | 33 | 33 | 12 | 22 | 0 | 12 |
| 25!,Matriz | 33 | 22 | 12 | 23 | 33 | 12 | 22 | 11 | 12 |
| 25, | 34 | 0 | 23 | 23 | 33 | 11 | 22 | 11 | 12 |
| 25, | 33 | 22 | 22 | 23 | 34 | 11 | 22 | 11 | 22 |
| 25, | 33 | 22 | 22 | 33 | 33 | 11 | 22 | 11 | 22 |
| 25, | 34 | 23 | 12 | 22 | 33 | 12 | 22 | 11 | 22 |
| 25, | 34 | 22 | 22 | 33 | 33 | 11 | 22 | 11 | 11 |
| 25, | 33 | 23 | 12 | 22 | 33 | 22 | 22 | 11 | 12 |
| 25, | 13 | 23 | 12 | 23 | 33 | 12 | 22 | 11 | 12 |
| 25, | 33 | 22 | 12 | 23 | 33 | 12 | 22 | 11 | 12 |
| 25, | 33 | 24 | 22 | 22 | 33 | 12 | 22 | 11 | 12 |
| 25, | 33 | 22 | 22 | 13 | 33 | 0 | 22 | 11 | 22 |
| 25, | 33 | 22 | 24 | 22 | 33 | 11 | 22 | 11 | 22 |
| 25, | 33 | 24 | 12 | 22 | 33 | 12 | 22 | 11 | 12 |
| 25, | 34 | 23 | 22 | 23 | 33 | 11 | 22 | 11 | 12 |
| 25, | 33 | 23 | 22 | 23 | 33 | 0 | 22 | 11 | 12 |
| 25, | 33 | 23 | 12 | 22 | 33 | 12 | 22 | 11 | 12 |
| 26!,Matriz | 13 | 34 | 24 | 12 | 33 | 22 | 22 | 11 | 12 |
| 26, | 13 | 23 | 24 | 22 | 23 | 12 | 22 | 11 | 22 |
| 26, | 33 | 34 | 24 | 22 | 33 | 22 | 22 | 11 | 22 |
| 26, | 13 | 34 | 24 | 22 | 33 | 22 | 22 | 11 | 22 |
| 26, | 13 | 34 | 24 | 12 | 34 | 0 | 22 | 11 | 22 |
| 26, | 13 | 45 | 24 | 22 | 33 | 12 | 22 | 11 | 22 |
| 26, | 33 | 34 | 22 | 22 | 33 | 12 | 22 | 11 | 22 |
| 26, | 13 | 34 | 22 | 13 | 34 | 22 | 22 | 11 | 22 |
| 26, | 13 | 23 | 22 | 12 | 33 | 0 | 22 | 11 | 22 |
| 26, | 11 | 34 | 24 | 11 | 23 | 0 | 22 | 11 | 22 |
| 26, | 34 | 34 | 22 | 22 | 33 | 12 | 22 | 11 | 22 |
| 26, | 13 | 0 | 24 | 22 | 33 | 22 | 22 | 11 | 22 |
| 26, | 33 | 34 | 34 | 22 | 33 | 12 | 22 | 11 | 22 |
| 26, | 13 | 44 | 22 | 12 | 33 | 22 | 22 | 11 | 12 |
| 26, | 33 | 34 | 24 | 12 | 33 | 22 | 22 | 11 | 12 |
| 26, | 33 | 23 | 22 | 22 | 33 | 22 | 22 | 11 | 12 |
| 27!,Matriz | 33 | 22 | 22 | 23 | 34 | 12 | 22 | 11 | 22 |

| | | | | | | | | | |
|------------|----|----|----|----|----|----|----|----|----|
| 27, | 13 | 0 | 12 | 23 | 33 | 12 | 22 | 11 | 22 |
| 27, | 33 | 12 | 22 | 23 | 33 | 12 | 22 | 11 | 22 |
| 27, | 33 | 22 | 22 | 22 | 34 | 12 | 22 | 11 | 22 |
| 27, | 35 | 22 | 22 | 23 | 34 | 22 | 22 | 11 | 22 |
| 27, | 33 | 22 | 22 | 22 | 34 | 22 | 22 | 11 | 12 |
| 27, | 13 | 22 | 22 | 22 | 34 | 12 | 22 | 11 | 22 |
| 27, | 33 | 22 | 22 | 23 | 33 | 11 | 22 | 11 | 22 |
| 27, | 33 | 23 | 22 | 22 | 34 | 22 | 23 | 12 | 12 |
| 27, | 33 | 23 | 22 | 23 | 34 | 12 | 22 | 11 | 22 |
| 27, | 13 | 22 | 23 | 23 | 34 | 22 | 22 | 11 | 22 |
| 27, | 35 | 22 | 22 | 22 | 34 | 11 | 23 | 11 | 12 |
| 27, | 33 | 22 | 22 | 23 | 33 | 11 | 22 | 11 | 22 |
| 27, | 33 | 23 | 12 | 23 | 33 | 22 | 22 | 11 | 22 |
| 27, | 33 | 23 | 22 | 33 | 44 | 12 | 22 | 11 | 12 |
| 27, | 33 | 23 | 22 | 23 | 34 | 12 | 22 | 11 | 22 |
| 28!,Matriz | 16 | 33 | 22 | 33 | 23 | 12 | 22 | 11 | 12 |
| 28, | 15 | 23 | 23 | 33 | 23 | 12 | 22 | 11 | 22 |
| 28, | 16 | 23 | 23 | 23 | 34 | 12 | 22 | 11 | 22 |
| 28, | 11 | 33 | 23 | 33 | 22 | 11 | 22 | 11 | 22 |
| 28, | 36 | 33 | 23 | 33 | 23 | 11 | 22 | 11 | 12 |
| 28, | 13 | 23 | 0 | 33 | 23 | 11 | 22 | 11 | 11 |
| 28, | 16 | 23 | 22 | 33 | 12 | 11 | 22 | 11 | 22 |
| 28, | 16 | 33 | 22 | 33 | 23 | 12 | 22 | 11 | 22 |
| 28, | 36 | 23 | 22 | 33 | 23 | 11 | 22 | 13 | 22 |
| 28, | 67 | 33 | 23 | 23 | 23 | 11 | 22 | 11 | 22 |
| 28, | 16 | 23 | 23 | 23 | 33 | 11 | 22 | 11 | 22 |
| 28, | 36 | 23 | 23 | 33 | 34 | 12 | 22 | 11 | 22 |
| 28, | 13 | 23 | 22 | 23 | 13 | 12 | 22 | 11 | 22 |
| 28, | 13 | 34 | 22 | 23 | 33 | 12 | 22 | 11 | 12 |
| 28, | 16 | 33 | 22 | 33 | 23 | 11 | 22 | 13 | 12 |
| 28, | 13 | 23 | 22 | 23 | 23 | 22 | 22 | 11 | 12 |
| 29!,Matriz | 57 | 12 | 23 | 13 | 23 | 22 | 22 | 23 | 12 |
| 29, | 35 | 23 | 33 | 13 | 12 | 22 | 22 | 22 | 11 |
| 29, | 37 | 12 | 22 | 12 | 34 | 12 | 22 | 22 | 22 |
| 29, | 35 | 23 | 23 | 11 | 34 | 22 | 22 | 23 | 12 |
| 29, | 67 | 12 | 23 | 13 | 23 | 12 | 22 | 23 | 12 |
| 29, | 35 | 23 | 0 | 13 | 23 | 22 | 22 | 22 | 12 |
| 29, | 35 | 12 | 24 | 0 | 0 | 22 | 23 | 22 | 12 |
| 29, | 35 | 12 | 23 | 23 | 23 | 22 | 22 | 33 | 22 |
| 29, | 35 | 11 | 23 | 12 | 23 | 12 | 22 | 22 | 12 |
| 29, | 35 | 12 | 33 | 23 | 23 | 22 | 22 | 22 | 12 |
| 29, | 35 | 11 | 23 | 23 | 33 | 12 | 22 | 23 | 12 |
| 29, | 35 | 23 | 23 | 12 | 23 | 12 | 22 | 23 | 11 |
| 29, | 45 | 11 | 24 | 13 | 12 | 22 | 22 | 22 | 12 |
| 29, | 35 | 11 | 23 | 13 | 23 | 22 | 0 | 22 | 22 |
| 29, | 35 | 12 | 22 | 13 | 23 | 22 | 22 | 22 | 22 |

| | | | | | | | | | |
|------------|----|----|----|----|----|----|----|----|----|
| 29, | 35 | 12 | 24 | 13 | 33 | 12 | 22 | 22 | 22 |
| 30!,Matriz | 45 | 22 | 22 | 22 | 12 | 22 | 22 | 23 | 11 |
| 30, | 14 | 23 | 12 | 23 | 12 | 22 | 22 | 23 | 11 |
| 30, | 34 | 22 | 12 | 22 | 22 | 22 | 22 | 23 | 11 |
| 30, | 35 | 23 | 22 | 23 | 11 | 22 | 22 | 23 | 12 |
| 30, | 34 | 22 | 22 | 23 | 12 | 12 | 22 | 23 | 12 |
| 30, | 45 | 22 | 22 | 12 | 12 | 12 | 22 | 23 | 11 |
| 30, | 35 | 23 | 12 | 22 | 12 | 12 | 22 | 33 | 12 |
| 30, | 35 | 22 | 23 | 12 | 12 | 22 | 22 | 23 | 12 |
| 30, | 15 | 22 | 22 | 22 | 12 | 22 | 22 | 23 | 11 |
| 30, | 35 | 12 | 12 | 23 | 12 | 12 | 22 | 23 | 0 |
| 30, | 35 | 12 | 22 | 22 | 22 | 22 | 22 | 33 | 12 |
| 30, | 46 | 22 | 22 | 22 | 12 | 12 | 22 | 23 | 12 |
| 30, | 46 | 22 | 22 | 22 | 12 | 22 | 22 | 13 | 12 |
| 30, | 35 | 22 | 22 | 22 | 22 | 12 | 22 | 23 | 11 |
| 30, | 34 | 22 | 22 | 22 | 12 | 22 | 22 | 0 | 11 |
| 30, | 46 | 22 | 22 | 22 | 22 | 12 | 22 | 0 | 11 |
| 31!,Matriz | 33 | 23 | 0 | 23 | 33 | 12 | 22 | 11 | 22 |
| 31, | 36 | 23 | 0 | 23 | 33 | 12 | 22 | 11 | 22 |
| 31, | 33 | 23 | 0 | 23 | 33 | 12 | 22 | 11 | 12 |
| 31, | 33 | 23 | 0 | 23 | 33 | 11 | 22 | 12 | 22 |
| 31, | 33 | 23 | 0 | 23 | 33 | 0 | 22 | 12 | 22 |
| 31, | 33 | 23 | 0 | 23 | 33 | 0 | 22 | 12 | 22 |
| 31, | 33 | 34 | 0 | 0 | 33 | 22 | 22 | 11 | 22 |
| 31, | 36 | 23 | 0 | 23 | 23 | 23 | 22 | 11 | 22 |
| 31, | 13 | 23 | 0 | 33 | 13 | 22 | 22 | 11 | 12 |
| 31, | 13 | 34 | 0 | 23 | 33 | 22 | 22 | 12 | 12 |
| 31, | 33 | 23 | 0 | 23 | 33 | 11 | 22 | 11 | 22 |
| 31, | 33 | 23 | 0 | 33 | 33 | 11 | 22 | 12 | 22 |
| 31, | 33 | 34 | 0 | 23 | 23 | 12 | 22 | 11 | 22 |
| 31, | 33 | 23 | 0 | 33 | 33 | 22 | 22 | 11 | 22 |
| 31, | 33 | 23 | 0 | 23 | 33 | 22 | 22 | 12 | 22 |
| 31, | 33 | 23 | 0 | 22 | 33 | 22 | 22 | 11 | 22 |
| 32!,Matriz | 13 | 12 | 0 | 12 | 33 | 22 | 22 | 12 | 22 |
| 32, | 15 | 23 | 0 | 0 | 23 | 22 | 22 | 11 | 22 |
| 32, | 13 | 11 | 0 | 12 | 33 | 22 | 22 | 12 | 22 |
| 32, | 13 | 23 | 0 | 11 | 34 | 22 | 22 | 11 | 22 |
| 32, | 13 | 22 | 0 | 22 | 33 | 23 | 22 | 11 | 22 |
| 32, | 13 | 22 | 0 | 22 | 33 | 22 | 22 | 22 | 22 |
| 32, | 13 | 12 | 0 | 11 | 23 | 22 | 22 | 12 | 22 |
| 32, | 13 | 11 | 0 | 11 | 33 | 12 | 22 | 22 | 22 |
| 32, | 37 | 23 | 0 | 22 | 34 | 22 | 22 | 12 | 22 |
| 32, | 11 | 12 | 0 | 22 | 33 | 12 | 22 | 12 | 22 |
| 32, | 11 | 11 | 0 | 12 | 33 | 22 | 22 | 12 | 22 |
| 32, | 36 | 23 | 0 | 11 | 23 | 23 | 22 | 22 | 22 |
| 32, | 13 | 11 | 0 | 12 | 33 | 22 | 22 | 12 | 22 |

| | | | | | | | | | |
|------------|----|----|---|----|----|----|----|----|----|
| 32, | 33 | 12 | 0 | 12 | 33 | 22 | 22 | 12 | 22 |
| 32, | 35 | 23 | 0 | 12 | 33 | 22 | 22 | 24 | 22 |
| 32, | 33 | 22 | 0 | 11 | 33 | 22 | 23 | 12 | 22 |
| 33!,Matriz | 35 | 23 | 0 | 23 | 23 | 22 | 22 | 11 | 12 |
| 33, | 33 | 34 | 0 | 23 | 23 | 22 | 22 | 11 | 22 |
| 33, | 15 | 22 | 0 | 23 | 13 | 22 | 22 | 13 | 12 |
| 33, | 15 | 23 | 0 | 22 | 33 | 12 | 22 | 13 | 22 |
| 33, | 15 | 34 | 0 | 33 | 23 | 22 | 22 | 11 | 12 |
| 33, | 55 | 22 | 0 | 23 | 12 | 22 | 23 | 11 | 11 |
| 33, | 33 | 22 | 0 | 22 | 22 | 23 | 22 | 11 | 22 |
| 33, | 35 | 23 | 0 | 23 | 23 | 23 | 22 | 11 | 11 |
| 33, | 33 | 23 | 0 | 12 | 23 | 22 | 22 | 11 | 22 |
| 33, | 35 | 23 | 0 | 23 | 23 | 22 | 22 | 12 | 22 |
| 33, | 33 | 22 | 0 | 23 | 22 | 22 | 22 | 11 | 22 |
| 33, | 15 | 23 | 0 | 23 | 23 | 22 | 22 | 13 | 12 |
| 33, | 55 | 22 | 0 | 23 | 23 | 22 | 22 | 11 | 12 |
| 33, | 35 | 22 | 0 | 23 | 33 | 22 | 22 | 12 | 22 |
| 33, | 45 | 34 | 0 | 23 | 33 | 23 | 22 | 12 | 22 |
| 33, | 45 | 23 | 0 | 33 | 23 | 22 | 22 | 11 | 22 |
| 34!,Matriz | 13 | 23 | 0 | 22 | 13 | 12 | 22 | 13 | 22 |
| 34, | 16 | 13 | 0 | 23 | 12 | 12 | 22 | 11 | 22 |
| 34, | 33 | 13 | 0 | 22 | 23 | 12 | 22 | 13 | 22 |
| 34, | 13 | 34 | 0 | 22 | 13 | 12 | 22 | 11 | 12 |
| 34, | 35 | 13 | 0 | 22 | 13 | 11 | 22 | 33 | 22 |
| 34, | 16 | 23 | 0 | 23 | 13 | 22 | 22 | 13 | 22 |
| 34, | 13 | 0 | 0 | 0 | 13 | 22 | 22 | 0 | 22 |
| 34, | 36 | 34 | 0 | 22 | 23 | 12 | 22 | 33 | 22 |
| 34, | 13 | 23 | 0 | 23 | 13 | 12 | 22 | 11 | 22 |
| 34, | 33 | 23 | 0 | 22 | 33 | 12 | 22 | 11 | 12 |
| 34, | 36 | 23 | 0 | 22 | 13 | 22 | 23 | 12 | 22 |
| 34, | 33 | 23 | 0 | 23 | 13 | 11 | 22 | 13 | 12 |
| 34, | 33 | 23 | 0 | 22 | 23 | 22 | 22 | 11 | 22 |
| 34, | 16 | 23 | 0 | 22 | 23 | 22 | 22 | 0 | 22 |
| 34, | 13 | 23 | 0 | 22 | 23 | 12 | 22 | 11 | 22 |
| 34, | 34 | 23 | 0 | 23 | 13 | 11 | 22 | 13 | 22 |
| 35!,Matriz | 36 | 23 | 0 | 23 | 34 | 11 | 22 | 11 | 12 |
| 35, | 67 | 23 | 0 | 23 | 23 | 12 | 22 | 11 | 12 |
| 35, | 13 | 23 | 0 | 22 | 33 | 0 | 12 | 11 | 22 |
| 35, | 16 | 22 | 0 | 33 | 33 | 12 | 22 | 11 | 22 |
| 35, | 36 | 23 | 0 | 23 | 23 | 11 | 22 | 12 | 12 |
| 35, | 33 | 22 | 0 | 33 | 33 | 11 | 22 | 11 | 12 |
| 35, | 36 | 23 | 0 | 22 | 34 | 0 | 22 | 11 | 12 |
| 35, | 35 | 22 | 0 | 23 | 23 | 11 | 22 | 13 | 12 |
| 35, | 36 | 23 | 0 | 23 | 23 | 0 | 22 | 11 | 12 |
| 35, | 36 | 12 | 0 | 33 | 33 | 11 | 22 | 11 | 12 |
| 35, | 36 | 23 | 0 | 23 | 34 | 11 | 22 | 11 | 12 |

| | | | | | | | | | |
|-----|----|----|---|----|----|----|----|----|----|
| 35, | 56 | 23 | 0 | 33 | 34 | 11 | 22 | 13 | 12 |
| 35, | 37 | 23 | 0 | 22 | 34 | 12 | 22 | 11 | 22 |
| 35, | 33 | 23 | 0 | 13 | 45 | 11 | 22 | 11 | 12 |
| 35, | 36 | 23 | 0 | 23 | 34 | 0 | 22 | 11 | 12 |
| 35, | 67 | 23 | 0 | 23 | 23 | 11 | 22 | 11 | 12 |

*Algarismos com ponto de exclamação na 1ª coluna da esquerda (início de cada série numérica), representam a árvore matriz de cada família. Os demais 15 números repetidos abaixo da matriz, sem o ponto de exclamação, representam as respectivas progênes.

Fonte: Elaborado pelo autor, 2016.

APÊNDICE C - Genótipos mais prováveis de 23 famílias (matriz e 15 progênes cada), após análise isoenzimática referentes à estação reprodutiva de 2016 (análise em jul./2017)

| Matriz e progênes | PGI | 6PGDH | PGM | SKDH | IDH | PRX | ME | β-EST | DIA |
|--------------------------|------------|--------------|------------|-------------|------------|------------|-----------|--------------|------------|
| 1!, matriz | 33 | 23 | 22 | 12 | 33 | 22 | 22 | 11 | 12 |
| 1 progên1 | 13 | 23 | 22 | 22 | 33 | 22 | 22 | 11 | 12 |
| 1 progên2 | 33 | 33 | 22 | 22 | 33 | 23 | 22 | 11 | 12 |
| 1 progên3 | 33 | 23 | 22 | 12 | 33 | 23 | 22 | 11 | 22 |
| 1 progên4 | 33 | 22 | 23 | 22 | 33 | 22 | 22 | 11 | 12 |
| 1 progên5 | 33 | 23 | 22 | 22 | 13 | 22 | 22 | 11 | 12 |
| 1 progên6 | 33 | 22 | 22 | 11 | 33 | 22 | 22 | 12 | 12 |
| 1 progên7 | 33 | 23 | 23 | 22 | 33 | 22 | 22 | 11 | 22 |
| 1 progên8 | 33 | 23 | 22 | 23 | 33 | 22 | 22 | 11 | 22 |
| 1 progên9 | 33 | 22 | 22 | 22 | 33 | 23 | 22 | 11 | 22 |
| 1 progên10 | 33 | 23 | 22 | 22 | 23 | 22 | 22 | 11 | 22 |
| 1 progên11 | 33 | 23 | 22 | 22 | 23 | 22 | 22 | 11 | 12 |
| 1 progên12 | 33 | 22 | 22 | 23 | 33 | 22 | 22 | 11 | 22 |
| 1 progên13 | 33 | 23 | 22 | 23 | 33 | 22 | 22 | 11 | 12 |
| 1 progên14 | 33 | 23 | 22 | 12 | 23 | 22 | 22 | 11 | 22 |
| 1 progên15 | 33 | 23 | 22 | 12 | 13 | 22 | 22 | 11 | 22 |
| 2!, matriz | 16 | 22 | 22 | 22 | 23 | 22 | 22 | 23 | 22 |
| 2, | 66 | 22 | 22 | 22 | 12 | 22 | 22 | 33 | 22 |
| 2, | 14 | 22 | 22 | 22 | 33 | 22 | 22 | 13 | 22 |
| 2, | 36 | 22 | 22 | 23 | 12 | 12 | 22 | 22 | 22 |
| 2, | 36 | 22 | 22 | 23 | 12 | 22 | 22 | 13 | 22 |
| 2, | 15 | 22 | 22 | 12 | 12 | 0 | 22 | 13 | 22 |
| 2, | 66 | 22 | 22 | 22 | 12 | 22 | 22 | 13 | 22 |
| 2, | 16 | 22 | 22 | 22 | 12 | 22 | 22 | 23 | 12 |
| 2, | 14 | 22 | 22 | 22 | 12 | 22 | 22 | 13 | 12 |
| 2, | 14 | 22 | 22 | 22 | 23 | 22 | 22 | 13 | 12 |
| 2, | 11 | 22 | 22 | 22 | 23 | 22 | 22 | 33 | 22 |
| 2, | 56 | 22 | 22 | 22 | 23 | 12 | 22 | 12 | 12 |
| 2, | 13 | 22 | 22 | 22 | 12 | 22 | 22 | 13 | 22 |
| 2, | 36 | 22 | 22 | 22 | 13 | 22 | 22 | 22 | 22 |
| 2, | 66 | 22 | 22 | 22 | 33 | 0 | 22 | 22 | 22 |
| 2, | 11 | 23 | 22 | 22 | 23 | 23 | 22 | 22 | 22 |
| 3!, matriz | 33 | 22 | 22 | 23 | 33 | 22 | 22 | 11 | 22 |
| 3, | 34 | 22 | 22 | 23 | 33 | 22 | 22 | 11 | 22 |
| 3, | 34 | 22 | 23 | 33 | 23 | 12 | 22 | 11 | 12 |
| 3, | 35 | 22 | 22 | 33 | 33 | 22 | 22 | 11 | 22 |
| 3, | 34 | 22 | 22 | 23 | 33 | 22 | 22 | 11 | 22 |
| 3, | 36 | 22 | 22 | 22 | 23 | 22 | 22 | 12 | 12 |

| | | | | | | | | | |
|------------|----|----|----|----|----|----|----|----|----|
| 3, | 33 | 23 | 22 | 33 | 33 | 22 | 22 | 11 | 22 |
| 3, | 13 | 22 | 22 | 23 | 23 | 22 | 22 | 12 | 12 |
| 3, | 33 | 22 | 22 | 22 | 13 | 22 | 22 | 11 | 12 |
| 3, | 33 | 22 | 22 | 33 | 33 | 22 | 22 | 11 | 22 |
| 3, | 33 | 22 | 22 | 33 | 33 | 22 | 22 | 11 | 22 |
| 3, | 33 | 22 | 22 | 23 | 33 | 22 | 22 | 11 | 12 |
| 3, | 33 | 22 | 22 | 23 | 33 | 22 | 22 | 11 | 22 |
| 3, | 36 | 22 | 22 | 22 | 33 | 22 | 22 | 11 | 22 |
| 3, | 33 | 22 | 22 | 22 | 33 | 23 | 22 | 11 | 22 |
| 3, | 33 | 22 | 22 | 22 | 33 | 22 | 22 | 11 | 22 |
| 7!,matriz | 16 | 12 | 12 | 22 | 33 | 23 | 22 | 11 | 22 |
| 7, | 66 | 12 | 11 | 12 | 33 | 13 | 22 | 11 | 22 |
| 7, | 46 | 12 | 12 | 22 | 23 | 0 | 22 | 11 | 22 |
| 7, | 14 | 12 | 23 | 22 | 23 | 22 | 22 | 11 | 22 |
| 7, | 13 | 23 | 12 | 22 | 23 | 23 | 22 | 11 | 22 |
| 7, | 14 | 22 | 12 | 0 | 33 | 12 | 22 | 11 | 22 |
| 7, | 13 | 12 | 12 | 22 | 23 | 22 | 22 | 11 | 22 |
| 7, | 13 | 22 | 13 | 22 | 23 | 22 | 22 | 13 | 22 |
| 7, | 66 | 12 | 22 | 22 | 33 | 0 | 22 | 12 | 22 |
| 7, | 13 | 22 | 12 | 22 | 33 | 22 | 22 | 11 | 22 |
| 7, | 14 | 12 | 0 | 23 | 33 | 22 | 22 | 11 | 22 |
| 7, | 13 | 23 | 12 | 23 | 33 | 12 | 22 | 12 | 22 |
| 7, | 16 | 22 | 22 | 23 | 23 | 23 | 22 | 11 | 22 |
| 7, | 14 | 13 | 13 | 0 | 33 | 22 | 22 | 11 | 22 |
| 7, | 66 | 12 | 12 | 0 | 23 | 22 | 22 | 11 | 22 |
| 7, | 13 | 23 | 12 | 23 | 23 | 12 | 22 | 11 | 22 |
| 11!,matriz | 13 | 23 | 12 | 23 | 23 | 22 | 22 | 11 | 12 |
| 11, | 34 | 22 | 12 | 23 | 23 | 22 | 22 | 11 | 12 |
| 11, | 16 | 22 | 11 | 23 | 23 | 22 | 22 | 11 | 12 |
| 11, | 16 | 22 | 23 | 13 | 23 | 22 | 22 | 11 | 22 |
| 11, | 33 | 22 | 12 | 13 | 12 | 22 | 12 | 11 | 0 |
| 11, | 13 | 23 | 12 | 22 | 33 | 22 | 22 | 11 | 22 |
| 11, | 33 | 22 | 12 | 22 | 23 | 22 | 22 | 11 | 12 |
| 11, | 33 | 23 | 0 | 23 | 33 | 22 | 22 | 11 | 22 |
| 11, | 13 | 23 | 11 | 12 | 22 | 22 | 22 | 11 | 22 |
| 11, | 34 | 23 | 11 | 23 | 23 | 22 | 22 | 11 | 12 |
| 11, | 33 | 22 | 12 | 22 | 22 | 22 | 22 | 11 | 12 |
| 11, | 13 | 22 | 11 | 33 | 23 | 22 | 22 | 11 | 12 |
| 11, | 13 | 23 | 12 | 23 | 23 | 22 | 22 | 11 | 0 |
| 11, | 14 | 22 | 0 | 23 | 23 | 22 | 22 | 11 | 22 |
| 11, | 34 | 22 | 0 | 23 | 0 | 22 | 22 | 11 | 0 |
| 11, | 13 | 0 | 0 | 0 | 0 | 22 | 22 | 11 | 0 |
| 12!,matriz | 33 | 23 | 22 | 13 | 23 | 22 | 22 | 11 | 12 |
| 12, | 35 | 22 | 12 | 13 | 33 | 22 | 22 | 11 | 22 |

| | | | | | | | | | |
|------------|----|----|----|----|----|----|----|----|----|
| 12, | 33 | 22 | 22 | 33 | 33 | 22 | 22 | 11 | 22 |
| 12, | 34 | 22 | 22 | 23 | 23 | 22 | 22 | 11 | 12 |
| 12, | 33 | 22 | 0 | 0 | 33 | 23 | 12 | 11 | 22 |
| 12, | 36 | 23 | 12 | 33 | 22 | 22 | 22 | 11 | 12 |
| 12, | 33 | 22 | 22 | 12 | 33 | 12 | 22 | 11 | 12 |
| 12, | 13 | 23 | 12 | 33 | 23 | 22 | 22 | 11 | 22 |
| 12, | 33 | 23 | 12 | 23 | 23 | 23 | 22 | 11 | 12 |
| 12, | 13 | 22 | 22 | 33 | 23 | 22 | 22 | 11 | 22 |
| 12, | 33 | 23 | 22 | 0 | 23 | 22 | 22 | 11 | 22 |
| 12, | 35 | 33 | 22 | 33 | 23 | 22 | 22 | 13 | 12 |
| 12, | 33 | 23 | 12 | 23 | 23 | 22 | 22 | 13 | 12 |
| 12, | 33 | 34 | 22 | 13 | 23 | 22 | 22 | 13 | 12 |
| 12, | 33 | 23 | 22 | 12 | 23 | 22 | 22 | 11 | 22 |
| 12, | 33 | 23 | 22 | 13 | 23 | 22 | 22 | 11 | 22 |
| 16!,matriz | 13 | 34 | 22 | 23 | 23 | 22 | 22 | 12 | 22 |
| 16, | 33 | 34 | 22 | 23 | 13 | 22 | 22 | 11 | 22 |
| 16, | 33 | 23 | 12 | 33 | 33 | 22 | 22 | 11 | 22 |
| 16, | 33 | 44 | 22 | 22 | 33 | 0 | 22 | 12 | 22 |
| 16, | 34 | 33 | 22 | 23 | 33 | 0 | 22 | 11 | 22 |
| 16, | 13 | 23 | 22 | 33 | 33 | 22 | 22 | 11 | 22 |
| 16, | 33 | 34 | 22 | 23 | 23 | 23 | 22 | 12 | 22 |
| 16, | 11 | 34 | 22 | 22 | 23 | 0 | 22 | 11 | 12 |
| 16, | 14 | 34 | 23 | 23 | 12 | 0 | 22 | 12 | 22 |
| 16, | 36 | 34 | 22 | 22 | 23 | 22 | 22 | 11 | 22 |
| 16, | 13 | 34 | 23 | 33 | 23 | 0 | 22 | 22 | 22 |
| 16, | 11 | 44 | 0 | 22 | 23 | 0 | 22 | 22 | 22 |
| 16, | 36 | 0 | 0 | 0 | 12 | 22 | 22 | 13 | 22 |
| 16, | 13 | 0 | 22 | 23 | 33 | 23 | 22 | 0 | 22 |
| 16, | 13 | 34 | 22 | 23 | 23 | 0 | 22 | 12 | 22 |
| 16, | 13 | 23 | 22 | 22 | 13 | 22 | 22 | 11 | 22 |
| 17!,matriz | 36 | 22 | 22 | 23 | 13 | 22 | 22 | 11 | 12 |
| 17, | 13 | 23 | 23 | 23 | 13 | 22 | 22 | 11 | 22 |
| 17, | 33 | 22 | 23 | 23 | 33 | 23 | 22 | 11 | 22 |
| 17, | 36 | 23 | 22 | 23 | 13 | 22 | 22 | 11 | 12 |
| 17, | 66 | 22 | 22 | 23 | 33 | 0 | 22 | 11 | 22 |
| 17, | 36 | 22 | 22 | 23 | 13 | 22 | 22 | 11 | 22 |
| 17, | 33 | 22 | 22 | 33 | 13 | 23 | 22 | 11 | 22 |
| 17, | 16 | 22 | 22 | 22 | 13 | 22 | 22 | 11 | 12 |
| 17, | 33 | 23 | 22 | 23 | 23 | 23 | 22 | 11 | 22 |
| 17, | 33 | 22 | 22 | 33 | 13 | 22 | 22 | 12 | 22 |
| 17, | 36 | 22 | 22 | 22 | 33 | 22 | 22 | 11 | 22 |
| 17, | 66 | 22 | 24 | 23 | 13 | 22 | 22 | 11 | 12 |
| 17, | 33 | 23 | 0 | 23 | 13 | 0 | 22 | 0 | 22 |
| 17, | 36 | 0 | 0 | 23 | 33 | 22 | 22 | 0 | 11 |

| | | | | | | | | | |
|------------|----|----|----|----|----|----|----|----|----|
| 17, | 36 | 22 | 22 | 13 | 13 | 0 | 22 | 11 | 22 |
| 17, | 33 | 22 | 22 | 23 | 13 | 22 | 22 | 11 | 22 |
| 18!,matriz | 33 | 22 | 22 | 23 | 33 | 11 | 22 | 11 | 22 |
| 18, | 33 | 22 | 22 | 23 | 33 | 11 | 22 | 11 | 22 |
| 18, | 33 | 12 | 12 | 22 | 33 | 11 | 22 | 11 | 22 |
| 18, | 33 | 22 | 22 | 23 | 34 | 12 | 22 | 12 | 22 |
| 18, | 33 | 22 | 22 | 23 | 33 | 11 | 22 | 11 | 22 |
| 18, | 33 | 22 | 22 | 23 | 33 | 12 | 22 | 0 | 22 |
| 18, | 33 | 22 | 22 | 0 | 33 | 12 | 22 | 11 | 22 |
| 18, | 33 | 23 | 22 | 33 | 33 | 12 | 22 | 11 | 22 |
| 18, | 33 | 23 | 22 | 23 | 33 | 11 | 22 | 11 | 22 |
| 18, | 33 | 22 | 22 | 33 | 13 | 12 | 22 | 11 | 22 |
| 18, | 13 | 22 | 22 | 33 | 33 | 11 | 22 | 0 | 22 |
| 18, | 33 | 22 | 22 | 0 | 33 | 0 | 22 | 11 | 22 |
| 18, | 35 | 22 | 22 | 23 | 33 | 0 | 22 | 11 | 22 |
| 18, | 33 | 22 | 22 | 23 | 33 | 12 | 22 | 11 | 22 |
| 18, | 13 | 23 | 22 | 23 | 23 | 12 | 22 | 11 | 22 |
| 18, | 33 | 23 | 22 | 33 | 33 | 11 | 22 | 11 | 22 |
| 19!,matriz | 33 | 23 | 22 | 33 | 13 | 33 | 22 | 11 | 22 |
| 19, | 34 | 23 | 22 | 33 | 33 | 33 | 22 | 11 | 22 |
| 19, | 35 | 23 | 22 | 33 | 13 | 33 | 22 | 11 | 22 |
| 19, | 34 | 23 | 12 | 33 | 33 | 33 | 22 | 11 | 22 |
| 19, | 33 | 23 | 0 | 23 | 12 | 23 | 22 | 11 | 22 |
| 19, | 33 | 22 | 22 | 33 | 13 | 33 | 22 | 11 | 22 |
| 19, | 13 | 23 | 22 | 23 | 13 | 33 | 22 | 11 | 22 |
| 19, | 35 | 23 | 22 | 33 | 23 | 23 | 22 | 11 | 22 |
| 19, | 34 | 22 | 22 | 13 | 33 | 33 | 22 | 11 | 22 |
| 19, | 35 | 23 | 22 | 0 | 33 | 23 | 22 | 11 | 22 |
| 19, | 33 | 22 | 22 | 33 | 12 | 0 | 22 | 11 | 22 |
| 19, | 36 | 33 | 22 | 33 | 13 | 23 | 22 | 11 | 22 |
| 19, | 13 | 22 | 22 | 33 | 13 | 23 | 22 | 11 | 22 |
| 19, | 33 | 23 | 22 | 33 | 13 | 33 | 22 | 11 | 22 |
| 19, | 36 | 23 | 22 | 33 | 33 | 33 | 22 | 11 | 22 |
| 19, | 36 | 23 | 22 | 23 | 13 | 0 | 22 | 11 | 22 |
| 22!,matriz | 33 | 34 | 22 | 23 | 13 | 12 | 22 | 11 | 22 |
| 22, | 13 | 34 | 12 | 23 | 23 | 22 | 22 | 11 | 22 |
| 22, | 33 | 34 | 12 | 13 | 13 | 12 | 22 | 11 | 22 |
| 22, | 36 | 34 | 0 | 23 | 23 | 12 | 22 | 11 | 22 |
| 22, | 33 | 34 | 12 | 23 | 33 | 12 | 22 | 11 | 22 |
| 22, | 33 | 34 | 22 | 13 | 13 | 11 | 22 | 11 | 12 |
| 22, | 33 | 34 | 22 | 22 | 23 | 22 | 22 | 11 | 22 |
| 22, | 34 | 34 | 22 | 33 | 13 | 11 | 22 | 11 | 22 |
| 22, | 34 | 44 | 12 | 22 | 33 | 0 | 22 | 11 | 22 |
| 22, | 33 | 44 | 0 | 22 | 13 | 0 | 22 | 11 | 22 |

| | | | | | | | | | |
|------------|----|----|----|----|----|----|----|----|----|
| 22, | 33 | 34 | 12 | 23 | 23 | 11 | 22 | 11 | 22 |
| 22, | 33 | 34 | 22 | 23 | 13 | 0 | 22 | 11 | 22 |
| 22, | 33 | 23 | 12 | 0 | 23 | 0 | 22 | 11 | 22 |
| 22, | 33 | 34 | 12 | 23 | 33 | 11 | 22 | 11 | 22 |
| 22, | 33 | 13 | 22 | 22 | 23 | 12 | 22 | 11 | 22 |
| 22, | 33 | 34 | 22 | 33 | 23 | 12 | 22 | 13 | 22 |
| 23!,matriz | 34 | 23 | 12 | 23 | 33 | 12 | 22 | 23 | 12 |
| 23, | 33 | 23 | 11 | 23 | 33 | 12 | 22 | 22 | 22 |
| 23, | 44 | 34 | 12 | 23 | 33 | 22 | 22 | 12 | 22 |
| 23, | 34 | 22 | 0 | 23 | 33 | 22 | 22 | 12 | 12 |
| 23, | 36 | 23 | 12 | 22 | 33 | 11 | 22 | 13 | 22 |
| 23, | 34 | 22 | 12 | 23 | 33 | 11 | 22 | 0 | 22 |
| 23, | 34 | 23 | 22 | 23 | 33 | 11 | 22 | 22 | 22 |
| 23, | 34 | 22 | 22 | 33 | 33 | 11 | 22 | 33 | 22 |
| 23, | 33 | 34 | 0 | 33 | 33 | 0 | 22 | 33 | 12 |
| 23, | 33 | 34 | 0 | 33 | 23 | 13 | 22 | 23 | 22 |
| 23, | 44 | 0 | 12 | 23 | 33 | 12 | 22 | 33 | 22 |
| 23, | 34 | 13 | 11 | 23 | 33 | 22 | 22 | 33 | 22 |
| 23, | 34 | 23 | 12 | 23 | 33 | 12 | 22 | 23 | 12 |
| 23, | 34 | 23 | 11 | 33 | 33 | 12 | 22 | 22 | 12 |
| 23, | 14 | 23 | 22 | 13 | 33 | 0 | 22 | 33 | 22 |
| 23, | 33 | 23 | 12 | 23 | 23 | 12 | 22 | 13 | 12 |
| 25!,matr | 33 | 22 | 12 | 23 | 33 | 12 | 22 | 11 | 12 |
| 25, | 33 | 23 | 22 | 23 | 33 | 22 | 22 | 11 | 22 |
| 25, | 33 | 22 | 22 | 0 | 33 | 12 | 22 | 11 | 12 |
| 25, | 33 | 22 | 12 | 23 | 33 | 22 | 22 | 11 | 22 |
| 25, | 34 | 23 | 22 | 33 | 33 | 22 | 22 | 13 | 11 |
| 25, | 33 | 23 | 22 | 22 | 33 | 12 | 22 | 11 | 22 |
| 25, | 34 | 22 | 12 | 33 | 33 | 12 | 22 | 11 | 12 |
| 25, | 13 | 23 | 12 | 23 | 33 | 12 | 22 | 11 | 22 |
| 25, | 13 | 12 | 22 | 33 | 33 | 0 | 22 | 13 | 22 |
| 25, | 33 | 23 | 22 | 23 | 33 | 0 | 22 | 13 | 11 |
| 25, | 34 | 23 | 22 | 23 | 33 | 12 | 22 | 11 | 11 |
| 25, | 33 | 22 | 12 | 22 | 33 | 12 | 22 | 11 | 11 |
| 25, | 33 | 23 | 22 | 33 | 34 | 22 | 22 | 11 | 22 |
| 25, | 33 | 0 | 22 | 22 | 33 | 11 | 22 | 11 | 12 |
| 25, | 33 | 23 | 12 | 33 | 33 | 0 | 22 | 11 | 11 |
| 25, | 34 | 23 | 22 | 33 | 33 | 22 | 22 | 11 | 11 |
| 26!,matr | 13 | 34 | 24 | 12 | 33 | 22 | 22 | 11 | 12 |
| 26, | 13 | 33 | 22 | 23 | 34 | 23 | 22 | 11 | 12 |
| 26, | 33 | 34 | 24 | 0 | 33 | 22 | 22 | 11 | 12 |
| 26, | 33 | 34 | 24 | 23 | 23 | 0 | 22 | 11 | 22 |
| 26, | 14 | 44 | 23 | 23 | 33 | 23 | 22 | 11 | 12 |
| 26, | 15 | 44 | 0 | 23 | 34 | 22 | 22 | 11 | 12 |

| | | | | | | | | | |
|----------|----|----|----|----|----|----|----|----|----|
| 26, | 13 | 44 | 23 | 13 | 33 | 23 | 22 | 11 | 12 |
| 26, | 13 | 34 | 14 | 23 | 34 | 23 | 22 | 11 | 12 |
| 26, | 33 | 34 | 12 | 23 | 14 | 22 | 22 | 11 | 12 |
| 26, | 13 | 44 | 24 | 22 | 34 | 22 | 22 | 11 | 22 |
| 26, | 15 | 44 | 24 | 23 | 33 | 23 | 22 | 11 | 11 |
| 26, | 33 | 44 | 22 | 13 | 23 | 0 | 22 | 11 | 22 |
| 26, | 33 | 44 | 24 | 22 | 33 | 0 | 22 | 11 | 12 |
| 26, | 13 | 44 | 23 | 13 | 23 | 23 | 22 | 11 | 22 |
| 26, | 13 | 44 | 22 | 13 | 33 | 23 | 22 | 11 | 0 |
| 26, | 16 | 44 | 22 | 22 | 33 | 22 | 22 | 11 | 12 |
| 27!,matr | 33 | 22 | 22 | 23 | 34 | 12 | 22 | 11 | 22 |
| 27, | 33 | 23 | 23 | 22 | 33 | 12 | 22 | 11 | 22 |
| 27, | 33 | 22 | 22 | 23 | 33 | 12 | 22 | 11 | 22 |
| 27, | 36 | 23 | 22 | 23 | 23 | 12 | 22 | 11 | 22 |
| 27, | 33 | 22 | 22 | 12 | 33 | 22 | 22 | 11 | 22 |
| 27, | 33 | 23 | 22 | 12 | 34 | 11 | 22 | 11 | 22 |
| 27, | 35 | 22 | 12 | 22 | 23 | 22 | 22 | 11 | 22 |
| 27, | 35 | 23 | 12 | 33 | 34 | 11 | 22 | 11 | 22 |
| 27, | 33 | 22 | 23 | 23 | 23 | 11 | 22 | 13 | 22 |
| 27, | 33 | 23 | 22 | 22 | 34 | 12 | 22 | 11 | 22 |
| 27, | 33 | 22 | 22 | 23 | 33 | 11 | 22 | 11 | 22 |
| 27, | 33 | 22 | 22 | 22 | 34 | 22 | 22 | 11 | 22 |
| 27, | 35 | 22 | 23 | 33 | 23 | 11 | 22 | 11 | 22 |
| 27, | 35 | 23 | 22 | 22 | 23 | 12 | 22 | 11 | 12 |
| 27, | 33 | 22 | 22 | 23 | 34 | 22 | 22 | 11 | 22 |
| 27, | 35 | 22 | 22 | 22 | 33 | 22 | 22 | 11 | 22 |
| 28!,matr | 16 | 33 | 22 | 33 | 23 | 12 | 22 | 11 | 12 |
| 28, | 16 | 33 | 23 | 13 | 23 | 12 | 22 | 11 | 22 |
| 28, | 17 | 23 | 22 | 23 | 33 | 12 | 22 | 11 | 12 |
| 28, | 36 | 23 | 22 | 33 | 23 | 11 | 22 | 0 | 12 |
| 28, | 16 | 0 | 22 | 33 | 34 | 11 | 22 | 0 | 22 |
| 28, | 11 | 33 | 22 | 23 | 23 | 12 | 22 | 11 | 22 |
| 28, | 17 | 23 | 23 | 33 | 23 | 12 | 22 | 13 | 12 |
| 28, | 16 | 13 | 22 | 33 | 23 | 11 | 22 | 11 | 22 |
| 28, | 16 | 23 | 23 | 33 | 25 | 12 | 22 | 11 | 11 |
| 28, | 13 | 23 | 22 | 33 | 13 | 12 | 22 | 11 | 22 |
| 28, | 66 | 13 | 22 | 33 | 23 | 12 | 22 | 13 | 12 |
| 28, | 11 | 13 | 22 | 33 | 23 | 11 | 22 | 13 | 12 |
| 28, | 46 | 13 | 22 | 13 | 23 | 11 | 22 | 11 | 22 |
| 28, | 36 | 33 | 22 | 33 | 33 | 11 | 22 | 11 | 12 |
| 28, | 16 | 0 | 23 | 33 | 33 | 11 | 22 | 11 | 12 |
| 28, | 17 | 23 | 22 | 33 | 23 | 11 | 22 | 11 | 22 |
| 29!,matr | 57 | 12 | 23 | 13 | 23 | 22 | 22 | 23 | 12 |
| 29, | 35 | 23 | 22 | 13 | 23 | 22 | 22 | 33 | 12 |

| | | | | | | | | | |
|----------|----|----|----|----|----|----|----|----|----|
| 29, | 77 | 23 | 22 | 33 | 33 | 22 | 22 | 22 | 22 |
| 29, | 35 | 12 | 23 | 13 | 23 | 22 | 22 | 23 | 12 |
| 29, | 17 | 11 | 23 | 13 | 23 | 22 | 22 | 33 | 22 |
| 29, | 35 | 12 | 22 | 13 | 33 | 22 | 22 | 33 | 12 |
| 29, | 47 | 13 | 22 | 13 | 12 | 22 | 22 | 13 | 22 |
| 29, | 15 | 12 | 23 | 33 | 33 | 22 | 22 | 0 | 12 |
| 29, | 57 | 12 | 22 | 12 | 23 | 22 | 22 | 0 | 12 |
| 29, | 57 | 12 | 22 | 33 | 23 | 22 | 22 | 12 | 22 |
| 29, | 35 | 12 | 23 | 13 | 23 | 12 | 22 | 12 | 22 |
| 29, | 17 | 12 | 23 | 13 | 23 | 22 | 22 | 12 | 12 |
| 29, | 35 | 12 | 33 | 13 | 23 | 23 | 22 | 22 | 12 |
| 29, | 77 | 12 | 22 | 13 | 12 | 22 | 22 | 12 | 22 |
| 29, | 77 | 12 | 23 | 33 | 33 | 22 | 22 | 0 | 12 |
| 29, | 37 | 12 | 23 | 33 | 23 | 22 | 22 | 0 | 22 |
| 30!,matr | 45 | 22 | 22 | 22 | 12 | 22 | 22 | 23 | 11 |
| 30, | 34 | 22 | 12 | 22 | 11 | 22 | 22 | 13 | 12 |
| 30, | 34 | 12 | 12 | 23 | 12 | 12 | 22 | 12 | 12 |
| 30, | 14 | 23 | 23 | 23 | 12 | 12 | 22 | 0 | 12 |
| 30, | 34 | 22 | 22 | 22 | 22 | 12 | 22 | 12 | 12 |
| 30, | 47 | 22 | 22 | 22 | 12 | 0 | 22 | 13 | 11 |
| 30, | 45 | 24 | 23 | 22 | 12 | 22 | 22 | 23 | 12 |
| 30, | 34 | 22 | 22 | 22 | 22 | 22 | 22 | 33 | 12 |
| 30, | 34 | 22 | 12 | 23 | 22 | 22 | 22 | 13 | 12 |
| 30, | 46 | 22 | 22 | 0 | 22 | 22 | 22 | 13 | 11 |
| 30, | 34 | 22 | 12 | 22 | 22 | 22 | 22 | 12 | 11 |
| 30, | 44 | 22 | 12 | 0 | 12 | 0 | 22 | 0 | 12 |
| 30, | 34 | 23 | 22 | 22 | 12 | 0 | 22 | 0 | 11 |
| 30, | 55 | 0 | 22 | 0 | 22 | 0 | 22 | 0 | 11 |
| 30, | 46 | 22 | 22 | 22 | 12 | 0 | 22 | 0 | 12 |
| 30, | 15 | 22 | 22 | 22 | 12 | 0 | 22 | 0 | 11 |
| 31!,matr | 33 | 23 | 22 | 23 | 33 | 12 | 22 | 11 | 22 |
| 31, | 13 | 22 | 22 | 23 | 33 | 12 | 22 | 11 | 22 |
| 31, | 33 | 23 | 22 | 33 | 33 | 12 | 22 | 11 | 22 |
| 31, | 34 | 23 | 22 | 23 | 23 | 11 | 22 | 12 | 22 |
| 31, | 33 | 22 | 12 | 23 | 23 | 11 | 22 | 11 | 22 |
| 31, | 33 | 22 | 22 | 23 | 23 | 11 | 22 | 11 | 22 |
| 31, | 36 | 23 | 22 | 22 | 23 | 22 | 22 | 11 | 22 |
| 31, | 33 | 23 | 22 | 33 | 33 | 12 | 22 | 11 | 22 |
| 31, | 37 | 23 | 22 | 23 | 33 | 22 | 22 | 11 | 22 |
| 31, | 33 | 22 | 12 | 0 | 33 | 12 | 22 | 11 | 22 |
| 31, | 37 | 23 | 22 | 22 | 33 | 22 | 22 | 11 | 22 |
| 31, | 33 | 23 | 12 | 22 | 23 | 11 | 22 | 11 | 22 |
| 31, | 33 | 23 | 12 | 23 | 33 | 12 | 22 | 11 | 12 |
| 31, | 33 | 23 | 12 | 0 | 33 | 11 | 22 | 11 | 22 |

| | | | | | | | | | |
|------------|----|----|----|----|----|----|----|----|----|
| 31, | 33 | 22 | 12 | 0 | 33 | 12 | 22 | 11 | 22 |
| 31, | 33 | 22 | 22 | 22 | 23 | 11 | 22 | 11 | 22 |
| 32!,matriz | 13 | 12 | 22 | 12 | 33 | 22 | 22 | 12 | 22 |
| 32, | 13 | 23 | 22 | 12 | 13 | 22 | 22 | 12 | 12 |
| 32, | 33 | 22 | 22 | 0 | 34 | 0 | 22 | 11 | 22 |
| 32, | 13 | 12 | 22 | 12 | 33 | 22 | 22 | 11 | 22 |
| 32, | 13 | 12 | 22 | 11 | 33 | 12 | 22 | 12 | 22 |
| 32, | 13 | 22 | 22 | 0 | 33 | 12 | 22 | 22 | 22 |
| 32, | 13 | 22 | 22 | 1 | 33 | 22 | 22 | 12 | 22 |
| 32, | 13 | 12 | 22 | 22 | 33 | 22 | 22 | 22 | 22 |
| 32, | 11 | 23 | 22 | 22 | 33 | 22 | 22 | 22 | 22 |
| 32, | 11 | 23 | 22 | 22 | 33 | 22 | 22 | 22 | 22 |
| 32, | 13 | 12 | 22 | 12 | 33 | 22 | 22 | 12 | 22 |
| 32, | 11 | 11 | 22 | 12 | 33 | 22 | 22 | 12 | 22 |
| 32, | 13 | 23 | 22 | 11 | 33 | 0 | 22 | 0 | 22 |
| 32, | 35 | 12 | 22 | 12 | 33 | 22 | 22 | 0 | 22 |
| 32, | 13 | 22 | 12 | 22 | 33 | 22 | 22 | 11 | 22 |
| 32, | 13 | 12 | 22 | 22 | 33 | 22 | 22 | 12 | 22 |
| 33!,matriz | 35 | 23 | 11 | 23 | 23 | 22 | 22 | 11 | 12 |
| 33, | 33 | 22 | 11 | 23 | 23 | 22 | 22 | 11 | 22 |
| 33, | 35 | 23 | 11 | 23 | 34 | 22 | 22 | 11 | 12 |
| 33, | 36 | 23 | 11 | 22 | 33 | 22 | 22 | 11 | 22 |
| 33, | 35 | 22 | 11 | 22 | 23 | 22 | 22 | 11 | 12 |
| 33, | 55 | 22 | 11 | 33 | 23 | 22 | 22 | 11 | 12 |
| 33, | 35 | 33 | 11 | 22 | 33 | 22 | 22 | 11 | 12 |
| 33, | 35 | 22 | 11 | 33 | 33 | 22 | 22 | 11 | 22 |
| 33, | 33 | 23 | 11 | 23 | 33 | 22 | 22 | 12 | 11 |
| 33, | 35 | 23 | 11 | 33 | 23 | 22 | 22 | 11 | 12 |
| 33, | 35 | 23 | 11 | 33 | 33 | 22 | 22 | 11 | 12 |
| 33, | 35 | 22 | 11 | 22 | 33 | 23 | 22 | 11 | 12 |
| 33, | 55 | 22 | 11 | 23 | 23 | 22 | 22 | 11 | 22 |
| 33, | 33 | 22 | 11 | 23 | 23 | 22 | 22 | 11 | 22 |
| 33, | 35 | 23 | 11 | 33 | 33 | 22 | 22 | 11 | 22 |
| 33, | 36 | 23 | 11 | 22 | 23 | 22 | 22 | 11 | 11 |
| 34!,matr | 13 | 23 | 22 | 22 | 13 | 12 | 22 | 13 | 22 |
| 34, | 36 | 23 | 22 | 22 | 13 | 13 | 22 | 11 | 22 |
| 34, | 13 | 23 | 22 | 22 | 23 | 11 | 22 | 12 | 12 |
| 34, | 16 | 23 | 22 | 23 | 13 | 22 | 22 | 11 | 22 |
| 34, | 36 | 23 | 22 | 23 | 33 | 23 | 22 | 13 | 22 |
| 34, | 16 | 33 | 22 | 0 | 13 | 12 | 22 | 0 | 22 |
| 34, | 13 | 33 | 22 | 23 | 13 | 22 | 22 | 11 | 22 |
| 34, | 16 | 23 | 22 | 0 | 23 | 12 | 22 | 12 | 12 |
| 34, | 36 | 23 | 22 | 23 | 23 | 22 | 22 | 33 | 22 |
| 34, | 33 | 22 | 22 | 22 | 13 | 12 | 22 | 0 | 22 |

| | | | | | | | | | |
|------------|----|----|----|----|----|----|----|----|----|
| 34, | 16 | 23 | 22 | 23 | 12 | 11 | 22 | 33 | 12 |
| 34, | 33 | 23 | 12 | 22 | 12 | 11 | 12 | 11 | 22 |
| 34, | 36 | 33 | 22 | 22 | 13 | 13 | 22 | 11 | 12 |
| 34, | 13 | 23 | 22 | 22 | 13 | 0 | 22 | 11 | 22 |
| 34, | 33 | 23 | 22 | 22 | 13 | 11 | 22 | 0 | 22 |
| 34, | 36 | 22 | 22 | 22 | 0 | 23 | 22 | 0 | 22 |
| 35!,matriz | 36 | 23 | 23 | 23 | 34 | 11 | 22 | 11 | 12 |
| 35, | 33 | 23 | 22 | 22 | 34 | 11 | 22 | 11 | 12 |
| 35, | 36 | 22 | 0 | 0 | 23 | 11 | 22 | 11 | 12 |
| 35, | 33 | 23 | 23 | 23 | 34 | 11 | 22 | 11 | 22 |
| 35, | 36 | 23 | 0 | 0 | 34 | 11 | 22 | 11 | 11 |
| 35, | 67 | 23 | 12 | 12 | 34 | 13 | 22 | 11 | 12 |
| 35, | 33 | 12 | 23 | 23 | 34 | 11 | 22 | 13 | 12 |
| 35, | 36 | 22 | 23 | 23 | 23 | 13 | 22 | 12 | 22 |
| 35, | 33 | 23 | 23 | 23 | 34 | 11 | 22 | 11 | 12 |
| 35, | 33 | 23 | 23 | 23 | 34 | 11 | 22 | 11 | 22 |
| 35, | 66 | 0 | 33 | 33 | 33 | 12 | 22 | 11 | 22 |
| 35, | 37 | 22 | 12 | 12 | 23 | 12 | 22 | 0 | 0 |
| 35, | 36 | 23 | 22 | 22 | 13 | 12 | 22 | 11 | 12 |
| 35, | 36 | 23 | 22 | 22 | 33 | 11 | 22 | 11 | 12 |
| 35, | 36 | 22 | 23 | 23 | 33 | 0 | 22 | 11 | 12 |
| 35, | 36 | 23 | 22 | 22 | 13 | 11 | 22 | 11 | 12 |

*Algarismos com ponto de exclamação na 1ª coluna da esquerda (início de cada série numérica), representam a árvore matriz de cada família. Os demais 15 números repetidos abaixo da matriz, sem o ponto de exclamação, representam as respectivas progênies.

Fonte: Elaborado pelo autor, 2017.

APÊNDICE D - Dados geográficos, DAP e altura das 50 árvores de *M. scabrella* na Fazenda Experimental, para o estudo de diversidade genética

| Árvore | Latitude S | Longitude W | Altitude m | DAP cm | Altura m |
|--------|---------------|----------------|---------------|-----------|-------------|
| 01 | 27°45'02" | 50°05'00" | 867 | 34,4 | 11,7 |
| 02 | 27°45'00" | 50°05'02" | 864 | 22,6 | 10,3 |
| 03 | 27°45'02" | 50°05'05" | 867 | 25,8 | 12,7 |
| 04 | 27°45'04" | 50°05'04" | 877 | 21,0 | 8,0 |
| 05 | 27°45'06" | 50°05'07" | 873 | 25,6 | 11,3 |
| 06 | 27°45'11" | 50°05'09" | 873 | 26,4 | 11,0 |
| 07 | 27°45'16" | 50°05'11" | 880 | 21,3 | 11,5 |
| 08 | 27°45'19" | 50°05'10" | 888 | 29,3 | 11,0 |
| 09 | 27°45'11" | 50°05'09" | 831 | 27,0 | 10,5 |
| 10 | 27°45'04" | 50°05'10" | 879 | 30,2 | 8,5 |
| 11 | 27°45'07" | 50°05'08" | 874 | 33,4 | 9,5 |
| 12 | 27°45'05" | 50°05'10" | 879 | 27,4 | 9,7 |
| 13 | 27°45'04" | 50°05'12" | 877 | 24,2 | 10,0 |
| 14 | 27°45'10" | 50°04'51" | 813 | 40,4 | 15,5 |
| 15 | 27°45'04" | 50°05'07" | 862 | 16,2 | 8,1 |
| 16 | 27°45'01" | 50°05'08" | 879 | 14,6 | 8,5 |
| 17 | 27°44'59" | 50°05'03" | 863 | 29,6 | 9,5 |
| 18 | 27°44'57" | 50°05'02" | 876 | 31,5 | 9,7 |
| 19 | 27°45'00" | 50°05'11" | 883 | 28,9 | 9,0 |
| 20 | 27°44'56" | 50°05'03" | 872 | 34,7 | 18,0 |
| 21 | 27°44'57" | 50°05'02" | 853 | 27,4 | 11,1 |
| 22 | 27°44'54" | 50°05'00" | 874 | 14,6 | 7,3 |
| 23 | 27°44'51" | 50°05'04" | 888 | 12,7 | 8,6 |
| 24 | 27°44'53" | 50°05'12" | 888 | 31,2 | 13,1 |
| 25 | 27°44'47" | 50°05'01" | 887 | 13,3 | 8,9 |
| 26 | 27°45'03" | 50°04'55" | 873 | 19,7 | 6,4 |
| 27 | 27°44'54" | 50°04'50" | 865 | 12,4 | 7,6 |
| 28 | 27°44'44" | 50°04'51" | 847 | 44,9 | 9,2 |
| 29 | 27°44'45" | 50°04'57" | 827 | 15,3 | 8,0 |
| 30 | 27°44'44" | 50°04'58" | 877 | 21,9 | 12,5 |
| 31 | 27°45'09" | 50°04'48" | 850 | 44,5 | 16,6 |
| 32 | 27°45'12" | 50°05'03" | 892 | 44,9 | 17,0 |
| 33 | 27°45'11" | 50°05'11" | 887 | 22,6 | 8,0 |
| 34 | 27°45'10" | 50°04'49" | 871 | 26,7 | 16,0 |
| 35 | 27°44'51" | 50°04'53" | 858 | 28,6 | 14,4 |

| | | | | | |
|--------------|-----------|-----------|-----|-------------|-------------|
| 36 | 27°45'08" | 50°05'00" | 824 | 16,1 | 8,3 |
| 37 | 27°45'12" | 50°04'58" | 905 | 15,6 | 15,4 |
| 38 | 27°45'08" | 50°05'06" | 888 | 21,2 | 6,5 |
| 39 | 27°45'09" | 50°04'26" | 899 | 21,8 | 9,6 |
| 40 | 27°45'06" | 50°04'27" | 884 | 18,8 | 10,1 |
| 41 | 27°45'07" | 50°04'29" | 897 | 14,8 | 8,9 |
| 42 | 27°45'09" | 50°04'30" | 894 | 35,2 | 14,8 |
| 43 | 27°45'11" | 50°04'34" | 898 | 30,9 | 12,1 |
| 44 | 27°45'12" | 50°04'27" | 882 | 12,2 | 8,8 |
| 45 | 27°45'10" | 50°04'25" | 872 | 24,0 | 10,2 |
| 46 | 27°45'01" | 50°04'26" | 889 | 37,9 | 10,5 |
| 47 | 27°44'55" | 50°04'27" | 887 | 22,9 | 7,0 |
| 48 | 27°44'49" | 50°04'25" | 891 | 14,8 | 10,5 |
| 49 | 27°44'51" | 50°04'24" | 881 | 23,9 | 10,2 |
| 50 | 27°44'52" | 50°04'23" | 870 | 36,6 | 16,0 |
| Média | | | | 25,4 | 10,7 |

Fonte: Elaborado pelo autor, 2017.

APÊNDICE E - Dados geográficos, DAP e altura das 50 árvores de *M. scabrella* do Parque Natural de Lages, para o estudo de diversidade genética

| Árvore | Latitude S | Longitude W | Altitude m | DAP cm | Altura M |
|-----------------|---------------|----------------|---------------|-----------|-------------|
| 01 _A | 27°47'29" | 50°21'02" | 989 | 37,2 | 20,4 |
| 04 _A | 27°47'28" | 50°21'00" | 986 | 32,1 | 18,1 |
| 06 _A | 27°47'29" | 50°20'59" | 962 | 19,7 | 16,4 |
| 07 _A | 27°47'28" | 50°20'58" | 966 | 21,0 | 15,8 |
| 08 _A | 27°47'30" | 50°20'58" | 976 | 21,0 | 17,8 |
| 09 | 27°47'28" | 50°20'56" | 966 | 22,6 | 13,5 |
| 11 | 27°47'26" | 50°20'56" | 970 | 20,7 | 14,8 |
| 12 _A | 27°47'27" | 50°20'57" | 982 | 20,4 | 16,4 |
| 14 _A | 27°47'26" | 50°21'00" | 960 | 22,6 | 17,7 |
| 16 _A | 27°47'27" | 50°21'02" | 990 | 26,7 | 20,5 |
| 17 _A | 27°47'28" | 50°21'00" | 997 | 21,0 | 22,9 |
| 18 | 27°47'29" | 50°20'44" | 850 | 13,0 | 10,2 |
| 19 | 27°47'27" | 50°20'45" | 881 | 25,1 | 12,0 |
| 20 | 27°47'25" | 50°20'47" | 896 | 15,6 | 14,1 |
| 21 | 27°47'24" | 50°20'49" | 927 | 11,4 | 11,7 |
| 22 | 27°47'23" | 50°20'51" | 933 | 15,9 | 11,8 |
| 23 | 27°47'29" | 50°20'47" | 935 | 12,7 | 11,5 |
| 24 | 27°47'29" | 50°20'49" | 941 | 59,8 | 12,9 |
| 25 | 27°47'29" | 50°20'51" | 942 | 17,8 | 13,1 |
| 26 | 27°47'27" | 50°20'52" | 947 | 16,2 | 9,8 |
| 27 | 27°47'31" | 50°20'50" | 945 | 17,8 | 13,1 |
| 28 | 27°47'29" | 50°20'53" | 954 | 16,9 | 14,4 |
| 29 | 27°47'26" | 50°20'50" | 933 | 14,0 | 10,1 |
| 30 | 27°47'25" | 50°20'45" | 945 | 13,4 | 13,2 |
| 31 | 27°47'22" | 50°20'43" | 969 | 22,0 | 11,9 |
| 32 | 27°47'19" | 50°20'46" | 979 | 14,6 | 12,9 |
| 33 | 27°47'16" | 50°20'48" | 987 | 15,3 | 13,0 |
| 34 | 27°47'10" | 50°20'56" | 1003 | 42,3 | 14,1 |
| 35 | 27°47'05" | 50°20'21" | 1019 | 21,6 | 12,7 |
| 36 | 27°47'24" | 50°20'42" | 949 | 19,4 | 12,2 |
| 37 | 27°47'31" | 50°20'54" | 957 | 14,6 | 12,5 |
| 38 | 27°47' 32" | 50°20'52" | 948 | 10,8 | 12,6 |
| 39 | 27°47' 30" | 50°20'46" | 947 | 13,4 | 10,8 |

| | | | | | |
|-----------------|------------|-----------|------|-------------|-------------|
| 40 | 27°47' 31" | 50°20'48" | 942 | 16,2 | 13,6 |
| 41 | 27°47' 32" | 50°20'47" | 940 | 16,5 | 13,7 |
| 42 | 27°47' 34" | 50°20'48" | 932 | 28,6 | 12,8 |
| 43 | 27°47' 36" | 50°20'50" | 918 | 17,2 | 18,1 |
| 44 _A | 27°47' 32" | 50°21'02" | 897 | 20,7 | 16,0 |
| 45 _A | 27°47' 26" | 50°21'09" | 968 | 19,7 | 18,0 |
| 46 | 27°47' 17" | 50°20'46" | 975 | 21,0 | 12,1 |
| 47 | 27°47' 22" | 50°20'45" | 960 | 28,0 | 12,3 |
| 48 | 27°47' 26" | 50°23'46" | 939 | 18,5 | 8,9 |
| 49 | 27°47' 29" | 50°20'42" | 925 | 21,0 | 6,8 |
| 50 | 27°47' 28" | 50°20'39" | 924 | 15,3 | 8,6 |
| 51 _A | 27°47' 33" | 50°21'00" | 868 | 18,8 | 18,3 |
| 52 _A | 27°47' 29" | 50°21'05" | 1019 | 24,5 | 19,2 |
| 53 _A | 27°47' 27" | 50°21'08" | 1026 | 22,3 | 15,8 |
| 54 _A | 27°47' 26" | 50°21'15" | 1034 | 21,0 | 14,0 |
| 55 _A | 27°47' 28" | 50°21'04" | 1010 | 21,6 | 18,5 |
| 56 | 27°47' 28" | 50°20'42" | 932 | 13,7 | 14,3 |
| Média | | | | 20,7 | 14,5 |

A: árvore em adensamento

Fonte: Elaborado pelo autor, 2017.

APÊNDICE F - Genótipos mais prováveis de 50 árvores de *Mimosa scabrella* do estudo da Fazenda Experimental

| Árvore | Sistemas isoenzimáticos (locos) | | | | | | | | |
|--------|---------------------------------|-------|-----|------|-----|-----|----|--------|-----|
| | PGI | 6PGDH | PGM | SKDH | IDH | PRX | ME | β -EST | DIA |
| 1 | 33 | 23 | 22 | 12 | 33 | 22 | 22 | 11 | 12 |
| 2 | 16 | 22 | 22 | 22 | 23 | 22 | 22 | 23 | 22 |
| 3 | 33 | 22 | 22 | 23 | 33 | 22 | 22 | 11 | 22 |
| 4 | 67 | 22 | 22 | 22 | 24 | 22 | 22 | 11 | 0 |
| 5 | 13 | 22 | 22 | 12 | 22 | 12 | 22 | 11 | 22 |
| 6 | 14 | 34 | 0 | 33 | 22 | 22 | 22 | 12 | 0 |
| 7 | 16 | 12 | 12 | 22 | 33 | 23 | 22 | 11 | 22 |
| 8 | 16 | 23 | 22 | 22 | 22 | 22 | 22 | 13 | 0 |
| 9 | 34 | 23 | 22 | 23 | 22 | 11 | 22 | 11 | 0 |
| 10 | 36 | 23 | 12 | 23 | 22 | 11 | 22 | 11 | 22 |
| 11 | 13 | 23 | 12 | 23 | 23 | 22 | 22 | 11 | 12 |
| 12 | 33 | 23 | 22 | 13 | 23 | 22 | 22 | 11 | 12 |
| 13 | 37 | 22 | 23 | 33 | 23 | 22 | 22 | 13 | 22 |
| 14 | 44 | 22 | 12 | 23 | 12 | 12 | 22 | 13 | 22 |
| 15 | 66 | 22 | 22 | 23 | 22 | 22 | 22 | 11 | 12 |
| 16 | 13 | 34 | 22 | 23 | 23 | 22 | 22 | 12 | 22 |
| 17 | 36 | 22 | 22 | 23 | 13 | 22 | 22 | 11 | 12 |
| 18 | 33 | 22 | 22 | 23 | 33 | 11 | 22 | 11 | 22 |
| 19 | 33 | 23 | 22 | 33 | 13 | 33 | 22 | 11 | 22 |
| 20 | 36 | 22 | 22 | 44 | 11 | 12 | 22 | 11 | 22 |
| 21 | 44 | 22 | 11 | 34 | 22 | 0 | 22 | 12 | 12 |
| 22 | 33 | 34 | 22 | 23 | 13 | 12 | 22 | 11 | 22 |
| 23 | 34 | 23 | 12 | 23 | 33 | 12 | 22 | 23 | 12 |
| 24 | 34 | 44 | 11 | 22 | 24 | 12 | 22 | 23 | 22 |
| 25 | 33 | 22 | 12 | 23 | 33 | 12 | 22 | 11 | 12 |
| 26 | 13 | 34 | 24 | 12 | 33 | 22 | 22 | 11 | 12 |
| 27 | 33 | 22 | 22 | 23 | 34 | 12 | 22 | 11 | 22 |
| 28 | 16 | 33 | 22 | 33 | 23 | 12 | 22 | 11 | 12 |
| 29 | 57 | 12 | 23 | 13 | 23 | 22 | 22 | 23 | 12 |
| 30 | 45 | 22 | 22 | 22 | 12 | 22 | 22 | 23 | 11 |
| 31 | 33 | 23 | 22 | 23 | 33 | 12 | 22 | 11 | 22 |
| 32 | 13 | 12 | 22 | 12 | 33 | 22 | 22 | 12 | 22 |
| 33 | 35 | 23 | 11 | 23 | 23 | 22 | 22 | 11 | 12 |
| 34 | 13 | 23 | 22 | 22 | 13 | 12 | 22 | 13 | 22 |
| 35 | 36 | 23 | 23 | 23 | 34 | 11 | 22 | 11 | 12 |
| 36 | 34 | 22 | 12 | 22 | 22 | 12 | 22 | 23 | 22 |
| 37 | 13 | 13 | 12 | 23 | 22 | 12 | 22 | 11 | 11 |
| 38 | 33 | 33 | 11 | 13 | 22 | 12 | 22 | 11 | 22 |
| 39 | 36 | 11 | 22 | 22 | 23 | 0 | 22 | 11 | 12 |
| 40 | 36 | 23 | 11 | 13 | 22 | 12 | 22 | 11 | 22 |
| 41 | 36 | 23 | 11 | 23 | 22 | 22 | 22 | 23 | 22 |
| 42 | 33 | 22 | 12 | 23 | 12 | 22 | 22 | 23 | 22 |
| 43 | 45 | 23 | 12 | 12 | 22 | 22 | 22 | 11 | 22 |
| 44 | 33 | 23 | 22 | 22 | 22 | 12 | 22 | 12 | 22 |
| 45 | 33 | 12 | 12 | 13 | 12 | 22 | 22 | 11 | 22 |
| 46 | 13 | 44 | 12 | 22 | 0 | 12 | 22 | 13 | 12 |
| 47 | 66 | 23 | 22 | 22 | 22 | 11 | 22 | 11 | 22 |
| 48 | 44 | 23 | 12 | 22 | 12 | 12 | 22 | 11 | 22 |
| 49 | 13 | 24 | 23 | 12 | 12 | 12 | 22 | 12 | 12 |
| 50 | 12 | 23 | 22 | 23 | 22 | 11 | 22 | 11 | 22 |

Estudo de diversidade genética. Análise com isoenzimas em jul./2017.

Fonte: Elaborado pelo autor, 2017

APÊNDICE G - Genótipos mais prováveis de 50 árvores de *Mimosa scabrella* do estudo do Parque Natural

| Árvore | Sistemas isoenzimáticos (locos) | | | | | | | | |
|--------|---------------------------------|-------|-----|------|-----|-----|----|--------|-----|
| | PGI | 6PGDH | PGM | SKDH | IDH | PRX | ME | β -EST | DIA |
| 1 | 33 | 23 | 22 | 22 | 22 | 22 | 22 | 11 | 22 |
| 4 | 35 | 12 | 22 | 22 | 22 | 22 | 22 | 12 | 12 |
| 6 | 33 | 23 | 23 | 23 | 22 | 22 | 22 | 11 | 22 |
| 7 | 36 | 22 | 22 | 22 | 22 | 22 | 22 | 13 | 22 |
| 8 | 33 | 22 | 22 | 23 | 22 | 12 | 22 | 11 | 12 |
| 9 | 33 | 22 | 22 | 23 | 22 | 22 | 22 | 11 | 22 |
| 11 | 33 | 44 | 22 | 33 | 22 | 22 | 22 | 11 | 11 |
| 12 | 33 | 23 | 22 | 23 | 22 | 0 | 23 | 11 | 22 |
| 14 | 15 | 23 | 24 | 23 | 22 | 12 | 22 | 11 | 22 |
| 16 | 34 | 22 | 22 | 22 | 12 | 12 | 22 | 12 | 22 |
| 17 | 33 | 22 | 12 | 22 | 22 | 0 | 22 | 11 | 22 |
| 18 | 34 | 22 | 11 | 22 | 22 | 0 | 22 | 11 | 12 |
| 19 | 11 | 23 | 12 | 23 | 22 | 22 | 22 | 23 | 22 |
| 20 | 33 | 22 | 12 | 33 | 22 | 22 | 22 | 23 | 22 |
| 21 | 33 | 24 | 12 | 22 | 0 | 22 | 22 | 11 | 22 |
| 22 | 33 | 23 | 22 | 34 | 22 | 22 | 22 | 11 | 22 |
| 23 | 13 | 22 | 22 | 12 | 22 | 22 | 22 | 11 | 22 |
| 24 | 35 | 23 | 22 | 33 | 22 | 12 | 22 | 13 | 22 |
| 25 | 56 | 13 | 12 | 23 | 23 | 22 | 22 | 13 | 22 |
| 26 | 35 | 22 | 12 | 23 | 22 | 0 | 22 | 11 | 22 |
| 27 | 36 | 22 | 12 | 23 | 22 | 22 | 22 | 12 | 12 |
| 28 | 33 | 12 | 11 | 23 | 22 | 12 | 22 | 11 | 22 |
| 29 | 35 | 22 | 22 | 12 | 12 | 0 | 22 | 11 | 11 |
| 30 | 15 | 22 | 11 | 33 | 22 | 22 | 22 | 11 | 11 |
| 31 | 33 | 22 | 22 | 33 | 22 | 0 | 22 | 0 | 22 |
| 32 | 15 | 22 | 12 | 22 | 22 | 22 | 23 | 11 | 22 |
| 33 | 13 | 23 | 12 | 23 | 12 | 0 | 22 | 11 | 12 |
| 34 | 33 | 23 | 12 | 22 | 0 | 0 | 22 | 11 | 12 |
| 35 | 35 | 22 | 12 | 22 | 11 | 0 | 22 | 13 | 22 |
| 36 | 15 | 22 | 22 | 23 | 22 | 0 | 22 | 11 | 11 |
| 37 | 15 | 22 | 22 | 34 | 22 | 0 | 22 | 12 | 22 |
| 38 | 66 | 22 | 22 | 22 | 22 | 0 | 22 | 11 | 22 |
| 39 | 55 | 23 | 12 | 12 | 11 | 0 | 22 | 11 | 22 |
| 40 | 33 | 22 | 22 | 13 | 22 | 22 | 22 | 11 | 22 |
| 41 | 66 | 22 | 12 | 23 | 22 | 22 | 22 | 23 | 12 |
| 42 | 33 | 22 | 0 | 23 | 12 | 22 | 22 | 23 | 22 |
| 43 | 11 | 23 | 11 | 22 | 12 | 22 | 22 | 11 | 22 |
| 44 | 33 | 22 | 12 | 33 | 12 | 22 | 22 | 11 | 22 |
| 45 | 35 | 22 | 11 | 12 | 0 | 22 | 22 | 11 | 22 |
| 46 | 13 | 33 | 13 | 23 | 12 | 23 | 22 | 11 | 22 |
| 47 | 16 | 22 | 0 | 22 | 22 | 22 | 22 | 11 | 22 |
| 48 | 11 | 0 | 0 | 22 | 12 | 23 | 22 | 0 | 22 |
| 49 | 15 | 34 | 13 | 11 | 22 | 22 | 22 | 11 | 22 |
| 50 | 33 | 22 | 22 | 33 | 12 | 23 | 22 | 11 | 22 |
| 51 | 33 | 23 | 22 | 33 | 23 | 22 | 22 | 11 | 22 |
| 52 | 37 | 34 | 12 | 13 | 22 | 22 | 22 | 11 | 22 |
| 53 | 13 | 12 | 12 | 0 | 12 | 22 | 22 | 11 | 22 |
| 54 | 33 | 22 | 22 | 0 | 22 | 0 | 22 | 0 | 22 |
| 55 | 33 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 22 | 0 | 0 |
| 56 | 35 | 23 | 22 | 33 | 0 | 22 | 22 | 12 | 22 |

Estudo de diversidade genética. Análise com isoenzimas em jul./2017.

Fonte: Elaborado pelo autor, 2017.

APÊNDICE H - Nº de flores por inflorescência de *Mimosa scabrella*, da Fazenda Experimental do CAV

| | Árvore 28 | Árvore 27 | Árvore 30 | Árvore 26 | Árvore 24 |
|----------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
| Inflorescência | Nº de flores | Nº de flores | Nº de flores | Nº de flores | Nº de flores |
| 1 | 54 | 48 | 50 | 57 | 55 |
| 2 | 51 | 52 | 55 | 53 | 52 |
| 3 | 53 | 60 | 52 | 57 | 54 |
| 4 | 52 | 51 | 55 | 55 | 53 |
| 5 | 49 | 53 | 53 | 55 | 54 |
| 6 | 56 | 51 | 55 | 53 | 51 |
| 7 | 54 | 59 | 52 | 52 | 46 |
| 8 | 50 | 52 | 51 | 47 | 54 |
| 9 | 53 | 52 | 45 | 53 | 53 |
| 10 | 54 | 54 | 53 | 52 | 52 |
| 11 | 59 | 58 | 58 | 53 | 50 |
| 12 | 57 | 57 | 54 | 52 | 56 |
| 13 | 54 | 53 | 51 | 51 | 55 |
| 14 | 56 | 49 | 54 | 59 | 55 |
| 15 | 54 | 50 | 55 | 54 | 52 |
| 16 | 57 | 56 | 53 | 54 | 55 |
| 17 | 56 | 57 | 55 | 52 | 51 |
| 18 | 57 | 52 | 55 | 53 | 56 |
| 19 | 54 | 54 | 52 | 52 | 52 |
| 20 | 50 | 55 | 51 | 54 | 57 |

Experimento I do capítulo III. Coleta de inflorescências: ago./2017.

Fonte: Elaborado pelo autor, 2018.

ANEXO

ANEXO A - Composição dos sistemas isoenzimáticos para as análises de *Mimosa scabrella* das estações reprodutivas de 2015 e 2016

1-PGI: FOSFOGLUCO ISOMERASE

| Reagente /Tampão | Quantidade | Unidade |
|---|------------|---------|
| Frutose-6-fosfato | 0,0375 | g |
| β -Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate hydrate (NADP) | 0,01 | g |
| Thiazolyl Blue Tetrazolium Bromide (MTT) | 0,01 | g |
| Phenazine Methosulfate (PMS) | 0,001 | g |
| MgCl ₂ (1%) | 1 | mL |
| Glucose-6-fosfato desidrogenase | 10 | Unid. |
| Tris-HCl 0,1M pH 8 | 50 | mL |

2- 6PGDH: FOSFOGLUCONATO DESIDROGENASE

| Reagente /Tampão | Quantidade | Unidade |
|---|------------|---------|
| Ácido-6-fosfogluconico | 0,02 | g |
| β -Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate hydrate (NADP) | 0,01 | g |
| Thiazolyl Blue Tetrazolium Bromide (MTT) | 0,01 | g |
| Phenazine Methosulfate (PMS) | 0,001 | g |
| MgCl ₂ (1%) | 1 | g |
| Tris-HCl 0,1M pH 8 | 50 | mL |

3-PGM: FOSFOGLUCOMUTASE

| Reagente /Tampão | Quantidade | Unidade |
|---|------------|---------|
| Glucose-1-fosfato | 0,125 | g |
| EDTA | 0,025 | g |
| β -Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate hydrate (NADP) | 0,01 | g |
| Thiazolyl Blue Tetrazolium Bromide (MTT) | 0,01 | g |
| Phenazine Methosulfate (PMS) | 0,001 | g |
| MgCl ₂ (1%) | 1 | mL |
| Glucose-6-fosfato desidrogenase | 20 | Unid. |
| Tris-HCl 0,1M pH 8,5 | 50 | mL |

4-SKDH: XIQUIMATO DESIDROGENASE

| Reagente /Tampão | Quantidade | Unidade |
|---|------------|---------|
| Ácido Xiquímico | 0,05 | g |
| β -Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate hydrate (NADP) | 0,01 | g |
| Thiazolyl Blue Tetrazolium Bromide (MTT) | 0,01 | g |
| Phenazine Methosulfate (PMS) | 0,001 | g |
| Tris-HCl 0,1M pH 8,5 | 50 | mL |

ANEXO A (continuação)**5-IDH: ISOCITRATO DESIDROGENASE**

| Reagente /Tampão | Quantidade | Unidade |
|---|------------|---------|
| DL-Ácido Isocítrico | 0,1 | g |
| β -Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate hydrate (NADP) | 0,01 | g |
| Thiazolyl Blue Tetrazolium Bromide (MTT) | 0,01 | g |
| Phenazine Methosulfate (PMS) | 0,001 | g |
| MgCl ₂ (1%) | 1 | mL |
| Tris-HCl 0,1M pH 8 | 50 | mL |

6-PRX: PEROXIDASE

| Reagente /Tampão | Quantidade | Unidade |
|-------------------------------|------------|---------|
| O-dianisidina | 0,016 | g |
| H ₂ O ₂ | 1 | mL |
| Acetato sódio 0,1M pH 4,5 | 50 | mL |

7-ME: ENZIMA MÁLICA

| Reagente /Tampão | Quantidade | Unidade |
|---|------------|---------|
| β -Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate hydrate (NADP) | 0,01 | g |
| Thiazolyl Blue Tetrazolium Bromide (MTT) | 0,01 | g |
| Phenazine Methosulfate (PMS) | 0,001 | g |
| MgCl ₂ (10%) | 1 | mL |
| Citrato morfolina pH 6,1 | 20 | mL |
| Ácido DL-málico 0,5M pH 7 | 5 | mL |

8- β -EST: BETA-ESTERASE

| Reagente /Tampão | Quantidade | Unidade |
|-----------------------------|------------|---------|
| β - nafil acetato | 0,02 | g |
| Fast Garnet | 0,05 | g |
| Fosfato potássio 0,05M pH 6 | 50 | mL |

9-DIA: DIAFORASE

| Reagente /Tampão | Quantidade | Unidade |
|---|------------|---------|
| β -Nicotinamide adenine dinucleotide, reduced dipotassium salt (NADH) | g | 0,015 |
| 2,6 Diclorofenol-Indofenol (DPIP) | g | 0,01 |
| Thiazolyl Blue Tetrazolium Bromide (MTT) | g | 0,01 |
| Tris-HCl 0,05M pH 8 | mL | 50 |

Fonte: MONTAGNA et al. (2013). Manual de eletroforese de isoenzimas. Doc. Interno Depto Fitotecnia, PPG em Recursos Genéticos Vegetais, CCA/UFSC, Florianópolis SC.