



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



**TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO**

**Diversidade genética de mudas de *Araucaria angustifolia*  
(Bertol.) O. Kuntze em viveiros do estado de Santa Catarina**

**Ana Julia de Castro Bom Angelo**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado no formato de Artigo de Pesquisa ao curso de Graduação em Agronomia, do Centro de Ciências Agrárias, da Universidade Federal de Santa Catarina, como requisito para a obtenção do título de Engenheiro Agrônomo.

Orientador: Prof. Tiago Montagna, Dr.

**Florianópolis – SC**

**Novembro/2025**

## **Diversidade genética de mudas de *Araucaria angustifolia* (Bertol.) O. Kuntze em viveiros do estado de Santa Catarina**

Ana Julia de Castro Bom Angelo<sup>(1)\*</sup>, Tiago Montagna<sup>(2)</sup>

<sup>(1)</sup> Acadêmico do curso de Agronomia do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Santa Catarina. Rod. Admar Gonzaga,1346, Bairro Itacorubi, Caixa Postal 476, CEP 8840-900, Florianópolis-SC, Brasil.

<sup>(2)</sup> Professor(a), Depto. de Fitotecnia, Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Santa Catarina. Rod. Admar Gonzaga,1346, Bairro Itacorubi, Caixa Postal 476, CEP 8840-900, Florianópolis-SC, Brasil.

\*Autor Correspondente- E-mail: anana.j.castro@gmail.com

### **Resumo**

A araucária, espécie endêmica da Mata Atlântica, sofreu severa fragmentação populacional devido a atividades antropogênicas. A conservação da sua diversidade genética é crucial, especialmente na produção de mudas para restauração. O objetivo deste trabalho foi avaliar a diversidade genética de mudas de *Araucaria angustifolia* em diferentes viveiros no estado de Santa Catarina, utilizando marcadores microssatélites visando compreender as relações entre os métodos de coleta e a diversidade genética das mudas. Foi extraído DNA por meio do método CTAB e genotipadas 290 amostras de mudas de araucária utilizando 7 marcadores microssatélite. A diversidade genética foi verificada a partir dos parâmetros de n° médio de alelos, n° efetivo de alelos, heterozigosidade esperada, heterozigosidade observada, índice de fixação e índice Fst. Verificou-se uma alta riqueza alélica e presença de alelos raros, indicando a manutenção de um reservatório genético. No entanto, o índice de fixação médio foi extremamente elevado e positivo, apontando para um alto grau de endogamia em todas as amostras. O índice Fst indica uma maior variação genética dentro das amostras e baixa diferenciação entre as amostras. Os resultados apontam para práticas inadequadas de coleta de sementes tornando urgente a implementação de parâmetros técnicos e científicos na escolha das áreas e matrizes.

**Palavras-chave:** marcadores microssatélites, Mata atlântica, restauração florestal, endogamia

### **Genetic diversity of *Araucaria angustifolia* (Bertol.) O. Kuntze seedlings in nurseries in the state of Santa Catarina**

#### **Abstract**

The araucaria, an endemic species of the Atlantic Forest, has suffered severe population fragmentation due to anthropogenic activities. The conservation of its genetic diversity is crucial, especially in the production of seedlings for restoration. The objective of this work was to evaluate the genetic diversity of *Araucaria angustifolia* seedlings in

different nurseries in the state of Santa Catarina, using microsatellite markers to understand the relationships between collection methods and the genetic diversity of the seedlings. DNA was extracted using the CTAB method, and 290 *Araucaria* seedling samples were genotyped using 7 microsatellite markers. Genetic diversity was verified based on the parameters of average number of alleles, effective number of alleles, expected heterozygosity, observed heterozygosity, fixation index, and  $F_{st}$  index. High allelic richness and the presence of rare alleles were observed, indicating the maintenance of a genetic reservoir. However, the average fixation index was extremely high and positive, pointing to a high degree of inbreeding in all samples. The  $F_{st}$  index indicates greater genetic variation within the samples and low differentiation between samples. The results point to inadequate seed collection practices, making it urgent to implement technical and scientific parameters in the selection of areas and parent plants.

**Keywords:** microsatellites markers, Atlantic Forest, forest restoration, inbreeding

## Introdução

Considerada a segunda maior floresta tropical da América do Sul, a Mata Atlântica se estende por uma vasta área ao longo da costa leste do Brasil, alcançando o leste do Paraguai e o nordeste da Argentina (Oliveira-Filho e Fontes, 2000). É reconhecida como um dos 25 pontos críticos de biodiversidade do mundo, abrigando mais de 8.000 espécies endêmicas, incluindo plantas vasculares, anfíbios, répteis, aves e mamíferos (Myers *et al.*, 2000), e a maioria das espécies brasileiras oficialmente ameaçadas de extinção (Tabarelli *et al.* 2003). Atualmente, a floresta remanescente está fragmentada em arquipélagos de pequenas áreas menores que 50 hectares, que se encontram isoladas umas das outras (Vancine *et al.*, 2024).

Influenciada por fatores de altitude e clima, a Floresta Ombrófila Mista (FOM), também conhecida como floresta de araucária, constitui um ecossistema do domínio da Mata Atlântica onde a espécie *Araucaria angustifolia*, endêmica do bioma, assume a posição dominante no dossel (Carvalho, 2003). Devido às atividades antropogênicas, este ecossistema foi drasticamente reduzido, restando apenas 4,3% da sua área original, com apenas 13,5% dentro de áreas protegidas (Zorek *et al.*, 2024)

*Araucaria angustifolia* (Bertol.) O. Kuntze, popularmente conhecida como pinheiro-brasileiro ou pinheiro-do-paraná, é uma conífera dióica (Carvalho, 2003), pioneira de vida longa (Souza *et al.*, 2008) e facilitadora no estabelecimento e regeneração de outras espécies, criando um microclima de sub bosque mais estável, com sombreamento e menor oscilação térmica (Duarte *et al.*, 2006). Além disso, atrai pássaros e vertebrados que dispersam sementes, aumentando a diversidade e a abundância de mudas florestais sob suas copas (Duarte *et al.*, 2006; Korndörfer;

Dillenbur; Duarte, 2015). Atualmente, *A. angustifolia* encontra-se classificada na Lista Vermelha de Espécies Ameaçadas da União Internacional para a Conservação da Natureza (IUCN) (Thomas, 2013). E devido a exploração do seu habitat, o número de locais com amostras viáveis para a obtenção de sementes com diversidade genética de *A. angustifolia* foram reduzidos (Montagna et al, 2019).

Dada a fragmentação e o estado de ameaça, os esforços de conservação e restauração da floresta de araucária tornam-se necessários e urgentes (Hoffmann *et al.*, 2015; Montagna *et al.*, 2017). Assim, viveiros que utilizam sementes de amostras reduzidas apresentam mudas com menor variedade genética e maior endogamia (Medina-Macedo *et al.*, 2016).

Estudos, como o de Thomas *et al.* (2014), apontam a necessidade de uma atenção rigorosa à seleção de sementes, à criação de conectividade entre paisagens e à incorporação da adaptabilidade frente às mudanças climáticas. Sem a devida consideração da diversidade genética, os ecossistemas restaurados dificilmente serão autossustentáveis, pois a capacidade de adaptação das espécies às alterações ambientais será limitada. Outro ponto importante é a determinação de uma área de coleta de sementes, que deve ser estabelecida seguindo parâmetros técnicos e científicos bem definidos. Para a conservação da araucária, é crucial considerar parâmetros como a riqueza de genes, alelos de interesse, diversidade genética (Sousa et al. 2021) e o mapa de vulnerabilidade da espécie (Wrege et al., 2009, 2017) para identificar as áreas menos suscetíveis aos impactos das mudanças climática futuras.

A fragmentação das áreas de ocorrência da *A. angustifolia*, aliada a práticas de manejo e coleta de sementes inadequadas pode proporcionar uma baixa diversidade genética de mudas utilizadas em programas de restauração das florestas de araucária, afetando assim a diversidade das amostras futuras. Dessa forma, é fundamental que a seleção de sementes para produção de mudas leve em conta critérios genéticos para assegurar a adaptabilidade e a viabilidade ecológica das futuras amostras. Assim, o presente trabalho teve como objetivo avaliar a diversidade genética de mudas de *A. angustifolia* de diferentes viveiros no estado de Santa Catarina, utilizando marcadores moleculares microsatélites, visando compreender como as formas de coleta podem estar influenciando a diversidade genética das mudas.

## Material e métodos

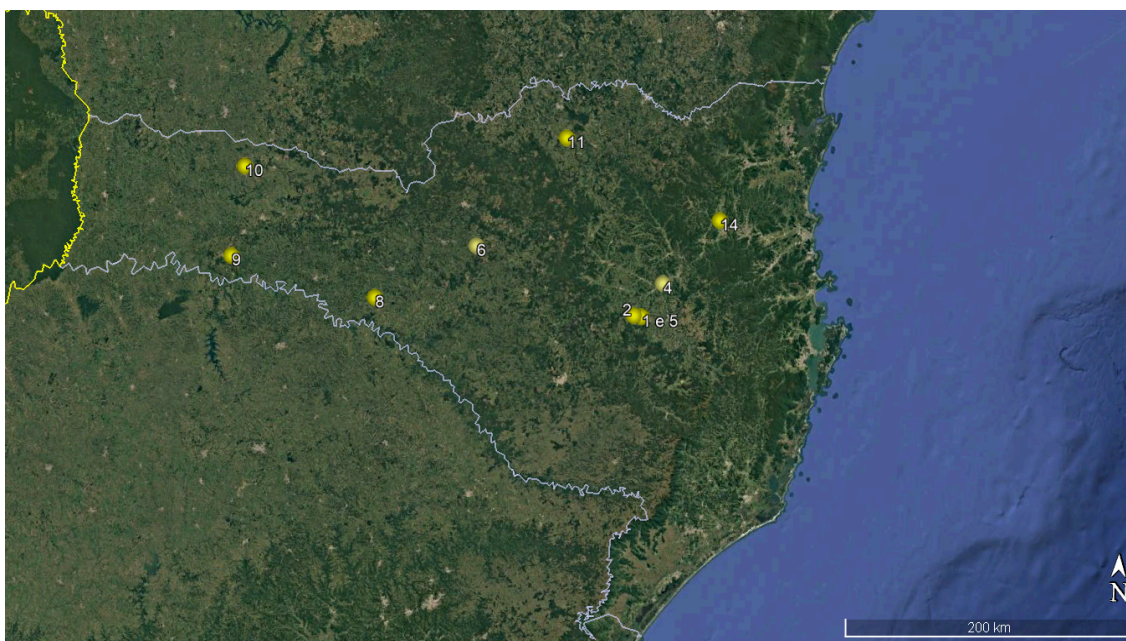
As análises foram conduzidas no Laboratório de Fisiologia do Desenvolvimento e Genética Vegetal da Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, SC.

### Amostragem

Os viveiros foram mapeados a partir da consulta ao banco de dados do Registro Nacional de Sementes e Mudas (Renasem). Foram selecionados 10 viveiros no estado de Santa Catarina (Figura 1) para a coleta do material vegetal, localizados nos municípios de Atalanta, Agrolândia, Rio do Sul, Fraiburgo, Capinzal, Chapecó, São Domingos, Major Vieira e Timbó

Foram coletadas, de forma aleatória, de 26 a 30 amostras foliares de mudas de *A. angustifolia* em cada viveiro, conforme disponibilidade de mudas, totalizando 290 amostras que foram acondicionadas em sacos plásticos identificados e mantidas em caixa térmica até serem transferidas para a geladeira.

Além da coleta de material foliar nos viveiros, realizaram-se entrevistas semi estruturadas onde as perguntas mais específicas foram: de quantas matrizes foram coletadas as sementes para a confecção das mudas e quais os critérios para coleta das sementes.



**Figura 1.** Viveiros selecionados para a coleta de amostras foliares de *A. angustifolia*.

### **Extração e genotipagem**

A extração de DNA foi realizada utilizando o protocolo de brometo de hexadeciltrimetilamônio (CTAB 2%) descrito por Doyle e Doyle (1987) com a seguinte modificação: adição de uma gota de CTAB 10% por amostra na primeira lavagem com CIA para retirada residual de possíveis polissacarídeos. A qualidade do DNA foi aferida com o uso do espectrofotômetro NanoDrop 1000® utilizando as razões de absorbância 260/280 e 260/230.

Para garantir a eficiência e a reprodutibilidade das reações em cadeia da polimerase (PCR), todas as amostras de DNA foram padronizadas para uma concentração de 100 ng/μL diluídas em água ultrapura.

Foram utilizados 7 marcadores microssatélites desenvolvidos por Schmidt *et al.* (2007). As reações de PCR foram realizadas em placas de 96 poços onde foram adicionados 2 μL de DNA e 13 μL de master mix de PCR, sendo um volume total de 15μL. O mix foi composto por: 5,2 μL de água ultrapura, 1,3 μL de BSA 2,5mn (albumina do soro bovino), 1,6 μL de solução tampão 10x, 0,8 μL de MgCl<sub>2</sub>, 1 μL de solução de dNTPs, 0,5 μL de primer forward, 1,2 μL de primer reverse, 0,2 μL de Taq-DNA-polimerase e 1,2 μL de primer fluorescente M13.

As placas foram conduzidas ao termociclador e utilizada a seguinte programação: desnaturação inicial a 94 °C por 5 minutos; seguida por 29 ciclos de: desnaturação a 94 °C por 1 minuto, anelamento (Ta) a 56 °C ou 58 °C por 1 minuto, e extensão a 72 °C por 1 minuto; e, finalmente, uma extensão final a 72 °C por 7 minutos.

A avaliação da qualidade e verificação da amplificação dos produtos de PCR foi realizada por meio de eletroforese em gel de agarose com concentração de 3% e tampão TBE 1x.

As corridas eletroforéticas foram conduzidas a 100 Volts (V) por 60 minutos. Os fragmentos foram visualizados em um transiluminador de luz UV e as imagens foram capturadas. O tamanho dos fragmentos foi estimado por comparação com um marcador de peso molecular de 50pb no programa GelAnalyzer v23.1.1 (Lazar Jr. e Lazar Sr., 2023).

### **Análise de dados**

A análise de diversidade genética foi realizada por meio dos seguintes parâmetros: n° médio de alelos por locus ( $\hat{A}$ ), n° efetivo de alelos por locus ( $\hat{A}_e = 1/(1-H_e)$ ), heterozigosidade esperada ( $H_e$ ), heterozigosidade observada ( $H_o$ ), índice de fixação ( $f$ ) e índice Fst. Todos os parâmetros foram estimados pelo programa GenAlEx

v6.5 (Peakall e Smouse, 2012). A presença ou ausência de alelos nulos foi verificada pelo programa Micro-Checker v2.2.3 (Oosterhout *et al.*, 2003).

A relação entre os índices de diversidade e as práticas de coleta de semente foi observado comparando os valores genéticos encontrados nas análises com o número de matrizes e os critérios de coleta utilizados, visando entender se esses parâmetros exerceram influência sobre a diversidade genética das amostras de mudas dos viveiros estudados.

## **Resultados e discussão**

O número de matrizes para a coleta de sementes, nas amostras de mudas dos viveiros estudados, variou de 1 a 50. O critério mais empregado para a coleta foi a disponibilidade de sementes, enquanto a sanidade foi o menos utilizado (Tabela 2).

Foram encontrados 107 alelos distintos, dos quais 73 foram classificados como alelos raros, com frequência menor que 5%. A amostra 5 apresentou o maior número de alelos raros (29), representando 39% dos alelos raros observados. Já a amostra 8 apresentou o menor número de alelos raros (2) (Tabela 1).

O número efetivo de alelos ( $\hat{A}_e$ ) foi menor do que o número médio de alelos ( $\hat{A}$ ) em todas as amostras. A amostra 5 demonstrou a maior riqueza alélica em ambos os indicadores e a amostra 1 a maior diferença entre os indicadores (37%).

A heterozigosidade observada ( $\hat{H}_o$ ) foi menor que a heterozigosidade esperada ( $\hat{H}_e$ ) em todas as amostras estudadas. O menor valor de  $\hat{H}_o$  (0,014) foi observada na amostra 4, enquanto a amostra 2 o maior valor de  $\hat{H}_o$  (0,329) (Tabela 1). O índice de fixação ( $f$ ) foi positivo em todas as amostras, variando de 0,627 a 0,985, com uma média geral de 0,834. Além disso, o valor de diferenciação genética foi de  $F_{st} = 0,086$ .

Foi detectado um indício de alelos nulos, o que pode ser uma consequência da técnica de eletroforese em gel utilizada. Por ser um método de menor precisão, é possível que essa técnica tenha influenciado a estimativa da heterozigosidade observada ( $\hat{H}_o$ ).

**Tabela 1.** Índices de diversidade genética de *A. angustifolia*

Amostra	$\hat{A}$	$\hat{Ae}$	$\hat{Ho}$	$\hat{He}$	$f$	AE<5%
1	13,143	8,187	0,119	0,848	0,871	6
2	12,571	8,669	0,329	0,865	0,627	3
4	11,714	8,517	0,014	0,858	0,985	3
5	16,286	10,930	0,192	0,879	0,793	29
6	13,000	9,116	0,214	0,856	0,766	6
8	12,429	8,880	0,057	0,845	0,938	2
9	15,143	10,624	0,169	0,885	0,819	11
10	12,857	8,845	0,132	0,882	0,852	3
11	13,286	8,943	0,052	0,873	0,943	7
14	12,000	8,067	0,235	0,840	0,743	4
Média	13,243	9,078	0,151	0,863	0,834	7,4

Nº médio de alelos por locus ( $\hat{A}$ ); Nº efetivo de alelos por locus ( $\hat{Ae}$ ); Heterozigosidade esperada ( $\hat{He}$ ); Heterozigosidade observada ( $\hat{Ho}$ ); Índice de fixação ( $f$ ); Nº de alelos raros com frequência menor do que 5%.

**Tabela 2.** Número de matrizes e critérios utilizados na coleta de sementes pelos viveiros estudados.

Viveiros	Nº de matriz	Critério de coleta
1	5	fenótipo
2	5	fenótipo e disponibilidade de sementes
4	50	facilidade e disponibilidade de sementes
5	30	disponibilidade de sementes
6	6	disponibilidade de sementes
8	4	disponibilidade de sementes
9	40	fenótipo, facilidade e sanidade
10	1	facilidade
11	3	fenótipo e disponibilidade de sementes
14	20	fenótipo

Os resultados mostram uma alta riqueza alélica, com uma média de 13,2 alelos por locus ( $\hat{A}$ ). Este valor é considerado elevado quando comparado a outros estudos que utilizaram marcadores microssatélites para *A. angustifolia*, que variam de 7,4 a 9,56 (Sant'anna *et al.*, 2013; Bittencourt e Sebbenn, 2008; Medina-Macedo *et al.*, 2015). O número efetivo de alelos ( $\hat{Ae}$ ) se mostra menor que o número médio de alelos ( $\hat{A}$ ) em todas as amostras o que é esperado e indica que a diversidade genética atual das amostras é dominada por um conjunto de alelos mais comuns enquanto a riqueza alélica é intensificada por um alto número de alelos raros (Crow e Kimura, 2010). Essa alta quantidade de alelos raros encontrados (7,4) sugere que existe uma conservação da diversidade genética dentro das amostras, o que poderia manter a diversidade genética

futura das amostras regeneradas. Porém, alelos raros são altamente vulneráveis à perda por deriva genética, especialmente em amostras pequenas e isoladas (Montagna *et al.*, 2016). De acordo com Medina-Macedo *et al.* (2016), enquanto o aumento no número de doadores de pólen eleva a quantidade total de alelos e a riqueza alélica dentro das amostras, o aumento do parentesco dentro das amostras diminui a diversidade genética. Assim, a disponibilidade de dados prévios sobre os níveis de diversidade genética é indispensável para a escolha de locais de coleta e para prevenir a seleção de amostras de baixa diversidade (Montagna *et al.*, 2019).

O índice de fixação ( $f$ ) elevado e positivo, com uma média de 0,834 é reflexo de uma baixa  $\hat{H}_o$  (média de 0,151) em relação à  $\hat{H}_e$  (média de 0,863). Esses resultados são considerados extremamente elevados quando comparados com valores encontrados em amostras naturais. Por exemplo, no estudo realizado por Montagna *et al.* (2012) em áreas de conservação, o índice de fixação de 0,217, embora também positivo, se mostrou significativamente inferior ao valor médio de 0,834. A alta taxa de fixação pode reduzir a aptidão da progênie por meio da depressão por endogamia, reduzindo a proporção de pólen compatível, diminuindo a reprodução e consequentemente o crescimento populacional (Jones *et al.*, 2006). É necessário ressaltar que foram encontrados alelos nulos em todos os marcadores utilizados, sendo uma das razões que pode ter causado um déficit de heterozigotos em loci de microssatélites (Nascimento de Souza *et al.*, 2005), inflacionando o índice de fixação.

O alto grau de fixação pode ser atribuído a práticas de coleta de sementes. Foi constatado que o número de matrizes usadas para coleta nos viveiros apresentou uma grande variação, de 1 a 50 (Tabela 2), podendo estar evidenciando que a fixação é intensificada pela coleta em um número insuficiente de matrizes ou pela seleção de matrizes espacialmente próximas, possivelmente aparentadas (Sebbenn, 2002, 2006). Isso possivelmente pode ser observado na amostra 11, que apresentou um número baixo de matrizes (3), e um valor de  $\hat{H}_o$  (0,052), indicando que a coleta de sementes em uma quantidade insuficiente de indivíduos resulta em uma alta taxa de fixação. Em contraste, a amostra 14, com um número considerável de matrizes (20), registrou um valor de  $\hat{H}_o$  (0,235) mais alto, demonstrando que a coleta em maior número de matrizes, possivelmente distantes entre si, diminui a taxa de fixação.

Este cenário genético pode ser uma consequência direta dos principais critérios de coleta atualmente empregados pelos viveiros, que se baseiam no fenótipo da matriz, na disponibilidade de sementes e na facilidade de acesso, comprometendo a variedade

genética das mudas (Tabela 2). Além disso, torna-se essencial adotar parâmetros técnicos de coleta de sementes para que as amostras de mudas apresentem a maior variabilidade genética possível, garantindo capacidade adaptativa das futuras amostras. Bittencourt e Sebbenn (2008) sugerem que a coleta de sementes de *A. angustifolia* seja feita em indivíduos separados por, no mínimo, 100 metros e envolver um mínimo de 30 árvores matrizes distintas, visando aumentar a variedade genética das sementes coletadas. Também, é recomendado a coleta de sementes de diferentes pinhas em diferentes posições da copa, já que a polinização da araucária é mediada pelo vento, e diferentes pinhas podem ser polinizadas por diferentes machos (Montagna *et al.*, 2019).

O índice  $F_{st}$  (0,086) revela que 8,6 % da variação genética total está presente entre as amostras, enquanto 91,4 % está dentro destas amostras. Estudos indicam que *A. angustifolia* apresenta, historicamente, baixa diferenciação genética entre amostras, variando de 0,04 a 0,102, o que é frequentemente atribuído ao alto fluxo gênico histórico (Auler *et al.*, 2002; Sousa *et al.*, 2003). Evidências palinológicas (pólen) indicam que a última grande expansão da floresta de araucária ocorreu, principalmente, entre 1500 e 900 anos atrás (Behling, 1997; Robinson *et al.*, 2018). Isso sugere que, pelo menos no sul do Brasil, a araucária é uma espécie de expansão recente e rápida, provavelmente originada de um único refúgio (Lauterjung *et al.*, 2018).

Assim, a realização da coleta de sementes em múltiplas áreas dentro de uma zona estabelecida é fundamental para representar adequadamente a amplitude da diversidade genética presente nas diferentes amostras (Erickson e Halford, 2020). Estudos como o de Montagna *et al.* (2019) mostram que mesmo com a fragmentação e redução drástica da floresta de araucária, alguns fragmentos florestais ainda são adequados como fonte de sementes para projetos de restauração.

## **Conclusões**

As análises de diversidade genética em mudas de *A. angustifolia* em viveiros mostraram uma alta riqueza alélica e a presença de alelos raros nas amostras, demonstrando que apesar da fragmentação, redução populacional e a falta de critérios mais técnicos utilizados pelos viveiros visitados, um reservatório genético se mantém presente, o que é fundamental para a capacidade adaptativa, reforçando a necessidade de conservação de fragmentos florestais remanescentes. No entanto, a alta endogamia encontrada nas amostras e o  $F_{st}$  mostrando baixa diferenciação entre as amostras de viveiros apontam para práticas inadequadas de coleta de semente, tornando urgente a

implementação de parâmetros técnicos e científicos na escolha das áreas e matrizes para a coleta, visando manter a diversidade genética da floresta de araucária, a capacidade de adaptação da espécie diante as mudanças climáticas e conseqüentemente o sucesso dos projeto de restauração e conservação da espécie.

## Referências

AULER, N. M. F.; REIS, M. S.; GURIES, R. P. The genetics and conservation of *Araucaria angustifolia*: I. Genetic structure and diversity of natural populations by means of non-adaptive variation in the state of Santa Catarina, Brazil. **Genetics and Molecular Biology**, v. 25, n. 3, p. 299-304, 2002.

BEHLING, H. Late Quaternary vegetation, climate and fire history of the Araucaria forest and campos region from Serra Campos Gerais, Paraná State (South Brazil). **Review of Palaeobotany and Palynology**, v. 97, p. 109–121, 1997.

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

CARVALHO, Paulo Ernani Ramalho. **Especies Arboreas Brasileiras**. Embrapa Informação Tecnológica, 2002.

CROW, James F.; KIMURA, Motoo. **An introduction to population genetics theory**. Indian eded. Jodhpur, New Jersey: Scientific Publisher (India); The Blackburn Press, 2010.

DOYLE, J. J.; DOYLE, J. L. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. **Phytochemical Bulletin**, v. 19, n. 1, p. 11–15, 1987.

DUARTE, L.; DOS-SANTOS, M.; HARTZ, S.; PILLAR, V. Role of nurse plants in Araucaria Forest expansion over grassland in south Brazil. **Austral Ecology**, v. 31, p. 520-528, 2006.

ERICKSON, V.; HALFORD, A. Seed planning, sourcing, and procurement. **Restoration Ecology**, v. 28, 2020.

HOFFMANN, P. M. et al. Identifying target species and seed sources for the restoration of threatened trees in southern Brazil. **Oryx**, v. 49, p. 425–430, 2015.

JONES, F. A. et al. Inferring colonization history from analyses of spatial genetic structure within populations of *Pinus strobus* and *Quercus rubra*. **Molecular Ecology**, v. 15, p. 851–861, 2006.

KORNDÖRFER, C.; DILLENBURG, L.; DUARTE, L. Assessing the potential of *Araucaria angustifolia* (Araucariaceae) as a nurse plant in highland grasslands of south Brazil. **New Zealand Journal of Botany**, v. 53, n. 14-5, 2015.

LAUTERRJUNG, M. B. et al. Phylogeography of Brazilian pine (*Araucaria angustifolia*): integrative evidence for pre-Columbian anthropogenic dispersal. **Tree Genetics & Genomes**, v. 14, n. 36, 2018.

LAZAR JR., I.; LAZAR SR., I. **GelAnalyzer**. Versão 23.1.1. I. Lazar Jr., I. Lazar Sr., 2023. Disponível em: [www.gelanalyzer.com](http://www.gelanalyzer.com). Acesso em: 10 nov. 2025.

MEDINA-MACEDO, L. et al. Using genetic diversity and mating system parameters estimated from genetic markers to determine strategies for the conservation of *Araucaria angustifolia* (Bert.) O. Kuntze (Araucariaceae). **Conservation Genetics**, v.17, p. 413–423, 2016.

MEDINA-MACEDO, L. et al. High levels of genetic diversity through pollen flow of the coniferous *Araucaria angustifolia*: a landscape level study in Southern Brazil. **Tree Genetics & Genomes**, v. 11, n. 814, 2015.

MONTAGNA, T. et al. Situação atual e recomendações para conservação de 13 espécies de alto valor para uso e conservação no estado de Santa Catarina. In: DE GASPER, A. L. et al. (Org.). **Inventário Florístico Florestal de Santa Catarina**, v. 7: Espécies Arbóreas Raras de Santa Catarina. Blumenau: Edifurb, 2017. p. 159–241.

MONTAGNA, T. et al. Guidelines for seed collection of *Araucaria angustifolia* (Bertol.) Kuntze: A genetic, demographic and geographic approach. **Forest Ecology and Management**, v. 438, p. 10-17, 2019.

MONTAGNA, T.; WREGGE, M. S.; HIGA, A. R. A importância das UC na diversidade genética de *Araucaria angustifolia*. **Revista Brasileira de Agroecologia**, v. 11, n. 2, p. 154-164, 2016.

MONTAGNA, T.; FERREIRA, D. K.; STEINER, F. et al. A importância das Unidades de Conservação na manutenção da diversidade genética de araucária (*Araucaria angustifolia*) no Estado de Santa Catarina. **Biodiversidade Brasileira**, v. 2, n. 2, p. 17-24, 2012.

MYERS, N. et al. Biodiversity hotspots for conservation priorities. **Nature**, v. 403, p. 853–845, 2000.

NASCIMENTO DE SOUSA, S.; FINKELDEY, R.; GAILING, O. Experimental verification of microsatellite null alleles in Norway spruce (*Picea abies*

[L.] Karst.): implications for population genetic studies. **Plant Molecular Biology Reporter**, v. 23, p. 113–119, 2005.

OLIVEIRA-FILHO, A. T.; FONTES, M. A. L. Patterns of floristic differentiation among Atlantic Forests in southeastern Brazil and the influence of climate. **Biotropica**, v. 32, p. 793–810, 2000.

OOSTERHOUT, C. van et al. **Microchecker**: Version 2.2.3. [S. l.]: [s. n.], 2003.

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

ROBINSON, M. et al. Uncoupling human and climate drivers of late Holocene vegetation change in southern Brazil. **Scientific Reports**, v. 8, n. 7800, 2018.

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

SCHMIDT, A. B. et al. Isolation and characterization of microsatellite markers for *Araucaria angustifolia* (Araucariaceae). **Molecular Ecology Notes**, v. 7, n. 2, p. 340–342, 2007.

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, dez. 2002.

SEBBENN, A. M. Sistema de reprodução em espécies arbóreas tropicais e suas implicações para a seleção de árvores matrizes para reflorestamentos ambientais. In: HIGA, A. R.; SILVA, L. D. (Org.). **Pomar de Sementes de Espécies Florestais Nativas**. Curitiba: FUPEF, 2006. p. 93–138.

SOUSA, V. A. de et al. (Org.). **Araucária**: pesquisa e desenvolvimento no Brasil. Brasília, DF: Embrapa, 2021.

SOUSA, V. A.; ROBINSON, I. P.; HATTEMER, H. Variation and population structure at enzyme gene loci in *Araucaria angustifolia* (Bert.) O. Ktze. **Silvae Genetica**, v. 53, p. 12–19, 2003.

SOUZA, A. F. et al. Regeneration patterns of a long-lived dominant conifer and the effects of logging in southern South America. **Acta Oecologica**, v. 34, n. 2, p. 221–232, 2008.

TABARELLI, M. et al. The Atlantic Forest of Brazil: endangered species and conservation planning. In: GALINDO-LEAL, C.; CÂMARA, I. de G. (Ed.). **The Atlantic Forest of South America**: biodiversity status, trends, and outlook. Washington, D.C.: Center for Applied Biodiversity Science and Island Press, 2003. p. 86–94.

THOMAS, E. et al. Genetic considerations in ecosystem restoration using native tree species. **Forest Ecology and Management**, v. 333, p. 66-75, 2014.

VANCINE, M. H. et al. The Atlantic Forest of South America: spatiotemporal dynamics of vegetation and implications for conservation. **Biological Conservation**, v. 291, 110491, 2024.

WREGGE, M. S. et al. Climate change and conservation of *Araucaria angustifolia* in Brazil. **Unasylva**, v. 60, p. 231-232, 2009.

WREGGE, M. S. et al. Distribuição natural e habitat da araucária frente às mudanças climáticas globais. **Brazilian Journal of Forestry Research**, v. 7, p. 31-346, 2017.

ZOREK, B. E. et al. How much Araucaria Mixed Forest remains? Novel perspectives on conservation status based on satellite imagery and policy review. **Biological Conservation**, v. 296, 2024.