



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

Caracterização genética e estrutura populacional de diferentes origens de

Araucaria angustifolia na FLONA de Três Barras

Diogo Klock Ferreira

Florianópolis Santa Catarina – Brasil Dezembro - 2008

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

Diogo Klock Ferreira

### Caracterização genética e estrutura populacional de diferentes origens de Araucaria angustifolia na FLONA de Três Barras

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Recursos Genéticos Vegetais da Universiadade Federal de Santa Catarina, como requisito para obtenção do título de mestre em Ciências, área de concentração Recursos Genéticos Vegetais

Orientador: Prof. Dr. Maurício Sedrez dos Reis

Florianópolis Santa Catarina – Brasil Dezembro - 2008

#### **Agardecimentos**

Aos meus pais, por acreditarem na minha capacidade, pelo incentivo, força, dedicação e confianca.

Aos meus irmãos Murilo Klock Ferreira, Letícia Klock Ferreira e Gleisi Souza Leite, por estarem juntos comigo em todos os momentos de minha caminhada.

Aos meus Avós, que mesmo sem entenderem muito bem o que eu estava fazendo sempre me deram força.

Ao meu pai científico Maurício Sedrez dos Reis, muito mais que um orientador, um amigo verdadeiro, que em momentos de conversas proporcionou muitos encinamentos, além da confiança depositada e por acreditar na minha capacidade durante estes oito anos de NPFT.

Ao Prof. Adelar Mantovani (Fabião), que acompanhou minha formação acadêmica, desde a graduação até o mestrado. Com grande influência sobre as idéias e discussões desenvolvidas. Aos "cromossomos" do NPFT, que compartilharam momentos muito agradáveis durante minha passagem no grupo. (Montagna, André, Caio, Andrea, Manuela, Priscila, Samantha, Cristina Zago, Siminski, Ruschel, Mariot e Preto).

Em especial, a Karina pelo auxílio com os programas e a Andrea pela ajuda no campo.

A velha guarda do NPFT, Preto, Mariot, Siminski, Ângelo, Marcelo e Zago, que contribuiram muito com a minha formação.

Aos amigos de graduação Preto, Laguna e Carcaça, que acompanharam minha caminhada e tiveram uma participação fundamental na minha vida.

Aos amigos de infância, Henrre, Quadrado, Coquinho, Ed, Papito, Negão, Leandro, Cris, Pamela, Isa, Carol e Ju, por entenderem a minha ausência em momentos de confraternização.

#### Sumário

1. INTRODUÇÃO	11
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	
2.1. DESCRIÇÃO DA ESPÉCIE	
2.2. FLORESTA NACIONAL DE TRÊS BARRAS	
2.3. ESTRUTURA POPULACIONAL	17
2.4. GENÉTICA DE POPULAÇÕES E CONSERVAÇÃO	18
2.5. PRODUÇÃO DE SEMENTES	20
3. OBJETIVOS E HIPÓTESES	
3.1. OBJETIVO GERAL	
3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	23
3.3. HIPÓTESES	24
4. MATERIAL E MÉTODOS4.1. ÁREA DE ESTUDO	
4.2. ESTRUTURA POPULACIONAL	27
4.3. DIVERSIDADE GENÉTICA	27
4.3.1. COLETA E ANÁLISE DE MATERIAL	27
4.4. Análise dos dados	32
4.5. SISTEMA REPRODUTIVO	35
5. RESULTADOS	36
5.2. DIVERSIDADE GENÉTICA	43
6. DISCUSSÃO	
6.1. DEMOGRAFIA	
6.2. GENÉTICA	63
7. CONCLUSÕES	75
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	77

30

#### Lista de Tabelas

- **TABELA 1.** DADOS DE ORIGEM, NÚMERO DO TALHÃO, ÁREA, NÚMERO DE COVAS E ESPAÇAMENTO DOS PLANTIOS DE ARAUCÁRIA NA FLONA DE TRÊS BARRAS (RELATÓRIOS INTERNOS IBAMA, 1946, 1947, 1948, 1949, 1951, 1952, 1953, 1954, 1955, 1956, 1957, 1958, 1959, 1960, 1965, 1966 E 1967). NPFT/RGV FLORIANÓPOLIS, 2008.
- **TABELA 2.** SISTEMAS DE TAMPÃO ELETRODO/GEL EMPREGADOS PARA ELETROFORESE DE ISOENZIMAS EM *ARAUCARIA ANGUSTIFOLIA.* 29
- TABELA 3 SOLUÇÃO DE EXTRAÇÃO NÚMERO 1 ALFENAS ET. AL. (1998, P. 96).
- **TABELA 4.** CARACTERÍSTICAS POPULACIONAIS DOS PLANTIOS E DA MATA NATIVA, PARA CARACTERIZAÇÃO DEMOGRÁFICA DE *ARAUCARIA ANGUSTIFOLIA* NA FLORESTA NACIONAL DE TRÊS BARRAS, PLANALTO NOSTE DE SANTA CATARINA. NPFT/RGV, FLORIANÓPOLIS, 2008.
- **TABELA 5.** FREQUÊNCIA DE INDIVÍDUOS POR HECTARE DE *ARAUCARIA ANGUSTIFOLIA* POR CLASSES DE DIÂMETRO E ALTURA NA PROCÊDENCIA DE CURITIBANOS NA FLONA DE TRÊS BARRAS. NPFT/RGV FLORIANÓPOLIS, 2008.
- **TABELA 6.** FREQUÊNCIA DE INDIVÍDUOS POR HECTARE DE *ARAUCARIA ANGUSTIFOLIA* POR CLASSES DE DIÂMETRO E ALTURA NA PROCÊDENCIA DE ANITA GARIBALDI NA FLONA DE TRÊS BARRAS. NPFT/RGV FLORIANÓPOLIS, 2008.
- **TABELA 7.** FREQUÊNCIA DE INDIVÍDUOS POR HECTARE DE *ARAUCARIA ANGUSTIFOLIA* POR CLASSES DE DIÂMETRO E ALTURA NA PROCÊDENCIA DE CANOINHAS NA FLONA DE TRÊS BARRAS. NPFT/RGV FLORIANÓPOLIS, 2008.
- **TABELA 8.** FREQUÊNCIA DE INDIVÍDUOS DE *ARAUCARIA ANGUSTIFOLIA* POR CLASSES DE DIÂMETRO E ALTURA EM FRAGMENTOS DA MATA NATIVA NA FLONA DE TRÊS BARRAS. NPFT/RGV FLORIANÓPOLIS, 2008.
- **TABELA 9.** ESTIMATIVA DAS FREQÜÊNCIAS ALÉLICAS PARA 3 PLANTIOS E UMA ÁREA DE MATA NATIVAS DE *ARAUCARIA ANGUSTIFOLIA*, COM DADOS, EMPREGANDO-SE 17 LOCOS ALOZÍMICOS. NPFT/RGV FLORIANÓPOLIS, 2008.
- **TABELA 10.** ESTIMATIVA DAS FREQÜÊNCIAS ALÉLICAS PARA 3 PROGÊNIES DE *ARAUCARIA ANGUSTIFOLIA*, EMPREGANDO-SE 10 LOCOS ALOZÍMICOS. NPFT/RGV FLORIANÓPOLIS, 2008.
- TABELA 11. ÍNDICES DE DIVERSIDADE INTRAPOPULACIONAIS PARA PLANTIOS DE INDIVIDUOS ADULTOS E JOVENS E UMA ÁREA DE MATA NATIVA DE *ARAUCARIA ANGUSTIFOLIA*, EMPREGANDO-SE 17 LOCOS ALOZÍMICOS. N: TAMANHO DA AMOSTRA;  $\hat{A}$ : NÚMERO DE ALELOS POR LOCO;  $\hat{A}e$ : NÚMERO DE ALELOS EFETIVOS;  $\hat{P}_{9996}$ : PORCENTAGEM DE LOCOS POLIMÓRFICOS;  $\hat{H}_e$ : HETEROZIGOSIDADE OBSERVADA;  $\hat{H}_e$ : DIVERSIDADE GÊNICA;  $\hat{f}$ : ÍNDICE DE FIXAÇÃO NA FLONA DE TRÊS BARRAS. NPFT/RGV FLORIANÓPOLIS, 2008.
- **TABELA 12.** ÍNDICES DE DIVERSIDADE INTRAPOPULACIONAIS PARA INDIVIDUOS ADULTOS E JOVENS EM 3 PLANTIOS E UMA ÁREA DE MATA NATIVA DE *ARAUCARIA ANGUSTIFOLIA*, EMPREGANDO-SE 10 LOCOS ALOZÍMICOS. N: TAMANHO DA AMOSTRA;  $\hat{A}$ : NÚMERO DE ALELOS POR LOCO;  $\hat{A}e$ : NÚMERO DE ALELOS EFETIVOS;  $\hat{P}_{9995}$ : PORCENTAGEM DE LOCOS

- POLIMÓRFICOS;  $\hat{H}_{o}$ : HETEROZIGOSIDADE OBSERVADA;  $\hat{H}_{e}$ : DIVERSIDADE GÊNICA;  $\hat{f}$ : ÍNDICE DE FIXAÇÃO NA FLONA DE TRÊS BARRAS. NPFT/RGV FLORIANÓPOLIS, 2008. 49
- **TABELA 13.** ESTIMATIVAS DOS PARÂMETROS Fis E Fit E DA DIVERGÊNCIA GENÉTICA (Fst) GERADOS POR ANÁLISE VARIÂNCIA PARA INDIVÍDUOS ADULTOS E JOVENS DE 4 POPULAÇÕES ARAUCARIA ANGUSTIFOLIA, EMPREGANDO-SE 13 LOCOS ALOZÍMICOS. NPFT/RGV FLORIANÓPOLIS, 2008.
- **TABELA 14.** FREQUÊNCIAS ALÉLICAS DE PÓLEN E ÓVULO, TAMANHO AMOSTRAL (N) E DIVERGÊNCIA GENÉTICA ENTRE FREQUÊNCIA ALÉLICAS DE PÓLEN E ÓVULO  $(F_{ST})$  PARA A, ANGUSTIFOLIA NO PLANTIO DE CANOINHAS LOCALIZADO NA FLONA DE TRÊS BARRAS. NPFT/RGV FLORIANÓPOLIS, 2008.
- **TABELA 15.** FREQUÊNCIAS ALÉLICAS DE PÓLEN E ÓVULO, TAMANHO AMOSTRAL (N) E DIVERGÊNCIA GENÉTICA ENTRE FREQUÊNCIA ALÉLICAS DE PÓLEN E ÓVULO  $(F_{ST})$  PARA A, ANGUSTIFOLIA NO PLANTIO DE ANITA GARIBALDI LOCALIZADO NA FLONA DE TRÊS BARRAS. NPFT/RGV FLORIANÓPOLIS, 2008.
- **TABELA 16.** FREQUÊNCIAS ALÉLICAS DE PÓLEN E ÓVULO, TAMANHO AMOSTRAL (N) E DIVERGÊNCIA GENÉTICA ENTRE FREQUÊNCIA ALÉLICAS DE PÓLEN E ÓVULO  $(F_{ST})$  PARA *A, ANGUSTIFOLIA* NA MATA NATIVA LOCALIZADA NA FLONA DE TRÊS BARRAS. NPFT/RGV FLORIANÓPOLIS, 2008.
- **TABELA 17.** TAXA DE CRUZAMENTO MULTILOCO (TM), UNILOCO (TS), ENDOGAMIA BIPARENTAL (TM-TS), CORELAÇÃO DE AUTOFECUNDAÇÃO (RS), CORRELAÇÃO DE PATERNIDADE (RP), NÚMERO MÉDIO DE PLANTAS DOADORAS DE PÓLEN ( $1^{1/\hat{r}_p}$ ), PROPORÇÃO DE MEIOSIRMÃOS [ $\hat{t}_m$  ( $1^{1/\hat{r}_p}$ )], PROPORÇÃO DE IRMÃOS-COMPLETOS ( $\hat{t}_m$   $\hat{r}_p$ ), COANCESTRIA DENTRO DE PROGÊNIES ( $\hat{\theta}_{SP}$ ), TAMANHO EFETIVO DE VARIÂNCIA ( $\hat{N}_{e}$  (SP)) E NÚMERO DE MATRIZES ( $\hat{N}_e$ ) PARA TRÊS POPULAÇÕES DE A. ANGUSTIFOLIA NA FLONA DE TRÊS BARRAS. NPFT/RGV FLORIANÓPOLIS, 2008.

#### Lista de Figuras

FIGURA 1. ÁREAS DE MATA NATIVA E CROQUI DAS PROCEDÊNCIAS ANALISADAS

FIGURA 2. CROQUI DOS PLANTIOS COM AS DIFERENTES PROCEDÊNCIAS E OS ANOS EM QUE FORAM IMPLANTADOS

**FIGURA 3.** FLUXOGRAMA DE ENDOGAMIA PARA QUATRO GERAÇÕES DE CRUZAMENTOS ENTRE IRMÃOS COMPLETOS 68

#### **RESUMO**

O processo de exploração da araucária no Sul do Brasil, reduziu drasticamente as populações naturais da espécie, produzindo uma situação de ameaça e risco de extinção. Hoje à espécie encontra-se na "Red List da IUCN (The World Conservation Union) e na Lista Oficial de Espécies da Flora Brasileira Ameaçada de Extinção do IBAMA, através da Portaria N° 37-N, de 03 de abril de 1992, em ambas as listas na categoria vulnerável. Neste sentido a Floresta Nacional de Três Barras representa uma área de grande relevância para estudos de diversidade genética, pois na década de 50 foram feitos plantios com sementes de diferentes origens. Devido ao processo histórico de exploração da espécie estas procedências provavelmente representem uma diversidade que hoje não exista mais em populações naturais. Assim o conjunto de populações (nativa e plantada) presente na FLONA pode representar a maior diversidade genética da espécie em unidades de conservação no Brasil. Neste contexto, o presente trabalho teve como objetivo principal, caracterizar a diversidade genética e a estrutura populacional em plantios e populações naturais de Araucaria angustifolia, visando estabelecer estratégias de conservação e manejo da espécie e identificar áreas para a produção de sementes. Para a execução do trabalho foram avaliados, na FLONA de Três Barras (Canoinhas, SC), três plantios de diferentes origens, Anita Garibaldi, Canoinhas e Curitibanos e uma população nativa. Para os levantamentos dendrométricos foram implantadas três parcelas de 40 x 40m em cada área, e mensuradas as alturas e o diâmetros a altura do peito de todas as plantas. Para a caracterização genética foram coletadas amostras foliares de 50 indivíduos adultos e 50 jovens, as coletas respeitaram a distância mínima de 50 metros entre plantas. Também foram coletadas no mínimo três pinhas de dez matrizes visando a caracterização genética de progênies para a obtenção de estimativas de cruzamento correlacionados. O material procedente de Anita Garibaldi apresentou a major densidade (415 plantas/ha), seguido por Canoinhas, Curitibanos e Mata Nativa com 392, 332 e 175 plantas/ha respectivamente. As maiores alturas e diâmetros foram encontrados na Mata Nativa, seguida por Anita Garibaldi, Curitibanos e Canoinhas. As frequências alélicas mostraram a existência de alelos em baixa frequência e alelos exclusivos. Quando analisados 17 locos alozímicos, apenas para adultos e jovens, a média da heterozigosidade esperada para adultos foi 0,133, já para a heterozigosidade observada este valor foi 0,074, gerando um índice de fixação alto e positivo (0,444). Já para os jovens, a heterozigosidade esperada foi 0,127 e a heterozigosidade observada foi 0,081, gerando um índice de fixação de 0,362, um pouco menor que dos adultos. Nas progênies foram passíveis de interpretação somente 10 locos. Para efeitos comparativos foram reanalizados os indivíduos adultos e jovens com 10 locos. Os valores das heterozigosidades esperadas para adultos, jovens e progênies foram 0,099, 0,094 e 0,098 respectivamente, para a heterozigosidade observada os valores foram 0,075, 0,089 e 0,111, para adultos, jovens e progênies. Estes valores geram índices de fixação diferenciados; para adultos, o índice aproxima-se de irmãos completos (0,244), para jovens, o valor foi levemente positivo (0,053), já para as progênies o valor foi negativo (-0,137), apresentando um excesso de heterozigotos. As estatísticas F de Wright para os adultos, jovens e progênies dentro de populações (Fis) foram 0,435, 0,364 e -0,142, para o conjunto de populações (Fit) foram 0,603, 0,437 e 0,014 e a divergência genética entre populações (Fst) foram 0,293, 0,115 e -0,003 respectivamente. Para as progênies a divergência genética entre famílias ( $\hat{F}_{if}$ ) foi de 0,137. As taxas de cruzamento cálculadas para Canoinhas, Anita Garibaldi e Mata Nativa foram de 0,981, 0,974 e 1,049 respectivamente, estes dados são esperados para uma espécie dióica. Como a intensão inicial destes plantios era a produção de madeira, estes foram implantados em uma alta densidade, fator importante para a produção de sementes, pois aumenta a competição entre os indivíduos e provavelmente diminui a produtividade de sementes das áreas. Estes plantios apresentam alta diversidade genética, além dos alelos exclusivos da FLONA de Três Barras. Os índices de diversidade são compativeis com outros trabalhos, porém os índices de

fixação são altos para uma espécie dióica. Quando comparados os índices de fixação entre adultos, jovens e progênies, nota-se uma diminuição nos valores no sentido adultos progênies. Esta diminuição é reflexo da perda de heterozigotos na passagem de progênies para jovens e de jovens para adultos. Estes resultados levantam um questionamento sobre o assunto: o que ocorre na passagem de progênies para adultos, para que tenha uma perda de heterozigotos? As taxas de cruzamento encontradas foram compatíveis com uma espécie dióica. O número de árvores matrizes necessários para reter o tamanho efetivo de referência foi estimado através de valores teóricos, para conservação de curto e longo prazo. No sentido de determinar áreas para a coleta de sementes, é necessário analisar os dados de diversidade genética conjuntamente com os de estrutura populacional. A FLONA de Três Barras apresenta uma diversidade genética de grande importância, porém para aumentar a produção de sementes, seria necessário a intervenção através de desbastes. Esta intervenção pode representar um risco, no sentido da perda de alelos. A alternativa encontrada neste trabalho seria o desbaste assistido por marcadores genéticos.

#### **ABSTRACT**

The natural populations of araucária have drastically reduced in Southern Brazil due to the timber exploitation process. This situation has leading the species to a risk of extinction. Nowadays, the specie is included at the IUCN Red List (the International Union for Conservation of Nature) and also included in the "Lista Oficial de Espécies da Flora Brasileira Ameaçadas de Extinção" of IBAMA (Brazilian Institute of Environment) by regulation N° 37-N, 03 of April 1992. In both lists the specie is in the vulnerable category. Seeds of araucaria from different origins were planted in the Três Barras National Forest (FLONA) during 1950 decade, which represents an area of great relevance for studies of genetic diversity. These provenaces probably represent a diversity not found in natural populations anymore. The group of populations (natural and planted) in FLONA may represent the highest genetic diversity of araucaria among all conservation parks of Brazil. The main objective of this study is point out the genetic diversity and the population structure of Araucaria angustifolia, in plantings and natural populations of specie. Besides, this study intends to establish strategies for conservation and use of the specie and to identify places for seed production. Three different plantings origins (Anita Garibadi, Canoinhas and Curitibanos) and a native population from FLONA of Três Barras (Canoinhas. SC) were evaluated. Dendrometric data were collect in three plots of 40m x 40m established in each area, where the total heights and the diameter at breast height of all plants were measured. For the genetic distinction, foliar samples of 50 adult and 50 young individuals were collected, where the minimal distance of 50 meters between samples were respected. Also, at least three pinecones from ten individuals were collected, defined as matrixes. In order to estimate the outcross rate, the genetic distinction of progenies was established. The material from Anita Garibaldi has the highest density (415 plants/ha), followed by Canoinhas, Curitibanos and native forest, respectively with 392, 332 and 175 plants/ha. The biggest heights and diameters were found in native forest, followed by Anita Garibaldi, Curitibanos e Canoinhas. The allelic frequency showed the existence of alleles in low frequency and exclusives alleles. When analyzed 17 allozymic loci, only for adults and young, the mean heterozygosity expected for adults was 0.133, as for the heterozygosity observed one, this value was 0.074, generating a high and positive fixation index. For young, the heterozygosity expected was 0.127 and the heterozygosity observed one was 0.081, generating a fixation index of 0.362, a less than adults. Only 10 loci of progenies were susceptible for interpretation. The expected values of heterozygosity for adults, young and progenies were 0.099, 0.094 and 0.098 respectively, as the observed values were 0.075, 0.089 and 0.111 for adults, young and progenies. These values produce differentiated fixation indexes; for adults, the index reached close to complete brothers (0.244), for young, the value was slightly positive (0.053), as for progenies it was negative (-0.137) presenting an excess of heterozygotes. Wright's F statistics for adults, young and progenies inside populations (Fis) were 0.435, 0.364 and -0.142, for group of populations (Fit) 0.603, 0.437 and 0.014 and the genetic divergence among populations (Fst) were 0.293, 0.115 and -0.003 respectively. The genetic divergence between families ( $\hat{F}_{if}$ ) were 0.137 in progenies. Outcrossing rate calculated to Canoinhas, Anita Garibaldi and native forest were respectively 0.981, 0.974 and 1.049, which are expected for dioecious species. As the initial purposes of plantings were timber production, these plantings were made in high density, an important factor for seed production, because it increase the competition between individuals and probably decrease the seed productivity of these areas. These plantings present high genetic diversity, besides the exclusive alleles of FLONA of Três Barras. Diversity indexes are compatible with other studies, although fixation indexes are high for a dioecious species. Comparing fixation indexes among adults, young and progenies, a reduction of values was found in adults to progenies direction. This reduction is consequence of heterozygotes loss in transition from progenies to young and from young to adults. These results raise a guestion on the subject: what happens in the transition from progenies to adults to have a heterozygote loss? The outcrossing rates found were compatible with a dioecious species. The number of Mother-trees needed to keep the reference proportion was estimated over theoretical values, even to short and long-term conservation periods. Determining areas for seed collecting it is necessary to analyze genetic diversity data parallel with populational structure data. FLONA of Três Barras presents a genetic diversity with high relevance, but to increase the seed production, it would be necessary thinning. This strategy may represent a risk to loss important allele. In this way, the assisted pruning with genetic markers can be the alternative found from this study.

#### 1. INTRODUÇÃO

Durante setenta anos, a Região do Contestado foi cenário de um fenômeno econômico que ficará marcado na História de Santa Catarina como um dos mais importantes do século XX: a produção de madeira a partir da extração do pinheiro (*Araucaria angustifolia*) e, em menor escala, da imbuia (*Ocotea porosa*). Dominante em todo o planalto catarinense, a floresta de araucária recebeu o impacto da ação humana e foi arrasada de 1920 a 1990 para o sucesso da economia regional e estadual (Thomé 1995). Desta mesma forma, Guerra e Reis (1998) afirmam que a exploração da floresta de araucária, desde o início da colonização, alavancou o desenvolvimento para estas regiões do sul do país, desenvolvimento este, que estava longe de ser sustentável, pois a exploração foi predatória, seja do ponto de vista social, econômico e ecológico.

No início deste século, cerca de 35% da cobertura vegetal dos estados do sul do Brasil estavam representados pela Floresta Ombrófila Mista (FOM). No Estado de Santa Catarina a FOM ocupava aproximadamente 42,5% do território. Hoje essa cobertura não ultrapassa 5% da original, da qual se estima, que somente 0,7% poderia ser considerada primária, mantendo a sua integridade ecológica (Guerra et al., 2002).

A exploração predatória da FOM é uma preocupação antiga. Desde a década de 40, Laboriau e Mattos Filho (1948) demonstravam preocupação com a exploração da araucária. No mesmo sentido, Klein (1960) demonstrava preocupação com a conservação dessa espécie tanto pela intensa exploração madeireira quanto pela mudança climática, que poderia ter influência no desenvolvimento futuro da espécie. Segundo Mattos (1994), a exploração da araucária teve seu auge entre as décadas de 50 e 70. Desde então, a falta de uma política ambiental com medidas eficientes para controlar esta exploração desordenada, contribuiu para o esgotamento das reservas naturais de araucária, gerando inclusive a falta de matéria-prima para a indústria madeireira.

Todo esse processo de superexploração da espécie levou a mesma a riscos de extinção. Por estes motivos à espécie se encontra na "Red List da IUCN (The World Conservation Union) e na Lista Oficial de Espécies da Flora Brasileira Ameaçada de Extinção do IBAMA, através da Portaria N° 37-N, de 03 de abril de 1992, em ambas as listas na categoria vulnerável e pelo Workshop "Revisão da Lista da Flora Brasileira Ameaçada de Extinção", realizado em 2005, a espécie enquadra-se em perigo de extinção. A espécie também esta na lista publicada em setembro de 2008 pelo Ministério do Meio Ambiente, porém nesta nova lista não foram indicadas categorias.

Desta forma é urgente a necessidade de se conservar o que ainda resta da espécie tanto *in situ* quanto *ex situ*, mantendo o germoplasma existente e garantindo a sobrevivência e a integridade da espécie ao longo do tempo.

Desse modo, a caracterização genética das espécies é fundamental para diagnosticar sua capacidade de sobrevivência no futuro, principalmente as que atualmente estão incluídas nas categorias de ameaçadas de extinção como no caso da *Araucaria angustifolia*.

Neste contexto, a FLONA de Três Barras representa uma área de grande relevância para estudos de diversidade genética, pois na década de 50 foram implantados diversos talhões da espécie com sementes oriundas de diferentes locais, como: Anita Garibaldi, Curitibanos e Canoinhas. Estas procedências provavelmente representem uma diversidade que hoje não exista mais em populações naturais, devido ao processo exploratório que ocorreu nas regiões de procedência das sementes destes plantios. Assim o conjunto de populações (nativa e plantada) presente na FLONA pode representar uma das maiores diversidades genéticas da espécie em unidades de conservação no Brasil.

A partir da caracterização genética das populações plantadas da FLONA, será possível selecionar os plantios com maior variabilidade, onde será possível indicar áreas para produção de sementes com alta diversidade genética, além de servir como base de estudos em programas de melhoramento genético e como área experimental para desenvolvimento de técnicas de manejo.

#### 2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

#### 2.1. DESCRIÇÃO DA ESPÉCIE

A Araucaria angustifolia (BERT.) O. Kuntze, é conhecida popularmente como araucária, pinho, pinheiro, pinheiro do Paraná, pinheiro brasileiro, pinheiro das missões e pelos nomes indígenas de Curri ou Curi e Curiúva.

Esta espécie é uma conífera da família Araucariaceae (Krüssmann et al., 1985). O gênero araucária conta com 19 espécies somente no hemisfério sul, das quais duas são oriundas da América do Sul e o restante da Oceania (Guerra e Reis, 1998). Na América do Sul são encontradas as espécies *A. angustifolia* (Brasil e Argentina) e *A. araucana* (Argentina e Chile).

Os indivíduos desta espécie formam árvores de tamanho elevado, copa de formato peculiar tornando-se uma figura imponente e característica na paisagem do sul do Brasil. O pinheiro se destaca das outras espécies brasileiras, devido a sua forma original: 20-50m de altura, 1-2m de diâmetro (DAP), tronco cilíndrico, raramente ramificado e resinosa. A espécie é dióica, raras vezes monóica, com sexos separados em cones ou estróbilos (Reitz & Klein, 1966).

A Floresta Obrófila Mista tem como principal componente a *Araucaria angustifolia*. Sua área ocupava aproximadamente 20 milhões de ha, principalmente nos Estados do Paraná (40%), Santa Catarina (31%) e Rio Grande do Sul (25%), com manchas esparças em São Paulo (3%), chegando até o Sul de Minas Gerais e Rio de Janeiro, em áreas de altitude elevada (1%). Ruschi (1950), relata como área de ocorrência a Serra do Caparaó no Espírito Santo, a 1700m de altitude, com uma pequena população. Fora do Brasil ocorre a leste da Província de Misiones na Argentina (Carvalho 1994, Mattos 1994) e no leste do Paraguai (Carvalho 1994).

#### 2.2. FLORESTA NACIONAL DE TRÊS BARRAS

As FLONAS da região sul do Brasil foram, quase todas, criadas a partir do Instituto Nacional do Pinho, nas décadas de 40 e 50. O objetivo inicial era o de criar reservas de produção de araucária, em função do crescente desmatamento já identificado na época.

A Floresta Nacional (FLONA) de Três Barras foi criada pela Portaria Nº 560 do extinto Instituto Nacional do Pinho em 25/11/1968, com uma área total de 4.458,50 ha. Possui uma área de mata nativa representada principalmente por *Araucaria angustifolia*. Segundo IBAMA (2002), a FLONA de Três Barras já apresentou a maior arrecadação dentre as FLONAS do Brasil, oriunda da comercialização de produtos e sub-produtos florestais.

Está localizada no município de Três Barras, na região do planalto norte catarinense, distante 5 Km da cidade de Canoinhas. O tipo de relevo predominante na área pertence à classe de declividade plano a suave ondulado, com pequenas elevações nunca superiores a 30 m, com altitude média de 780 m. O clima da região é Cfb de Köppen, com temperatura média anual em torno de 17,5°C. A precipitação média anual está em torno de 1400 mm (Pandolfo *et al.*, 2002).

A vegetação da FLONA de Três Barras é composta por Floresta Ombrófila Mista, pertencente ao bioma Mata Atlântica. Esta tipologia destaca-se pela presença marcante da araucária dominando o dossel e caraguatá (*Bromelia anthiacanta*) e xaxim (*Dicksonia sellowiana*) no sub-bosque (Klein, 1978).

A cobertura florestal é composta por 634,3 ha representando 14,23% da área com reflorestamento de araucária e 1.327,3 ha com reflorestamento *Pinus* (29,8%), 767,94 ha (17,23%) de floresta nativa com araucária, 634,69 ha (14,23%) de mata ciliar, 820,68 ha (18,41%) de áreas com banhado, 6,73 ha (0,15%) de área inundada (lago, represa e tanque), e 217,30 ha (4,88%) de área não florestal (IBAMA,2002).

Os reflorestamentos de araucária foram implantados na década de 50, estes plantios foram realizados com sementes de diferentes locais de Santa Catarina. Segundo os relatórios internos da FLONA, Oliveira (1952, 1953, 1954, 1955, 1956, 1957, 1958, 1959 e 1960) e Bishop (1965, 1966,

1967) e relatórios dos anos de 1946, 1947, 1948, 1949 e 1951, foi possível identificar origens como: Anita Garibaldi, Curitibanos e Canoinhas. Estes plantios foram implantados com diferentes espaçamentos e praticamente não tiveram manejo, assim, possuem alta variação na densidade de plantas/ha (Tabela 1).

Os esforços gastos pelo antigo Instituto Nacional do Pinho para produzir madeira através de plantios de araucária, aparentemente foram deixados de lado, pois, durante muito tempo estes plantios ficaram sem qualquer perspectiva de uso racional.

Por outro lado, no ano de 2000, foi promulgada a Lei n° 9985/00, que regulamenta o Sistema Nacional de Unidades de Conservação (SNUC). De acordo com o SNUC, as FLONAS têm como objetivo básico "o uso múltiplo sustentável dos recursos florestais e a pesquisa científica, com ênfase em métodos para a exploração sustentável de florestas nativas" (Brasil 2000).

Assim, o objetivo atual das FLONAS representa o desafio de estimular a conservação dos ecossistemas através da geração de critérios para o manejo sustentável dos recursos florestais nativos, compatibilizando a educação ambiental, pesquisa e geração de renda junto as comunidades de entorno.

**Tabela 1**. Dados de origem, número do talhão, área, número de covas e espaçamento dos plantios de araucária na FLONA de Três Barras (Relatórios internos IBAMA, 1946, 1947, 1948, 1949, 1951, 1952, 1953, 1954, 1955, 1956, 1957, 1958, 1959, 1960, 1965, 1966 e 1967). NPFT/RGV

Florianópolis, 2008.

Origem	Talhão	Área (m²)	N <sup>0</sup> covas	Espaçamento	Ano	Volume extraído
			plantadas	(m)	Desbaste	(st)
	10	150.000	66.666	1,5 x 1,5	1977 e 1987	2.120 e 2.130
	11	45.000	20.000	1,5 x 1,5	1977 e 1986	3.024 e 3.000
Anita	14	54.000	24.000	1,5 x 1,5	1977 e 1982	900 e 320
Garibaldi	15	51.000	22.666	1,5 x 1,5	1977 e 1983	3.458 e 4.300
	40	49.000	21.777	1,5 x 1,5	1977 e 1983	671 e 430
	41	462.000	205.000	1,5 x 1,5	1977 e 1983	671 e 430
Curitibanos	7	250.000	236.810	1,0 x 1,0	1974, 1978 e1991	3.353, 2.376 e
						1.704
	8	250.000	248.500	1,0 x 1,0	1974, 1978 e 1986	4.308, 3.019 e
						2.000
	12	157.650	78.825	2,0 x 1,0	1977 e 1986	3.530 e 3.600
	16	192.000	96.000	2,0 x 1,0	1977 e 1988	3.560 e 2.432
	19	90.000	90.000	1,0 x 1,0	1977 e 1984	1.350 e 830
	20	90.000	90.000	1,0 x 1,0	1977 e 1985	1.951 e 1.600
	21	76.200	76.200	1,0 x 1,0	1977 e 1985	1.730 e 1.300
Canoinhas	22	90.000	90.000	1,0 x 1,0	1977 e 1985	1.800 e 1.327
	27	85.079	85.079	1,0 x 1,0	1977 e 1985	1.371 e 1.500
	28	63.180	63.180	1,0 x 1,0	1977 e 1985	948 e 1.750
	29	61.903	61.903	1,0 x 1,0	1977 e 1985	609 e 1.820
	30	64.000	64.000	1,0 x 1,0	1977 e 1984	1.229 e 2.026
	38	234.400	234.400	1,0 x 1,0	1977 e 1982	4.133 e 3.973
	39	166.560	166.560	1,0 x 1,0	1977 e 1988	2.886 e 1.701

#### 2.3. ESTRUTURA POPULACIONAL EM ESPÉCIES DO GÊNERO ARAUCÁRIA

Segundo Oyama (1993), os estudos demográficos envolvem a análise dos diferentes estágios do ciclo de vida de uma espécie buscando esclarecer os seus padrões de mortalidade, crescimento e reprodução. A análise da estrutura demográfica permite desvendar os fenômenos dependentes da densidade de plantas, como a interação com patógenos, mortalidade, competição e sucessão, dentro da dinâmica da comunidade vegetal (Gilbert, 2002).

Neste sentido, Drake et al. (2005) em um estudo de proposta de manejo para Araucaria araucana, encontraram a escassez de regeneração da espécie em florestas bem desenvolvidas. Neste mesmo estudo, os autores encontraram densidades maiores de regeneração nos morros, onde a densidade do subosque era menor, também foi observado que nos locais onde os indivíduos senescentes estavam caíndo a regeneração era maior. Da mesma forma Enright, Rigg e Jaffre (2001) utilizaram dados de outras três Araucariaceas, A. hustteinii, A. laubenfelsii e Agathis australis em Nova Guiné, Nova Caledônia e Nova Zelândia respectivamente. Estes autores sugerem que as três espécies apresentam baixas taxas de recrutamento para árvores próximas ao estágio maduro e também, em florestas onde ocorre a predominância de angiospermas. Para que ocorra o recrutamento das três espécies, existem evidências da nescesidade da condição de abertura no dossel.

Drake et al. (2005), verificou que A. araucana apresenta uma distribuição agregada e heterogenea para regeneração. Da mesma forma Silva et al. (1997) e Silva et al. (1998), estudaram a regeneração de A. angustifolia na região de Caçador (SC). Os autores verificaram que a espécie não apresenta uma distribuição uniforme nas classes de tamanho estudadas, sugerindo que sua sobrevivência na floresta possa estar comprometida, embora tenha apresentado maior abundância e frequência.

Quanto a estrutura demográfica em *A. araucana* e *A. angustifolia*, Drake *et al.* (2005) e Schneider *et al.* (1992) respectivamente, ao verificar as frequência de plantas nas classes diamétricas, observaram um maior número de indivíduos nas classes de menor diâmentro e um

reduzido número de plantas nas classes de diâmetro superior, considerando apenas plantas com DAP (Diâmentro a Altura do Peito) superior a 10cm. Puchalski *et al.* (2001), estudando três populações naturais de *A. angustifolia* no Estado de Santa Catarina, também encontrou uma maior frequência de indivíduos nas classes de menor diâmetro. Em outro estudo com nove populações, também em Santa Catarina, Puchalki et al. (2006) encontram sete populações que apresentaram maior frequência de indivíduos nas classes de menor tamanho (DAP<5cm), uma que apresentou o maior número de indivíduos na classe de 30 a 35cm de diâmetro, e em apenas uma população o maior número de indivíduos encontrava-se na classe de maior diâmetro (DAP>70cm).

Neste contexto Schneider *et al.* (1992) fazem considerações sobre a importância de se estudar a regeneração natural da espécie, visando obter parâmetros e informações capazes de auxiliar seu manejo.

#### 2.4. GENÉTICA DE POPULAÇÕES E CONSERVAÇÃO

Dentre as principais metas dos programas de conservação, juntamente com à preservação de habitats, é a manutenção dos níveis existentes de diversidade genética em espécies raras, ameaçadas ou que estão inseridas em biomas ameaçados (Hamrick *et al.* 1992, Neel & Ellstrand, 2003). A existência de variabilidade genética é de suma importância para garantir o potencial evolutivo e a sobrevivência das espécies em função das mudanças ambientais. Os parâmetros genéticos populacionais podem ser úteis na detecção de populações que apresentem diferentes magnitudes de variabilidade genética, e desse modo, requerem diferentes estratégias para sua conservação, seja ela *in situ* ou *ex situ* (Newton *et al.*, 1999). Ao idealizar um programa de conservação consistentemente auspicioso para espécies vegetais, tornam-se essenciais estudos detalhados da estrutura genética populacional assim como dos fatores evolutivos que iniciaram e mantêm essa estrutura (Hamrick *et al.* 1992).

Reis (1996) aponta que a caracterização dos níveis de variabilidade e estruturação genética, assim como o entendimento da dinâmica da movimentação dos alelos nas populações

naturais, são fundamentais para subsídiar a conservação de populações naturais. O entendimento do modo como a variabilidade genética está organizada entre as populações é de importância primária para a conservação da diversidade genética e conseqüentemente do potencial evolutivo das espécies (Hamrick & Godt, 1989).

Berg & Hamrick (1997) apontam a porcentagem de locos polimórficos (P) como um índice útil para comparações intrapopulacionais e intraespecíficas. O número médio de alelos por loco (A) é usado para estimar a diversidade alélica, ou seja, o número de alelos detectado em cada loco. Para obtenção do A deve-se usar tanto os locos monomórficos quanto os polimórficos. Uma medida mais restritiva (e mais informativa) é o número médio de alelos por loco polimórfico (AP), pois este independe da proporção de locos polimórficos.

A heterozigosidade esperada (H<sub>e</sub>) é uma medida composta que sintetiza a variação genética à nível alélico. A heterozigosidade esperada, que também é conhecida como diversidade genética, é provavelmente o mais comum índice de diversidade para dados alozímicos, pois ele condensa a variação genética fundamental de uma população ou espécie em uma estatística singular (Berg & Hamrick, 1997).

As estatísticas F de Wright (1951) foram desenvolvidas para expressar a estrutura genética de uma população e suas subpopulações e são basicamente medidas de fixação de alelos em diferentes níveis de organização, por exemplo, indivíduos, subpopulações e populações (Berg & Hamrick, 1997).

Neste contexto, alguns autores realizaram estudos sobre a variabilidade e a estruturação genética da espécie *Araucaria angustifolia* (Shimizu *et al.* 2000, Auler *et al.* 2002, Reis *et al.* 2004, Mantovani *et al.* 2006, Stefenon *et al.* 2007 e Bittencourt & Sebbenn, 2007), com o objetivo de entender melhor como esta distribuida a variabilidade genética dentro da espécie.

Nos trabalhos de Reis et~al.~(2004) e Auler et~al.~(2002), ambos em Santa Catarina, com 13 e 9 populações estudadas, as estimativas de  $\hat{H}_{\sigma}$  foram 0,092, 0,073. Em uma população de Campos do Jordão e outra em Foz do Iguaçu as estimativas foram superiores as de Santa

Catarina com  $\hat{H}_e$  igual a 0,169 e 0,240 (Mantovani *et al.* 2006, Shimizu *et al.* 2000 respectivamente). Para as heterozigosidades esperadas ( $\hat{H}_e$ ), Reis *et al.* (2004) e Auler *et al.* (2002) encontraram um  $\hat{H}_e$  de 0,125 e 0,084 respectivamente enquanto que Mantovani *et al.* (2006) e Shimizu *et al.* (2000) encontraram valores de  $\hat{H}_e$ =0,170 e  $\hat{H}_e$ =0,248 respectivamente.

Mesmo sendo uma espécie dióica a araucária apresenta índices de fixação  $(\hat{f})$  altos como os encontrados por Auler *et al.* (2002), Reis *et al.* (2004), e Stefenon *et al.* (2007), com  $\hat{f}$  de 0,143, 0,264 e 0,110 respectivamente. Estes valores se aproximam da endogamia que poderia ser gerada pelo cruzamento de meio-irmão (0,125), e no caso do estudo feito por Reis *et al.* (2004), este valor é maior que a gerada pelo cruzamento de irmãos-completos.

Aspectos da diversidade genética das populações vêm sendo utilizada em estudos para a definição de árvores matrizes para coleta de sementes, visando reflorestamentos com espécies nativas e/ou recuperação de áreas degradadas. As estimadtivas de diversidade, estrutrua genética e sistema reprodutivo, além das estimativas do tamanho efetivo populacional, podem indicar um número de árvores necessárias para coleta de sementes, garantindo uma alta variabilidade genética e fornecendo subisídios para a manutenção genética das espécies em plantios e na recuperação de áreas degradadas (Sebbenn, 2002, 2006, Reis &Wiesbauer, 2006).

#### 2.5. PRODUÇÃO DE SEMENTES

A produção de sementes de espécies florestais nativas esta diretamente ligada a finalidade para qual estas sementes serão utilizadas. A literatura aponta três aspectos importantes para a definição da estratégia de produção em função do objetivo pré estabelecido, produção de espécies para fins de madeira ou produtos não madeiráveis, restauração de ambientes ou florestas e espécies ameaçadas (Silva *et al.*, 2006).

Com relação a produção de sementes para fins madeireiros, o Brasil tem destaque quanto ao cenário mundial devido as condições ambientais favoráveis ao rápido desenvolvimento e ao

material genético selecionado. Esta produção está concentrada em espécies exóticas do gênero Pinus e Eucalyptus, realizada pelas grandes empresas que têm seus próprios programas de melhoramento para garantir qualidade ao material genético com alto rendimento. As espécies nativas possuem um grande potencial para produção, porém não são encontradas sementes em quantidade e qualidade, tornando-se este aspecto, uma barreira para o seu cultivo (Silva *et al.*, 2006). Outro aspecto negativo para a produção de produtos de espécies nativas, seria que o mercado não valoriza adequadamente a qualidade da madeira, devido a evolução tecnológica estar compensando a menor qualidade da matéria-prima madeira, produzida por espécies exóticas de rápido crescimento, com desenvolvimento de novos produtos, como painéis de madeira tipo MDF, vigas coladas, preservativos químicos para tratamento da madeira, etc (Higa, 2006).

Em relação a restauração florestal a produção de sementes visa manter uma alta variabilidade com o objetivo de melhorar a adaptabilidade da população restaurada e garantir que não ocorram problemas futuros decorrentes dos efeitos de endogamia e deriva genética. A estratégia utilizada para uma melhor adaptação, consiste em coletar o material de populações próximas a área a ser restaurada (Reis &Wiesbauer, 2006).

Com relação as espécies ameaçadas, em geral a distribuição é restrita e a variabilidade genética é baixa para a maioria destas, a estratégia consiste em amostrar o maior número de fragmentos em toda a área de ocorrência da espécie sendo recomendado um tamanho efetivo igual ou superior a 150. A estratégia de utilizar o tamanho efetivo para coletar um número adequado de plantas matrizes, auxilia na redução de problemas como a endogamia e deriva genética minimizando problemas nas gerações futuras, pois garante uma maior nível de variabilidade, aumentando a capacidade adaptativa das espécies (Sebbenn, 2006).

É fundamental levar em conta o tamanho efetivo para estabelecer reflorestamentos e áreas de produção de sementes, consideradno-se todas as possibilidedes básicas de sistemas para produção de sementes florestais: áreas de coleta de sementes, áreas de produção de sementes, pomares de sementes e pomares clonais. Como a maioria das espécies nativas apresentam

desvios de cruzamentos aleatórios os cálculos do tamanho efetivo devem conciderar a endogamia e o coeficiente de coancestria para que não ocorram problemas como a sub-amostragem das populações (Sebbenn, 2006).

Segundo Nodari & Fantini (2000) as principais características dos sistemas de produção de sementes florestais são os seguites:

Área de coleta de sementes (ACS): Consiste na escolha de uma população com características fenotípicas desejadas, onde as sementes dos melhores indivíduos serão colhidas. Normalmente, características como altura ou volume e arquitetura da árvore são selecionadas. Quando a população é originária de uma plantação, onde os indivíduos tem a mesma idade, podese fazer uma seleção para precocidade em relação ao caráter desejado. Em populações naturais isso não é possível, pois, nada se sabe sobre o tempo necessário para um indivíduo atingir a condição desejada. Desta forma, a qualidade genética das sementes é um fator definitivo no processo, pois, conforme discutido anteriormente, o dinamismo populacional e a capacidade de adaptação estão relacionados à manutenção dos níveis elevados de heterozigosidade da espécie. Assim, a estruturação de uma área de coleta de sementes ou de programas de melhoramento devem contemplar este aspecto.

Área de produção de sementes (APS): São plantações ou mesmo populações naturais específicas para a produção de sementes. Nestas áreas, as plantas não selecionadas são descartadas, de tal maneira que ocorre o intercruzamento entre as plantas consideradas superiores. Estas sementes são geneticamente superiores e de custo similar em relação aquelas provenientes de ACS.

Pomar de sementes (PS): Pomar de consiste numa plantação de progênies selecionadas, o qual é isolado e manejado para impedir a polinização de fontes externas e manejada para produzir sementes de forma frequente, abundante e de fácil colheita. Assim, as sementes dos pomares de sementes são comprovadamente geneticamente superiores as ACS e APS. Um caso tradicional é a transformação dos ensaios de procedência e progênie em áreas de produção de

sementes. Após a obtenção dos resultados destes testes, as progênies inferiores e os piores indivíduos dentro das progênies selecionadas são eliminados, e as melhores progênies irão produzir as sementes comerciais. Paralelamente, cruzamentos controlados entre esses indivíduos produzirão uma nova geração para a continuidade do programa.

Pomar clonal (PC): O pomar clonal é semelhante ao pomar de sementes, sendo que a única diferença está em neste caso, o estabelecimento do pomar é feito com clones das melhores árvores testadas via teste de progênie. No caso anterior, o estabelecimento é feito com sementes das árvores selecionadas. A clonagem possibilita a manutenção das variâncias de dominância e epistáticas que aumentam o ganho genético. Os pomares clonais produzem sementes de qualidade genética superior a todas as outras.

#### 3. OBJETIVOS E HIPÓTESES

#### 3.1. OBJETIVO GERAL

Caracterizar a diversidade genética e a estrutura populacional em plantios e populações naturais de *A.angustifolia* na FLONA de Três Barras, visando estabelecer estratégias de conservação e manejo da espécie e identificar áreas para produção de sementes.

#### 3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- a) Caracterizar a diversidade genética de plantios e de populações naturais de araucária procedentes de diferentes locais do Estado existentes na FLONA de TB;
- b) Caracterizar a estrutura de populações naturais e plantios de diferentes locais do estado, existentes na FLONA de TB;

c) Avaliar a ocorrência de fluxo gênico entre os talhões estudados através da caracterização genética das diferentes coortes nas áreas de plantio.

#### 3.3. HIPÓTESES

- Existem diferenças genéticas entre os lotes de plantio de araucária, devido a variabilidade genética entre as procedências de sementes usadas nos plantios;
- 2) Existem diferenças entre a variabilidade genética dos plantios e a variabilidade genética atual das populações naturais dos locais de ocorrência;
- 3) Ocorre fluxo gênico entre as populações naturais e os plantios;

#### **4. MATERIAL E MÉTODOS**

#### 4.1. ÁREA DE ESTUDO

Este trabalho foi realizado em plantios de araucária e áreas de mata nativa na Floresta Nacional de Três Barras (FLONA) administrada pelo IBAMA, localizada no planalto norte do estado de Santa Catarina (Figura 1).

Com a análise dos relatorios internos da FLONA, Oliveira (1952, 1953, 1954, 1955, 1956, 1957, 1958, 1959 e 1960) e Bishop (1965, 1966, 1967) e relatórios dos anos de 1946, 1947, 1948, 1949 e 1951 foi possível identificar algumas origens como: Anita Garibaldi, Curitibanos e Canoinhas (Figura 2). Constatou-se que nestes plantios foram feitas práticas culturais de roçada e limpeza apenas nos primeiros anos, aproximadamente 10 anos. Após este período foram feitos alguns desbastes (Tabela1). Porém, mesmo com estes desbastes, a densidade de plantas por área é alta e hoje estas áreas estão sem nenhuma prática de manejo. Neste sentido, é necessário estudar a atual estrutura populacional, bem como fazer a caracterização genética destes plantios.

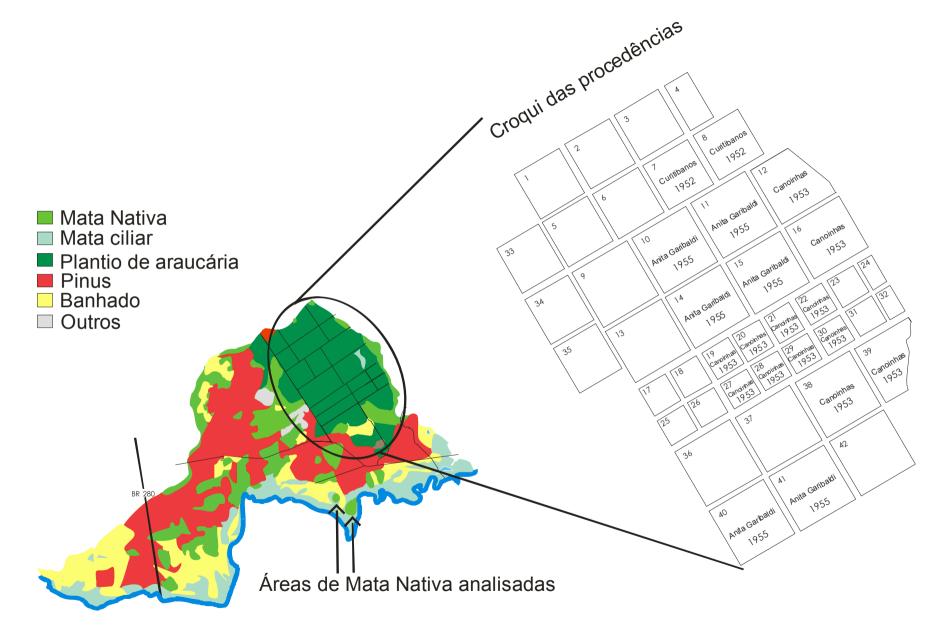


Figura 1: Áreas de Mata Nativa e croqui das procedências analisadas.

### Croqui das procedências

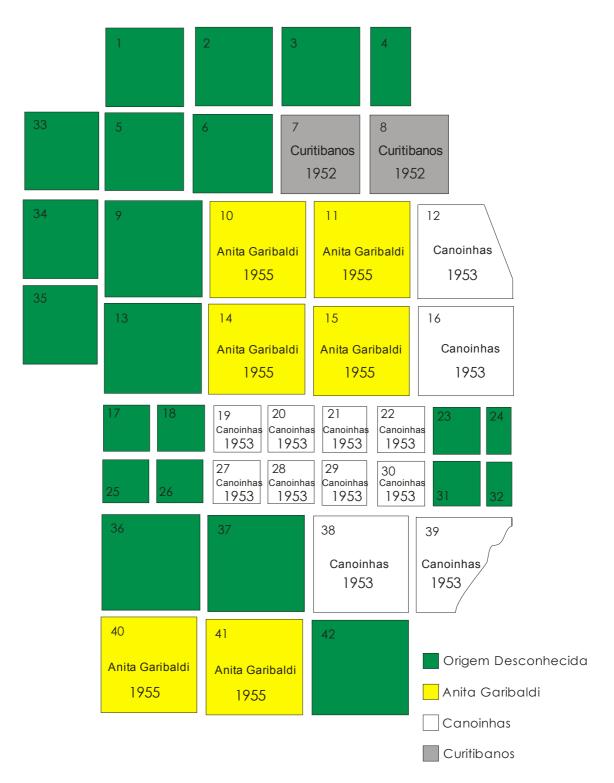


Figura 2: Croqui dos plantios com as diferentes procedências e os anos em que foram implantadas

#### 4.2. ESTRUTURA POPULACIONAL

Para a caracterização da atual estrutura dos plantios foram feitos levantamentos dendrométricos vizando a comparação com os dados levantados nos relatórios. Foram sorteadas e implantadas três parcelas de 40 x 40 m, respeitando uma distância mínima de 100 m entre parcelas, em cada área dos plantios e na mata nativa selecionadas para este estudo. Estas parcelas foram implantadas com auxílio de trenas, balizas e estacas de arame marcadas com fitas coloridas.

Após a demarcação das parcelas, foram realizadas as medidas de altura de todas as plantas encontradas nas parcelas e o DAP (diâmetro a altura do peito) das plantas que apresentavam altura superior à 1,30 m. As medidas de altura dos indivíduos foram realizadas com hipsômetros e réguas dendrométricas e as medidas de diâmetro foram tomadas com paquímetro florestal e fita dendrométrica.

Após a coleta de dados, estes foram processados e elaborados tabelas com distribuição de frequência em classes diamétricas e de altura.

#### 4.3. DIVERSIDADE GENÉTICA

#### 4.3.1. COLETA E ANÁLISE DE MATERIAL

As amostras foram coletadas com auxílio de estilingues e pedras, devido ao porte das plantas, estas por sua vez eram identificadas e acondicionadas em sacos plásticos e armazenados em caixa termica com gelo, tomando cuidado em colocar folhas de jornal entre as amostras e o gelo para que não ocorra queimadura dos tecidos foliares.

Buscou-se coletar um número mínimo de 50 indivíduos adultos e 50 jovens (altura menor que 1,30 m), respeitando a distância de 50m entre plantas, visando escapar da estrutura de família (Mantovani 2006).

As amostras foram transportadas ao Laboratório de Fisiologia do Desenvolvimento e Genética Vegetal (LFDGV) da Universidade Federal de Santa Catarina, onde realizaram-se as extrações das enzimas para as corridas eletroforéticas.

Foram utilizados marcadores genéticos (isoenzimas) com a finalidade de caracterizar a diversidade e estrutura genética nos plantios e na mata nativa da FLONA. Através dos resultados obtidos nos relatórios determinou-se que seriam amostradas somente as diferentes procedências e uma única área de mata nativa.

As analises laboratoriais foram obtidas conforme protocolo desenvolvido por Mantovani (2004). Onde 12 sistemas foram utilizados: Shiquimato Desidrogenase (locos *Skdh-1* e *Skdh-2*; EC 1.11.25), Peroxidase (locos *Po-1* e *Po-2*; EC 1.11.1.7), Malato Desidrogenase (locos *Mdh-1* e *Mdh-2*; EC 1.1.1.37), 6-Fosfogluconato Desidrogenase (loco *6Pgdh*; EC 1.1.1.44), Fosfoglucosa Isomerase (locos *Pgi-1* e *Pgi-3*; EC 5.3.1.9), Fosfoglucomutase (loco *Pgm*; EC 5.4.2.2), Glutamato Oxaloacetato Trasminase (loco *Got*; EC 2.6.1.1), Esterase Fluorescente (locos *Fes-1* e *Fes-2*; EC 3.1.1.1), Leucina Aminopeptidase (loco *Lap*; EC 3.4.11.1), Fosfatase Ácida (loco *Acp*; EC 3.1.3.2), Isocitrato Desidrogenase (loco *Idh*; EC 1.1.1.42) e Enzima Málica (loco *Me* – E.C. 1.1.1.40).

Conforme o protocolo descrito por Mantovani (2003), utilizou-se o tampão eletrodo gel Citrato de morfolína e Histidina (Tabela 2).

Para preparação do gel, foram pesados 39g de penetrose (amido de milho) e adicionados em um erlenmeyer de 500 ml, colocando-se em seguida a solução tampão do gel. Essa mistura era homogeneizada e colocada em um forno microondas para o cozimento, sendo agitada a cada 40 segundos nas três primeiras vezes, a seguir a cada 20 segundos para que houve-se um cozimento uniforme, até ocorrer a fervura. Quando a solução estava próxima de extravasar o frasco, era retirada do forno e agitada fortemente, repetindo a fervura por mais duas vezes. Após a ultima fervura o gel era despejado em uma moldura de superfície plana. Esta por sua vez era composta por uma placa de vidro temperado, delimitado por quatro barras de acrílico fixadas com fita adesiva (19cm largura x 13cm comprimento x 1cm altura). Após atingir a temperatura ambiente

o gel era coberto com uma placa de vidro e mantido sob refrigeração para ser utilizado no dia seguinte.

**Tabela 2.** Sistemas de tampão eletrodo/gel empregados para eletroforese de isoenzimas em *Araucaria angustifolia*.

Denominação	Enzima	Tampão eletrodo	Tampão gel	Referência
Citrato de Morfolina	6Pgdh, Skdh,	Ácido cítrico 7,68g/l	Diluição 1:20	Cheliack e
(CM)	Mdh, Pgm,	Titular morfolina até	do tampão	Pittel (1984)
	Pgi, Acp	pH 6,1	eletrodo	
Histidina (H)	Fes, Po, Me, Lap, Idh, Got	Citrato trissódico 105,82g/l Ác. Cítrico (titular até pH 8,0)	Histidina 9,58 g/l NaOH (titular até pH 8,0) Diluir para 1:7	Alfenas <i>et al</i> . (1991)- com modificações

Em uma placa de porcelana (com 12 pocinhos), sobre uma placa de gelo, acrescentou-se 10 mg de areia lavada, 7 mg de Polivinil Pirrolidona (PVP-40), aproximadamente 40 mg de tecido foliar e três gotas de solução de extração número 1 de Alfenas et al. (1998) (Tabela 2). As amostras foram maceradas com o auxílio de um bastão de acrílico. Com todas as amostras maceradas, foi colocado em cada pocinho um pequeno pedaço de papel filtro (Whatman n° 3) com dimensões de 4,5 x 20 mm, e posteriormente, submetida a aplicação no gel.

**Tabela 3.** Solução de Extração número 1 Alfenas et. al. (1998, p. 96).

Componentes	Quantidade
Fosfato de sódio bibásico	0,6 g
Sacarose	7 g
PVP-40	2,56 g
DTT	50 mg
L-ácido ascórbico	100 mg
DIECA	100 mg
Bissulfito de sódio	50 mg
Borato de sódio (bórax)	50 mg
B-mercaptoetanol	0,2 ml
Polietilenoglicol – 6000	1 g
Água desionizada (ou destilada)	100 ml

Para a aplicação das amostras no gel, a placa de vidro que cobria o gel era removida, e com um bisturi, cortava-se a fita adesiva que fixava a moldura. A seguir com o bisturi o gel era cortado à 3,5 cm de uma das extremidades sobrando outra com 9,5. Esta porção de 3,5 cm era afastada para facilitar a aplicação das amostras. Foram acondicionadas 25 amostras de papéis filtro, um após o outro ao longo da face cortada de 9,5 cm de gel. Para marcar a linha de frente durante a corrida foi colocado, nas duas extremidades do corte, papel filtro embebido com solução de azul de bromofenol (0,1%). Após a aplicação das amostras, a face de 3,5 cm era aproximada da outra parte do gel. Mantendo o contato das amostras com as duas extremidades. Para aumentar o contato, colocava-se um canudo plástico entre a porção de 3,5 cm do gel e o acrílico da moldura, e em seguida fixava-se novamente a moldura com a fita adesiva. Feito esse procedimento o gel era submetido ao campo elétrico.

Para manter a integridade das enzimas, a migração era realizada sob condições de geladeira à temperatura de aproximademente 5° C e sobre a moldura era colocada uma placa de vidro com uma barra de gelo. Essa moldura com o gel era colocada sobre duas cubas contendo a solução tampão de eletrodo. A moldura era conectada com as cubas (tampão eletrodo), através de pontes (Perfex) previamente embebidas na solução tampão eletrodo, cobrindo 2 cm de cada

extremidade. A fonte era ligada, e nos primeiros 20 minutos a voltagem era constante e estabelecida em 100 e 70 volts (CM e HIS respectivamente), para que as enzimas fossem removidas do papel filtro. Ao final desse periodo os papéis filtro eram retirados, e a voltagem aumentada para uma constante de 150 e 100 volts (CM e HIS respectivamente) por mais 20 minutos. Após esse período a voltagem aumentava novamente para 230 e 110 volts por mais 7 e 4 horas (CM e HIS respectivamente). Quando o azul de bromofenol 0,1% atingia aproximadamente 7 cm de migração, a fonte era desligada. A barra de gelo e a placa de vidro eram retirados da superficie do gel, e as pontes desfeitas.

Posteriormente eram retiradas as barras de acrílico que mantinham a forma do gel, e este sobre a placa de vidro, era colocado sobre uma armação de madeira com pregos um em cada extremidade. Réguas de acrílico furadas nas pontas eram encaixadas nos pregos, formando pilhas de 6 unidades, de cada lado do gel, possibilitando o corte do gel em 7 fatias. Um fio de nylon era passado ao longo das réguas, e o mesmo procedimento realizado para todas as réguas, formando as camadas. Ao final do corte a primeira camada era desprezada, e as outra 6 utilizadas para a coloração. As fatias eram retiradas com auxílio de papel adsorvente umedecido. Cada camada era colocada em bandejas de porcelana onde recebia a solução de coloração.

As soluções de coloração eram preparadas no momento da revelação, com exceção das soluções tampão, que eram preparadas com antecedência e armazenadas em geladeira para uso posterior. Cada camada do gel era corada com uma solução apropriada para a revelação da enzima específica.

Após a revelação das alozimas, era realizada a interpretação dos zimogramas, definindo o genótipo de cada indivíduo

Dentro do loco, o alelo que teve uma maior distância de migração foi identificado com o número 1 e os demais com numeração crescente conforme diminui a distância de migração. O loco com maior distância de migração é identificado com o número 1 e os demais com numeração crescente conforme diminui a distância de deslocamento no gel.

A identificação de bandas também pode ser feita utilizando-se o índice Rf ou também chamado de migração relativa:

#### 4.4. Análise dos dados

A partir da interpretação dos zimogramas, foram calculadas, para as quatro populações estudadas, três plantios e uma nativa, para indivíduos adultos e jovens, as freqüências alélicas, os índices de diversidade (porcentagem de locos polimórficos, número médio de alelos por loco, heterozigozidade observada e esperada, e índice de fixação), e as estatísticas F de Wright (Wright, 1951, 1965).

Através da interpretação dos zimogramas foram obtidas as freqüências alélicas empregando-se o programa F-STAT (Goudet, 2002), conforme:

$$\hat{p}_{ij} = n_{ij} / n_{.j}$$

sendo:

 $\hat{p}_{ij}$  = freqüência do alelo i na população j;

n<sub>ii</sub> = número de ocorrências do alelo i na população j;

n<sub>.j</sub> = número total de alelos amostrados na população j.

Os índices de diversidade foram estimados considerando todos os locos.

A porcentagem de locos polimórficos (P), foi estimado dividindo-se o número de locos polimórficos pelo número total de locos analisados. O critério para classificar um loco como polimórfico foi de no máximo 95% de fregüência do alelo mais comum.

P = (nº de locos polimórficos / nº total de locos) x 100

O número médio de alelos por loco (A), foi estimado dividindo-se o número de alelos em todos os locos pelo número total de locos estudados.

$$A = \sum k_i / r$$

Sendo:

 $\sum k_{\rm i}$  = somatório do número de alelos em cada loco;

r = número de locos.

A heterozigosidade observada (H<sub>o</sub>), foi obtida pela média entre os locos do número de indivíduos heterozigotos dividido pelo número de indivíduos amostrados.

$$H_o = (\sum Pij / n) / I$$

Sendo:

(  $\sum Pij$  ) = somatório dos heterozigotos (i  $\neq$  j);

n = número de indivíduos total;

I = número de locos.

A heterozigosidade esperada ( $H_{\rm e}$ ), foi obtida empregando-se o estimador não viezado de Nei (1978):

$$H_e = 2n(1 - \sum_{p=1}^{n} p_1^2) / (2n - 1)$$

Sendo:

 $\stackrel{\scriptscriptstyle \wedge}{p}_{\scriptscriptstyle \,\mathrm{i}}$ = freqüência do alelo i

As estimativas de P, A,  $H_o$  e  $H_e$  foram obtidas empregando-se o programa F-STAT (Goudet, 2002).

Os índices de fixação ( $\hat{F}$  ) foram estimados pelos desvios da heterozigosidade esperada, assim:

$$\hat{F} = (H_e - H_o) / H_e$$

A significância do índice de fixação foi testada a um nível de 5% de probabilidade no programa F-STAT (Goudet, 2002).

As estatísticas F de Wright (Wright, 1951, 1965) ( $\hat{F}_{IS}$ ,  $\hat{F}_{IT}$ ,  $\hat{F}_{ST}$ ) foram estimadas para 4 populações, 3 plantios e uma na mata nativa, para plantas adultas e jovens, com N > 50 indivíduos por população (Nei, 1987), empregando-se o programa GDA (Lewis & Zaykin, 2001). Assim:

$$\hat{F}_{IS}$$
 = (1 – H<sub>ot</sub>) / H<sub>ei</sub>

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

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

Sendo:

$$H_{ot} = 1 - (\sum \sum X_{il}) / Is$$

$$H_{ei} = 1 \left( \sum_{i} \sum_{l} \sum_{k} x_{ilk}^{2} \right) / Is$$

$$H_{et} = 1 - [(\sum_{l} \sum_{k} x_{lk}) / s]^2 / I$$

Sendo:

H<sub>et</sub> = heterozigosidade esperada total;

H<sub>ei</sub> = heterozigosidade média entre as populações;

H<sub>ot</sub> = heterozigosidade observada total;

X<sub>ii</sub> = freqüência de heterozigotos dos locos I na população i;

x<sub>ilk</sub> = freqüência do alelo k do loco l na população i;

s = número de populações;

I = número de locos.

A significância dos três coeficentes ( $\hat{F}_{\text{IS}}$ ,  $\hat{F}_{\text{IT}}$ ,  $\hat{F}_{\text{ST}}$ ) foi obtida através do intervalo de confiança do programa GDA (Lewis & Zaykin, 2001).

#### 4.5. SISTEMA REPRODUTIVO

Para análise do sistema de reprodutivo utilizou-se os modelos de reprodução mista (Ritland e Jain 1981) e cruzamentos correlacionados (Ritland 1989), com o auxílio do programa Multilocos MLTR versão 3.0 (Ritland 2002). Os parâmetros estimados foram: i) a taxa populacional de cruzamento multiloco ( $\hat{t}_m$ ) pelo método de máxima verossimelhança (*Expectation-Maximization*); ii) a taxa populacional de cruzamento uniloco ( $\hat{t}_s$ ); iii) a taxa de cruzamento entre aparentados ( $\hat{t}_m$ - $\hat{t}_s$ ); iv) a taxa individual de cruzamento multiloco  $(\hat{t})$ ; v) as freqüências alélicas dos óvulos e do pólen; vi) a correlação de autofecundação entre locos; vii) a correlação de paternidade ( $\hat{r}_{_p}$ ). O erro padrão das estimativas dos parâmetros foi obtido através de 1.000 reamostragens bootstrap. A avaliação de cruzamentos aleatórios foi realizada pelo teste de homogeneidade entre as freqüências alélicas dos óvulos e pólen calculando-se o estimador  $\hat{F}_{ST}$  (Nei 1977). A significância estatística de  $\hat{F}_{ST}$  foi obtida para cada loco pelo teste de qui-quadrado,  $\chi^2$  =  $2 n \hat{F}_{ST}$  (k-1), com (k-1)(s-1) graus de liberdade, proposto por Workman e Niswander (1970), em que: n = número de indivíduos nos grupos, k = número de alelos e s = número de grupos (2 - pólen e óvulo). De acordo com Sebbenn (2002), combinando-se a taxa de cruzamento multiloco ( $\hat{t}_m$ ) com a correlação de paternidade ( $\hat{r}_{_p}$ ), foi possível obter as proporções de irmãos-completos ( $\hat{t}_{_m}\hat{r}_{_p}$ ) e meio-irmãos  $[\hat{t}_{_m}(1-\hat{r}_{_p})]$ . O número médio de plantas doadoras de pólen foi calculado através da razão  $1/\hat{r}_{n}$  (Ritland, 1998).

O coeficiente de coancestria  $(\hat{\theta}_{xy})$  entre plantas dentro de progênies foi estimado do coeficiente de correlação de parentesco  $(\hat{r}_{xy})$  entre plantas dentro de progênies, derivado por

Ritland (1989) de parâmetros de sistema de reprodução, segundo qual  $\hat{r}_{xy} = 0.25(1+\hat{F}_m)[4\hat{s}+(\hat{t}^2+\hat{t}\hat{s}\hat{r}_s)(1+\hat{r}_p)]$  em que,  $\hat{F}_m$  é o coeficiente de endogamia na geração parental e  $\hat{s}$  é a taxa de autofecundação  $(\hat{s}=1-\hat{t}_m)$ . Como em espécies diplóides, na ausência de endogamia, o coeficiente de parentesco  $(\hat{r}_{xy})$  é o dobro do coeficiente de coancestria  $(\hat{\theta}_{xy})$ , tem-se que,  $\hat{\theta}_{xy} = \hat{r}_{xy}/2$  e pode-se, portanto, obter o coeficiente de coancestria do coeficiente de parentesco (Neto et al. 2005). O tamanho efetivo de variância  $(\hat{N}_{e(v)})$  de uma simples progênie foi estimado com base na variância amostral de um alelo, segundo derivações de Cockerham (1969),

$$\hat{N}_{e(v)} = \frac{0.5}{\hat{\theta}_{xy} \left(\frac{n-1}{n}\right) + \frac{1+\hat{F}_p}{2n}}$$

em que n é o número total de progênies na população, assumido como infinito,  $\hat{F}_p$  é o coeficiente de endogamia do conjunto de progênies, utilizando uma população idealizada como referência, como descrito por Sebbenn (2002).

O número de árvores matrizes necessários para reter o tamanho efetivo de referência ( $\hat{N}_{e(\text{Re }fer\hat{e}ncia)}$ ) foi calculado com base na expressão

$$\hat{m} = \hat{N}_{e(\text{Re ferência})} \left[ 2\hat{\theta} \left( \frac{n-1}{n} \right) + \frac{1+\hat{F}_{p}}{n} \right]$$

#### 5. RESULTADOS

#### 5.1. ESTRUTURA DEMOGRÁFICA

A partir da coleta de dados, obtidos com a realização dos levantamentos demográficos foram elaboradas as Tabelas 4, 4.1, 4.2, 4.3 e 4.4. Na Tabela 4 são apresentados os parâmetros estimados para a caracterização demográfica dos plantios e da mata nativa de *Araucaria* angustifolia com seus respectivos desvios padrão. Na escolha destes parâmetros buscou-se

caracterizar os plantios em função das brotações existentes nos tocos desbastados com a mata nativa.

**Tabela 4.** Características populacionais dos plantios e da Mata Nativa, para caracterização demográfica de *Araucaria angustifolia* na Floresta Nacional de Três Barras, planalto noste de Santa Catarina. NPFT/RGV, Florianópolis, 2008.

Local	N° médio total de	Nº médio de	Nº médio de	Nº médio de plantas/ha
	plantas/ha	plantas/ha sem	plantas/ha	sem brotos
	-	broto	(ALT<1,30cm)	(ALT<1,30cm)
Canoinhas	467,8 (154,8)	391,8 (137,5)	16,7 (23,6)	0
Curitibanos	376,7 (54,6)	331,8 (63,4)	22,9 (19,1)	2,1 (3,6)
Anita	454,8 (14,0)	414,7 (28,2)	4,2 (3,6)	0
Garibaldi				
Nativa	174,8 (48,7)	174,8 (41,6)	4,2 (7,2)	4,2 (7,2)

() – Desvio Padrão

Na Tabela 4 estão os dados de densidade dos plantios e da Mata Nativa. O número médio total de plantas/ha variou de 174,8 a 467,8 na mata nativa e Canoinhas, estes valores apresentaram uma maior superioridade nos plantios. Já para o número de plantas/ha sem as brotações a variação foi de 174,8 a 414,7 na mata nativa e Anita Garibaldi. Dentre o número de plantas/ha com altura menor que 1,30 m, Curitibanos (22,9) apresentou o maior número de plantas e com o menor número de plantas nesta categoria aparece Anita Garibaldi e Mata Nativa com 4,2. Nesta mesma categoria, porém sem as brotações, duas procedências não apresentaram plantas Canoinhas e Anita Garibaldi, e o maior número de plantas encontra-se na Mata Nativa.

**Tabela 5.** Frequência de indivíduos por hectare de *Araucaria angustifolia* por classes de diâmetro e altura na procêdencia de Curitibanos na FLONA de Três Barras. NPFT/RGV Florianópolis, 2008.

	Sem Brotações										
ALT DAP	0   5	5   10	10   15	15   20	20   25	Total					
0 - 5	10	2	-	-	-	12					
5 - 10	2	27	6	-	-	35					
10   15	-	13	27	8	-	48					
15 - 20	-	-	-	6	-	6					
20 - 25	-	-	-	15	-	15					
25   30	-	-	-	48	6	54					
30   35	-	-	-	63	13	76					
35 - 40	-	-	-	40	17	57					
40 - 45	-	-	-	15	6	21					
45 - 50	-	-	-	6	-	6					
50 - 55	-	-	-	-	2	2					
Total	12	42	33	201	44	332					
			luindo Bro	tações							
0 - 5	27	8	-	-	-	35					
5 - 10	8	35	6	-	-	49					
10   15	-	13	29	8	-	50					
15   20	-	-	4	6	-	10					
20   25	-	-	-	17	-	17					
25   30	-	-	-	48	6	54					
30   35	-	-	-	63	13	76					
35   40	-	-	-	40	17	57					
40   45	-	-	-	15	6	21					
45   50	-	-	-	6	-	6					
50 - 55	-	-	-	-	2	2					
Total	35	56	39	203	44	377					

A distribuição da frequência de indivíduos por classe de diâmetro e altura da população procedente de Curitibanos esta representada na Tabela 5. Verifica-se que a maior parte dos indivíduos estão distribuidos entre as classes de maior tamanho, que compreendem as alturas de 15 à 25 metros e diâmetros de 25 à 55 centímetros. A frequência de indivíduos nas classes de menor tamanho compreendidos entre 0 à 20 metros de altura, e diâmetros de 0 à 25 centrímetros foi baixa com 116 indivíduos praticamente a metade do número de indíviduos das maiore classes com 216. Estes 116 indivíduos encontrados representam aproximadamente 35% do total de indivíduos amostrados para a procêdencia de Curitibanos. Se levarmos em consideração os brotos dos desbastes esta porcentagem aumenta para 43% do total de plantas amostradas nas menores classes.

A distribuição dos indivíduos por classe de diâmetro e altura com a inclusão dos brotos, provenientes dos desbastes, esta apresentada na Tabela 5. As classes de maior tamanho de 15 à 25 metros de altura e de 25 à 55 centímetros de diâmetro representam a maior parte de indivíduos com 216, de um total de 377, representando 57% das plantas amostradas. A frequência de indivíduos nas classes de menor tamanho foi baixa com 161 plantas representando aproximadamente 43% do total da amostragem.

Comparando a distribuição de frequência de araucária sem incluir as brotações e incluindo as brotações dos desbastes (Tabela 5), nota-se um aumento no número de indivíduos de 332 para 377, este aumento concentra-se nas classes de menor tamanho que variam de 0 à 20 metros de altura e de 0 à 25 centímetros de diâmetro.

**Tabela 6.** Frequência de indivíduos por hectare de *Araucaria angustifolia* por classes de diâmetro e altura na procêdencia de Anita Garibaldi na FLONA de Três Barras. NPFT/RGV Florianópolis, 2008.

			Sem Brota	ıções		
ALT	0 - 5	5 - 10	10 - 15	15 - 20	20 - 25	Total
DAP		•	•	·	·	
0 - 5	10	15	-	-	-	25
5 - 10	-	38	17	-	-	55
10   15	-	15	58	4	-	77
15   20	-	-	-	6	-	6
20   25	-	-	-	4	-	4
25   30	-	-	-	44	2	46
30   35	-	-	-	48	25	73
35   40	-	-	-	29	38	67
40 - 45	-	-	-	10	35	45
45 - 50	-	-	-	2	13	15
50 - 55	-	-	-	-	2	2
Total	10	68	75	147	115	415
		Inc	luindo Bro	otações		
0 - 5	27	15	-	-	-	42
5 - 10	2	46	19	-	-	67
10   15	-	17	65	4	-	86
15 - 20	-	-	-	8	-	8
20   25	-	-	-	4	-	4
25   30	-	-	-	44	2	46
30   35	-	-	-	48	25	73
35   40	-	-	-	29	38	67
40   45	-	-	-	10	35	45
45 - 50	-	-	-	2	13	15
50 - 55	-	-	-	-	2	2
Total	29	78	84	149	115	455

Para a procedência de Anita Garibaldi, a distribuição de frequência dos indivíduos por classe de altura e diâmetro (Tabela 6) segue o padrão encontrado para a procedência de Curitibanos, onde o número de indivíduos encontrados nas classes de menor tamanho é consideravelmente menor que o número de indivíduos encontrados nas classes de maior tamanho. As classes que compreendem os indivíduos maiores com alturas de 15 a 25 metros e diâmetros de 25 à 55 centímetros apresentam 248 plantas representando aproximadamente 60% do total. Por outro lado as classes de menor tamanho, onde estão compreendidos os indivíduos que possuem as alturas de 0 a 20 metros e diâmetros de 0 a 25 centímetros, o número é bem inferior com 167 plantas, representando aproximadamente 40% dos indivíduos amostrados.

Considerando as brotações dos desbastes o número total de indivíduos aumenta de 415 para 455. Como observado anteriormente, para a procedência de Curitibanos, este aumento concentra-se nas classes de menor tamanho.

Comparando os dados sem inclusão dos brotos (Tabela 6) com os dados da inclusão dos brotos o aumento no número de indivíduos representa cerca de 5%, nas classes de menor tamanho, passando de 40% para 45% do total de plantas amostradas.

**Tabela 7.** Frequência de indivíduos por hectare de *Araucaria angustifolia* por classes de diâmetro e altura na procêdencia de Canoinhas na FLONA de Três Barras. NPFT/RGV Florianópolis, 2008.

<u> </u>			Sem Brota	ções		
ALT	0 - 5	5 - 10	10 - 15	15 - 20	20 - 25	Total
DAP	•			•		
0   5	4	-	-	-	-	4
5 - 10	-	10	6	-	-	16
10   15	-	4	8	-	-	12
15   20	-	-	38	4	-	42
20 - 25	-	-	40	21	-	61
25 - 30	-	-	38	100	-	138
30   35	-	-	17	65	-	82
35 - 40	-	-	4	25	-	29
40 - 45	-	-	-	8	-	8
45 - 50	-	-	-	-	-	-
50 - 55	ı	-	-	-	-	-
Total	4	14	151	223	-	392
		Inc	luindo Bro	tações		
0 - 5	8	-	-	-	-	8
5 - 10	-	38	8	-	-	46
10 - 15	-	8	42	-	-	50
15 - 20	-	-	42	4	-	46
20 - 25	-	-	40	21	-	61
25 - 30	-	-	38	100	-	138
30   35	-	-	17	65	-	82
35   40	-	-	4	25	-	29
40 - 45	-	-	-	8	-	8
45 - 50	-	-	-	-	-	-
50 - 55		-	-	-	-	-
Total	8	46	191	223	-	468

A distribuição das frequências de indivíduos de araucária por classes de altura e DAP para a procedência de Canoinhas segue o comportamento das demais. Com as frequências dos indivíduos nas classes de menor tamanho, 0 a 20 metros de altura e 0 a 25 centímetros de diâmetro, é inferior ao número de indivíduos nas classes de maior tamanho, 15 a 20 metros de altura e 25 a 55 centímetros de diâmetro, com 135 e 257 indivíduos representando aproximadamente 34% e 66% respectivamente.

Apesar do comportamento muito semelhante das demais procedências, chama a atenção a ausência de indivíduos na classe com alturas de 20 a 25 metros, já para as procedências de Curitibanos e Anita Garibaldi a frequência de indivíduos para esta classe de altura foi de 44 e 115 respectivamente. Estes resultados demostram que os maiores indivíduos estão inseridos na

procedência de Anita Garibaldi seguida por Curitibanos. Neste sentido, outra diferença considerável entre Canoinhas e as outras procedências são as classes compostas pelos diâmetros de 45 a 55 centímetros, onde a procedência de Canoinhas não apresenta indivíduos e as procedências de Curitibanos e Anita Garibaldi são compostas por um número de 8 e 17 indivíduos respectivamente.

Conforme os dados da Tabela 7, a frequência de indivíduos nas classes de menor tamanho aumentou com a inclusão dos brotos de 135 para 211, representando um aumento de 9% aproximadamente.

**Tabela 8.** Frequência de indivíduos de *Araucaria angustifolia* por classes de diâmetro e altura em fragmentos da mata nativa na FLONA de Três Barras. NPFT/RGV Florianópolis, 2008.

ALT	0 - 5	5 - 10	10 - 15	15 - 20	20 - 25	Total
DAP	•	•	•	•	•	
0 - 5	4	-	-	-	-	4
5 - 10	-	-	-	-	-	-
10   15	-	-	13	-	-	13
15 - 20	-	-	10	6	-	16
20 - 25	-	-	10	4	-	14
25 - 30	-	-	2	17	-	19
30   35	-	-	4	15	-	19
35 - 40	-	-	-	31	-	31
40 - 45	-	-	-	13	2	15
45 - 50	-	-	-	10	2	12
50 - 55	-	-	-	8	-	8
55 - 60	-	-	-	2	8	10
60   65	-	-	-	2	2	4
65   70	-	-	-	-	6	6
70   75	-	-	-	-	2	2
75 - 80					2	2
Total	4	-	39	108	24	175

Na Tabela 8 estão demostrados os dados de distribuição das frequências de indivíduos de araucária em fragmentos de mata nativa de Três Barras. Como nos plantios, a frequência de indivíduos nas classes de maior tamanho também é maior, porém o conjunto de dados da distribuição das frequências não segue o padrão dos plantios sendo que estes são deslocados para as classes de maior tamanho tanto em altura como em diâmetro.

Nos fragmentos de mata nativa os indivíduos são de maior porte, atingindo classes de diâmetro muito superiores aos dos plantios com 55 a 80 centimetros. Outra diferença está na frequência de indivíduos nas classes de 0 a 10 centímetros e métros de diâmetro e altura, com apenas 4 representantes, valor inferior ao encontrado para os plantio com 54, 78 e 18 indivíduos para Curitibanos, Anita Garibaldi e Canoinhas, respectivamente.

Nos fragmentos de mata nativa não foram registradas brotações pois não foram realizados desbastes ou exploração recente.

Em todas as procedências e na mata nativa de *Araucaria angustifolia*, os resultados das tabelas de frequência de indivíduos demostrados (Tabelas 5, 6, 7 e 8), mostram que os indivíduos de araucária concentram-se nas classes de maior diâmetro e Altura, revelando uma menor proporção de indivíduos dentro das menores classes, o que indica uma reduzida regeneração natural da espécie tanto nos plantios como nos fragmentos de mata nativa. Quando considerado o número de brotações dos desbastes nas áreas de plantio, a frequência de indivíduos nas menores classes aumenta, contudo, ainda permanece reduzida.

Comparando os dados dos fragmentos de mata nativa (Tabela 8) com os resultados dos plantios (Tabelas 5, 6 e 7), nota-se que a frequência de indivíduos na mata nativa é muito inferior as procedências. Esta diferença concentra-se nas classes de menor tamanho, principalmente nas classes de DAP< 10cm e altura < 10m . Por outro lado, a amplitude de classes de diâmetro é muito maior na população dos fragmentos de mata nativa, sendo a única com indivíduos representados em classes com DAP > 55cm.

#### 5.2. DIVERSIDADE GENÉTICA

Na Tabela 9 estão expressos os dados de frequência alélica das populações de *Araucaria* angustifolia. O número total de alelos encontrados para o conjunto de populações foi de 38. Sendo que as populações com o maior número de alelos foram Curitibanos Adultos, Nativa Adultos e

Curitibanos Jovens com 32 alelos. Por outro lado a população Nativa Jovens destaca-se por apresentar o menor número de alelos com apenas 28.

Ocorreu a fixação de alelos para alguns locos (Tabela 9), dentre eles estão Got1, Mdh1 e Mdh2. Para os locos Idh e Skdh2 ao menos cinco populações apresentaram alelos fixados, nesse sentido os locos Lap, Pgi1 e Acp apresentaram pelo menos seis populações com alelos fixados. A fixação de alelos ocorreu em todas as populações, dentre estas a população que apresentou o maior número de locos com alelos fixados foi a Nativa Jovens (10 locos), sendo seguida por Nativa Adultos (8 locos), Curitibanos Jovens, Curitibanos Adultos, Anita Garibaldi Jovens, Canoinhas Jovens, Canoinhas Adultos (7 locos) e Anita Garibaldi Adultos (6 locos).

**Tabela 9.** Estimativa das freqüências alélicas para 3 plantios e uma área de mata nativas de *Araucaria angustifolia*, com dados, empregando-se 17 locos alozímicos. NPFT/RGV Florianópolis, 2008.

arigus	Suiona, com	dados, empi	egando-se	e 17 locos alc	ZIIIIICOS.	NPF I/RGV	гюпапор	JIIS, 2006.	
Locos	N° de	Canoinhas	Anita	Curitibanos	Nativa	Canoinhas	Anita	Curitibanos	Nativa
	indivíduos	adultos	Garibaldi	adultos	adultos	jovens	Garibaldi	jovens	jovens
	analisados		adultos			,	jovens	, , , , ,	,
Fes1	(N)	46	46	36	47	44	42	43	48
1 001	1	0,087	0,109	0,278	0,064	0,057	0,036	0,140	0,000
	2	0,913	0,109	0,722	0,004	0,932	0,929	0,814	0,875
	3	0,000	0,000	0,000	0,021	0,011	0,036	0,047	0,125
Fes2	(N)	53	54	41	51	47	50	55	50
	1	0,000	0,000	0,085	0,039	0,064	0,000	0,000	0,000
	2	0,981	1,000	0,915	0,892	0,936	1,000	1,000	1,000
	3	0,019	0,000	0,000	0,069	0,000	0,000	0,000	0,000
Prx1	(N)	53	51	38	48	45	50	54	45
	1	0,245	0,510	0,092	0,063	0,200	0,070	0,065	0,067
	2	0,755	0,490	0,461	0,635	0,478	0,400	0,380	0,756
	3	0,000	0,000	0,447	0,302	0,322	0,530	0,556	0,178
Prx2	(N)	40	31	40	48	41	44	54	48
111/2	1	0,050	0,161	0,538	0,260	0,610	0,034	0,130	0,177
	2 3	0,350	0,839	0,438	0,563	0,366	0,102	0,500	0,625
		0,600	0,000	0,025	0,177	0,024	0,864	0,370	0,198
Me	(N)	53	53	42	51	48	49	55	50
	1	0,028	0,000	0,000	0,029	0,042	0,020	0,009	0,010
	2	0,972	1,000	1,000	0,971	0,958	0,980	0,991	0,990
Lap	(N)	53	53	42	51	48	49	55	50
	1	1,000	1,000	1,000	1,000	0,990	1,000	0,991	1,000
1	2	0,000	0,000	0,000	0,000	0,010	0,000	0,009	0,000
ldh	(N)	53	53	42	51	48	50	55	50
	1	0,000	0,009	0,000	0,000	0.000	0,000	0,000	0,000
	2	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,009	0,000
	3	0,991	0,981	1,000	1,000	1,000	1,000	0,982	1,000
0-4	4	0,009	0,009	0,000	0,000	0,000	0,000	0,009	0,000
Got	(N)	51	53	42	51	48	50	55	50
	1	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000
6pgdh	(N)	53	50	41	51	48	49	55	48
	1	0,066	0,020	0,049	0,010	0,000	0,020	0,027	0,031
	2	0,330	0,440	0,378	0,500	0,427	0,459	0,445	0,500
	3	0,604	0,540	0,573	0,490	0,573	0,520	0,527	0,469
Skdh1	(N)	53	53	42	51	48	50	55	50
	1	0,991	0,991	0,988	0,980	0,979	0,970	0,982	0,990
	2	0,009	0,009	0,012	0,020	0,021	0,030	0,018	0,010
Skdh2	(N)	53	53	42	51	48	39	55	50
O.1.G.1.2	1	1,000	0,991	0,988	1,000	1,000	0,970	1,000	1,000
	2	0,000	0,009	0,012	0,000	0,000	0,013	0,000	0,000
Mdh1	(N)	53	53	42	51	48	50	55	50
WIGHT		1,000	1,000					1,000	
Mdb2	1 (N)			1,000	1,000	1,000	1,000		1,000
Mdh2	(N)	53	53	42	51	48	50	55	50
Daves 4	1	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000
Pgm1	(N)	53	53	42	51	47	49	55	50
	1	0,953	0,981	0,976	0,990	0,947	0,990	0,945	1,000
	2	0,047	0,019	0,024	0,010	0,053	0,010	0,055	0,000
Pgi1	(N)	53	53	42	51	48	50	55	50
	1	1,000	0,991	1,000	1,000	1,000	0,980	1,000	1,000
	2	0,000	0,009	0,000	0,000	0,000	0,020	0,000	0,000
Pgi3	(N)	53	53	42	51	48	48	55	48
5 *	1	0,000	0,000	0,024	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	2	0,075	0,094	0,190	0,078	0,083	0,125	0,127	0,135
1	3	0,906	0,887	0.750	0,902	0,906	0,875	0,873	0,833
	4	0,019	0,007	0,036	0,020	0,010	0,000	0,000	0,033
Acn	(N)	53	53	42	51	48	50	55	50
Acp		1,000			1,000		1,000		
	1		0,991	0,929		1,000		1,000	1,000
N10 4 - 1 1 1	2	0,000	0,009	0,071	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
N° total de	38	30	31	32	32	31	31	32	28
alelos									
Total de									
alelos para									
os locos	25	19	19	19	19	18	17	19	16
das									
progênies									
p. 390.1100									

Todas as populações apresentaram alelos em baixa frequência (≤ 5%), contudo a população com o maior número de alelos nesta situação é a Nativa Jovens com 10 alelos, seguida pelas populações Nativa Adultos com 8 alelos, Canoinhas Adultos, Curitibanos Adultos, Canoinhas Jovens, Anita Garibaldi Jovens e Curitibanos Jovens com 7 alelos e Anita Garibaldi Adultos com 6.

Em apenas duas pocedências, Anita Garibaldi adultos e Curitibanos adultos, foram encontrados alelos exclusivos. O alelo um do loco Idh1 na procedência de Anita Garibaldi adulto e o alelo um do loco Pgi3 da procedência Curitibanos adultos.

Na Tabela 10 estão expressos os dados de frequência alélica das progênies de *Araucaria* angustifolia. Para o conjunto de progênies o número total de alelos foi 26. Sendo que a progênie com o maior número foi Anita Garibaldi com 23 alelos seguida por Canoinhas e Nativa com 22 alelos. Comparando os dados do número total de alelos, para os mesmos locos, entre os indivíduos adultos, jovens e da progênie verifica-se que os indivíduos adultos e jovens apresentam uma diversidade alélica inferior aos das progênies.

**Tabela 10.** Estimativa das freqüências alélicas para três progênies de *Araucaria angustifolia*, empregando-se 10 locos alozímicos. NPFT/RGV

Florianópolis, 2008.

nopolis, 2				
Locos	N° de	Progênie	Progênie	Progênie
	indivíduos	Canoinhas	Anita	Nativa
	analisados		Garibaldi	adultos
Fes2	(N)	186	260	278
	l `1´	0,062	0,021	0,002
	2	0,806	0,879	0,829
	3	0,132	0,100	0,169
Ме	(N)	253	270	291
,	1	0,014	0,007	0,057
	2	0,986	0,993	0,943
Lap	(N)	253	270	291
,	1	1,000	1,000	1,000
ldh	(N)	253	270	291
1011	2	0,000	0,000	0,002
	3	0,998	0,970	0,998
	4	0,002	0,030	0,000
Got	(N)	253	270	291
	1	0,000	0,002	0,000
	2	1,000	0,998	0,995
	3	0,000	0,000	0,005
6pgdh	(N)	253	270	291
opgan	1	0,008	0,017	0,002
	2	0,401	0,470	0,493
	3	0,591	0,470	0,505
Skdh1	(N)	253	270	291
OKUITT	1	0,988	0,991	0,991
	2	0,012	0,009	0,009
Skdh2	(N)	253	270	291
ORUITZ	1	0,002	0,009	0,000
	2	0,002	0,009	1,000
	3	0,000	0,006	0,000
Pgm1	(N)	253	270	291
1 91111	1	0,921	0,948	0,985
	2	0,921	0,940	0,905
Pgi3	(N)	253	270	291
ryio		0,055	0,061	0,024
	2 3	0,055	0,061	0,024
	4	0,699	0,931	0,904
	5	0,028	0,007	0,036
N° total	26	22	23	22
de	20	22	23	~~
alelos				

Analisando as frequências alélicas das progênies, os locos Idh1, Got1 e Skdh2 chamam a atenção: para o loco Idh1 somente a progênie Nativa apresentou o alelo 1 e as progênies de Canoinhas e Anita Garibaldi apresentaram o alelo 3, já para o loco Got1 a progênie de Canoinhas

mostrou-se igual as adultas e jovens, com a fixação do alelo 2, enquanto que para Anita Garibaldi ocorreu a variação com o alelo 1 e na progênie Nativa a variação foi com o alelo 3. Para o loco Skdh2 a variação foi diferente dos adultos, jovens e progênie nativa, com a presença do alelo 1 nas progênies Canoinhas e Anita Garibaldi e entre as progênies somente Anita Garibaldi apresentou o alelo 3.

Os dados das frequências alélicas das progênies são semelhantes as frequências alélicas dos indivíduos adultos e jovens, porém existem diferenças em alguns locos. Para o loco Lap ocorreu a fixação dos alelos em todas as progênies. O loco Got1 apresentou variação, com dois alelos que não foram encontrados em indivíduos adultos e jovens e o loco Skdh2, o alelo um, foi encontrado apenas em duas das progênies Canoinhas e Anita Garibaldi, não ocorrendo em adultos e jovens.

Mesmo com frequências alélicas semelhantes entre indivíduos adultos, jovens e progênies, fica claro a diferença entre adultos e jovens com as progênies, pois o número de alelos encontrados nas progênies é relativamente superior ao dos adultos e jovens. Com os dados encontrados é possível dizer que a diversidade alélica nas progênies é maior que no restante das populações.

**Tabela 11.** Índices de diversidade intrapopulacionais para plantios de individuos adultos e jovens e uma área de mata nativa de *Araucaria angustifolia*, empregando-se 17 locos alozímicos. n: tamanho da amostra;  $\hat{A}$ : número de alelos por loco;  $\hat{A}e$ : número de alelos efetivos;  $\hat{P}_{9996}$ : porcentagem de locos polimórficos;  $\hat{H}_{o}$ : heterozigosidade observada;  $\hat{H}_{e}$ : diversidade gênica;  $\hat{f}$ : índice de fixação na FLONA de Três Barras. NPFT/RGV Florianópolis, 2008.

População	n	Â	Âе	$\hat{P}_{99\%}$	$\hat{H}_o$	$\hat{H}_e$	Ĵ
Canoinhas adultos	51,7	1,8	1,69	58,8	0,074	0,117	0,365*
Anita Garibaldi adultos	51,1	1,8	1,67	64,7	0,070	0,111	0,367*
Curitibanos adultos	41,2	1,9	1,84	58,8	0,079	0,168	0,532*
Nativa adultos	50,4	1,9	1,81	52,9	0,072	0,134	0,464*
Média adultos	48,6	1,85	1,75	58,8	0,074	0,133	0,444
Canoinhas jovens	47,1	1,8	1,75	58,8	0,090	0,136	0,334*
Anita Garibaldi jovens	48,2	1,8	1,76	58,8	0,075	0,110	0,318*
Curitibanos jovens	54,2	1,9	1,76	58,8	0,079	0,144	0,446*
Nativa jovens	49,2	1,6	1,59	41,2	0,078	0,120	0,346*
Média jovens	49,7	1,77	1,72	54,4	0,081	0,127	0,362
Média Total	49,1	1,8	1,73	56,6	0,077	0,130	0,396

Os índices de diversidade (Tabela 11) foram semelhantes para as populações adultas e jovens. O número de alelos por loco  $(\hat{A})$  variou de 1,6 a 1,9 tendo como média total 1,8. O número de alelos efetivos  $(\hat{A}e)$  variou de 1,59 a 1,84 tendo como média 1,73. A maior porcentagem de locos polimórficos  $(\hat{P}_{99\%})$  foi 64,7%, valor registrado para procedência de Anita Garibaldi, por outro lado a menor porcentagem de locos polimórficos foi encontrada na população Nativa de plantas jovens (41,2). Em geral, os valores das diversidades gênicas  $(\hat{H}_e)$  foram moderadas para todas as populações, assim como a média (0,130). Já a heterozigosidade observada  $(\hat{H}_e)$  foi baixa para todas as populações, bem como para o conjunto de populações. Os índices de fixação detectados nas populações de araucaria  $(\hat{f})$  foram positivos, altos e significativos em todas as populações, variando de 0,318 a 0,532, de acordo com P de 5%.

**Tabela 12.** Índices de diversidade intrapopulacionais para individuos adultos e jovens em 3 plantios e uma área de mata nativa de *Araucaria angustifolia*, empregando-se 10 locos alozímicos. n: tamanho da amostra;  $\hat{A}$ : número de alelos por loco;  $\hat{A}e$ : número de alelos efetivos;  $\hat{P}_{9994}$ : porcentagem de locos polimórficos;  $\hat{H}_e$ : heterozigosidade observada;  $\hat{H}_e$ : diversidade gênica;  $\hat{f}$ : índice de fixação na FLONA de Três Barras. NPFT/RGV Florianópolis, 2008.

População	n	$\hat{A}$	Âe	$\hat{P}_{99\%}$	$\hat{H}_{o}$	$\hat{H}_{e}$	$\hat{f}$
Canoinhas adultos	52,8	1,9	1,83	50	0,075	0,093	0,184*
Anita Garibaldi adultos	53,7	1,9	1,77	40	0,057	0,083	0,312*
Curitibanos adultos	41,8	1,9	1,88	60	0,087	0,119	0,273*
Nativa adultos	51	1,9	1,84	50	0,080	0,102	0,207*
Média adultos	49,8	1,9	1,83	50	0,075	0,099	0,244
Canoinhas jovens	47,8	1,8	1,76	70	0,102	0,103	0,010ns
Anita Garibaldi jovens	48,4	1,7	1,67	60	0,074	0,089	0,167*
Curitibanos jovens	55	1,9	1,77	50	0,094	0,096	0,020*
Nativa jovens	49,6	1,6	1,56	40	0,085	0,086	0,014*
Média jovens	50,2	1,75	1,69	55	0,089	0,094	0,053
Canoinhas progênies	246,3	2,2	2,15	60	0,115	0,106	-0,083
Anita Garibaldi progênies	269,0	2,3	2,26	60	0,101	0,090	-0,116
Nativa progênies	289,7	2,2	2,09	50	0,116	0,096	-0,021
Média Progênie	268,3	2,2	2,17	56,7	0,111	0,098	-0,137

Para efeitos comparativos os dados das populações adultas e jovens foram analisados com o mesmo número de locos das progênies. Neste sentido os índices encontrados para as populações adultas e jovens foram diferentes dos apresentados com 17 locos. Porém para as populações adultas os resultados dos índices de diversidade foram semelhantes.

O número médio de alelos por loco para as populações adultas foi de 1,9 e variou de 1,6 a 1,9 com média de 1,75 para as jovens, já para as progênies os valores variaram de 2,2 a 2,3 com um valores superiores aos adultos e jovens e média de 2,2. Estes resultados se repetem para o número de alelos efetivos com variação de 1,77 a 1,88 e valor médio de 1,83 para adultos e 1,56 a 1,77 com média de 1,69 para jovens, para as progênies estes valores foram maiores com 2,09 a 2,26 e média de 2,17. A percentagem de locos polimórficos variou de 40 a 60 para as populações adultas tendo como média 50, para as populações jovens a variação foi de 40 a 70 com média de 55, as progênies tiveram a maior média com 56,7 e uma variação de 50 a 60 (para um loco ser considerado polimórfico o alelo mais frequênte tem que estar em uma frequência inferior a 99%).

Os valores de diversidade genéticas encontrados para as progênies foram semelhantes as demais populações, porém para a heterozigosidade observada os valores encontrados para as progênies foram superiores aqueles das plantas adultas e jovens variando de 0,101 a 0,116.

Entre os resultados obtidos, chama atenção o número de alelos por loco da população Nativa jovens com valores inferiores as demais populações acarretando uma diminuição da média, bem como para o número de alelos efetivos e porcentagem de locos polimórficos.

As maiores diferenças nos índices de diversidade encontram-se no índice de fixação, onde os valores encontrados para as progênies apresentam-se negativos, refletindo um maior número de heterozigotos observados em relação aos esperados.

Comparando a média do índice de fixação entre as populações adultas, jovens e progênies nota-se que, conforme o desenvolvimento das plantas da fase de progênie até adultas ocorre um aumento deste índice (-0,137, 0,053 a 0,244), o mesmo ocorrendo para cada população individualmente.

**Tabela 13.** Estimativas dos parâmetros  $\hat{Fis}$  e  $\hat{Fit}$ , da divergência genética ( $\hat{Fst}$ ) e divergência de indivíduos dentro de famílias ( $\hat{Fif}$ ), gerados por análise variância para indivíduos adultos e jovens de 4 populações *Araucaria angustifolia*, empregando-se 13 locos alozímicos. NPFT/RGV Florianópolis, 2008.

NPFT/RGV Floriar	nópolis, 2008.	Adultos			
Locos	^	^	^		
	Fis	Fit	F <sub>2</sub>		
Fes1	0,536	0,556	0,0		
Fes2	0,680	0,692	0,0		
Prx1	0,330	0,446	0,1		
Prx2	0,874	0,903	0,2		
Me Idh	0,323	0,326	0,0 -0,0		
	0,001	-0,004 0.105			
6Pgdh Skdh1	0,191 0,400	0,195	0,0 -0,0		
Skdh2	-0,001	0,392 0,985	0,9		
Pgm	-0,001	-0,023	0,9		
Pgi1	-0,024	-0,023	0,0		
Pgi3	0,227	0,243	0,0		
Acp	0,739	0,243	0,0		
Média Adultos	0,439	0,603	0,0		
Media Additos	(0,240 a 0,691)	(0,313 a 0,831)	(0,023 a		
	(0,2:00:0,00:)	Jovens	(0,0=0 0		
Fes1	0,444	0,460	0,0	27	
Fes2	1,000	1,000	0,0	46	
Prx1	0,503	0,550	0,096		
Prx2	0,791	0,856	0,313		
Me	-0,019	-0,017	0,002		
Lap	0,000	-0,003	-0,003		
ldh	-0,004	-0,000	0,003		
6Pgdh	-0,067	-0,071	-0,0	004	
Skdh1	0,242	0,236	-0,0	009	
Skdh2	-0,002	0,001	0,0	03	
Pgm	0,132	0,147	0,0	17	
Pgi1	-0,010	0,000	0,0	10	
Pgi3	0,160	0,153	-0,0		
Média Jovens	0,364	0,437	0,1		
	(0,050 a 0,629)	(0,051 a 0,712)	(0,000 a	a 0,233)	
	^	Progênies	^	^	
Locos	Fis	Fit	Fst	Fif	
Fes2	-0,084	0,055	0,002	0,129	
ldh	-0,209	-0,002	0,006	0,171	
Got	-0,007	-0,001	0,001	0,006	
Me	-0,168	-0,018	0,015	0,128	
6Pgdh	-0,174	-0,003	-0,008	0,145	
Skdh1	0,088	0,116	-0,005	0,030	
Skdh2	0,199	0,221	0,004	0,027	
Pgm	-0,216	0,012	0,002	0,188	
Pgi3	-0,146	-0,012	-0,005	0,117	
Média Progênie	-0,142	0,014	-0,003	0,137	
	(-0,174 a -0,080)	(-0,004 a 0,051)	(-0,006 a 0,005)	(0,114 a 0,149)	

Na Tabela 13 encontram-se as estimativas das estatísticas F de Wright dentro de populações ( $\hat{Fis}$ ), para o total das populações ( $\hat{Fit}$ ), divergência genética entre populações ( $\hat{Fst}$ ), para quatro populações amostradas e divergência genética entre famílias ( $\hat{Fif}$ ) para três progênies de A. angustifolia.

O índice de fixação médio dentro de populações foi positivo, alto e significativo para os adultos e jovens, conforme seu intervalo de confiança, sugerindo que a maioria dos locos dentro de populações não está seguindo as proporções esperadas para o equilíbrio de Hardy-Weinberg. Já para as progênies, o índice de fixação dentro das populações foi negativo demonstrando um excesso de heterozigotos.

O índice de fixação para o total das populações foi alto e significativamente diferente de zero, possivelmente por diferenças no conjunto das populações referentes a efeitos de deriva, estruturação genética e sistema reprodutivo. Para as progênies este valor foi positivo e baixo não sendo diferente de zero indicando frequências genotípicas próximas ao equilíbrio de Hardy-Weinberg.

A divergência genética entre populações adultas foi alta (0,293) e estatisticamente diferente de zero, mostrando que 29,3% da diversidade genética encontra-se entre populações e que 70,7% da diversidade encontra-se distribuídos dentro das populações. Para as populações de jovens a divergência genética diminui para menos da metade com 0,115 indicando uma maior proporção da variabilidade distribuída dentro das populações. Nas progênies a divergência genética entre as populações não é diferente de zero com apenas -0,003, porém quando feita a hierarquização, o valor da divergência genética para as famílias dentro das populações torna-se positivo e significativo, semelhante ao valor teórico obtido para cruzamentos de meio-irmãos, como seria o esperado.

Para as três progênies a maioria dos locos indicou diferenças significativas ao teste de aderência entre as frequências alélicas no conjunto de pólen/óvulo, demonstrando que estes locos

não se adequaram ao modelo de cruzamento misto de Ritland e Jain (1981). Apenas as frequências alélicas em pólens e óvulos nos locos Pgm1 na progênie de Anita Garibaldi e Lap1 e Skdh2 para a progênie Nativa podem ser considerados homogêneas (Tabela 14 a 16).

**Tabela 14.** Frequências alélicas de pólen e óvulo, tamanho amostral (n) e divergência genética entre frequência alélicas de pólen e óvulo ( $F_{ST}$ ) para *A. angustifolia* no plantio de Canoinhas localizado na Flona de Três Barras. NPFT/RGV Florianópolis, 2008.

Canoinhas	Locos	Alelo	Pólen	Óvulo	N	F <sub>st</sub>	X <sup>2</sup>
		1	0,032 (0,025)	0,058 (0,064)			
	Fes	2	0,872 (0,054)	0,754 (0,108)	186	0,089	66,25*
		3	0,096 (0,049)	0,189 (0,104)			
	ldh	3	0,996 (0,004)	1,000 (0,000)			
		4	0,004 (0,004)	0,000 (0,000)	253	0,008	4,056*
	Got	2	1,000 (0,000)	1,000 (0,000)	253	-	-
	Lap	1	1,000 (0,000)	1,000 (0,000)	253	-	-
	Ме	1	0,028 (0,015)	0,000 (0,000)			
		2	0,972 (0,015)	1,000 (0,000)	253	0,057	28,74*
	6Pgdh	1	0,016 (0,005)	0,000 (0,000)			
		2	0,478 (0,042)	0,346 (0,073)	253	0,097	98,21*
		3	0,506 (0,042)	0,654 (0,073)			
	Skdh1	1	0,990 (0,007)	0,953 (0,047)			
		2	0,010 (0,007)	0,047 (0,047)	253	0,049	25,02*
	Skdh2	1	0,004 (0,004)	0,000 (0,000)			
		2	0,996 (0,004)	1,000 (0,000)	253	0,008	4,056*
	Pgm	1	0,973 (0,017)	0,898 (0,065)			
		2	0,027 (0,017)	0,102 (0,065)	253	0,093	47,17*
_	Pgi	2	0,090 (0,029)	0,064 (0,064)	•	•	
		3	0,859 (0,039)	0,848 (0,076)	253	0,090	137,5*
		4	0,018 (0,007)	0,090 (0,070)			
		5	0,034 (0,031)	0,000 (0,000)			

**Tabela 15.** Frequências alélicas de pólen e óvulo, tamanho amostral (n) e divergência genética entre frequência alélicas de pólen e óvulo ( $F_{ST}$ ) para A, angustifolia no plantio de Anita Garibaldi localizado na Flona de Três Barras. NPFT/RGV Florianópolis, 2008.

Anita Garibaldi	localizado	na Flor	na de Très Barras	S. NPFT/RGV FIO	rianopo	olis, 2008.	
Anita	Locos	Alelo	Pólen	Óvulo	Ν	Fst	X <sup>2</sup>
Garibaldi							
		1	0.044 (0.020)	0.000 (0.000)			
	Fes	2	0.864 (0.030)	0.899 (0.064)	260	0,051	53,27*
		3	0.093 (0.034)	0.101 (0.064)			
	ldh	3	0.992 (0.004)	0.952 (0.048)			
		4	0.008 (0.005)	0.048 (0.048)	270	0,059	31,75*
	Got	1	0.004 (0.003)	0.000 (0.000)			
		2	0.996 (0.003)	1.000 (0.000)	270	0,008	4,329*
	Lap	1	1.000 (0.000)	1.000 (0.000)	270	-	-
	Me	1	0.015 (0.006)	0.000 (0.000)			
		2	0.985 (0.006)	1.000 (0.000)	270	0,030	16,32*
	6Pgdh	1	0.035 (0.015)	0.000 (0.000)			
		2	0.447 (0.025)	0.450 (0.128)	270	0,038	40,71*
		3	0.518 (0.026)	0.550 (0.128)			
	Skdh1	1	0.981 (0.007)	1.000 (0.000)			
		2	0.019 (0.007)	0.000 (0.000)	270	0,038	20,72*
	Skdh2	1	0.008 (0.005)	0.052 (0.048)			
		2	0.981 (0.010)	0.948 (0.048)	270	0,049	53,10*
		3	0.011 (0.010)	0.000 (0.000)			
	Pgm	1	0.964 (0.009)	0.951 (0.047)			
		2	0.036 (0.009)	0.049 (0.047)	270	0,004	2,243
	Pgi	2	0.085 (0.025)	0.051 (0.048)			
		3	0.900 (0.031)	0.949 (0.048)	270	0,041	44,75*
		4	0.015 (0.007)	0.000 (0.000)			

Tabela 16. Frequências alélicas de pólen e óvulo, tamanho amostral (n) e divergência genética entre frequência alélicas de pólen e óvulo ( $F_{ST}$ ) para A, angustifolia na Mata Nativa localizada na Flona de Três Barras. NPFT/RGV Florianópolis, 2008.

localizada na Flona de Três Barras. NPFT/RGV Florianópolis, 2008.								
Nativa	Locos	Alelo	Pólen	Óvulo	n	$F_{st}$	$X^2$	
		1	0,003 (0,003)	0.000 (0.000)				
	Fes	2	0.852 (0.043)	0.798 (0.079)	280	0,024	27,36*	
		3	0.145 (0.043)	0.202 (0.079)				
	ldh	3	0.007 (0.005)	0.000 (0.000)				
		4	0.993 (0.005)	1.000 (0.000)	290	0,014	8,15*	
	Got	1	0.003 (0.003)	0.000 (0.000)				
		2	0.986 (0.008)	1.000 (0.000)	290	0,027	31,5*	
		3	0.010 (0.007)	0.000 (0.000)				
	Lap	1	0.997 (0.003)	1.000 (0.000)				
		2	0.003 (0.003)	0.000 (0.000)	290	0,006	3,485	
	Me	1	0.051 (0.022)	0.051 (0.051)				
		2	0.949 (0.022)	0.949 (0.051)	290	-	-	
	6Pgdh	1	0.007 (0.005)	0.000 (0.000)			_	
		2	0.428 (0.062)	0.545 (0.107)	290	0,058	68,01*	
		3	0.565 (0.062)	0.455 (0.107)				
	Skdh1	1	0.980 (0.009)	1.000 (0.000)				
		2	0.020 (0.009)	0.000 (0.000)	290	0,04	23,43*	
	Skdh2	1	0.003 (0.003)	0.000 (0.000)				
		2	0.997 (0.003)	1.000 (0.000)	290	0,006	3,485	
	Pgm	1	0.967 (0.011)	1.000 (0.000)				
		2 3	0.030 (0.009)	0.000 (0.000)	290	0,067	77,73*	
			0.003 (0.003)	0.000 (0.000)				
	Pgi	1	0.003 (0.003)	0.000 (0.000)				
		2	0.044 (0.013)	0.000 (0.000)				
		3	0.914 (0.022)	0.903 (0.094)	290	0,049	113,0*	
		4	0.033 (0.010)	0.048 (0.047)				
		5	0.007 (0.006)	0.048 (0.047)				

As taxas de cruzamento multiloco para cada progênie (Tabela 17), variaram de 0,143 a 1,421, 0,556 a 1,695 e 0,278 a 1,946 para Canoinhas, Anita Garibaldi e Nativa respectivamente, sendo todos os valores diferentes de zero, a julgar pelo erro padrão da média.

**Tabela 17.** Taxa de cruzamento multiloco  $(t_m)$ , uniloco  $(t_s)$ , cruzamento entre parentes (tm-ts), correlação de paternidade (rp), número médio de plantas doadoras de pólen  $(1/\hat{r}_p)$ , proporção de meios-irmãos  $[\hat{t}_m^{(1-\hat{r}_p)}]$ , proporção de irmãos-completos  $(\hat{t}_m^{\hat{r}_p})$ , coancestria dentro de progênies  $(\hat{\theta}_{sy})$ , tamanho efetivo de variância  $(\hat{N}_{e(sy)})$  e número de matrizes  $(\hat{N}_e)$  para três populações de A. angustifolia na FLONA de Três Barras. NPFT/RGV Florianópolis, 2008.

População	Canoinhas	Anita Garibaldi	Nativa
PROGÊNIE 1	1.067 (0,284) <sup>a</sup> [29] <sup>b</sup>	1,014 (0,013) [30]	0,278 (0,271) [21]
PROGÊNIE 2	0,761 (0,188) [30]	0,889 (0,245) [11]	1,946 (0,502) [30]
PROGÊNIE 3	0,988 (0,057) [29]	0,931 (0,176) [21]	1,039 (0,031) [30]
PROGÊNIE 4	1,065 (0,052) [27]	1,695 (0,347) [30]	1,557 (0,471) [30]
PROGÊNIE 5	0,143 (0,140) [20]	0,757 (0,154) [28]	1,053 (0,000) [30]
PROGÊNIE 6	0,698 (0,322) [12]	0,943 (0,220) [30]	0,584 (0,320) [30]
PROGÊNIE 7	1,421 (0,290) [30]	0,884 (0,076) [30]	0,778 (0,362) [30]
PROGÊNIE 8	0,763 (0,261) [30]	1,088 (0,130) [30]	1,167 (0,426) [30]
PROGÊNIE 9	1,082 (0,048) [30]	0,556 (0,295) [30]	0,389 (0,266) [30]
PROGÊNIE 10	1,160 (0,016) [16]	1,073 (0.020) [30]	1,812 (0,501) [29]
Entre não aparentados + aparentados ( $\hat{t}_{\scriptscriptstyle m}$ )	0.981 (0.098)	0.974 (0.082)	1.049 (0.093)
Entre não aparentados ( $\hat{t}_s$ )	0.963 (0.070)	0.946 (0.042)	1.058 (0.106)
Entre aparentados $(\hat{t}^{-\hat{t}_s})$	0.037 (0.053)	0.054 (0.058)	0
Correlação de paternidade ( $\hat{r}_p$ )	0.095 (0.083)	0.004 (0.019)	0.018 (0.020)
${\sf N^o}$ médio de plantas doadoras de pólen ( $^{1/\hat{r}_{_{\it p}}}$ )	10,5	250	55,6
Proporção de meios-irmãos [ $\hat{t}_{m}$ (1 - $\hat{r}_{p}$ )]	88,8%	96,5%	98,2%
Proporção de irmãos-completos ( $\hat{t}_{_{m}}\hat{r}_{_{p}}$ )	11,2%	3,5%	1,8%
Coancestria dentro de progênies ( $\hat{ heta}_{\scriptscriptstyle yy}$ )	0,193	0,171	0,169
Tamanho efetivo de variância ( $\hat{N}_{e(v)}$ )	2,48	2,77	2,78
Número de matrizes para reter o $\hat{N}_e$ = 150 ( $\hat{m}$ )	59	52	51
Número de matrizes para reter o $\hat{N}_e$ = 1000	388	345	339
$(\hat{m})$			

a – erro padrão da média; b tamanho da amostra

Os valores das taxas de cruzamento multiloco encontrados para o conjunto de progênies foram altos e não diferentes de um. Com excessão das progênies de Anita Garibaldi, as taxas de cruzamento uniloco não foram diferentes de um, a julgar pelo erro padrão. A difernça entre a taxa de cruzamento multiloco e uniloco indicou a ausência de cruzamento entre aparentados nas

progênies Nativa, já que nesta a taxa foi negativa, e a presença de 3,7% e 5,4% de cruzamentos entre parentes nas progênies Canoinhas e Anita Garibaldi, valores estes extremamente baixos não diferente de zero, conforme o erro padrão da média.

As estimativas da correlação de paternidade foram baixas, não sendo diferentes de zero para as progênies de Anita Garibaldi e Nativa, porém para as progênies de Canoinhas a estimativa foi estatisticamente diferente de zero, indicando que parte das progênies de Canoinhas foram geradas por cruzamentos biparentais.

A estimativa do número de plantas doadoras de pólen é inversamente proporcional a correlação de paternidade. Neste sentido quanto menor é a correlação de paternidade maior é o número de plantas doadoras de pólen, onde as progênies de Canoinhas, Anita Garibaldi e Nativa apresentaram 10,5, 250 e 55,6 plantas doadoras de pólen respectivamente.

A maior porcentagem de cruzamentos aleatórios foi encontrada na progênie Nativa com 98,2% de proporção de meio irmãos, sendo seguida por Anita Garibaldi com 96,5% e Canoinhas com 88,8%.

Os dados da proporção de irmãos completos corroboram com os dados de correlação de paternidade, e consequentemente com o número de plantas doadoras de pólen. Desta forma as progênies de Canoinhas aresentaram 11,2% de irmãos completos, ou seja indivíduos gerados de cruzamentos biparentais, sedo seguida por Anita Garibaldi e Nativa com 3,5 e 1,8 respectivamente.

O coeficiente de coancestria estimado dentro de progênies  $\hat{\theta}_{xy}$ , que mede a probabilidade de se amostrar aleatoriamente dois alelos em dois indivíduos e eles serem idênticos por descendência, foram menores que o esperado para irmãos-completos (0,250) e superiores ao esperado para meio-irmãos. Para todas as progênies as estimativas de coancestria foram semelhantes com 0,193, 0,171 e 0,169 para Canoinhas, Anita Garibaldi e Nativa.

Com o conhecimento do coeficiente de coancestria é possível calcular o tamanho efetivo de variância, o qual mede a representatividade genética de uma população em função das mudanças nas frequências alélicas entre gerações, em razão dos efeitos da deriva genética (Cockerham

1969). Em amostras de progênies de tamanho infinito, o tamanho efetivo de variância assume valores entre 1 e 4, onde um corresponde a progênies de autofecundação, dois para irmãos completos e quatro para progênies de meio-irmãos (Sebbenn, 2003). Assim, os tamanhos efetivos de variância em *Araucaria angustifolia* foram 2,48, 2,77 e 2,78 para Canoinhas, Anita Garibaldi e Nativa.

Com o tamanho efetivo de variância é possível determinar o número de árvores matrizes nécessárias para a coleta de sementes visando reter um determinado tamanho efetivo para, por exemplo, bancos de germoplasma, produção e coleta de sementes e programas de conservação ex situ de espécies ameaçadas. Neste sentido um tamanho efetivo de 150 seria adequado para a conservação da variabilidade genética no curto prazo (Sebbenn, A.M, comunicação pessoal) e 1000 como longo prazo (Sebbenn, 2003). Então para garantir uma conservação a curto prazo seria necessário coletar sementes de 59, 52 e 51 matrizes para reter um tamanho efetivo de 150, nas progênies de Canoinhas, Anita Garibaldi e Nativa respectivamente. No caso de reter um tamanho efetivo de 1000, para garantir uma conservação a longo prazo, indica-se uma coleta de sementes de 388, 345 e 339 matrizes para as progênies de Canoinhas, Anita Garibaldi e Nativa respectivamente.

# 6. DISCUSSÃO

#### 6.1. DEMOGRAFIA

Levando em consideração que os plantios foram implantados aproximadamente na mesma época (Figura 1), fator que provavelmente tem pouca influência no porte atual dos indivíduos, restam poucos elementos que podem representar a diferença no desenvolvimento das plantas tais como: o espaçamento entre plantas e linhas, o manejo do plantio e o material genético utilizado. Neste sentido a densidade de plantas por hectare torna-se muito importante, pois altera o desenvolvimento das plantas devido a competição intra-específica.

Os espaçamentos utilizados entre plantas e linhas foi diferenciado entre os plantios (Tabela 1). O espaçamento de Canoinhas e Curitibanos foi de 1,0 X 1,0 m onde foram feitas aproximadamente 10.000 covas/ha e para Anita Garibaldi o espaçamento entre plantas foi de 1,5 X 1,5 m com aproximadamente 4.444 covas/ha. Sugerindo que o espaçamento e consequêntemente a densidade de plantas/ha pode ser um dos fatores que contribui para o maior número de plantas nas classes de maior altura 20 a 25 metros no plantio de Anita Garibaldi, com 115 plantas nesta categoria, quase três vezes maior que o plantio de Curitibanos, lembrando que nesta categoria não foram encontrados indivíduos no plantio de Canoinhas..

Analisando a Tabela 1, verifica-se que a densidade de plantas/ha no momento da implantação dos plantios é aproximadamente a metade para Anita Garibaldi, densidade esta que pode ter favorecido o maior desenvolvimento das plantas em relação aos plantios de Curitibanos e Canoinhas. Mesmo com um volume menor de desbastes para Anita Garibaldi em relação a Curitibanos (Tabela 1), a densidade de plantas foi bem inferior favorecendo um maior desenvolvimento das plantas de Anita Garibaldi. Em relação a Curitibanos e Canoinhas que possuem o mesmo espaçamento, porém com um volume de desbaste muito diferentes é notavel a diferença no desenvolvimento das plantas, Curitibanos com mais que o dobro no volume de desbastes apresenta plantas com maior porte, com 44 plantas/ha na classe de 20 a 25 m e 29

plantas/ha com diâmetros acima de 40 cm, enquanto que o plantio de Canoinhas não possui representantes na classe de 20 a 25 m de altura e com apenas 8 plantas/ha nas classes com diâmetro acima de 40 cm (Tabelas 5, 6 e 7).

A densidade de plantas por área na mata nativa (Tabela 8), é alta comparando-se com as densidades encontradas por Mantovani *et al.* (2006) em Campos do Jordão (SP) e Bitencourt & Sebbenn (2007) em Manguerinha numa Reserva Indígena (PR), com 32 e 7 plantas/ha respectivamente. Porém Puchalski (2004), estudando nove populações de Santa Catarina encontrou valores que variam de 95,3 a 1112,5 plantas/ha, destas, 8 apresentaram densidades superiores a este trabalho (175 plantas/ha), somente a população de Caçador (95,3 plantas/ha) apresentou uma densidade menor abaixo do encontrado neste trabalho.

Filho (2003), avaliando o incremento em diâmentro de plantas de araucária no sul do Paraná, constatou que os maiores incrementos estavam em plantas que ocupavam o dossel da floresta ou seja em plantas que apresentavam DAP acima de 40 cm. Por sua vez, Nutto (2001), em um estudo do crescimento diamétrico de araucária realizado em plantios e áreas de mata nativa localizadas na FLONA de São Francisco de Paula (RS), e em áreas das empresas CELUCAT (SC) e ARAUPEL (PR), encontrou uma estreita relação entre a largura da copa e o DAP. Desta forma o DAP pode ser afetado pela densidade de plantas/ha, quanto menor o espaço físico entre as plantas menor é o espaço para o desenvolvimento, limitando o tamanho da copa, aumentando a competição e consequêntemente o DAP e a altura das mesmas. Neste sentido, a produção de sementes pode ser afetada, pois plantas com um espaçamento reduzido tem copas menores e provavelmente um número menor de pinhas. Silva (2006), em um estudo de obtenção e comercialização de pinhões na região de Caçador (SC), encontrou correlação significativa entre o DAP e o peso dos pinhões além de encontrar uma correlação negativa e significativa para a altura das plantas e o peso de pinhões chochos encontrados nas pinhas.

A produção de pinhões em Florestas Nacionais seria uma alternativa de uso sustentável, tanto em áreas naturais como em reflorestamentos, o que não vêm ocorrendo no sul do Brasil para

estas áreas, pelo menos, não de forma ordenada. A implementação de alternativas racionais de uso, com critérios bem definidos para produção de sementes com qualidade fisiológica e genética estaria de acordo com a legislação e objetivos das FLONAs, além de incentivar novos estudos e pesquisas gerando conhecimento para definir estratégias de uso e conservação.

Segundo o SNUC (Sistema Nacional de Unidades de Conservação), as FLONAs são unidades de conservação de uso sustentável e têm como objetivo básico "o uso múltiplo sustentável dos recursos florestais e a pesquisa científica, com ênfase em métodos para a exploração sustentável de florestas nativas" (Brasil 2000). Desta forma, um dos objetivos deste trabalho seria indicar áreas para a coleta de sementes baseados em dados de estrutura populacional e de diversidade genética.

Como foram feitas práticas culturais somente nos dez primeiros anos depois da implantação e posteriormente ocorreram alguns desbastes, o potencial de produção de sementes de araucária nos plantios da FLONA de Três Barras pode estar muito abaixo do que poderia produzir. Desta forma uma alternativa para aumentar a produtividade de sementes nestes plantios, visando a formação de Áreas de Produção de Sementes, seria a redução na densidade de plantas/ha, porém esta alternativa merece uma discussão mais profunda, pois existem critérios acerca de qual o objetivo da produção das sementes.

Caso o objetivo da área de produção de sementes seja para fins produtivos como madeira ou celulose, a tendência é a utilização de métodos de melhoramento clássico, que possam trazer ganhos genéticos em um curto espaço de tempo. Estes métodos levam em consideração a seleção fenotípica e ou genética das matrizes. Como o objetivo deste método é produtivo a seleção tem que ser baseada em critérios bem definidos, assim a redução da variabilidade genética torna-se evidente (Silva et al., 2006).

Se o objetivo do pomar de produção de sementes for para fins de restauração, é recomendado manter uma grande diversidade genética com um tamanho efetivo  $(N_e)$  que

possibilite manter a variabilidade por varias gerações, porém o pomar deve ser composto por matrizes da região onde a área será recuperada (Silva *et al.*, 2006).

Outro objetivo seria área de produção de sementes de espécies ameaçadas de extinção. Neste caso o recomendado seria manter o máximo possível da diversidade genética da espécie, não importando a origem do material (Silva *et al.*, 2006).

Dentre os três casos apresentados anteriormente, o que mais se adequa as condições encontradas seria o terceiro, pois a araucária é uma espécie ameaçada de extinção, além do objetivo básico das FLONAs, "uso múltiplo sustentável dos recursos florestais e a pesquisa científica, com ênfase em métodos para a exploração sustentável de florestas nativas" (Brasil 2000). Estas questões voltaram a ser discutidas com maior profundidade com os dados da parte de genética do presente trabalho.

Apesar de não ser um objetivo deste trabalho, outro potencial que pode ser levantado pelos resultados de demografia seria o aproveitamento das brotações de araucária, para avaliação do potencial de condução da espécie em regime de talhadia. Mesmo com a falta de manejo nos plantios a proporção de brotos encontrados é relativamente alta.

Em todos os plantios os brotos provenientes dos desbastes estão distribuidos nas menores classes de altura e DAP de 0 a 20 m e 0 a 25 cm respectivamente. Estes brotos representam um aumento de 8%, 5% e 9% no número total de indivíduos dos plantios de Curitibanos, Anita Garibaldi e Canoinhas. Provavelmente estes brotos estariam com um porte maior se estivessem sob condições de manejo.

Não foram encontrados trabalhos com aproveitamento das brotações em araucária, porém em espécies exóticas do gênero eucalyptus a técnica da talhadia (aproveitamento dos brotos) é muito utilizada (Stape, 1997). Outros trabalhos com talhadia testaram modelos de prognose de produção volumétrica de madeira, fazendo previsões de crescimento e de volume futuro (Couto et al., 1989).

## 6.2. GENÉTICA

Com a exploração de madeira e a abertura das fronteiras agrícolas, ocorreu uma rápida destruição da cobertura florestal ocupada em grande parte pela Floresta de Araucária, e esta intensa exploração reduziu sua área de ocorrência original a aproximadamente 2 a 4% (Guerra, et al. 2002). O efeito principal desta redução pode ter sido a diminuição da diversidade através da deriva genética. Neste sentido a caracterização da divesidade genética das espécies é fundamental para diagnosticar sua capacidade adaptativa diante dos processos evolutivos, principalmente as que atualmente estão incluídas nas categorias de ameaçadas de extinção como no caso da *Araucaria angustifolia*. Assim, alelos de baixa frequência e alelos exclusívos são de grande relevância para a manutenção das populações, pois são indicadores de diversidade e poderão favorecer a sobrevivência futura da espécie.

A análise das frequências alélicas evidência a importância do material genético encontrado na FLONA de Três Barras. Como não existe isolamento entre os materiais a troca genética favorece a diversidade e este conjunto de populações pode representar uma das maiores diversidades da espécie em um mesmo local. Como exemplo desta diversidade, o loco Got apresentou variação que não foi encontrada em nenhuma das 13 populações avaliadas no Inventário Florístico Florestal (Reis et al. 2004), um dos maiores trabalhos realizados nesta linha para o estado. Dentre os trabalhos revisados (Reis et al. 2004, Shimisu et al. 2000, Auler et al. 2002, Sousa et al. 2002 e Mantovani et al. 2006), somente o inventário florístico florestal de Santa Catarina apresentou variação para o loco lap em apenas 2 populações das 13 avaliadas e no presente trabalho 2 populações apresentaram variação para este loco (Canoinhas jovens e Curitibanos jovens). Outro caso é o loco Idh que não apresentou polimorfismo em diversos trabalhos como no Reis et al. (2004), Shimisu et al. (2000), Auler et al. (2002), Sousa et al. (2002) e Mantovani et al. (2006), no presente estudo foram encontrados outros 3 alelos para este loco nas populações procedente de Canoinhas e Anita Garibaldi adultos, Curitibanos Jovens e Canoinhas, Anita Garibaldi e Nativa progênies.

Neste trabalho verifica-se ainda a existência de alelo exclusívo para a população de Anita Garibaldi adultos, alelo 1 do loco Idh1. Também chama a atenção o alelo 2 deste mesmo loco contido apenas nas populações de Curitibanos jovens e progênie Nativa. Como foi citato no parágrafo anterior a variação no loco Idh ocorreu somente neste trabalho, considerando estas populações como uma única população, esta variação torna-se exclusíva da FLONA de Três Barras, aspecto importante para o conjunto gênico e conservação da espécie. Estes aspectos são evidências no sentido de confirmar a hipótese de que a varbilidade existente nos plantios da FLONA de Três Barras não existem mais nas populações de origem.

No caso da araucária, espécie ameaçada de extinção, esta área tem relevante importância para a produção de sementes, pois encontra-se em uma unidade de conservação de uso direto e neste sentido seria possível o manejo desta área para produzir sementes, além de ser uma área modelo para estudos neste sentido.

Em média, o número de alelos por loco encontrado para as populações foi superior aos demais trabalhos. Para os adulto, jovens e progênies os valores foram de 1,9, 1,75 e 2,2 respectivamente, enquanto que as médias para o inventário de Reis *et al.* (2004), Auler *et al.* (2002) e Mantovani *et al.* (2006) foram 1,7, 1,6 e 1,6.

As médias das heterozigosidades observadas  $(\hat{H}_o)$  foram compatíveis com as demais populações estudadas em Santa Catarina, em duas situações, para adutos e jovens com 17 locos as estimativas de  $\hat{H}_o$  foram de 0,074 e 0,077 enquanto que para 10 locos as estimativas para adulto, jovens e progênies foram 0,075, 0,089 e 0,111 respectivamente. Para os trabalhos do inventário e Auler *et al.* (2002) com 13 e 9 populações as estimativas de  $\hat{H}_o$  foram 0,092 e 0,073 respectivamente. Em Campos do Jordão a estimativa de  $\hat{H}_o$  foi um pouco superior aos aqui encontrado, 0,169 (Mantovani, 2006). Esta estimativa representa o número total de heterozigodos, ou seja se uma população apresentar apenas um tipo de heterozigotos em alta frequência a estimativa será alta, por outro lado, se a população apresentar uma variação de heterozigotos, com

varios tipos, porém em baixa frequência a estimativa será baixa, desta forma não representando a importância destas variações. Neste sentido, alguns trabalho tratam a estimativa de  $\hat{H}_{o}$  e  $\hat{H}_{e}$  como diversidade genética, sem levar em consideração as variações de alelos em baixa frequência, concluíndo que determinadas populações são mais diversas que outras.

Para as heterozigosidades esperadas  $(\hat{H}_e)$ , somente os adultos  $(\hat{H}_e=0,099)$ , jovens  $(\hat{H}_e=0,094)$  e progênies  $(\hat{H}_e=0,098)$  para 10 locos corroboram com o resultado de  $\hat{H}_e=0,084$  encontrados no trabalho de Auler *et al.* (2002). Já os resultados de  $\hat{H}_e$  para 17 locos de adultos e jovens, 0,133 e 0,130 respectivamente corroboram com os dados obtidos no inventário  $(\hat{H}_e=0,125)$ . Novamente a população de Campos do Jordão apresentou resultados superiores aos demais com  $\hat{H}_e=0.170$ .

Os índices de fixação encontrados são intrigantes para uma espécie dióica anemófila de polinização aberta. Neste caso a endogamia e a deriva genética podem estar influênciando estes valores. Quando considerados 17 locos estes índices superam a endogamia esperada para cruzamentos entre meio-irmão e irmãos-completos, 0,125 e 0,250 respectivamente (Tabela 11). No caso com 10 locos (Tabela 12), onde foram retirados os demais por falta de nitidez das bandas, os índices diferenciam para os indivíduos juvenis. Apenas a população de Anita Garibaldi apresentou valor superior ao cruzamento de meio-irmãos (0,167) e as demais foram póximas de zero, porém todas as populações adultas tiveram índices altos. Neste sentido outros trabalhos com 13, 9 e 6 populações apresentaram índices médios altos de 0,264, 0,143 e 0,11 respectivamente (Reis *et al.* 2004, Auler *et al.* 2002 e Stefenon *et al.*, 2007). Considerando todos os trabalhos encontrados, inventário florístico florestal de Santa Catarina, Shimisu *et al.* (2000), Auler *et al.* (2002), Mantovani *et al.* (2006) e Stefenon *et al.* (2007), o único que apresentou um excesso de heterozigotos, ou seja índice de fixação negativo, foi Auler *et al.* (2002), em apenas 2 das 9 populações. Índices negativos foram encontrados neste trabalho, mas somente nas progênies, resultados que chamam a atenção, a medida que as plantas passam de um estádio para outro de desenvolvimento nota-se a

perda de heterozigotos refletindo no aumento no índice de fixação. Resta saber o que acontece no decorrer do desenvolvimento para que estes heterozigotos não cheguem a fase adulta.

A ausência de conhecimento sobre os critérios de coleta das sementes para a formação destes plantios e posteriormente como as mesmas foram implantadas, pode ser um dos fatores relevantes para explicar estes elevados índices. Contudo, não se conhece a estratégia empregada para a formação destes lotes de sementes. Estas sementes podem ser originárias de poucos indivíduos aumentando as chances de parentesco dentro dos plantios, aumentando a endogamia, da mesma forma o efeito seria semelhante a deriva genética ocorrendo a perda de alelos, pois se a amostra coletada foi de poucos indivíduos a chance de poucos alelos estarem contidos na amostra é grande. Assim alguns alelos ficariam fora da amostragem, representando um efeito semelhante ao da deriva, porém decorrente da coleta.

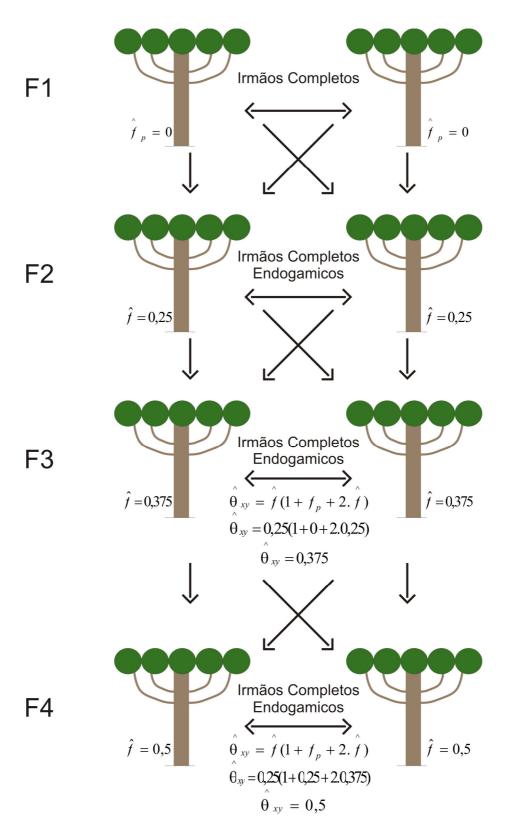
Outra questão para explicar os elevados índices de fixação seria a estruturação em famílias. Estes plantios podem ter concentrado sementes com grau de parentesco próximas, ou seja, em um mesmo talhão podemos ter uma sub-divisão em famílias. Desta forma como um dos objetivos era caracterizar a diversidade genética, as coletas respeitaram no mínimo uma distância de 50 metros entre plantas (Mantovani *et al.*, 2006, Bittencourt & Sebbenn, 2007), justamente para escapar deste efeito, e assim pode ter ocorrido um efeito semelhante ao da deriva genética, em função da amostragem. Discussão semelhante foi levantada por Bittencourt & Sebbenn (2007), onde os autores atribuem ao elevado índice de fixação o efeito Wahlund (Estrutura genética espacial).

Aparentemente estes elevados índices são característicos das populações naturais da espécie e, provavelmente, são causados por um conjunto de fatores como a rápida expanção aliada às migrações de grupos indígenas (Bitencourt & Krauspenhar, 2006), a deriva genética causada pela forte exploração e a estruturação em famílias.

Behling (2004), em um estudo de paleoecologia levanta que a *Araucaria angustifolia* migrou das regiões de baixadas (grotas), poucos núcleos, para os campos. Em outro estudo de

paleontologia Bitencourt & Krauspenhar (2006), sugerem que esta expanção foi reforçada pelos indígenas, que tinham em sua base alimentar a semente de araucária e assim disperçavam a espécie em suas rotas de migração (caça e coleta). Ainda no mesmo estudo os autores colocam que estas florestas podem ter sido manejadas como agroflorestas. Estas hipóteses reforçam os índices de fixação encontrados tanto do ponto de vista da endogamia como pela deriva através da coleta e seleção de materiais. Além da endogamia e da deriva genética, estes índices podem ter sofrido forte ação do efeito fundador causado pela ação dos indígenas.

A perda de determinados alelos por deriva genética, a partir da exploração da espécie, já citado por divesos autores (Mattos Filho, 1948, Klein, 1960, Mattos, 1994 e Guerra et al., 2002), com forte redução populacional pode ter favorecido o cruzamento entre aparentados aumentando a endogamia, favorecendo estes elevados indices (Figura 3, Sebbenn, A.M, comunicação pessoal).



**Figura 3**: Fluxograma de endogamia para quatro gerações de cruzamentos entre irmãos completos (Sebbenn, A.M. Comunicação pessoal).

Contudo, entre os fatores discutidos anteriormente, nenhum explica a perda de heterozigotos das fases juvenis até adultos. A explicação para o exesso de heterozigotos nas progênies poderia ser a alta homozigose nos adultos, a geração de indivíduos provenientes de cruzamento onde os parentais são homozigotos de tipos diferentes é a completa heterozigose.

Uma outra hipótese para explicar a perda desta heterozigosidade, ainda que aparentemente não faça muito sentido para uma espécie dióica, seria a seleção em favor de indivíduos homozigotos. Talvez simplesmente a seleção não possa ser considerada como uma resposta para esta questão, principalmente em função da complexidade dos processos envolvidos nesta situação. Contudo, as relações entre as forças evolutivas e o histórico de interação com populações humanas na evolução da espécie, incluíndo a seleção, poderiam ser questões importantes para um aprofundamento no sentido da compreenção deste comportamento.

Os resultados da Tabela 11 corroboram com os resultados encontrados para os índices de diversidade. O  $\hat{F}_{is}$  que é o índice médio entre população, apresenta o mesmo comportamento do  $\hat{F}_{is}$  com valores altos para adultos e jovens, e excesso de heterozigotos nas progênies. Comportamento semelhante ocorre para o índice  $\hat{F}_{it}$  com valores altos para adultos e jovens, porém sem o excesso dos heterozigotos nas progênies. A divergência entre as populações foi alta para adultos e jovens com 29,3% e 11,5% em média, respectivamente. Já para as progênies este valor aproxima-se de zero. Esta redução da divergência genética dos adultos para as progênies já era esperada, pois as populações que deram origem aos plantios eram distantes e possivelmente, divergentes. Contudo, atualmente estão próximas ocorrendo a troca de material e a homogenização genética com uma forte tendência de formar uma única população. Caracterizando um alto fluxo gênico entre os plantios e destes com a população natural.

Os resultados mostram (Tabela 13) que a maior parte de variação total está dentro das populações do que entre populações ( $\hat{F}_{st}$  =0,293). Este comportamento se repete para os indivíduos jovens com valores de  $\hat{F}_{st}$  =0,115. Nas progênies os valores mudam aproximando-se do equilíbrio de Hardy Weiberg. Estes valores encontrados para as progênies são esperados, pois

uma população, mesmo que endogamica, com número relativamente grande de indivíduos e em condições de pamixia tende a voltar ao equilíbrio. A divergência entre famílias encontrada ( $\hat{F}_{if}$  =0,137) faz sentido quando relacionada a questão da estruturação em família da espécie, já levantada por outros autores (Mantovani *et al.*, 2006, Bittencourt & Sebbenn, 2007), pois cada família, progênies maternas, tem a contribuição genética da mãe, portanto no mínimo estas progênies são meio-irmãs, ou seja, muito semelhantes dentro de cada família, porém com divergencia entre as matrizes.

As estimativas das divergências genéticas entre as frequências alélicas dos gametas masculinos e femininos mostrou diferenças significativas para a maior parte dos locos. Apenas os locos Pgm1 na progênie de Anita Garibaldi e Lap1 e Skdh2 para a progênie Nativa podem ser considerados homogeneos para a relação de pólen e óvulo (Tabela 10.1 e 10.2). Segundo Ritland e Jain (1981) e Lee et al (2000), a heterogeneidade nas frequências alélicas entre pólen e óvulos pode ser atribuída a diferenças na função masculina e feminina das plantas, imigração de pólen externo à população amostrada, seleção entre o período de polinização e análise, amostragem não representativa das árvores maternas e desvios de cruzamentos aleatórios. No presente estudo alguns destes fatores podem estar influênciando estas divergências; por exemplo a quantidade de pólen produzido, a imigração de pólen das outras populações e a própria estruturação em famílias que favorece cruzamentos entre parentes.

A homogeneidade nas freqüências alélicas do pólen e do óvulo é uma das pressuposições do modelo misto de reprodução de Ritland & Jain (1981). Contudo, segundo esses autores, quando se analisa mais de quatro ou cinco locos, a violação da pressuposição de homogeneidade das freqüências alélicas do pólen e óvulo tem pouco efeito sobre a estimativa da taxa de cruzamento multiloco na população, porém podem indicar a existência de alguns fatores já citados no parágrafo anterior.

Os resultados obtidos para as taxas de cruzamento multiloco  $(\hat{t}_m e^{-\hat{t}_s})$  são esperados para araucária, pois trata-se de uma espécie dióica de cruzamento obrigatório. A diferença entre a taxa

de cruzamento multiloco e a uniloco indicam que as progênies de Canoinhas e Anita Garibaldi apresentam cruzamentos biparentais com 1,9% e 2,8%, porém os valores não são significativamente diferentes de zero. Outros trabalhos apresentaram resultados semelhantes com uma diferença de 5,8% e 10,9% (Mantovani et al. 2006 e Bittencourt & Sebbenn 2007). Nestes trabalhos os autores demonstram que a espécies apresenta estrutura genética espacial aumentando as chances deste cruzamentos. Em outro estudo Souza (2003), mostrou que a Araucaria angustifolia possui grãos de pólen maiores que outras espécies polinizadas pelo vento, além de serem maiores são desprovidos de estruturas para planar, favorecendo cruzamentos entre indivíduos próximos. Estes aspectos reforção as possibilidades de cruzamentos biparentais.

Dentre as correlações de paternidade  $(\hat{r}_p)$  encontradas, Canoinhas com  $\hat{r}_p = 0,095$ , foi a única significativamente diferente de zero, enquanto que Anita Garibaldi  $(\hat{r}_p = 0,004)$  e Nativa  $(\hat{r}_p = 0,018)$  apresentaram valores baixos e não diferentes de zero. Valores superiores ao encontrado em Canoinhas foram encontrados por Mantovani (2006) e Bittencourt & Sebbenn (2007), que obtiveram correlações de  $\hat{r}_p$  de 19,2% e 19,6% respectivamente. Estes valores indicam que uma parte da progênie foi gerada de cruzamentos biparentais, ou seja, uma parte destas progênies seria composta de irmãos completos. Os cruzamentos em araucária são dependentes das condições climáticas vento, chuva e outros. No caso do presente estudo outro fator com influência direta é a densidade de plantas por área, por se tratar de plantio; tanto nas distâncias que o pólen pode percorrer como na formação das estruturas famíliares.

A estimativa do número de plantas doadoras de pólen esta diretamente relacionada com a correlação de paternidade, quanto maior for a  $\hat{r}_p$  menor será o número de plantas doadoras de pólen. Neste caso as estimativas encontradas são altas, principalmente para as progênies de Anita Garibaldi e Nativa ( $\sqrt[l]{\hat{r}_p}$  =250 e  $\sqrt[l]{\hat{r}_p}$  =55,6 respectivamente) e bem inferior para Canoinhas ( $\sqrt[l]{\hat{r}_p}$  =10,5). Estes valores altos são aceitáveis, considerando que em um mesmo local, Flona de Três Barras, ocorre a mistura de populações, a densidade de plantas reprodutivas por hectare é

alta, e a quantidade de pólen produzido muito grande. As chances de ocorrer um grande número de plantas doadoras de pólen aumenta, mesmo quando considera-se a população Nativa. A densidade de plantas por hectáre do presente estudo (175pl/ha) supera em muito a densidade encontrada por Mantovani (2003) e Bittencourt & Sebbenn (2007) (32pl/ha e 7,71pl/ha respectivamente). Estes aspectos reforçam, novamente, a existência de grande fluxo gênico entre os plantios e destes com a população natural.

As estimativas da proporção de meio-irmão foram altas para as procedências de Canoinhas, Anita Garibaldi e Nativa com 88,8%, 96,5% e 98,2% respectivamente. Estes valores são esperados pois as sementes foram coletadas das mesmas matrizes, consequentemente as progênies geradas são em grande parte de meio-irmãos. A proporção de irmãos-completos esta relacionada com a correlação de paternidade, desta forma já era esperado uma maior proporção para a procedência de Canoinhas (11,2%), seguida pela procedência Anita Garibaldi e Nativa com 3,5% e 1,8% respectivamente. Estes valores indicam que uma parte da progênie foi gerada de cruzamentos correlacionados; neste sentido Mantovani (2003) e Bittencourt & Sebbenn (2007) encontraram valores muito superiores com 18,3% e 19,4% respectivamente. Estes dados podem ser reflexo de diversos fatores, como as condições climáticas e o padrão espacial. Em especial chama a atenção a densidade de plantas, já discutida no parágrafo anterior.

Os coeficientes de coancestria encontrados para as progênies de Canoinhas, Anita Garibaldi e Nativa ( $\hat{\theta}_{y}$ =0,193,  $\hat{\theta}_{y}$ =0,171 e  $\hat{\theta}_{y}$ =0,169), são maiores que o esperado para meio-irmão ( $\hat{\theta}_{y}$ =0,125), confirmando desvios na condição de panmixia. O conhecimento do coeficiente de coancestria é fundamental para se obter o tamanho efetivo de variância, que mede a representatividade genética de uma população a partir de suas progênies. Em condições idealizadas (tamanho infinito, cruzamentos aleatórios, ausência de seleção, mutação e migração) este valor correspode a quatro ( $\hat{N}_{e(v)}$ =4), desvios destas pressuposições causam redução no tamanho efetivo de variância. No presente estudo os valores encontrados para os tamanhos

efetivos de variância foram  $\hat{N}_{e(v)}$ =2,48,  $\hat{N}_{e(v)}$ =2,77 e  $\hat{N}_{e(v)}$ 2,78 (Canoinhas, Anita Garibaldi e Nativa respectivamente). Valores semelhantes foram encontrados em erva mate também dióica por Wendt (2005) e para araucária por Bittencourt & Sebbenn (2007). Estes resultados são menores que o esperado para condições idealizadas, o que implica na necessidade de tamanhos amostrais maiores para garantir a manutenção da variabilidade.

Como um dos objetivos deste estudo é determinar o potencial destas áreas para a produção de sementes foram calculados os valores do número de árvores matrizes para a coleta de sementes. Quando se determina o número de árvores matrizes para a coleta de sementes, alguns conceitos genéticos aliados ao sistema reprodutivo e a distribuição genética espacial da espécie devem ser levados em consideração. Outro fator muito importante é finalidade a qual será destinada a coleta destas sementes, programas de melhoramento ou recuperação de áreas degradadas.

Segundo Sebbenn (2002), o sucesso de programas de reflorestamento de espécies nativas são dependentes da origem ou procêdencia, número de matrizes, número de sementes coletadas e a contribuição gamética. Neste sentido Frankel e Soulé (1981), acreditam que um tamanho efetivo de 50 seja suficiente para manter o coeficiente de endogamia a uma taxa de 1% por geração, até 10 gerações, em locos com dois alelos, em populações de espécies com gerações discretas. Esse tamanho conserva boa parte da variabilidade genética das espécies no curto prazo, porém não seria suficiente para manter a variação genética a longo prazo. Sebbenn (2003), sugere outros dois tamanhos para a consevação a curto prazo (100 e 150), devido a sobreposição de gerações nas espécies arbóreas, que pode reduzir o tamanho efetivo de variância em função de efeitos como endogamia biparental. Neste trabalho foi adotado um tamanho efetivo de 5000 para garantir a conservação genética a longo prazo, alguns autores sugerem tamanhos de 500 (Franklin, 1980 e Lande & Barrowclough, 1987), 1000 (Lynch, 1996) e 5000 (Lande, 1995) para manter o potencial adaptativo e garantir o balanço entre a deriva genética e a mutação.

Para reter um tamanho efetivo de 150, conservação a curto prazo, seria nescessário coletar sementes de 59, 52 e 51 árvores matrizes para as progênies de Canoinhas, Anita Garibaldi e Nativa respectivamente. Estes valores são dependentes da coancestria dentro das progênies ( $\hat{\theta}_{v}$ ), quanto maior for a coancestria nas progênies menor será o tamanho efetivo de variância e consequentemente maior o número de árvores necessárias para coleta. Considerando a conservação a longo prazo, com tamanho efetivo de 1000, seria nescessário coletar sementes de 388, 345 e 339 árvores matrizes para as progênies de Canoinhas, Anita Garibaldi e Nativa respectivamente. Como a *Araucaria angustifolia* apresenta alelos em baixa frequência e alelos exclusivos da Flona de Três Barras, a coleta de um grande número de árvores torna-se importante na captura destes alelos. Considerando a densidade populacional e tamaho dos plantios existentes, estes números são completamente compatíveis, indicando o potencial para produção de sementes com garantia de manutenção da diversidade nas áreas estudadas.

Alguns fatores levantados neste trabalho e outros são de extrema relevância na questão do número de árvores matrizes para coleta, como: endogamia nas populações parentais, paternidade dentro e entre pinhas, posição das pinhas na copa, número de parentes representados na amostra, estrutura genética espacial, fluxo gênico e tamanho das áreas a serem reflorestadas (Sebbenn, 2002).

Como as Flonas são unidades de conservação de uso sustentável e têm como objetivo básico "o uso múltiplo sustentável dos recursos florestais e a pesquisa científica, com ênfase em métodos para a exploração sustentável de florestas nativas" (Brasil 2000). E neste sentido os plantios localizados na Flona de Três Barras podem representar uso para as comunidades locais e também servir de base para estudos como melhoramento e recuperação de áreas além da conservação do material genético.

Além disso, como levantado na discussão da parte de demografia deste estudo, propondo o desbaste para aumentar a produtividade destas áreas, porém até aquele momento sem discutir critérios genéticos. Neste momento com as análises genéticas concluídas, a Flona de Três Barras

apresenta grande relevância para consevação, mesmo com alto índice de fixação, pois apresenta alelos exclusívos desta área, representando uma diversidade que não foi encontrada em outros lugares (Reis et al. 2004, Shimisu et al., 2000), Auler et al., 2002, Sousa et al., 2002 e Mantovani et al., 2006). Esta área pode representar uma das maiores diversidades em um mesmo local, neste sentido o potencial da área para a produção de sementes tanto para programas de melhoramento como para recuperação de áreas degradadas é grande. Como existem alelos exclusívos e a produção de sementes pode estar muito abaixo do esperado, a proposta consiste em um desbaste assistido por marcadores genéticos, o que garantiria o aumento da produtividade mas também a conservação destes alelos raros e exclusivos encontrados na Flona de Três barras.

Este estudo demonstra uma forte possibilidade de uso e conservação em Florestas Nacionais, neste sentido seria de grande importância para a espécie, o desenvolvimento de estudos semelhantes no sentido de investigar a diversidade genética existente em outras FLONAS do sul do Brasil.

### 7. CONCLUSÕES

Como discutido em outros tópicos deste trabalho, a *Araucaria angustifolia* sofreu uma forte pressão antrópica, podento ter ocorrido uma redução na sua diversidade genética, através da perda de alelos, por deriva genética. Esta redução de alelos causada pela forte pressão sobre a espécie pode ter prejudicado a capacidade adaptativa diante dos processos evolutivos.

Neste contexto, as FLONAS como unidades de conservação de uso direto, tem um papel fundamental, servindo como base para estudos, e assim, gerando conhecimento para estabelecer estratégias de conservação e manejo.

Com a caracterização genética dos diferentes plantios e da mata nativa, fica evidente a importância da FLONA de Três barras. Neste estudo foram encontrados alelos que não foram encontrados em nenhum dos trabalhos revisados, mostrando que o material genético localizado nesta área, pode ser de grande relevância para a conservação, manejo e também para o

melhoramento genético da espécie. Estes resultados reforçam a hipótese de que a diversidade genética dos plantios não exista mais nos locais de origem.

A estatística  $\hat{Fst}$  sugerem um alto fluxo gênico, pois os índices encontrados nas progênies são negativos, e nos adultos estes índices são altos e positivos. Estes altos índices encontrados nos adultos, ainda são uma incógnita, que poderiam ser causados pela estrutura familiar no material de origem, porém este efeito de estrutura em família seria contraposto pelo fluxo gênico. Apesar dos índices de diversidade encontrados não mostrarem grandes diferenças em relação a outros estudos, fica em aberto uma questão chave no processo de sucessão da espécie. O que ocorre com o excesso de heterozigotos na passagem das progênies até chegar na fase adulta?

Mesmo com um alto índice de fixação fica evidente, através da redução deste índice no sentido adultos progênies, o fluxo gênico, com uma tendência a homogenização genética entre plantios e Mata Nativa. Este fluxo contribui para a mistura genética do material encontrado na FLONA de Três Barras, neste sentido a produção de sementes fica favorecida, pois a troca de material decorrente do fluxo gênico aumenta a diversidade das sementes.

A estrutura demográfica encontrada revela uma alta densidade populacional por área, tanto para os plantios como na mata nativa. Esta alta densidade populacional muito provávelmente afeta a produção de pinhões, devido a falta de espaço para o desenvolvimento da copa. No contexto de determinar áreas para a coleta/produção de sementes, é necessário analisar os dados de diversidade genética com os dados de estrutura populacional conjuntamente. A diversidade genética encontrada neste estudo é de grande importância, porém para aumentar a produção de sementes, seria necessário a intervenção através de desbastes. Esta intervenção pode representar um risco, no sentido da perda de alelos. A solução encontrada neste trabalho seria o desbaste assistido por marcadores genéticos.

# 8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

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

AULER, N. M. F. *et al.* The genetics and conservation of *Araucaria angustifolia*: Genetic structure and diversity of natural populations by means of non-adaptative variation in the state of Santa Catarina, Brazil. **Genetics and Molecular Biology**, Ribeirão Preto, v. 25, n. 3, . 239-338, 2002.

BEHLING H, PILLAR V, ORLÓCI L AND BAUERMANN SG. Late Quaternary *Araucaria* forest, grassland (Campos), fire and climate dynamics, studied by high resolution pollen, charcoal and multivariate analysis of the Cambará do Sul core in southern Brazil. **Palaeogeogr Palaeoclimatol Palaeoecol** 203: 277–297, 2004.

BIODIVERSITAS. Workshop "Revisão da Lista da Flora Brasileira Ameaçada de Extinção". Disponível em <a href="http://www.biodiversitas.org.br/cepf/listas\_especies.asp">http://www.biodiversitas.org.br/cepf/listas\_especies.asp</a>. Acessado em 12 de julho de 2006.

BISHOP, W.A. Relatórios internos da Floresta Nacional de Três Barras. 1965 à 1967.

BITENCOURT A.L.V. & KRAUSPENHAR P.M. Possible prehistoric anthropogenic effect on *Araucaria angustifolia* (Bert.) O. Kuntze expansion during the Late Holocene. **Rev Bras Paleontol** 9: 109–116, 2006.

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

BRASIL, Sistema Nacional de Unidades de Conservação (SNUC) 23p. 2000

CARVALHO P.E.R. Espécies florestais brasileiras. Recomendações silviculturais, potencialidades e uso da madeira. EMBRAPA, Colombo, 639 pp., 1994.

COCKERHAM, C.C. Variance of genefrequencie. **Evolution**, 23: p 72-84, 1969.

COUTO, H.T.Z.; BASTOS, N.L.M. Comparação de dois modelos de prognose de madeira de Eucalyptus para alto fuste e talhadia. **Revista do Instituto Florestal** n.41/42, p 27-35, 1989.

DRAKE, F.A.; HERRERA, M.A.; ACUÑA, E.C. Propuesta de manejo sustentable de *Araucaria araucana* (Mol. C. Kock). **Bosque**, 26(1): 23-32, 2005.

ENRIGHT, N.J.; RIGG, L.; JAFFRE, T. Environmental controls on species composition along a (maquis) shrubland to forest gradient on ultramafics at Mont Do, New Caledonia. **South African Journal of Science**, v. 97, p. 573-580, Part 2, 2001.

FILHO, A.F.; HUBIE, S.R.; SCHAAF, L.B.; FIGUEIREDO, D.J.; SANQUETTA, C.R. Avaliação do incremento em diâmetro com o uso de cintas dendrométricas em algumas espécies de uma Floresta Ombrófila Mista localizada no Sul do Estado do Paraná. **Revista Ciências Exatas e Naturais,** v. 5, n. 1, p 70-84, 2003

FRANKEL, O. H. e SOULÉ, M. S. **Conservation and evolution.** Cambridge: Cambridge University Press. 327p, 1981.

FRANKLIN, I. A. Evolucionary change in small populations. In: SOULÉ, M. E.; WILCOX, B. A. **Conservation biology:** an evolutionary-ecological perspective. Sunderland: Sinauer Associates, p. 135-150, 1980.

GILBERT, G.S. Evolutionary ecology of plant diseases in natural ecosystems. **Annual Review Phytopathol** 40: 13-43, 2002.

GUERRA, M.P.; REIS, M.S. Inventário dos recursos florestais da Mata Atlântica. *Araucaria angustifolia* (Bert.) O. Ktze. Segundo Relatório Parcial. Florianópolis-SC. 1998. 71p. (não publicado).

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

HAMRICK, J.L. & GODT, M.J.W. Allozyme diversity in plant species. In: BROWN, A.H.D.; CLEGG, M.T.; KAHLER, A.L.E.; WEIR, B.S. (eds.) **Plant population genetics, breeding and genetic resources.** Sunderland: Sinauer, MA. Pp.43-63, 1989.

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

HIGA, A.R.; SILVA, L.D. Pomar de sementes de espécies florestais nativas. Curitiba: FUPEF, p. 266, 2006.

HIGA, A.R.; SILVA, L.D. Certificação da produção de mudas e sementes de espécies florestais nativas. In: HIGA, A.R.; SILVA, L.D. **Pomar de sementes de espécies florestais nativas**. Curitiba: FUPEF, p. 65-81, 2006.

KLEIN, R.M. Aspectos dinâmicos do pinheiro brasileiro. **Sellowia**, n.12, p.17-44, 1960.

KLEIN, R.M. Mapa fitogeográfico do Estado de Santa Catarina. Herbário "Barbosa Rodrigues", Itajaí-SC. Universidade Federal de Santa Catarina-Florianópolis-SC. 22p, 1978.

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

LEE, S. L. Mating system parameters of I *Dryobalanops aromatica* Gaertn. F. (Dipterocarpaceae) in three different forest types and a seed orchard. **Heredity**, Lund, v. 85, p.338-345, 2000.

LEWIS, P.O.; ZAYKIN, D. **Genetic Data Analysis:** Computer program for the analysis of allelic data. Versão1.0 (d16c). Disponível em: http://lewis.eeb.uconn.edu/lewishome/ software.html, 2001.

LYNCH, M., WALSH, B. **Genetics and analysis of quantitative triats**. 1<sup>st</sup>. ed. Sunderland: Sinauter Associates, 1998.

MANTOVANI, A.; MANTOVANI, M.; PUCHALSKI, A.; SIMINSKI, A.; MARIOT, A.; REIS, M.S. Diversiade e estrutura genética de populações natruais de Araucaria angustifolia (Bert.) O. Kuntze no Estado de Santa Catarina. In: 50 Congresso Brasileiro de Genética, 2004, Florianópolis. Anais 50 Congresso Brasileiro de Genética. SBG, 2004. v. 1, p. 1-1.

MANTOVANI A. Fenologia reprodutiva e estrutura genética de uma população natural de *Araucaria angustifolia* (Bert.) O. Kuntze (Araucariaceae). Tese Doutorado, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2003.

MANTOVANI A, MORELLATO APC AND REIS MS. Internal genetic structure and outcrossing rate in a natural population of *Araucaria angustifolia* (Bert.) O.Kuntze. **Journal of Heredity** 97: 466–472, 2006.

MATTOS, J.R. O Pinheiro Brasileiro. 2º edição, Lages, SC, p. 226, 1994.

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

NEI, M. F-Statistic and analisis of gene diversity in subdividid populations. **Annual Humans Genetics 41**: 225-233, 1977.

NEI, M. Estimation of average heterozygoty and genetic distance from a small number of individuals. **Genetics**, 89: p.583-590, 1978.

NETO, J. D. G.; SEBBENN, A. M. e KAGEYAMA, P. Y. Sistema de reprodução em *Caesalpinia* echinata Lam. implantada em arboreto experimental. **Revista Brasileira de Botânica 28**(2): 409-418, 2005.

NEWTON, A.C., ALLNUTT, T.R., GILLIES, A.C.M., LOWE, A.J. & ENNOS, R.A. Molecular phylogeography, intraspecific variation and the conservation of tree species. **Trends in Ecology and Evolution** 14:140-145, 1999.

NODARI, R.O.; FANTINI, A.C. Meloramento genético do palmiteiro. In: REIS, M.S.; REIS, A. **Euterpe edulis martius – (Palmiteiro) biologia, conservação e manejo.** Itajaí, Santa Catarina: Herbário Barbosa Rodrigues, p.163-188, 2000.

NUTTO, L. Manejo do crescimento diamétrico de *Araucaria angustifolia* (Bert.) o. Ktze. Baseado na árvore individual. **Ciência Florestal** v.11, n.002, p 9-25, 2001.

OLIVEIRA, C.L. Relatórios internos da Floresta Nacional de Três Barras. 1952 à 1960.

OYAMA, K. Conservation Biology of Tropical Trees: Demographic and Genetic Considerations. **Environment Update**. n.1, p.17-32, 1993.

PANDOLFO, C.; BRAGA, H.J.; SILVA JÚNIOR, V.P.; MASSIGNAN, A.M.; PEREIRA, E.S.; THOMÉ, V.M.R. **Atlas climatológico digital do Estado de Santa Catarina**. Florianópolis: Epagri, 2002. CR-Rom.

PUCHALSKI, A.; SILVA, J.Z.; MANTOVANI, M.; REIS, M.S. Estrutura demográfica de populações naturais do pinheiro brasileiro. In SEMINÁRIO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFSC, 11., **Anais**. Florianópolis: Editora da UFSC, p. 386, 2001.

PUCHALSKI, A. Variações edafo-climáticas e ocorrência natural da *Araucaria angustifolia* (Bert.) O. Kuntze no Estado de Santa Catarina. Dissertação Mestrado, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2004.

REIS, A.; WIESBAUER, M.B. O Uso de Sementes na Restauração Ambiental. In: HIGA, A.R.; SILVA, L.D. **Pomar de sementes de espécies florestais nativas**. Curitiba: FUPEF, p. 83-92. 2006.

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

REITZ, R & KLEIN, R.M. Araucariaceas. Sellowia, Itajaí, p. 62, 1966.

RITLAND, K. e JAIN, S. A model for estimation of outcrossing rate and gene frequencies using n independent loci. **Heredity 47**(1): 35-52, 1981.

RITLAND, K. Correlated matings in the partial selfer *Mimulus guttatus*. **Evolution 43**: 848-859, 1989.

RITLAND, K. Extensions of models for the estimation of mating systems using *n* independent loci. **Heredity 88**: 221-228, 2002. http://genetics.forestry.ubc.ca/ritland/programs.

RUSCHI, A. Fitogeografia do Estado do Espírito Santo. Santa Tereza: **Bol. MBML,** Botânica, 1:1-353, 1950.

SAPE, J. L. Planejamento global e normatização de procedimentos operacionais da talhadia simples em Eucalyptus. **Revista do Instituto Florestal** v.11, n.30, p 51-62, 1997.

SCHNEIDER, P. R.; BRENA, D.A.; FINGER, C.A.G.; MENEZES, L.F.; NASCIMENTO, R.L. Enfoque do regime sustentado no manejo de floresta inequiânea de *Araucaria angustifolia*. In: CONGRESSO NACIONAL DE ESSÊNCIAS NATIVAS, Campos do Jordão. **Anais**. V.2, p.793-825, 1992.

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

SEBBENN, A. M. Tamanho amostral para conservação *ex situ* de espécies arbóreas com sistema misto de reprodução. **Revista do Instituto Florestal 15**(2): 147-162, 2003.

SEBBENN, A.M. Sistema de Reprodução em espécies arbóreas tropicais e suas implicações para a seleção de árvores matrizes para refloretamentos ambientais. In: HIGA, A.R.; SILVA, L.D. **Pomar de sementes de espécies florestais nativas**. Curitiba: FUPEF, p. 93-138. 2006.

SILVA, C.V. Aspectos da obtenção e comercialização de pinhão na região de Caçador - SC. Dissertação Mestrado, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2006.

STEFENON VM, GAILING O AND FINKELDEY R. Genetic structure of *Araucaria angustifolia* (Araucariaceae) populations in Brazil: implications for the *in situ* conservation of genetic resources. **Plant Biology** 9: 516–525. 2007.

SHIMIZU JY, JAEGER P & SOPCHAKI SA. Variabilidade Genética em uma População Remanescente de Araucária no Parque Nacional do Iguaçu, Brasil. Boletim de Pesquisa Florestal 41:18-36, 2000.

SILVA, J.A.; SALOMÃO, A.N.; GRIPP, A.; LEITE, E.J. Phytosociological survey In: Brasilian Forest genetic reserve of Caçador - SC. **Plant Ecology**, v. 133, n1-11, 1997.

SILVA, J.A.; SALOMÃO, A.N.; NETTO, D.A.M. Natural regeneration under *Araucaria angustifolia* (Bert.) O. Kuntze. Forest In: the genetic reserve of Caçador – SC. **Revista Árvore**. Viçosa –MG, v. 22, n. 2, p. 143-153, 1998.

SILVA, L.D.; HIGA, A.R.Planejamento e implantação de pomares de sementes de espécies florestais nativas. In: HIGA, A.R.; SILVA, L.D. **Pomar de sementes de espécies florestais nativas**. Curitiba: FUPEF, p. 83-92. 2006.

SOUSA, V.A. HATTERNER, H.H. & ROBINSON, I.P. Inheritance and linkage relationships of isozyme variants of *Araucaria angustifolial* (Bert.) O. Ktze. **Silvae Genetica**, v. 51, 5-6, 2002.

SOUSA, V.A. HATTERNER, H.H. Pollen dispersal and gene flow by pollen in *Araucaria* angustifolial. **Australian Journal of Botany,** v. 51, 309-317, 2003.

THOMÉ, N. Ciclo da Madeira. Caçador: Editora Impressora universal, 210p., 1995.

WORKMAN, P. L.; NISWANDER, J. D. Population studies on southwestern Indian tribes. II. Local genetic differentiation in the Papago. **American Journal of Human Genetics** 22: 24-49, 1970.

WRIGHT, S. The genetical structure of populations. Ann. Eugenics. v. 15, p. 395 – 420, 1951.

WRIGHT, S. The interpretation of population structure by F-statistics with special regard to systems of mating. **Evolution 19**: 395-420, 1965.