

**UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA**

VANESSA PADILHA SALLA

**APOMIXIA DETERMINANDO A ESTRUTURA GENÉTICA DE UMA
POPULAÇÃO DE *PLINIA CAULIFLORA* NO SUDOESTE DO PARANÁ**

DISSERTAÇÃO

PATO BRANCO

2016

**UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA**

VANESSA PADILHA SALLA

**A POMIXIA DETERMINANDO A ESTRUTURA GENÉTICA DE UMA
POPULAÇÃO DE *PLINIA CAULIFLORA* NO SUDOESTE DO PARANÁ**

DISSERTAÇÃO

PATO BRANCO

2016

VANESSA PADILHA SALLA

**A POMIXIA DETERMINANDO A ESTRUTURA GENÉTICA DE UMA
POPULAÇÃO DE *PLINIA CAULIFLORA* NO SUDOESTE DO PARANÁ**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Câmpus Pato Branco, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Agronomia - Área de Concentração: Produção Vegetal.

Orientador: Prof. Dr. Moeses Andriago Danner.

Co-Orientador: prof. Dr. Américo Wagner Júnior.

PATO BRANCO

2016

S168a Salla, Vanessa Padilha.
Apomixia determinando a estrutura genética de uma população de *Plinia cauliflora* no sudoeste do Paraná – Pato Branco: [s.n], 2016.
67f.:il.

Orientador: Moeses Andriago Danner
Coorientador: Américo Wagner Junior
Dissertação (Mestrado) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Programa de Pós-graduação em Agronomia.
Pato Branco, 2016.
Inclui bibliografia

1. Jaboticabeira 2. Genética de populações 3. Microssatélites (Genética) I. Danner, Moeses Andriago, orient. II. Wagner Junior, Américo, coorient. III. Universidade Tecnológica Federal do Paraná – Pato Branco. IV. Título.

CDD: 575.15



Ministério da Educação
Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Câmpus Pato Branco
Diretoria de Pesquisa e Pós-Graduação
Programa de Pós-Graduação em Agronomia



TERMO DE APROVAÇÃO

Título da Dissertação n.º 126

Apomixia Determinando a Estrutura Genética de Uma População de *Plinia cauliflora* no Sudoeste do Paraná

Por

Vanessa Padilha Salla

Dissertação apresentada às quatorze horas do dia dezoito de fevereiro de dois mil e dezesseis, como requisito parcial para obtenção do título de MESTRA EM AGRONOMIA, Linha de Pesquisa – Sistemas de Produção Vegetal, Programa de Pós-Graduação em Agronomia (Área de Concentração: Produção Vegetal), Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Câmpus Pato Branco. A candidata foi arguida pela Banca Examinadora composta pelos professores abaixo assinados. Após deliberação, a Banca Examinadora considerou o trabalho APROVADO.

Banca examinadora:

Prof. Dr. Joel Donazzolo
UTFPR/Dois Vizinhos

Prof. Dr. Alexandre Magno Sebbenn
IFSP/Piracicaba

Prof. Dr. Idemir Citadin
UTFPR/Pato Branco

Prof. Dr. Moeses Andrigo Danner
Orientador

Prof. Dr. Giovani Benin
Coordenador do PPGAG

Dedico este trabalho à minha família que sempre esteve ao meu lado, me apoiando e me incentivando, com todo o seu carinho e amor.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus e a Minha Santa, a qual sou devota, Nossa Senhora Aparecida, que sempre me guiou e me cuidou para que tudo ocorresse da melhor maneira possível para mim, sempre junto comigo me dando força quando pensei em fraquejar, me iluminando quando penso em desistir dos meus sonhos e olhando por mim.

À Geni Padilha Salla e Olmir José Salla, meus queridos pais que sempre me incentivaram e me apoiaram em tudo, agradeço pela paciência que tiveram comigo, pelos ensinamentos de honestidade, trabalho intensivo e perseverança.

Ao meu orientador, Dr. Moeses Andriago Danner pela orientação, por confiar e acreditar em mim, pelo apoio e por fazer parte deste novo aprendizado, pela amizade, pelos conselhos e tudo que me ensinou não só como orientador, mas como pessoa. Exemplo que levarei para a vida toda.

Aos professores Américo Wagner Júnior pela co-orientação e ensinamentos passados.

Ao professor Dr. Alexandre Magno Sebbenn, por toda a ajuda no desenvolvimento estatístico e profissional deste trabalho.

Ao laboratório de fisiologia do desenvolvimento e genética vegetal da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), em especial ao professor Dr. Rubens Onofre Nodari, pela parceria, apoio e tudo que contribuiu para realização deste trabalho pois sem esta contribuição o mesmo não seria possível.

A todos que me ajudaram na realização deste trabalho em campo, Amanda Pacheco Cardoso Moura, Marcos Vily Paladini, Carlos Koser, Gisely Correa de Moura, Daniele Fernanda Zullian, Mayara Luma Ferreira, David Oliveira, Irinaldo Gomes Leite, Thallana de Campos, Fabricia Lorrane, em especial a minha irmã Andressa Padilha Salla, pela disponibilidade do seu tempo em me ajudar nas atividades.

A todos que me ajudaram nas atividades de laboratório na (UFSC), Lilian Machado, Gustavo Klabunde, Márcia Denise Rossarolla, Denise Olkoski, Caroline Cristofoline, o meu muito obrigado, pois sem vocês não teria dado conta de aprender tudo e em tão pouco tempo, vocês são simplesmente uma equipe incrível.

A minha colega da Pós-Graduação Karina Guoullo, por compartilhar dificuldades, experiências e conhecimento.

À UTFPR e ao PPGAG, pela oportunidade da realização do mestrado.

À CAPES, pela concessão de bolsa.

A todos que direta ou indiretamente contribuíram para minha formação, meus sinceros agradecimentos.

Dizem que sou uma pessoa de sorte. Só sei que quanto mais eu me esforço mais sorte eu tenho. É isso, o que existe é o que colhemos e o que plantamos dentre tantas outras que estão fora do nosso alcance. Mas para todas as que estão, podemos nos preparar, esforçar, agir em prol dos nossos sonhos, sermos proativos perante os nossos projetos.

(Arieta Aruda).

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 01 - Área do fragmento florestal (A) e mapa da distribuição (B) de jabuticabeiras nativas (<i>Plinia cauliflora</i>) de uma população de Vitorino, Paraná. UTFPR Câmpus Pato Branco, 2016.	39
Figura 02 – Agrupamento de jabuticabeiras (<i>Plinia cauliflora</i>) adultas (A) e frutos de jabuticabeiras nativas (B) do fragmento florestal de Vitorino, Paraná. UTFPR Câmpus Pato Branco, 2016.....	39
Figura 03 - Distribuição espacial dos sete clones de jabuticabeiras (<i>Plinia cauliflora</i>) adultas e juvenis no fragmento florestal de Vitorino, Paraná. UTFPR Câmpus Pato Branco, 2016.....	45
Figura 04 – Estrutura genética espacial em jabuticabeiras (<i>Plinia cauliflora</i>) adultas e juvenis do fragmento florestal de Vitorino, Paraná. A linha contínua representa o coeficiente médio de coancestria (θ_{xy}) e as linhas tracejadas representam o intervalo de confiança a 95% de probabilidade da hipótese de ausência de estrutura genética espacial (hipótese $H_0: \theta_{xy} = 0$). UTFPR Câmpus Pato Branco, 2016.	45

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1** - Informações dos locos microssatélites utilizados no estudo. UTFPR Câmpus Pato Branco-PR, 2016.41
- Tabela 2** - Índices de diversidade genética de jabuticabeiras nativas (*Plinia cauliflora*) adultas e juvenis do fragmento florestal de Vitorino, Paraná. UTFPR Câmpus Pato Branco, 2016.43
- Tabela 3** - Número e frequência de indivíduos dos sete clones e riqueza genotípica (*R*) de jabuticabeiras (*Plinia cauliflora*) adultas e juvenis do fragmento florestal de Vitorino, Paraná. UTFPR Câmpus Pato Branco, 2016.44
- Tabela 4** - Genótipos multilocos (tamanho dos alelos, em pares de base) dos sete clones de jabuticabeira (*Plinia cauliflora*) detectados no estudo. UTFPR Câmpus Pato Branco, 2016.44
- Tabela 5** - Caracteres fenotípicos de frutos de oito jabuticabeiras (*Plinia cauliflora*) nativas do fragmento florestal de Vitorino, Paraná. Modificado de Danner et al. (2011a). UTFPR, Campus Pato Branco, 2016. **Erro! Indicador não definido.**

LISTA DE SÍMBOLO

®	Marca registrada
%	Porcentagem
°	Grau
μ	Micro
mM	Mini molar
μM	Micro molar

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO GERAL	4
2 REVISÃO DE LITERATURA	8
2.1 AS JABUTICABEIRAS.....	8
2.2 CONSERVAÇÃO E MELHORAMENTO GENÉTICO DE JABUTICABEIRA....	10
2.3 ESTUDOS DE GENÉTICA DE POPULAÇÕES COM USO DE MARCADORES MOLECULARES VISANDO A CONSERVAÇÃO DE ESPÉCIES ARBÓREAS.....	12
2.4 QUANTIFICAÇÃO DA DIVERSIDADE E ESTRUTURA GENÉTICA INTRAPOPULACIONAL.....	16
2.5 EFEITOS DA FRAGMENTAÇÃO FLORESTAL NA DINÂMICA DA DIVERSIDADE GENÉTICA.....	19
2.6 APOMIXIA EM PLANTAS.....	21
2.7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	24
3 APOMIXIA DETERMINANDO A ESTRUTURA GENÉTICA DE UMA POPULAÇÃO DE <i>PLINIA CAULIFLORA</i> NO SUDOESTE DO PARANÁ	34
3.1 RESUMO.....	34
3.2 ABSTRACT.....	35
3.3 INTRODUÇÃO.....	36
3.4 MATERIAL E MÉTODOS.....	38
3.5 RESULTADOS.....	42
3.6 DISCUSSÃO.....	46
3.7 CONCLUSÕES.....	57
3.8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	57
4 CONSIDERAÇÕES FINAIS	67
APÊNDICES	68

1 INTRODUÇÃO GERAL

As jabuticabeiras (*Plinia* sp., sinonímia *Myrciaria* sp.) pertence à família Myrtaceae e é endêmica das regiões Centro-Oeste, Sudeste e Sul do Brasil, e muito cultivada em quintais urbanos e alguns pomares comerciais, principalmente em Minas Gerais e São Paulo (MATTOS, 1983). A fruta da jabuticabeira apresenta grande potencial de comercialização, pois são muito apreciadas para consumo *in natura* (BALERDI et al., 2006). Além disso, a jabuticaba apresenta alto teor de antocianinas e flavonoides na casca (DANNER et al., 2011), o que pode ser aproveitado pela indústria farmacêutica e alimentícia, uma vez que a casca é rejeito do consumo *in natura*. A farinha da casca ministrada à camundongos cobaias proporcionou redução de colesterol e diabetes (LENQUISTE et al., 2012) e de câncer de próstata e leucemia (LEITE-LEGATTI et al., 2012), devido efeito antioxidante de combate aos radicais livres. A jabuticabeira também é muito utilizada como planta ornamental, devido à beleza da floração e frutificação no tronco e ramos - cauliflora (DEMATTÊ, 1997).

Apesar do potencial citado e da ampla distribuição em quintais urbanos no Brasil, a jabuticabeira ainda é uma espécie com poucos pomares plantados, os quais se localizam principalmente nos municípios de Casa Branca, São Paulo, e Hidrolândia, Goiás. Em Sabará, Minas Gerais, anualmente é realizado o Festival da Jabuticaba, com a comercialização de jabuticabas *in natura* e de produtos derivados (geleia, vinho e licor), promovendo o turismo gastronômico e geração de renda, a partir de jabuticabeiras de quintais urbanos (VIEIRA e FERREIRA, 2013).

Na região Sudoeste do Paraná, a comercialização de jabuticabas é efetuada na forma *in natura* às margens de rodovias, e é efetuada por famílias que coletam os frutos de plantas nativas (sistema extrativista), proporcionando renda adicional a essas famílias durante o período de colheita (setembro a novembro). A espécie *Plinia cauliflora* apresenta dispersão natural em alguns municípios da região Sudoeste do Paraná, e em 14 fragmentos florestais foi registrada a ocorrência de 55 a 1.400 jabuticabeiras adultas (com média de 12,5 a 19,3 metros de altura e 32 a 54 cm de diâmetro do tronco), totalizando 4.036 jabuticabeiras em 201,9 hectares (DANNER et al., 2010).

No último inventário florestal realizado no Paraná verificou-se que fragmentos florestais mais conservados (em estágio avançado de sucessão)

representavam apenas 0,8% da área original da Floresta Ombrófila Mista ou Floresta com Araucária, formação florestal que ocorre na região Sul e Sudeste do Estado (CASTELLA e BRITZ, 2004). A fragmentação florestal causa redução do tamanho da população reprodutiva e da densidade populacional (efeito gargalo) das espécies vegetais e isto gera efeitos genéticos prejudiciais à evolução e à conservação, tais como: aumento da endogamia devido ao aumento da taxa de autofecundação e de cruzamentos entre indivíduos parentes; redução na distância de dispersão de pólen e sementes e na taxa de imigração de pólen e sementes (isolamento reprodutivo); e consequente redução da diversidade populacional por deriva genética (SEBBENN, 2006).

Uma vez que as matas contendo as jabuticabeiras na região Sudoeste do Paraná são pequenos fragmentos isolados, cercados por extensas áreas de lavoura e pastagens, estes efeitos genéticos prejudiciais à sua conservação podem ter ocorrido e ainda estar ocorrendo. Além disso, observou-se nestes locais que há baixo número de indivíduos regenerantes, principalmente de tamanho intermediário entre plântulas e adultos, o que pode comprometer a sobrevivência da espécie em longo prazo (DANNER et al., 2010). Por isso, é fundamental e urgente verificar a composição e estrutura genética de populações de jabuticabeira, visando planejar ações de manejo e conservação da espécie na região Sudoeste do Paraná.

Estudos de Genética de Populações em plantas são realizados para verificar a dinâmica da diversidade genética de grupos de indivíduos, envolvendo a detecção dos seguintes parâmetros: diversidade genética intra- e interpopulacional, estrutura genética espacial de genótipos, endogamia e parentesco dentro das populações, estrutura genética entre populações, fluxo gênico (de pólen e sementes) remoto e contemporâneo e sistema de reprodução. Além disto, é possível inferir sobre a influência de fatores antrópicos (manejo, fragmentação, conservação e seleção artificial) e fatores evolutivos (seleção natural, deriva genética, migração e mutação) sobre estes parâmetros genéticos. Estes estudos são fundamentais para entender a evolução das espécies e ter efetividade nas ações de conservação *in situ* e *ex situ*, melhoramento genético e manejo sustentável de populações naturais e de espécies nativas em domesticação, que é o caso da jabuticabeira (STEFENON et al., 2009; CARNEIRO et al., 2011; FERES et al., 2012; FERREIRA et al., 2012; MANOEL et al., 2012; ARRUDA et al., 2015). Tais estudos são realizados através de genotipagem de indivíduos adultos, juvenis e sementes de populações naturais, com uso de

marcadores moleculares, principalmente do tipo microssatélites, por serem codominantes e altamente polimórficos (SEBBENN, 2006).

Este trabalho tem como objetivo caracterizar a diversidade e a estrutura genética espacial de uma população de jabuticabeira em Vitorino, Paraná.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ARRUDA, C.C.B.; SILVA, M.B.; SEBBENN, A.M.; KANASHIRO, M.; LEMES, M.R.; GRIBEL, R. Mating system and genetic diversity of progenies before and after logging: a case study of *Bagassa guianensis* (Moraceae), a low-density dioecious tree of the Amazonian forest. **Tree Genetics e Genomes**, v.11, n.3, p.837-842, 2015.

BALERDI, C.F.; RAFIE, R.; CRANE, J. Jaboticaba (*Myrciaria cauliflora*, Berg.): a delicious fruit with an excellent market potential. **Proceedings of the Florida State Horticultural Society**, v.119, p.66-68, 2006.

CARNEIRO, F.S.; LACERDA, A.E.B.; LEMES, M.R.; GRIBEL, R.; KANASHIRO, M.; WADT, L.H.O.; SEBBENN, A.M. Effects of selective logging on the mating system and pollen dispersal of *Hymenaea courbaril* L. (Leguminosae) in the Eastern Brazilian Amazon as revealed by microsatellite analysis. **Forest Ecology and Management**, v.262, p.1758-1765, 2011.

CASTELLA, P.R.; BRITZ, R.M.A (Orgs.). **Floresta com Araucária no Paraná: conservação e diagnóstico dos remanescentes florestais**. Brasília: Ministério do Meio Ambiente, 2004. 233p.

DANNER, M.A.; CITADIN, I.; SASSO, S.A.Z.; TOMAZONI, J.C. Diagnóstico ecogeográfico da ocorrência de jabuticabeiras nativas no sudoeste do paraná. **Revista brasileira de fruticultura**, v.32, n.3, p.746-753, 2010.

DANNER, M.A.; CITADIN, I.; SASSO, S.A.Z.; SCARIOT, S.; BENIN, G. Genetic dissimilarity among jaboticaba trees native to Southwestern Paraná, Brazil. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.33, n.2, p.517-525, 2011.

DEMATTE, M.E.S.P. Ornamental use of Brazilian Myrtaceae. **Acta Horticulturae**, n.452, p.143-179, 1997.

FERES, J.M.; SEBBENN, A.M.; GUIDUGLI, M.C.; MESTRINER, M.A.; MORAES, M.L.T.; ALZATE-MARIN, A.L. Mating system parameters at hierarchical levels of fruits, individuals and populations in the Brazilian insect-pollinated tropical tree, *Tabebuia roseo-alba* (Bignoniaceae). **Conservation Genetics**, v.13, p.393-405, 2012.

FERREIRA, D.K.; NAZARENO, A.G.; MANTOVANI, A.; BITTENCOURT, R.; SEBBENN, A.M.; REIS, M.S. Genetic analysis of 50-year old Brazilian pine (*Araucaria angustifolia*) plantations: implications for conservation planning. **Conservation Genetics**, v.13, n.2, p.435-442, 2012.

LEITE-LEGATTI, A.V.; BATISTA, A.G.; DRAGANO, N.R.V.; MARQUES, A.C.; MALTA,

L.G.; RICCIO, M.F.; EBERLIN, M.N.; MACHADO, A.R.T.; CARVALHO-SILVA, L.B.; RUIZ, A.L.T.G.; CARVALHO, J.E.; PASTORE, G.M.; MARÓSTICA JÚNIOR, M.R. Jaboticaba peel: Antioxidant compounds, antiproliferative and antimutagenic activities. **Food Research International**, v.49, p.596-603, 2012.

LENQUISTE, S.A.; BATISTA, A.G.; MARINELI, R.S.; DRAGANO, N.R.V.; MARÓSTICA JÚNIOR, M.R. Freeze-dried jaboticaba peel added to high-fat diet increases HDL-cholesterol and improves insulin resistance in obese rats. **Food Research International**, v.49, p.153-160, 2012.

MANOEL, R.O.; ALVES, P.F.; DOURADO, C.L.; GAINO, A.P.S.C.; FREITAS, M.L.M.; MORAES, M.L.T.; SEBBENN, A.M. Contemporary pollen flow, mating patterns and effective population size inferred from paternity analysis in a small fragmented population of the Neotropical tree *Copaifera langsdorffii* Desf. (Leguminosae-Caesalpinioideae). **Conservation Genetics**, v.13, p.613-623, 2012.

MATTOS, J.R. **Fruteiras nativas do Brasil: jaboticabeiras**. Porto Alegre: Nobel, 1983. 92p.

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

STEFENON, V.M.; STEINER, N.; GUERRA, M.P.; NODARI, R.O. Integrating approaches towards the conservation of forest genetic resources: a case study of *Araucaria angustifolia*. **Biodiversity and Conservation**, v.18, p.2433-2448, 2009.

VIEIRA, V.L.L.P.; FERREIRA, W.R. A Festa da Jaboticaba e o empreendedorismo feminino no Município de Sabará/MG. **Revista Brasileira de Gestão e Engenharia**, n.8, p.1-28, 2013.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 AS JABUTICABEIRAS

As jabuticabeiras (*Plinia* sp., família Myrtaceae, tribo Myrteae, subtribo Eugeniinae) são nativas do Brasil, tendo sua origem nas regiões Centro-Oeste, Sudeste e Sul. São conhecidas nove espécies de jabuticabeira, seis consideradas em extinção e encontradas apenas em algumas coleções de instituições de pesquisa. As três espécies com maior distribuição natural e em cultivos no Brasil são: *P. trunciflora* (Berg) Mattos; *P. cauliflora* (DC.) Berg., e *P. jaboticaba* (Vell.) Berg. (MATTOS, 1983; 1998).

Na região Sudoeste do Paraná as jabuticabeiras adultas apresentaram média de 15 metros de altura e 41 cm de diâmetro à altura do peito (DANNER et al., 2010). A folhagem é espessa e perenifolia, e no início da brotação as folhas apresentam coloração avermelhada. As folhas tem dimensões médias de 5,8 cm de comprimento e 1,8 cm de largura. As flores apresentam coloração branca, com quatro pétalas, e são dispostas em racemos multifloros, são hermafroditas (contendo um pistilo e em média 47 anteras) e a floração ocorre em massa (tipo *big-bang*), quase todas as flores abrem ao mesmo tempo e isto ocorre das 3-5 horas da manhã. A floração ocorre de meados de agosto e início de setembro. Os frutos são do tipo bagas globosas de cor preta-arroxeadas, com diâmetro médio de 2,2 a 2,4 cm e peso médio de 7,0 a 8,2 gramas. A polpa é branca e mucilagínosa, de sabor doce e apresenta de uma a quatro sementes, com média de 1,23 sementes por fruto. A casca da jaboticaba apresenta elevado teor de antocianinas (367 a 1419 mg 100 g⁻¹). O pedúnculo que liga o fruto aos ramos tem comprimento variável entre espécies (2,8 a 9,7 mm). A maturação dos frutos ocorre de final de setembro à final de outubro, em um ciclo de desenvolvimento de 35-40 dias (DANNER et al., 2011a,b,c).

As abelhas africanizadas (*Apis mellifera*) são os principais insetos polinizadores da jabuticabeira (MALERBO-SOUZA et al., 2004). A observação de frutificação em ramos e flores ensacadas demonstra que as jabuticabeiras são autocompatíveis e podem ser autógamas (MALERBO-SOUZA et al., 2004; VILELA et al., 2012). Por outro lado, Danner et al. (2011c) verificaram que o acesso dos polinizadores às flores aumentaram significativamente a frutificação e que a espécie *Plinia cauliflora* não frutificou em ramos ensacados. Este fato parece ter ocorrido

devido à morfologia floral e não à autoincompatibilidade, pois *P. cauliflora* apresentava flores com maior distância estigma-antenas (4,0 mm) em relação às duas outras espécies estudadas, *P. trunciflora* e *P. jaboticaba* (0,4 a 1,0 mm). Por isso, a polinização foi dependente do acesso das abelhas às flores.

O comportamento das abelhas na coleta de pólen permite que ocorra tanto a autogamia (contato do pólen das antenas no estigma da mesma flor), quanto à geitonogamia (contato do pólen de uma flor em outra da mesma planta) e a polinização cruzada (trazendo pólen de flores de outras plantas). Desta forma, as progênies oriundas de sementes de jabuticabeira podem ter mistura de irmãos de autofecundação, meio-irmãos, irmãos-completos e irmãos de autofecundação e cruzamentos (FINKELDEY, 2005; SEBBENN, 2006). Além disso, as sementes de jabuticabeira apresentam poliembrião (DANNER et al., 2011a) o que pode ser devido a formação de embriões por apomixia (assexualmente), os quais geram plântulas clones da planta matriz.

Por isso, acredita-se que o sistema de reprodução da jabuticabeira pode ser do tipo misto, em que as plântulas de uma progênie são geradas por mistura de embriões de autofecundação, de cruzamentos e de apomixia. Mas, para melhor elucidação desse parâmetro, torna-se necessária a genotipagem por marcadores moleculares, principalmente os microssatélites (RUIZ et al., 2000), comparando a segregação genética das progênies em relação às plantas matrizes, para definir a taxa de plântulas geradas de cada tipo de fecundação.

O cultivo da jabuticabeira é mais frequente em regiões de clima subtropical, embora esta se adapte também ao clima tropical, podendo tolerar o frio e até geadas de curta duração. A planta é cultivada desde o Sul do Brasil até ao Nordeste, mas é nos estados de São Paulo, Rio de Janeiro, Minas Gerais, Espírito Santo e Paraná que se concentram as maiores produções (MATTOS, 1983; DONADIO, 2000).

O potencial de comercialização da jabuticaba é grande em função de suas características organolépticas (BALERDI et al., 2006) e também porque a casca dos frutos apresenta elevado conteúdo de flavonoides e antocianinas (TEIXEIRA et al., 2008; DANNER et al., 2011a). Recentemente verificou-se efeito das antocianinas e flavonoides da casca da jabuticaba no combate a radicais livres e consequente redução de câncer de próstata e leucemia (LEITE-LEGATTI et al., 2012), além de redução do colesterol e do diabetes (LENQUISTE et al., 2012).

Apesar do potencial que possui a jabuticabeira ainda é uma espécie com poucos pomares plantados. No CEAGESP (Companhia de Entrepósitos e Armazéns Gerais de São Paulo), a comercialização da jabuticabeira é de aproximadamente 2.000 toneladas por ano, oriundas na maior parte de pomares da variedade 'Sabará' do município de Casa Branca, São Paulo. Em Hidrolândia, Goiás, a jabuticaba é produzida em mais de 100 propriedades e uma delas possui 31 mil jabuticabeiras (maior pomar do Brasil). As festas típicas da jabuticaba também são importantes fontes de renda em algumas cidades brasileiras, tais como em Sabará, Minas Gerais, promovendo o turismo gastronômico (VIEIRA e FERREIRA, 2013).

Pelo fato de algumas espécies de jabuticabeiras estarem localizadas em Ecossistema Floresta com Araucária, dos quais vem apresentando uma grave situação de desmatamento, inclusive na região Sudoeste do Paraná (CASTELLA e BRITTEZ, 2004), isso torna grande o risco de erosão genética da jabuticabeira. Por isso, deve-se estabelecer algumas estratégias de conservação *in situ* e *ex situ* de forma a evitar a perda de germoplasma de interesse.

2.2 CONSERVAÇÃO E MELHORAMENTO GENÉTICO DE JABUTICABEIRA

Para traçar estratégias visando a conservação dos recursos genéticos de espécies arbóreas é essencial se ter conhecimento da diversidade e estrutura genética de populações, do fluxo gênico e sistema de reprodução e também dos efeitos de fragmentação, deriva genética e efeito gargalo sobre estes parâmetros genéticos (SEBBENN, 2006). Da jabuticabeira não há na literatura nenhum estudo de genética de populações contemplando estes quesitos.

Na região sudoeste do Paraná foram mapeados 14 fragmentos florestais pertencentes ao Ecossistema Floresta com Araucária, onde há a ocorrência natural da jabuticabeira (*Plinia cauliflora*). Atualmente estes fragmentos são mantidos como área de reserva legal, especialmente em propriedades agrícolas particulares. Estes fragmentos totalizaram 201,9 hectares e continham 4.036 plantas adultas da espécie (DANNER et al., 2010). Este conjunto de populações devem ser alvo de estudos de genética de populações, pois esta região parece ser uma das únicas do Brasil com tantas populações da espécie.

Segundo Donadio (2000) deveria ser realizada a criação de maiores bancos de germoplasma da jabuticabeira, pois haviam apenas pequenas coleções de

plantas em alguns órgãos de pesquisa. Estas coleções são: (1) da Universidade Federal de Viçosa (UFV), em Minas Gerais; (2) do Instituto de Botânica de São Paulo; (3) da Estação Experimental de Osório, em Maquiné, Rio Grande do Sul; (4) do Instituto Agrônomo de Campinas, São Paulo; (5) e da ESALQ/USP de Piracicaba, São Paulo. Porém, atualmente, algumas se encontram em mau estado de conservação, colocando em risco de extinção muitas das espécies de jabuticabeiras que fizeram parte da flora nativa brasileira. Em 2009, na Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR), Câmpus Dois Vizinhos, foi implantado um pequeno banco de germoplasma de jabuticabeira com 120 genótipos (plantas) oriundos de sementes coletadas em cinco fragmentos florestais da região Sudoeste do Paraná e de algumas matrizes da UFV (MARTINS, 2013). Tais coleções deveriam ser ampliadas e melhor exploradas com estudos de caracterização e realização de hibridações dirigidas intra- e interespecíficas, as quais são ainda incipientes na espécie (VILELA et al., 2012).

Foram encontrados apenas dois estudos na literatura com o uso de marcadores moleculares para caracterização da divergência genética entre jabuticabeiras (PEREIRA et al., 2005; VILELA et al., 2012), os quais compararam genótipos de várias espécies de jabuticabeira de coleções de germoplasma, usando marcadores RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA). Em ambos os trabalhos foi verificada baixa diferenciação genética entre as plantas, mesmo sendo de espécies e origens diferentes, demonstrando que a base genética entre espécies de jabuticabeira é restrita. Entretanto, os autores utilizaram marcadores do tipo dominante (RAPD), os quais geralmente detectam menor polimorfismo de DNA do que os marcadores codominantes (por exemplo, os microssatélites).

De fundamental importância para desenvolver programas de conservação e melhoramento genético é o conhecimento do sistema reprodutivo da espécie, pois este determina a forma como os genes são transferidos e combinados nas progênes (RITLAND e JAIN, 1981). A detecção do sistema de reprodução também fornece informações importantes sobre os padrões de cruzamentos, a dinâmica dos processos microevolutivos (fluxo gênico, deriva genética, etc) e determina quais seriam as melhores formas para a conservação e manejo das espécies (SEBBENN, 2006). Para a jabuticabeira, não há informação claramente definindo o sistema de reprodução da espécie.

Ainda atualmente não há propostas de conservação *in situ* para

jaboticabeira e há poucas coleções de conservação *ex situ*. São precisos mais estudos para desenvolver ferramentas de coleta de sementes de matrizes em populações naturais para incorporação de genótipos em bancos de germoplasma. Estes serão importantes visando à conservação e também o uso em hibridações dirigidas e para seleção de genótipos promissores em programas de melhoramento genético.

2.3 ESTUDOS DE GENÉTICA DE POPULAÇÕES COM USO DE MARCADORES MOLECULARES VISANDO A CONSERVAÇÃO DE ESPÉCIES ARBÓREAS

Estudos de genética de populações envolvem verificar parâmetros genéticos de grupos de indivíduos, tais como: diversidade genética intra- e interpoblacional, estrutura genética espacial dos genótipos, endogamia e parentesco dentro de populações, estrutura genética entre populações, sistema de reprodução e fluxo gênico (por pólen e sementes) tanto remoto quanto contemporâneo. É possível determinar também a interferência de fatores evolutivos (seleção natural, mutação, deriva genética e migração) e dos fatores antrópicos (seleção artificial, fragmentação, poluição, corte seletivo) sobre estes parâmetros genéticos de populações de espécies arbóreas. Isto é eficientemente realizado com a genotipagem de indivíduos adultos, juvenis e sementes com uso de marcadores moleculares, principalmente os de herança codominante (SEBBENN, 2006; HEDRICK, 2011).

As técnicas desenvolvidas para verificar a variabilidade genética em nível molecular tiveram início com as isoenzimas - diferentes formas bioquímicas de uma enzima (MARKERT e MOLLER, 1959), que são marcadores de herança codominante e foram muito utilizados em estudos de genética de populações. Nas décadas seguintes foram desenvolvidos marcadores para avaliação direta do DNA, iniciando-se por RFLP (*Restriction Fragment Length Polimorphism* – BOTSTEIN et al., 1980) e após o desenvolvimento da técnica de amplificação *in vitro* do DNA por PCR (*Polymerase Chain Reaction*) por Mullis e Faloona (1987) rapidamente vários marcadores foram detectados e utilizados em estudos genéticos: RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA* - WELSH e MCCLELLAND, 1990; WILLIAMS et al., 1990), AFLP (*Amplified Fragment Length Polymorphism* - VOS et al., 1995), SSR (*Simple Sequence Repeats*) também denominados microssatélites (LITT e LUTY, 1989; TAUTZ, 1989; WEBER e MAY, 1989) e SNP (*Single Nucleotide Polymorphism*)

(COLLINS et al., 1998; BROOKES, 1999; CHO et al., 1999). Atualmente, os marcadores microssatélites tem sido os mais utilizados em estudos de genética de populações, pois tem elevado poder de diferenciação entre indivíduos, devido ser de herança codominante (permite a diferenciação entre homozigoto dominante e heterozigoto) e devido ao alto polimorfismo detectado (grande número de alelos) (HEDRICK, 2011).

O conhecimento da diversidade e estrutura genética das populações é entendido como a etapa principal para a realização de programas conservacionistas. Isto porque os resultados destes estudos podem ser utilizados para definir unidades de conservação *in situ*, indicando áreas e populações de maior ou menor importância para a preservação de espécies em questão. Além disso, permite determinar os níveis de parentesco entre indivíduos dentro da população e, em consequência, definir a distância entre matrizes para coleta de sementes visando incluir em bancos de germoplasma para conservação *ex situ* e melhoramento genético (SEBBENN, 2003; HEDRICK, 2011).

A diversidade genética existente em populações naturais deve ser avaliada quanto à distribuição entre e dentro de populações (intra- e interpopulacional). A distribuição da diversidade genética dentro das populações pode apresentar grande variação, por sofrerem influências do tamanho efetivo populacional, modo de reprodução da espécie e pelos mecanismos de dispersão de sementes e pólen (BAWA, 1992). Espécies que são alógamas ou que apresentam sistema misto de reprodução com predominância de cruzamentos, e que têm mecanismos eficientes de dispersão de sementes e pólen têm maior tendência a apresentarem uma alta variabilidade genética dentro das populações e baixa entre as populações. Por outro lado, espécies das quais as populações são pequenas e fragmentadas, que se reproduzem por autofecundação e/ou propagação vegetativa ou apomixia, nas quais a dispersão de pólen e sementes é limitada, normalmente apresentam baixa variabilidade dentro e alta divergência entre as populações (LOVELESS e HAMRICK, 1984; BERG e HAMRICK, 1997; WARD et al., 2005).

Os parâmetros de diversidade genética intrapopulacional permitem quantificar quais os níveis e a distribuição da diversidade genética dentro de um grupo de indivíduos. Para estimar a dinâmica da diversidade genética geralmente são calculados os seguintes parâmetros: porcentagem de locos polimórficos, número de alelos por locos, heterozigosidade observada, heterozigosidade esperada em

equilíbrio de Hardy-Weinberg e índice de fixação (NEI, 1978; BERG e HAMRICK, 1997). A divergência e a estrutura genética interpopulacional pode ser estimada usando as estatísticas F (WRIGHT, 1949, 1965; WEIR e COCKERHAM, 1984).

A análise da distribuição espacial dos genótipos permite que se conheça como está organizada a diversidade genética dentro das populações e se os indivíduos encontram-se agrupados segundo algum nível de parentesco. Se indivíduos que se encontram mais próximos são mais parentes entre si do que os indivíduos localizados mais distantes, isto acarreta a presença de estrutura genética espacial, a qual ocorre devido a distribuição de sementes nas vizinhanças da planta materna. Ou ainda, se os genótipos estão distribuídos aleatoriamente dentro da população, não existindo nenhum padrão de agrupamento genético. A distribuição espacial normalmente é medida pelo índice I de Moran (MORAN, 1950) ou o coeficiente de coancestria entre pares de indivíduos (LOISELLE et al., 1995).

O estudo do sistema de reprodução de uma espécie permite determinar se é alógama, autógama ou de sistema misto de reprodução, o que implica na forma como as plantas recombina seus genes a cada geração para formar a população descendente e, portanto, afeta os níveis de endogamia e de diversidade genética da espécie. Por isso, o conhecimento do sistema de reprodução é de fundamental importância no melhoramento genético, principalmente para a coleta e produção de sementes melhoradas de espécies florestais (SEBBENN, 2006). O modo de reprodução de uma espécie é controlado pelo sistema sexual, mecanismos de autoincompatibilidade, síndromes de polinização e padrões de florescimento (HOLSINGER, 2000). Inclusive o sistema de reprodução de uma planta pode variar de um ano para outro, devido variações nas condições ambientais, na fenologia ou no comportamento dos polinizadores (NAKANISHI et al., 2005; BRAGA e COLLEVATTI, 2011).

Com as análises do sistema de reprodução é possível caracterizar qual a proporção de cruzamentos aleatórios, cruzamentos biparentais (envolvem os mesmos parentais para formar mais de uma semente), cruzamentos endogâmicos (entre indivíduos aparentados), taxa de autofecundação e taxa de apomixia, que ocorrem para a formação das sementes. Permite estimar também o número de doadores de pólen para a formação das sementes de uma matriz, a distância de dispersão do pólen, o tamanho efetivo da variância, o nível de parentesco nas progênies, a área de vizinhança reprodutiva, o número de matrizes para coleta de

sementes, etc (RITLAND, 2002; SEBBENN, 2003, 2006). Para estes estudos é necessário genotipar plantas matrizes e as progênies e na avaliação estatística para descrever padrões de reprodução são utilizados o modelo misto de cruzamentos (RITLAND e JAIN, 1981) e o modelo de cruzamentos correlacionados (RITLAND, 1989).

Em conjunto ao estudo dos sistema de reprodução, normalmente também são realizadas estimativas de fluxo gênico. Este é definido como a movimentação de genes entre populações de uma espécie, através da imigração de pólen e sementes. O fluxo gênico tem por função a manutenção e/ou aumento da diversidade genética das populações. Quanto maior o fluxo gênico entre duas populações, menor a divergência entre elas (ROBLEDO-ARNUNCIO e GIL, 2005; FUCHS e HAMRICK, 2011). Em populações naturais e fragmentadas, é importante que se tenha altas taxas de fluxo gênico, assim a o aumento da diversidade genética e do tamanho efetivo dentro das populações (BURCZYK et al., 2004; BITTENCOURT e SEBBENN, 2007).

Existem duas formas de estimar os padrões de fluxo gênico em populações naturais utilizando marcadores moleculares: (a) análise de fluxo gênico realizado (histórico ou remoto) e (b) análise do fluxo gênico contemporâneo. A primeira abordagem é baseada na fixação genética e diferenciação entre e dentro de populações pelos índices F de Wright (F_{IS} , F_{IT} e F_{ST}) (WRIGHT, 1949, 1965; HAMRICK e NASON, 2000). O segundo método é realizado pela análise de parentesco (maternidade e paternidade) de sementes de polinização aberta e de mudas estabelecidas (plântulas e juvenis) da população, em relação às plantas adultas da população (prováveis pais e mães). Esta análise permite a reconstrução genealógica de parentesco entre indivíduos dentro e entre as populações e é o modo direto para medir o padrão da distribuição de pólen e sementes em espécies arbóreas. Se na análise de maternidade de plântulas e juvenis não for encontrada a árvore materna na população, significa que houve imigração de sementes de outra população para gerar este regenerante. Se na análise de paternidade não for encontrado o doador de pólen na população, significa que houve imigração de pólen (ALDRICH e HAMRICK, 1998; DOW e ASHLEY, 1998; MARSHALL et al., 1998; WHITE et al., 2002; BURCZYK et al., 2004; BITTENCOURT e SEBBENN, 2007; KALINOWSKI et al., 2007; ODDOU-MURATORIO e KLEIN, 2008; ASHLEY, 2010; GAINO et al., 2010; SEBBENN et al., 2011; FERES et al., 2012; SANT'ANNA et al., 2013).

Assim, para fomentar a conservação *in situ* e *ex situ* e o melhoramento genético, o ideal seria realizar estes estudos de genética de populações em *Plinia cauliflora* dos fragmentos florestais contendo a espécie na região Sudoeste do Paraná (DANNER et al., 2010).

2.4 QUANTIFICAÇÃO DA DIVERSIDADE E ESTRUTURA GENÉTICA INTRAPOPULACIONAL

Os índices mais utilizados para a quantificação da diversidade genética intrapopulacional são (NEI, 1978; BERG e HAMRICK, 1997):

Porcentagem de loco polimórficos (*P*):

Representa o percentual de loco com mais de um alelo, em relação ao número total de loco avaliados. Um loco é considerado polimórfico quando a frequência do alelo mais comum é $\leq 0,99$ (99%) ou 0,95 (95%), escolhidos arbitrariamente. Quando o número de loco analisados é pequeno, *P* se torna pouco informativo.

Número médio de alelos por loco (*A*):

É uma medida de riqueza alélica dentro dos loco. Esta estatística é dependente do número de indivíduos e de loco avaliados. Por isso, deve-se amostrar muitos indivíduos para garantir a detecção de alelos de baixa frequência e evitar subestimativas da riqueza alélica existente. Este parâmetro *A* é estimado através da média aritmética do número total de alelos amostrados, dividido pelo número total de loco: $\hat{A} = \left(\frac{n_{ta}}{n_l}\right)$, em que n_{ta} é o número total de alelos nos loco e n_l é o número total de locos avaliados.

Número efetivo de alelos por loco (*A_e*):

este índice mede o número de alelos e a uniformidade das frequências alélicas de um loco e representa o número de alelos igualmente frequentes em uma população ideal, requeridos para produzir a mesma homozigidade ou heterozigidade esperadas na população real, melhor refletindo a diversidade contida na mesma. Isto porque os alelos raros contribuirão pouco para a soma dos quadrados das frequências alélicas. Este número é calculado como a soma dos quadrados das frequências alélicas: $\hat{A}_e = \frac{1}{\sum p_i^2} = \frac{1}{1 - H_e}$. O índice \hat{A}_e e a

heterozigosidade esperada (H_e) são positivamente correlacionados, sendo que as duas medidas exibem similares aspectos da diversidade genética.

Heterozigosidade esperada (H_e) em equilíbrio de Hardy-Weinberg (EHW):

Este índice (H_e) mede a proporção esperada de locos heterozigotos por indivíduos, segundo o princípio de EHW, com base nas frequências alélicas da população. É uma medida que sintetiza a variação genética de uma amostra em termos de número e frequência de alelos e pode ser calculado usando a expressão: $\hat{H}_e = 1 - \sum_i^a \hat{p}_i^2$. Em que p_i é frequência alélica estimada do i -ésimo alelo; a é o número de alelos nos locos. A H_e não depende de como os alelos estão combinados nos indivíduos, se em homozigose ou heterozigose, portanto não é afetada pelo sistema de reprodução e pode ser estimada tanto para espécies alógamas quanto para autógamias.

Heterozigosidade observada (H_o):

Este índice compara a diversidade genética, pois é afetado pela endogamia e outros processos envolvidos como mutação, seleção e deriva genética, o qual viola a suposição de EHW. H_o por loco é calculada por: $\hat{H}_o = 1 - \sum p_{ii} = p_{ij} = \frac{\sum_{i \neq j} n_{ij}}{n}$, em que p_{ii} é a frequência dos genótipos homozigotos; p_{ij} é a frequência dos genótipos heterozigotos; n_{ij} é o número de indivíduos heterozigotos; n é o número total de indivíduos amostrados na população. O índice H_o médio entre locos é obtido pela média aritmética entre locos: $\hat{H}_o = \frac{\sum \hat{H}_o}{l}$. Em que l é o número de locos avaliados.

Índice de fixação (F):

Este índice representa o coeficiente de endogamia F de Wright (1931). Demonstra a correlação dos alelos nos gametas que formam um zigoto e mede os desvios da frequência de heterozigotos em relação ao esperado sob EHW. Portanto, valores de F iguais a zero indicam a ausência de endogamia, valores positivos e significativos indicam que o excesso de homozigotos e os valores negativos e significativos indicam excesso de heterozigotos. O índice F para $n > 50$ pode ser estimado por loco: $\hat{F} = 1 - \frac{\hat{H}_o}{\hat{H}_e}$. E para médias dos locos, calcula-se por: $\hat{F} = 1 - \frac{\sum \hat{H}_o}{\sum \hat{H}_e}$.

A estrutura genética espacial de uma população de espécies vegetais pode ser medida basicamente por três índices:

Estimativa do índice I de Moran (1950):

Este índice é uma medida de autocorreção espacial utilizada para estudar a distribuição espacial de genótipos em populações naturais. Mede a associação entre o valor de uma variável em um local e o valor desta mesma variável em todos os locais dentro do espaço ocupado pela população ou conjunto de populações (SOKAL e ODEN, 1978).

Estimativa do coeficiente de coancestria:

Este coeficiente corresponde à probabilidade de dois alelos iguais em indivíduos diferentes serem idênticos por descendência, e representa a endogamia que poderia ser gerada nas progênes sob cruzamentos aleatórios entre os indivíduos do grupo genotipado. Para verificar a estrutura genética espacial, calcula-se o coeficiente de coancestria (θ_{xy}) médio entre todos os pares de árvores localizadas dentro de diferentes classes de distância, pelo método descrito em Loiselle et al. (1995), usados para gerar um correlograma. Assim, se as árvores dispersam suas sementes na vizinhança, espera-se que o coeficiente de coancestria seja alto próximo de uma árvore materna e diminua com o aumento da distância desta árvore. Em espécies arbóreas o coeficiente de coancestria entre irmãos de autofecundação assume o valor 0,5, entre irmãos-completos de 0,25, entre meios-irmãos de 0,125, entre pais e filhos 0,25 e entre primos de primeiro grau 0,0625 (HARDY e VEKEMANS, 2002; SEBBENN, 2006).

Estatísticas F de Wright (1949, 1965): estas estatísticas apoiam-se no fato de que todos os desvios de panmixia (cruzamentos aleatórios) sejam causados exclusivamente pelos efeitos da deriva genética, sistema de reprodução e migração. Em estudos de populações estruturadas, Wright (1949) mostrou que a variação na frequência gênica entre subpopulações pode ser analisada pelos índices de fixação (estatísticas F), seguindo a relação: $1 - F_{IT} = (1 - F_{IS})(1 - F_{ST})$. Assim, Wright descreveu três coeficientes de fixação aplicáveis a uma população com um nível hierárquico de subdivisão (As estatísticas F calculadas pelo método de WEIR e COCKERHAM (1984), são equivalentes as estatísticas F propostas por WRIGHT (1949)):

F_{IT} (Similar ao índice F de WEIR e COCKERHAM, 1984): mede o desvio das frequências genotípicas da população em relação ao equilíbrio de Hardy-Weinberg, desvios esses resultantes de cruzamentos não aleatórios dentro da

população. Representa a endogamia em todos os níveis da população (endogamia total).

F_{ST} (Similar ao índice θ de WEIR e COCKERHAM, 1984): é o coeficiente de ancestralidade que representa a probabilidade de dois indivíduos de subpopulações diferentes possuírem um alelo idêntico por descendência (correlação de gametas entre as subpopulações). Demonstra a diferenciação genética entre populações (ou subpopulações) de uma espécie.

F_{IS} (Similar ao índice f de WEIR e COCKERHAM, 1984): também é uma correlação de gametas, medindo a probabilidade de que dois alelos de um loco que estejam presentes no mesmo indivíduo sejam idênticos devido à descendência, devido à endogamia dentro das subpopulações em nível de indivíduos.

2.5 EFEITOS DA FRAGMENTAÇÃO FLORESTAL NA DINÂMICA DA DIVERSIDADE GENÉTICA

A fragmentação florestal é consequência da modificação de uma grande extensão com florestas e formação de paisagem com pequenas áreas florestais ladeadas por lavouras, pastagens ou cidades, gerando fragmentos de diferentes tamanhos, formas, grau de isolamento, histórico de alterações e tipo de vizinhança. Quanto maior o grau de isolamento dos fragmentos, mais grave é a degradação em populações de espécies arbóreas, pois pode ter como consequência: perda de alelos, redução ou interrupção do fluxo gênico, redução da heterozigosidade, aumento dos cruzamentos entre parentes (endogâmicos) e de autofecundação, diminuição da produção de sementes e, gerando em último aspecto, a perda de diversidade genética da espécie. Isto causa limitações evolutivas e de adaptação para espécies arbóreas e em situações mais drásticas de mudanças ambientais pode acarretar até a extinção de espécies (NEI et al., 1975; ELLSTRAND e ELLAN, 1993; YOUNG et al., 1996; WHITE et al., 1999; COUVET, 2002; FUCHS et al., 2003; AGUILAR e GALETTO, 2004; LOWE et al., 2005; AGUILAR et al., 2008; BITTENCOURT e SEBBENN, 2009; CUARTAS-HERNANDEZ et al., 2010; SEBBENN et al., 2011; NAZARENO e REIS, 2014).

A perda de variação genética populacional em consequência da fragmentação ocorre primeiramente pelo efeito de gargalo genético (*bottleneck*), se os indivíduos remanescentes apresentarem apenas uma pequena amostra do *pool*

genético original da população antes da fragmentação. Se a população permanecer pequena e isolada por muitas gerações, continua a perda de alelos causados pela deriva genética nas progênes. Normalmente, o que se verifica é a drástica redução da variabilidade genética nas gerações após muitos anos da fragmentação ter ocorrido (ELLSTRAND e ELLAN, 1993; AGUILAR et al., 2008; SEBBENN et al., 2008).

A redução da densidade de árvores reprodutivas em função da fragmentação ou do corte seletivo também afetam o sistema de cruzamento por alterar o comportamento dos insetos ou animais polinizadores de espécies arbóreas tropicais (MURAWSKI e HAMRICK, 1991; LOWE et al., 2005; HIRAO et al., 2006; AGUILAR et al., 2008; LACERDA et al., 2008; CARNEIRO et al., 2011; SEBBENN et al., 2011; FERES et al., 2012).

Contudo, as espécies vegetais respondem ao processo de fragmentação de forma variáveis e esta resposta vai depender das características ecológicas da espécie e da dimensão das alterações ambientais ocorridas. Em algumas espécies de plantas a fragmentação não ocasionou redução na variação genética, da heterozigosidade e do fluxo gênico (FORÉ et al., 1992; YOUNG et al., 1993; EL MOUSADIK e PETIT, 1996; WHITE et al., 2002; DICK et al., 2003; LOWE et al., 2005; BITTENCOURT e SEBBENN, 2007, 2008; LACERDA et al., 2008; KAMM et al., 2009; LANDER et al., 2010; MEDINA-MACEDO et al., 2015).

Outro fator de importância em estudos de genética de populações e que está atrelado à fragmentação florestal é a detecção do efeito fundador. Este efeito se refere ao estabelecimento de uma nova população formada por um pequeno número de indivíduos fundadores, causando deriva genética devido não ser amostrado todo o *pool* gênico da população original. Uma população pode descender de um pequeno número de indivíduos basicamente por dois motivos: 1) um pequeno número de indivíduos oriundos de uma população pode colonizar uma outra área previamente desabitada pela espécie; 2) uma população que já esteja estabelecida em uma área pode sofrer redução drástica do número de indivíduos (*bottleneck*) e, mais tarde, uma nova população pode ser formada a partir dos poucos indivíduos remanescentes. Nos dois casos, quanto menor o número de indivíduos fundadores e se estes tiverem limitada variação genética, aumenta-se a chance da nova população ter alta homozigosidade e baixa diversidade genética. Tais efeitos podem ser contrapostos se a nova população tiver elevado fluxo gênico e distância de dispersão de pólen e sementes (NEI et al., 1975; AUSTERLITZ et al., 2000; AUSTERLITZ e GARNIER-

GÉRÉ, 2003).

Devido à aceleração da fragmentação florestal e degradação da Mata Atlântica (MORELLATO e HADDAD, 2000) torna-se cada vez mais importante o entendimento dos impactos causados pela fragmentação em qualquer espécie arbórea nativa de interesse econômico, dentre elas a jabuticabeira. Deve-se entender e quantificar os efeitos desta fragmentação sobre a diversidade e estrutura genética dentro e entre populações, o sistema reprodutivo, o fluxo gênico intra- e interpopulacional e na regeneração para implantar estratégias de manejo, conservação e melhoramento genético das espécies alvo (ECKERT et al., 2010; NAZARENO e REIS, 2012).

2.6 APOMIXIA EM PLANTAS

A apomixia é um processo de formação de embriões a partir de células somáticas do óvulo, sem ocorrer a fecundação (sem a união dos gametas masculino e feminino). Tais embriões geram plântulas clones do genótipo materno (KOLTUNOW, 1993). Este tipo de reprodução foi constatada em mais de 400 gêneros e 40 famílias de angiospermas, com maior frequência nas famílias Poaceae, Asteraceae, Rosaceae e Rutaceae (CARMAN, 1997). A apomixia pode ter um importante papel como ferramenta no melhoramento genético de espécies vegetais, pois permite que ocorra a clonagem de plantas através de sementes (RICHARDS, 2003).

A apomixia pode ocorrer segundo três diferentes vias principais: diplosporia (subdividida em mitótica e meiótica), aposporia e embrionia adventícia. Os mecanismos apomíticos se diferem pelo momento em que são iniciados, durante o desenvolvimento do óvulo. A diplosporia surge no momento da diferenciação da célula mãe do megásporo (CMM), enquanto a aposporia aparece após a formação da CMM. Ambos os mecanismos são decorrentes de uma falha do processo de redução meiótica. Devido os embriões apomíticos se desenvolverem envoltos por um saco embrionário, os processos diplospóricos e apospóricos são também conhecidos por apomixia gametofítica. Por sua vez, a embrionia adventícia só ocorre se houver fertilização, ou seja, é desencadeada pela reprodução sexual. Esse mecanismo é também conhecido por apomixia esporofítica, pois não ocorre o desenvolvimento de um saco embrionário para conter os embriões apomíticos (KOLTUNOW, 1993; BICKNELL e KOLTUNOW, 2004).

Na diplosporia mitótica a CMM não sofre meiose, mas sim três mitoses sequenciais para formar um saco embrionário não reduzido. Na diplosporia meiótica a CMM inicia a meiose, mas ocorre uma falha no pareamento cromossômico, formando um núcleo de restituição que sofre mais uma meiose, resultando em duas células não reduzidas. Uma delas não sobrevive e a outra sofre três mitoses sequenciais para formar o saco embrionário não reduzido. Portanto para as duas vias diplospóricas, normalmente ocorre a formação obrigatória e exclusiva de embriões apomíticos (apomixia obrigatória). Tal processo de apomixia (diplosporia) ocorre nos gêneros *Allium*, *Calamagrostis*, *Ixeris*, *Ochna*, *Poa*, *Tripsacum*, *Taraxacum*, etc (KOLTUNOW, 1993).

Na aposporia ocorre a degeneração da CMM e é formado um saco embrionário não reduzido meioticamente, o qual se origina de mitoses de células do nucelo (tecido de reserva do óvulo), e o embrião se desenvolverá autonomamente dentro do saco embrionário gerado. Isso ocorre em estágios muito precoces do desenvolvimento do óvulo (NAUMOVA e WILLEMSE, 1995). Pode também ocorrer o processo sexual (CMM não degenera e segue a meiose formando saco embrionário reduzido) e co-existir com sacos embrionários não reduzidos, formando um embrião zigótico e outros somáticos (apomíticos) na mesma semente (poliembrionicas). Estas plantas são designadas de apomíticas facultativas, uma vez que a reprodução sexual pode ocorrer em diferentes frequências. A aposporia ocorre nos gêneros *Brachiaria*, *Panicum* e *Hieracium* (KOLTUNOW, 1993).

Já na embrionia adventícia, os embriões apomíticos são formados mais tardiamente, no final do processo de desenvolvimento padrão do óvulo. Células somáticas da parede do ovário (nucelo ou integumento) sofrem mitoses até formar um embrião. Este processo é dependente da fertilização por cruzamentos ou autofecundação para formação da semente. Normalmente, a embrionia adventícia permite a formação paralela de um embrião zigótico (pela fertilização) e um ou mais embriões apomíticos, gerando a poliembrionia nas sementes. A ausência de produção de endosperma pelos embriões adventícios gera competição com o embrião sexual pelas reservas nutricionais durante o desenvolvimento (KOLTUNOW e GROSSNIKLAUS, 2003). Os tipos de embriões (zigóticos x apomíticos) são geneticamente distintos entre si e ambos podem gerar plântulas, como ocorre em citros (*Citrus* sp.) e mangueira (*Mangifera indica*) (CORDEIRO et al., 2006; ALEZA et al., 2010; KEPIRO e ROOSE, 2010; NAKANO et al., 2013). Por outro lado, para a

espécie *Pachira oleaginea* na maioria dos casos o embrião sexual morre durante desenvolvimento da semente e o embrião adventício se desenvolve mais rápido, o que determina que a semente contém apenas embriões clones da árvore materna (BAKER, 1960).

Estudos genéticos tem demonstrado que o mecanismo apomítico não é independente do sexual e que a apomixia normalmente é de herança simples e dominante, ligada a locos em heterozigose, e que o controle gênico está sob regulação epigenética. Além disso, há evidências evolutivas de que a poliploidia precedeu a apomixia em plantas, ligando uma à outra característica (CARMAN, 1997; KOLTUNOW e GROSSNIKLAUS, 2003; BICKNELL e KOLTUNOW, 2004; OZIAS-AKINS e VAN DIJK, 2007). Desta forma, a ocorrência de apomixia poderia explicar a divergência no número cromossômico encontrado entre as jabuticabeiras *Plinia (Myrciaria) cauliflora* ($2n = 22$ cromossomos) e *P. (M.) trunciflora* ($2n = 48$ cromossomos) (SILVEIRA et al., 2006).

Algumas plantas podem apresentar ocorrência concomitante de diferentes processos apomíticos. Em algumas espécies da família Rosacea, por exemplo, foi encontrado diplosporia, aposporia e embrionia adventícia em um mesmo saco embrionário (KOLTUNOW e GROSSNIKLAUS, 2003).

Porém, em algumas espécies a poliembrionia das sementes não está ligada com o mecanismo de apomixia. Em alguns híbridos de *Citrus* sp. (ALEZA et al., 2010) e genótipos de oliveira (TRAPERO et al., 2014), a poliembrionia foi resultante da fragmentação por clivagem do embrião zigótico primário, gerando múltiplos embriões zigóticos (poliembrionia zigótica). Neste caso, os embriões são clones entre si, mas geneticamente distinguíveis da planta matriz. Para a identificação/diferenciação de indivíduos zigóticos e apomíticos foram utilizados marcadores moleculares RAPD em mangueira (CORDEIRO et al., 2006) e marcadores microssatélites em espécies de *Citrus* (RUIZ et al., 2000).

As jabuticabeiras possuem poliembrionia em taxas variáveis, desde 0 até 75% das sementes de cada matriz (GURGEL e SOUBIHE SOBRINHO, 1951; DANNER et al., 2011a), com número médio de plântulas emergidas por semente entre 1,3 a 1,6 (GURGEL e SOUBIHE SOBRINHO, 1951; WAGNER JÚNIOR et al., 2011) e esta poliembrionia pode ser gerada por apomixia. Porém, não houve formação de frutos quando as flores de quatro espécies de jabuticabeiras (*P. trunciflora*, *P. cauliflora*, *P. jaboticaba* e *P. coronata*) foram emasculadas e ensacadas para evitar a

polinização, o que levou à conclusão de ausência do mecanismo de apomixia nestas espécies (VILELA et al., 2012). No entanto, a apomixia pelo mecanismo de embrionia adventícia é dependente da fecundação (KOLTUNOW e GROSSNIKLAUS, 2003), o que leva à hipótese de que este mecanismo de apomixia seja a forma de geração da poliembrionia de jabuticabeiras (DANNER et al., 2011a).

Conclusões precisas sobre a origem embrionária e do mecanismo apomítico ocorrente em jabuticabeira, devem ser geradas a partir da aplicação de técnicas histológicas, citológicas, bioquímicas e moleculares, durante a embriogênese. Além disso, o uso dos marcadores microssatélites pode proporcionar a detecção da taxa de plântulas geradas por apomixia, pois estas têm perfil genético idêntico à planta matriz, das quais são clones (BRESSAN et al., 2013).

2.7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGUILAR, R.; GALETTO, L. Effects of forest fragmentation on male and female reproductive success in *Cestrum parqui* (Solanaceae). **Oecologia**, v.138, p.513-520, 2004.

AGUILAR, R.; QUESADA, M.; ASHWORTH, L.; HERRERIAS-DIEGO, Y.; LOBO, J. Genetic consequences of habitat fragmentation in plant populations: susceptible signals in plant traits and methodological approaches. **Molecular Ecology**, v.17, p.5177-5188, 2008.

ALDRICH, P.R.; HAMRICK, J.L. Reproductive dominance of pasture trees in a fragmented tropical forest mosaic. **Science**, v.281, n.3, p.103-105, 1998.

ALEZA, P.; JUÁREZ, J.; OLLITRAULT, P.; NAVARRO, L. Polyembryony in non-apomictic citrus genotypes. **Annals of botany**, v.106, n.4, p.533-545, 2010.

ASHLEY, M.V. Plant parentage, pollination, and dispersal: how DNA microsatellites have altered the landscape. **Critical Reviews in Plant Science**, v.29, p.148-161, 2010.

AUSTERLITZ, F.; MARIETTE, S.; MACHON, N.; GOUYON, P-H.; GODELLE, B. Effects of colonization processes on genetic diversity: differences between annual plants and tree species. **Genetics**, v.154, p.1309-1321, 2000.

AUSTERLITZ, F.; GARNIER-GÉRÉ, P.H. Modelling the impact of colonisation on genetic diversity and differentiation of forest trees: interaction of life cycle, pollen flow and seed long-distance dispersal. **Heredity**, v.90, p.282-290, 2003.

BAKER, H.G. Apomixis and polyembryony in *Pachira oleaginea* (Bombacaceae). **American Journal of Botany**, v.47, p.296-302, 1960.

BALERDI, C.F.; RAFIE, R.; CRANE, J. Jaboticaba (*Myrciaria cauliflora*, Berg.): a delicious fruit with an excellent market potential. **Proceedings of the Florida State Horticultural Society**, v.119, p.66-68, 2006.

BAWA, K.S. Mating systems, genetic differentiation and speciation in tropical rain forest plants. **Biotropica**, v.24, n.2, p.250-255, 1992.

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

BICKNELL, R.A.; KOLTUNOW, A.M. Understanding apomixis: recent advances and remaining conundrums. **The Plant Cell**, v.16 (Supplement), p.228-245, 2004.

BITTENCOURT, J.V.M.; SEBBENN, A.M. Patterns of pollen and seeds dispersal in a small, fragmented population of the wind-pollinated tree *Araucaria angustifolia* in southern Brazil. **Heredity**, v.99, p.580-591, 2007.

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

BITTENCOURT, J.V.M.; SEBBENN, A.M. Genetic effects of forest fragmentation in high-density *Araucaria angustifolia* populations in Southern Brazil. **Tree Genetics & Genome**, v.5, p.573-582, 2009.

BOTSTEIN, D.; WHITE, R.L.; SKOLNICK, M.; DAVIS, R.W. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. **American Journal of Human Genetic**, v.32, n.3, p.314-331, 1980.

BRAGA, A.C.; COLLEVATTI, R.G. Temporal variation in pollen dispersal and breeding structure in a bee-pollinated Neotropical tree. **Heredity**, v.106, p.911-919, 2011.

BRESSAN, E.A.; SEBBENN, A.M.; FERREIRA, R.R.; LEE, T.S.G.; FIGUEIRA, A. *Jatropha curcas* L. (Euphorbiaceae) exhibits a mixed mating system, high correlated mating and apomixis. **Tree Genetics & Genomes**, v.9, p.1089-1097, 2013.

BROOKES, A.J. The essence of SNPs. **Gene**, v.234, p.177-186, 1999.

BURCZYK, J.; DiFAZIO, S.P.; ADAM, S.W.T. Gene flow in forest trees: how far do genes really travel. **Forest Genetics**, v.11, n.3-4, p.179-192, 2004.

CARMAN, J.G. Asynchronous expression of duplicate genes in angiosperms may cause apomixis, bispory, tetraspory, and polyembryony. **Biological Journal of the Linnean Society**, v.61, p.51-94, 1997.

CARNEIRO, F.S.; LACERDA, A.E.B.; LEMES, M.R.; GRIBEL, R.; KANASHIRO, M.; WADT, L.H.O.; SEBBENN, A.M. Effects of selective logging on the mating system and pollen dispersal of *Hymenaea courbaril* L. (Leguminosae) in the Eastern Brazilian Amazon as revealed by microsatellite analysis. **Forest Ecology and Management**, v.262, p.1758-1765, 2011.

CASTELLA, P.R.; BRITEZ, R.M.A (Orgs.). **Floresta com Araucária no Paraná: conservação e diagnóstico dos remanescentes florestais**. Brasília: Ministério do Meio Ambiente, 2004. 233p.

CHO, R.J.; MINDRINOS, M.; RICHARDS, D.R.; SAPOLSKY, R.J.; ANDERSON, M.; DRENKARD, E.; DEWDNEY, J.; REUBER, T.L.; STAMMERS, M.; FEDERSPIEL, N.; THEOLOGIS, A.; YANG, W.H.; HUBBELL, E.; AU, M.; CHUNG, E.Y.; LASHKARI, D.; LEMIEUX, B.; DEAN, C.; LIPSHUTZ, R.J.; AUSUBEL, F.M.; DAVIS, R.W.; OEFNER, P.J. Genome-wide mapping with biallelic markers in *Arabidopsis thaliana*. **Nature Genetics**, v.23, p.203-207, 1999.

COLLINS, F.S.; BROOKS, L.D.; CHAKRAVARTI, A. A DNA polymorphism discovery resource for research on human genetic variation. **Genome Research**, v.8, p.1229-1231, 1998.

CORDEIRO, M.C.R.; PINTO, A.C.Q.; RAMOS, V.H.V.; FALEIRO, F.G.; FRAGA, L.M.S. Identificação da origem genética de plântulas em sementes poliembriônicas de mangueira (*Mangifera indica*, L.) cv. Rosinha por meio de marcadores RAPD. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.28, n.3, p.454-457, 2006.

COUVET, D. Deleterious effects of restricted gene flow in fragmented populations. **Conservation Biology**, v.16, n.2, p.369-376, 2002.

CUARTAS-HERNANDEZ, S.; FARFAN, N.; SMOUSE, P.E. Restricted pollen flow of *Dieffenbachia seguine* populations in fragmented and continuous tropical forest. **Heredity**, v.105, p.197-204, 2010.

DANNER, M.A.; CITADIN, I.; SASSO, S.A.Z.; TOMAZONI, J.C. Diagnóstico ecogeográfico da ocorrência de jaboticabeiras nativas no Sudoeste do Paraná. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.32, n.3, p.746-753, 2010.

DANNER, M.A.; CITADIN, I.; SASSO, S.A.Z.; SCARIOT, S.; BENIN, G. Genetic dissimilarity among jaboticaba trees native to Southwestern Paraná, Brazil. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.33, n.2, p.517-525, 2011a.

DANNER, M.A.; CITADIN, I.; SASSO, S.A.Z.; SACHET, M.R.; MAZARO, S.M. Germplasm characterization of three jaboticaba tree species. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.33, n.3, p.839-847, 2011b.

DANNER, M.A.; CITADIN, I.; SASSO, S.A.Z.; SACHET, M.R.; MALAGI, G. Modo de reprodução e viabilidade de pólen de três espécies de jaboticabeira. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.33, n.2, p.345-352, 2011c.

DICK, C.W.; ETCHELECU, G.; AUSTERLITZ, F. Pollen dispersal of tropical trees (*Dinizia excelsa*: Fabaceae) by native insects and African honeybees in pristine and fragmented Amazonian rainforest. **Molecular Ecology**, v.12, n.3, p.753-764, 2003.

DONADIO, L.C. **Jaboticaba** (*Myrciaria jaboticaba* (Vell.) Berg). Jaboticabal: Funep, 2000. 55p.

DOW, B.D.; ASHLEY, M.V. High levels of gene flow in Bur Oak revealed by paternity analysis using microsatellites. **Journal of Heredity**, v.89, p.62-70, 1998.

ECKERT, A.J.; BOWER, A.D.; GONZÁLEZ-MARTÍNEZ, S.C.; WEGRZYN, J.L.; COOP, G.; NEALE, D.B. Back to nature: ecological genomics of loblolly pine (*Pinus taeda*, Pinaceae). **Molecular Ecology**, v.19, p.3789-3805, 2010.

EL MOUSADIK, A.; PETIT, R.J. High level of genetic differentiation for allelic richness among populations of the argan tree [*Argania spinosa* (L.) Skeels] endemic of Morocco. **Theoretical and Applied Genetics**, v.92, p.832-839, 1996.

ELLSTRAND, N.C.; ELAM, D.R. Population genetic consequences of small population size: implications for plant conservation. **Annual Review of Ecology and Systematics**, v.24, p.217-242, 1993.

FERES, J.M.; SEBBENN, A.M.; GUIDUGLI, M.C.; MESTRINER, M.A.; MORAES, M.L.T.; ALZATE-MARIN, A.L. Mating system parameters at hierarchical levels of fruits, individuals and populations in the Brazilian insect-pollinated tropical tree, *Tabebuia roseo-alba* (Bignoniaceae). **Conservation Genetics**, v.13, p.393-405, 2012.

FINKELDEY, R. **An introduction to tropical forest genetics**. Göttingen: Institute of Forest Genetics and Forest Tree Breeding, 2005. 219p.

FORÉ, S.A.; HICKEY, R.J.; VANKAT, J.L.; GUTTMAN, S.I.; SCHAEFER, R.L. Genetic structure after forest fragmentation: a landscape ecology perspective on *Acer saccharum*. **Canadian Journal of Botany**, v.70, n.8, p.1659-1668, 1992.

FUCHS, E.J.; LOBO, J.A.; QUESADA, M. Effects of forest fragmentation and flowering phenology on the reproductive success and mating patterns of the tropical dry forest tree *Pachira quinata*. **Conservation Biology**, v.17, p.149-157, 2003.

FUCHS, E.L.; HAMRICK, J.L. Mating system and pollen flow between remnant populations of the endangered tropical tree, *Guaiaicum sanctum* (Zygophyllaceae). **Conservation Genetics**, v.12, p.175-185, 2011.

FUCHS, E.J.; LOBO, J.A.; QUESADA, M. Effects of forest fragmentation and flowering phenology on the reproductive success and mating patterns of the tropical dry forest tree *Pachira quinata*. **Conservation Biology**, v.17, n.1, p.149-157, 2003.

GAINO, A.P.S.C.; SILVA, A.M.; MORAES, M.A.; ALVES, P.F.; MORAES, M.L.T.; FREITAS, M.L.M.; SEBBENN, A.M. Understanding the effects of isolation on seed and pollen flow, spatial genetic structure and effective population size of the dioecious tropical tree *Myracrodruon urundeuva*. **Conservation Genetics**, v.11, p.1631-1643, 2010.

GURGEL, J.T.A.; SOUBIHE SOBRINHO, J. Poliembriõnia em mirtáceas frutíferas. **Bragantia**, v.11, n.4/6, p.141-163, 1951.

HAMRICK, J.L.; NASON, J.D. Gene flow in forest trees. In: YOUNG, A.; BOSHIER, D.; BOYLE, T. (Eds). **Forest conservation genetics: Principles and practice**.

Collingwood: CSIRO Publishing, 2000. p.81-90.

HARDY, O.J.; VEKEMANS, X. SPAGeDi: a versatile computer program to analyse spatial genetic structure at the individual or population levels. **Molecular Ecology Notes**, v.2, p.618-620, 2002.

HEDRICK, P.W. **Genetics of populations**. 4th Ed. Massachusetts: Jones and Bartlett Publishers, 2011. 675p.

HIRAO, A.S.; KAMEYAMA, Y.; OHARA, M.; ISAGI, Y.; KUDO, G. Seasonal changes in pollinator activity influence pollen dispersal and seed production of the alpine shrub *Rhododendron aureum* (Ericaceae). **Molecular Ecology**, v.15, p.1165-1173, 2006.

HOLSINGER, K.E. Reproductive systems and evolution in vascular plants. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v.97, n.13, p.7037-7042, 2000.

KALINOWSKI, S.T.; TAPER, M.L.; MARSHALL, T.C. Revising how the computer program CERVUS accommodates genotyping error increases success in paternity assignment. **Molecular Ecology**, v.6, p.1099-1106, 2007.

KAMM, U.; ROTACH, P.; GUGERLI, F.; SIROKY, M.; EDWARDS, P.; HOLDEREGGER, R. Frequent long-distance gene flow in a rare temperate forest tree (*Sorbus domestica*) at the landscape scale. **Heredity**, v.103, n.6, p.476-482, 2009.

KEPIRO, J.L.; ROOSE, M.L. AFLP markers closely linked to a major gene essential for nucellar embryony (apomixis) in *Citrus maxima* × *Poncirus trifoliata*. **Tree Genetics & Genomes**, v.6, n.1, p.1-11, 2010.

KOLTUNOW, A.M. Apomixis: Embryo sacs and embryos formed without meiosis or fertilization in ovules. **Plant Cell**, v.5, p.1425-1437, 1993.

KOLTUNOW, A.M.; GROSSNIKLAUS, U. Apomixis: a developmental perspective. **Annual Review of Plant Biology**, v.54, p.547-574, 2003.

LACERDA, E.B.L.; KANASHIRO, M.; SEBBENN, A.M. Long-pollen movement and deviation of random mating in a low-density continuous population of *Hymenaea courbaril* in the Brazilian Amazon. **Biotropica**, v.40, p.462-470, 2008.

LANDER, T.A.; BOSCHER, D.H.; HARRIS, S.A. Fragmented but not isolated: contribution of single trees, small patches and long-distance pollen flow to genetic connectivity for *Gomortega keule*, an endangered Chilean tree. **Biological Conservation**, v.143, p.2583-2590, 2010.

LEITE-LEGATTI, A.V.; BATISTA, A.G.; DRAGANO, N.R.V.; MARQUES, A.C.; MALTA, L.G.; RICCIO, M.F.; EBERLIN, M.N.; MACHADO, A.R.T.; CARVALHO-SILVA, L.B.; RUIZ, A.L.T.G.; CARVALHO, J.E.; PASTORE, G.M.; MARÓSTICA JÚNIOR, M.R. Jaboticaba peel: Antioxidant compounds, antiproliferative and antimutagenic activities. **Food Research International**, v.49, p.596-603, 2012.

LENQUISTE, S.A.; BATISTA, A.G.; MARINELI, R.S.; DRAGANO, N.R.V.; MARÓSTICA JÚNIOR, M.R. Freeze-dried jaboticaba peel added to high-fat diet increases HDL-cholesterol and improves insulin resistance in obese rats. **Food Research International**, v.49, p.153-160, 2012.

LITT, M.; LUTY, J.A. A hipervariable microsatellite revealed by in vitro amplification of a dinucleotide repeat within the cardiac muscle actin gene. **American Journal of Human Genetics**, v.44, p.397-401, 1989.

LOISELLE, B.A.; SORK, V.L.; NASON, J.D.; GRAHAM, C. Spatial genetic structure of a tropical understory shrub, *Psychotria officinalis* (Rubiaceae). **American Journal of Botany**, v.11, p.1420-1425, 1995.

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

LOWE, A.J.; BOSHIER, D.; WARD, M.; BACLES, C.F.E.; NAVARRO, C. Genetic resource impacts of habitat loss and degradation: reconciling empirical evidence and predicted theory for neotropical trees. **Heredity**, v.95, n.4, p.255-273, 2005.

MALERBO-SOUZA, D.T.; NOGUEIRA-COUTO, R.H.; TOLEDO, V.A.A. Abelhas visitantes nas flores da jaboticabeira (*Myrciaria cauliflora* Berg) e produção de frutos. **Acta Scientiarum – Animal Sciences**, v.26, n.1, p.1-4, 2004.

MARKERT, C.L.; MOLLER, F. Multiple forms of enzymes: tissue, ontogenetic and species specific patterns. **Proceedings of Natural Academic Science of the United States of America**, v.45, n.5, p.753-763, 1959.

MARSHALL, T.C.; SLATE, J.; KRUK, L.E.B.; PEMBERTON, J.M. Statistical confidence for likelihood-based paternity inference in natural populations. **Molecular Ecology**, v.7, p.639-655, 1998.

MARTINS, D.A. **Caracterização molecular de acessos de jaboticabeiras do banco ativo de germoplasma da UTFPR com marcadores microssatélites**. 70f. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Agronomia, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Pato Branco, 2013.

MATTOS, J.R. **Fruteiras nativas do Brasil: jaboticabeiras**. Porto Alegre: Nobel, 1983. 92p.

MATTOS, J.R. Novidades taxonômicas em Myrtaceae – XV. **Loefgrenia: comunicações avulsas de Botânica**, Florianópolis, n.112. p.9, 1998.

MEDINA-MACEDO, L.; SEBBENN, A.M.; LACERDA, A.E.B.; RIBEIRO, J.Z.; SOCCOL, C.R.; BITTENCOURT, J.V.M. High levels of genetic diversity through pollen flow of the coniferous *Araucaria angustifolia*: a landscape level study in Southern Brazil. **Tree Genetics & Genomes**, v.11, p.814-827, 2015.

MORAN, P. A.P. Notes on continuous stochastic phenomena. **Biometrika**, v.37, p.17-23, 1950.

MORELLATO, L.P.C.; HADDAD, C.F.B. Introduction: The Brazilian Atlantic Forest. **Biotropica**, v.32, p.4, p.786-792, 2000.

MULLIS, K.B.; FALLONA, F.A. Specific synthesis of DNA *in vitro* via a Polymerase-catalysed chain reaction. **Methods in Enzymology**, v.155, p.335-350, 1987.

MURAWSKI, D.A.; HAMRICK, J.L. The effect of the density of flowering individuals on the mating systems of nine tropical tree species. **Heredity**, v.67, p.167-174, 1991.

NAKANISHI, A.; TOMARU, N.; YOSHIMARU, H.; MANABE, T.; YAMAMOTO, S. Interannual genetic heterogeneity of pollen pools accepted by *Quercus salicina* individuals. **Molecular Ecology**, v.14, p.4469-4478, 2005.

NAKANO, M.; KIGOSHI, K.; SHIMIZU, T.; ENDO, T.; SHIMADA, T.; FUJII, H.; OMURA, M. Characterization of genes associated with polyembryony and *in vitro* somatic embryogenesis in Citrus. **Tree Genetics & Genomes**, v.9, n.3, p.795-803, 2013.

NAUMOVA, T.N.; WILLEMSE, M.T.M. Ultrastructural characterization of apospory in *Panicum maximum*. **Sex Plant Reproduction**, v.8, p.197-204, 1995.

NAZARENO, A.G.; REIS, M.S. Linking phenology to mating system: exploring the reproductive biology of the threatened palm species *Butia eriospatha*. **Journal of Heredity**, v.103, n.6, p.842-852, 2012.

NAZARENO, A.G.; REIS, M.S. At risk of population decline? An ecological and genetic approach to the threatened palm species *Butia eriospatha* (Arecaceae) of Southern Brazil. **Journal of Heredity**, v.105, n.1, p.120-129, 2014.

NEI, M.; MARUYAMA, T.; CHAKRABORTY, R. The bottleneck effect and genetic variability in populations. **Evolution**, v.29, p.1-10, 1975.

NEI, M. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. **Genetics**, v.87, n.3, p.583-590, 1978.

ODDOU-MURATORIO, S.; KLEIN, E.K. Comparing direct vs. indirect estimates of gene flow within a population of a scattered tree species. **Molecular Ecology**, v.17, p.2743-2754, 2008.

OZIAS-AKINS, P.; VAN DIJK, P.J. Mendelian genetics of apomixis in plants. **Annual Review of Genetics**, v.41, p.509-537, 2007.

PEREIRA, M.; OLIVEIRA, A.L.; PEREIRA, R.E.A.; SENA, J.A.D.; COSTA, J.R.V.; ALMEIDA, M.; GONÇALVES, A.N. Morphologic and molecular characterization of *Myrciaria* spp. species. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.27, n.3, p.507-510, 2005.

RICHARDS, A.J. Apomixis in flowering plants: an overview. **Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences**, v.358, p.1085-1093, 2003.

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

RITLAND, K. Genetic differentiation, diversity and inbreeding in the mountain monkeyflower (*Mimulus caespitosus*) of the Washington Cascades. **Canadian Journal of Botany**, v.67, p.2017-2024, 1989.

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

ROBLEDO-ARNUNCIO, J.J.; GIL, L. Patterns of pollen dispersal in a small population of *Pinus sylvestris* L. revealed by total-exclusion paternity analysis. **Heredity**, v.94, p.13-22, 2005.

RUIZ, C.; BRETO, M.P.; ASÍNS, M.J. A quick methodology to identify sexual seedlings in citrus breeding programs using SSR markers. **Euphytica**, v.112, p.89-94, 2000.

SANT'ANNA, C.S.; SEBBENN, A.M.; KLABUNDE, G.H.F.; BITTENCOURT, R.; NODARI, R.O.; MANTOVANI, A.; REIS, M.S. Realized pollen and seed dispersal within a continuous population of the dioecious coniferous Brazilian pine [*Araucaria angustifolia* (Bertol.) Kuntze]. **Conservation Genetics**, v.14, p.601-613, 2013.

SEBBENN, A.M. Tamanho amostral para conservação *ex situ* de espécies arbóreas com sistema misto de reprodução. **Revista do Instituto Florestal de São Paulo**, v.15, n.2. p.147-162, 2003.

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

SEBBENN, A.M.; DEGEN, B.; AZEVEDO, V.C.R.; SILVA, M.B.; LACERDA, A.E.B.; CIAMPI, A.Y.; KANASHIRO, M.; CARNEIRO, F.S.; THOMPSON, I.; LOVELESS, M.D. Modelling the long-term impacts of selective logging on genetic diversity and demographic structure of four tropical tree species in the Amazon forest. **Forest Ecology and Management**, v.254, p.335-349, 2008.

SEBBENN, A.M.; CARVALHO, A.C.M.; FREITAS, M.L.M.; MORAES, S.M.B.; GAINO, A.P.S.C.; SILVA, J.M.; JOLIVET, C.; MORAES, M.L.T. Low level of realized seed and pollen gene flow and strong spatial genetic structure in a small, isolated and fragmented population of the tropical tree *Copaifera langsdorffii* Desf. **Heredity**, v.106, p.134-145, 2011.

SILVEIRA, F.T.; ORTOLANI, F.A.; MATAQUEIRO, M.F.; MORO, J.R. Caracterização citogenética em duas espécies do gênero *Myrciaria*. **Revista de Biologia e Ciências da Terra**, v.6, n.2, p.327-333, 2006.

SOKAL, R.R.; ODEN, N.L. Spatial autocorrelation in biology. 1. Methodology. **Biological Journal of Linnean Society**, v.10, p.199-228, 1978.

TAUTZ, D. Hypervariability of simple sequences as a general source for polymorphic DNA markers. **Nucleic Acids Research**, v.17, n.16, p.6463-6471, 1989.

TEIXEIRA, L.N.; STRINGHETA, P.C.; OLIVEIRA, F.C. Comparação de métodos para quantificação de antocianinas. **Revista Ceres**, v.55, n.4, p.297-304, 2008.

TRAPERO, C.; BARRANCO, D.; MARTÍN, A.; DÍEZ, C.M. Occurrence and variability of sexual polyembryony in olive cultivars. **Scientia Horticulturae**, v.177, p.43-46, 2014.

VIEIRA, V.L.L.P.; FERREIRA, W.R. A festa da jabuticaba e o empreendedorismo feminino no município de Sabará/MG. **Revista Brasileira de Gestão e Engenharia**, n.8, p.1-28, 2013.

VILELA, R.C.F.; ASSIS, J.G.A.; NOBREGA FILHO, L.; VIANA, B.F. Sistema reprodutivo e diversidade genética de quatro espécies de *Myrciaria* (Myrtaceae, jabuticabeiras). **Acta Botanica Brasilica**, v.26, n.4, p.727-734, 2012.

VOS, P.; HOGERS, R.; BLEEKER, M.; REIJANS, M.; VAN DE LEE, T.; HORNES, M.; FRIJTERS, A.; POT, J.; PELEMAN, J.; KUIPER, M.; ZABEAU, M. AFLP: a new technique for DNA fingerprinting. **Nucleic Acids Research**, v.23, n.21, p.4407-4414, 1995.

WAGNER JÚNIOR, A.; COSTA E SILVA, J.O.; PIMENTEL, L.D.; SANTOS, C.E.M.; BRUCKNER, C.H. Germinação e desenvolvimento inicial de duas espécies de jabuticabeira em função do tamanho de sementes. **Acta Scientiarum - Agronomy**, v.33, n.1, p.105-109, 2011.

WARD, M.; DICK, C.W.; GRIBEL, R.; LEMES, M.; CARON, H., LOWE, A.J. To self, or not to self... A review of outcrossing and pollen-mediated gene flow in neotropical trees. **Heredity**, v.95, n.4, p.246-254, 2005.

WEBER, J.L.; MAY, P.E. Abundant class of human DNA polymorphisms which can be typed using the polymerase chain reaction. **American Journal of Human Genetics**, v.44, n.3, p.388-396, 1989.

WEIR, B.S.; COCKERHAM, C.C. Estimating F-Statistics for the analysis of population structure. **Evolution**, v.38, n.6, p.1358-1370, 1984.

WELSH, J.; McCLELLAND, M. Fingerprinting genomes using PCR with arbitrary primers. **Nucleic Acids Research**, v.18, n.24, p.7213-7218, 1990.

WHITE, G.M.; BOSHIER, D.H.; POWELL, W. Genetic variation within a fragmented population of *Swietenia humilis* Zucc. **Molecular Ecology**, v.8, n.11, p.1899-1909, 1999.

WHITE, G.M.; BOSHIER, D.H.; POWELL, W. Increased pollen flow counteracts fragmentation in a tropical dry forest: an example from *Swietenia humilis* Zuccarini. **Proceedings of the National Academy Science of the United State of America**, v.99, n.4, p.2038-2042, 2002.

WILLIAMS, J.G.K.; KUBELIK, A.R.; LIVAK, K.J.; RAFALSKI, J.A.; TINGEY, S.V. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. **Nucleic Acids Research**, v.18, n.22, p.6531-6535, 1990.

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

WRIGHT, S. The genetical structure of populations. **Annals of Eugenics**, v.15, n.1, p.323-354, 1949.

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

YOUNG, A.G.; MERRIAN, H.G.; WARWICK, S.I. The effects of forest fragmentation on genetic variation in *Acer saccharum* Marsh. (sugar maple) populations. **Heredity**, v.71, n.4, p.277-289, 1993.

YOUNG, A.; BOYLE, T.; BROWN, T. The population genetic consequences of habitat fragmentation for plants. **Trends Ecology Evolutionary**, v.11, n.10, p.413-418, 1996.

3 APOMIXIA DETERMINANDO A ESTRUTURA GENÉTICA DE UMA POPULAÇÃO DE *PLINIA CAULIFLORA* NO SUDOESTE DO PARANÁ

3.1 RESUMO

As jabuticabeiras (*Plinia* sp.) pertencem à família Myrtaceae e são endêmicas do Brasil. Na região Sudoeste do Paraná existem vários fragmentos florestais contendo plantas nativas de (*Plinia cauliflora*), com baixo potencial de regeneração da espécie. O objetivo deste trabalho foi caracterizar a diversidade e a estrutura genética espacial de uma população de *Plinia cauliflora*. O estudo foi conduzido em um fragmento de quatro hectares de Floresta Ombrófila Mista, no município de Vitorino, região Sudoeste do Paraná. Foram identificadas, mapeadas, mensuradas (altura e diâmetro) e coletadas folhas de 207 jabuticabeiras adultas e 110 juvenis. Realizou-se a extração de DNA e genotipagem dos indivíduos com uso de sete marcadores microssatélites. Dois locos foram monomórficos, não apresentando variação alélica. Os demais cinco locos analisados exibiram diversidade genética baixa, tanto para jabuticabeiras adultas quanto juvenis da população, devido baixo número de alelos por locos (apenas dois ou três). Apesar disso, a heterozigose nos locos foi alta, sugerindo seleção à favor de heterozigotos na população. De todos os 317 indivíduos da população foram detectados apenas sete genótipos multilocos únicos, sendo os demais clones destes. Isto representa que a população foi formada por poucos indivíduos geradores (efeito fundador), seguida de multiplicação de indivíduos por clonagem através das sementes geradas por apomixia. Os indivíduos juvenis apresentam apenas três genótipos clonais daqueles presentes nos adultos, o que indica seleção para clones e deriva genética na população. A análise de estrutura genética espacial demonstra que os genótipos apresentam distribuição não aleatória na população. Os resultados deste trabalho indicam que esta população de jabuticabeira é uma população clonal, com baixa diversidade genética e baixa regeneração. Desta forma torna-se vulnerável à mudanças ambientais, devido limitado potencial evolucionário. Este é o primeiro trabalho realizado sobre aspectos de genética de populações em jabuticabeira, a qual pode ser considerada uma espécie modelo para elucidar respostas do impacto da apomixia na dinâmica da diversidade genética de populações. Formar uma ampla coleção de germoplasma deve ser uma estratégia de alta prioridade para promover a conservação e o uso futuro da espécie.

Palavra-Chave: Jabuticabeira, Diversidade Clonal, Genética de Populações, Marcadores Microssatélites, Conservação Genética.

3.2 ABSTRACT

The jabuticaba trees (*Plinia* sp.) belonging to the Myrtaceae family and are endemic from Brazil. In the Southwestern Paraná region there are many forest fragments containing native jabuticaba tree (*Plinia cauliflora*), which has low regeneration potential of the species. The objective of this work was to characterize the diversity and spatial genetic structure of a jabuticaba tree population. The study was conducted in a four hectares fragment of Araucaria Forest in Vitorino, Paraná State, Brazil. We identify, map, measured (height and diameter) and collect leaves from 207 adult and 110 juvenile jabuticaba trees. We carried out DNA isolation and genotyping jabuticaba trees with seven microsatellite loci. Two loci were monomorphic, showing no allelic variation. The other five loci showed low genetic diversity, in both juveniles and adults jabuticaba trees of the population, because low number of alleles per locus (only two or three). Nevertheless, the heterozygosity was high, suggesting selection in favor of heterozygotes in the population. On all 317 individuals in the population were only detected seven unique multilocus genotypes, and the other were clones them. This represents that the population was formed by few generators (founder effect), followed by cloning of individuals through seeds generated by apomixis. The juvenile individuals have only three clonal those genotypes present in adults, which indicates selection of clones and genetic drift in the population. The spatial genetic structure analysis shows that the random distribution genotypes present in the population. These results indicate that this jabuticaba tree population is a clonal population with low genetic diversity and low regeneration. Thus it becomes vulnerable to environmental changes because it have limited evolutionary potential. This is the first work done on genetic aspects of jabuticaba tree populations, which can be considered a species type model to elucidate answers about apomixis impact in the genetic diversity dynamics populations. Forming a broad germplasm collection should be a high priority strategy to promote conservation and the future use of the species.

Key-words: jabuticaba tree, Clonal Diversity, Population Genetics, Microsatellite marker, Conservation genetics.

3.3 INTRODUÇÃO

O desmatamento ocasionou drástica redução da Floresta Ombrófila Mista (FOM), também denominada Floresta com Araucária, no estado do Paraná, e fragmentos florestais em estágio avançado de sucessão representavam apenas 0,8% da área original (CASTELLA e BRITZ, 2004). A fragmentação florestal reduz o tamanho da população reprodutiva de espécies vegetais e pode resultar na ocorrência de deriva genética (perda de alelos), aumento da taxa de autofecundação e de cruzamentos correlacionados, redução na distância de dispersão de pólen e sementes e na taxa de imigração de pólen e sementes (isolamento reprodutivo do fragmento), conduzindo à redução da diversidade genética populacional. Estes efeitos genéticos podem comprometer o potencial de conservação, evolução e sobrevivência das espécies (SEBBENN, 2006). Estes impactos negativos da fragmentação foram verificados na espécie símbolo da FOM, *Araucaria angustifolia* (BITTENCOURT e SEBBENN, 2009), mas também verificou-se que ocorre alta taxa de imigração de pólen, pois a espécie é dioica e polinizada pelo vento, o que reduz estes efeitos negativos da fragmentação (BITTENCOURT e SEBBENN, 2007, 2008; MEDINA-MACEDO et al., 2015).

As jaboticabeiras (*Plinia* sp.) pertencem à família Myrtaceae e são endêmicas do Brasil, sendo cultivadas principalmente nos Estados de Goiás, Minas Gerais, São Paulo e Paraná. São conhecidas nove espécies, algumas já consideradas em extinção, das quais apenas três tem distribuição natural e são cultivadas no Brasil: *Plinia trunciflora* (Berg) Mattos; *Plinia cauliflora* (DC.) Berg.; e *Plinia jaboticaba* (Vell.) Berg. Todas com sinonímia botânica *Myrciaria* sp. (MATTOS, 1983, 1998). Os frutos das jaboticabeiras (jaboticabas) apresentam grande potencial de comercialização, pois são muito apreciadas para consumo *in natura* (BALERDI et al., 2006). Porém, muitos outros usos podem ser dados à jaboticaba. A casca da jaboticaba apresenta alto teor de antocianinas e flavonoides (TEIXEIRA et al., 2008; DANNER et al., 2011a), os quais são responsáveis por efeitos benéficos à saúde, destacando-se o controle de colesterol e diabetes (LENQUISTE et al., 2012), controle da hipertensão (ANDRADE et al., 2015) e controle de câncer de próstata e leucemia (LEITE-LEGATTI et al., 2012). Este potencial pode ser aproveitado pela indústria farmacêutica e alimentícia.

A espécie também é utilizada como planta ornamental em função da beleza da floração e frutificação por cauliflora (DEMATTE, 1997). Além disso, a produção de derivados da jabuticaba (aguardente, vinho, suco, molhos, picolés, licores, geleias) é utilizada para fomentar o turismo gastronômico em algumas cidades brasileiras (VIEIRA e FERREIRA, 2013) e pode se tornar uma alternativa para aproveitar integralmente os frutos que são altamente perecíveis, para evitar perdas em pós-colheita e fomentar a exportação de um produto original brasileiro (ASQUIERI et al., 2009). Nesse sentido, demonstrou-se que o 'vinho' tinto (fermentado da casca da jabuticaba), apresentou alto poder antioxidante, maior que os 'vinhos' rosé (fermentado da mistura de casca e polpa) e branco (apenas da polpa) (SÁ et al., 2014).

Na região Sudoeste do Paraná foram mapeados 14 fragmentos florestais com ocorrência da jabuticabeira (*Plinia cauliflora*), que atualmente são mantidos como área de reserva legal, principalmente em propriedades agrícolas particulares. Estes fragmentos totalizaram 201,9 hectares e continham 4.036 jabuticabeiras adultas (DANNER et al., 2010). A comercialização de jabuticabas oriundas do extrativismo das jabuticabeiras nativas é realizada há muitos anos nesta região e apresenta importância econômica e social para famílias carentes.

Apenas dois trabalhos foram encontrados na literatura com uso de marcadores moleculares em jabuticabeiras. Ambos estudos demonstraram baixa variabilidade genética, por marcadores RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA), não compatível com a diferenciação fenotípica de plantas e frutos das variedades e espécies testadas (PEREIRA et al., 2005; VILELA et al., 2012), Isto denota a restrita base genética das jabuticabeiras, a qual pode ser efeito do sistema de reprodução da espécie, inclusive com a possibilidade de ocorrência de apomixia.

As jabuticabeiras possuem flores hermafroditas e experimentos com polinização controlada e ensacamento de ramos demonstraram que as espécies de jabuticabeira são aparentemente autocompatíveis. Porém, a polinização por insetos, especialmente abelhas *Apis mellifera*, aumentou a produção de frutos (DANNER et al., 2011b; VILELA et al., 2012). Aparentemente, a poliembrião das jabuticabeiras que ocorre em muitas sementes (DANNER et al., 2011a; WAGNER JUNIOR et al., 2011), é devida à apomixia dependente da fecundação, uma vez que em flores emasculadas e protegidas antes da antese não houve formação de frutos (VILELA et al., 2012). Os detalhes da biologia reprodutiva das jabuticabeiras deveria ser alvo de estudos para elucidar mais claramente o sistema de reprodução da espécie,

importante aspecto para fomentar a conservação e melhoramento genético.

Os estudos de diversidade e estrutura genética espacial intrapopulacional de jabuticabeira em populações naturais são inexistentes na literatura. Estes estudos tem sido utilizados em outras espécies arbóreas e demonstram como está organizada e distribuída a diversidade genética dentro da população e são importantes para determinar efeitos evolutivos ocorrentes nas populações e para determinar o potencial de sobrevivência e evolução das espécies vegetais, especialmente em populações pequenas e/ou fragmentadas (WRIGHT, 1931; NEI et al., 1975; ELLSTRAND e ELAM, 1993; BITTENCOURT e SEBBENN, 2009; DEGEN e SEBBENN, 2014).

O objetivo deste trabalho foi caracterizar a diversidade e a estrutura genética espacial de uma população de jabuticabeira (*Plinia cauliflora*) em Vitorino, Paraná. Especificamente, buscou-se responder as seguintes questões: 1) Qual o nível de diversidade genética nesta população de jabuticabeira? 2) Há ocorrência de clones originados por apomixia na população? 3) Qual é o nível de estrutura genética espacial nesta população?

3.4 MATERIAL E MÉTODOS

Área de estudo e amostragem

O presente estudo foi conduzido em um fragmento de Floresta Ombrófila Mista (26°19'0,9" S, 52°46'42" W, 818 metros de altitude), no município de Vitorino, região Sudoeste do Paraná (Figura 01A). Este fragmento florestal possui 4,0 hectares e contém 241 jabuticabeiras adultas e 157 jabuticabeiras juvenis (Figura 01B). Houve o histórico de supressão da mata contínua há mais de 60 anos, formando este fragmento florestal, também foi realizado o corte de árvores de grande porte, principalmente de araucária (*Araucaria angustifolia*) para comercialização da madeira. Atualmente, a paisagem é formada por fragmentos florestais circundados por lavouras de grãos (soja/milho) e pastagens para alimentação de bovinos leiteiros.

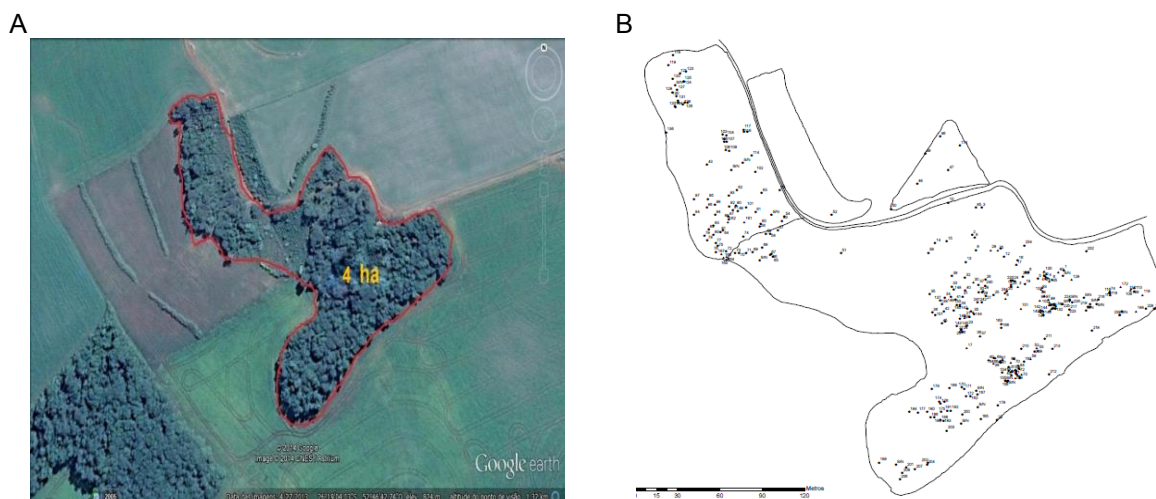


Figura 01 - Área do fragmento florestal (A) e mapa da distribuição (B) de jabuticabeiras nativas (*Plinia cauliflora*) de uma população de Vitorino, Paraná. UTFPR Câmpus Pato Branco, 2016.
Fonte: O Autor (2016) Google Earth (2005).

As jabuticabeiras adultas ocorrem de forma agrupada na população (Figura 02A) e a colheita de jabuticaba é realizada há mais de 40 anos na área, em conjunto com colheita de erva-mate. Para facilitar a colheita da jabuticaba, anualmente realizavam-se roçadas na vegetação rasteira. A floração das jabuticabeiras ocorre entre final de agosto e início de setembro e a maturação dos frutos em outubro, em um ciclo de desenvolvimento de 35 a 40 dias. As jabuticabas são bagas globosas de cor preta-arroxeadada e ficam aderidas nos ramos através de pequenos pedúnculos (2,8 mm), caracterizando a cauliflora (Figura 02B). Os frutos das jabuticabeiras da população estudada têm peso médio de 7,7 gramas, 23 mm de diâmetro e 1,23 sementes/fruto (DANNER et al., 2011a). As sementes devem ser semeadas logo após a colheita, pois perdem rapidamente a viabilidade (DANNER et al., 2011c).

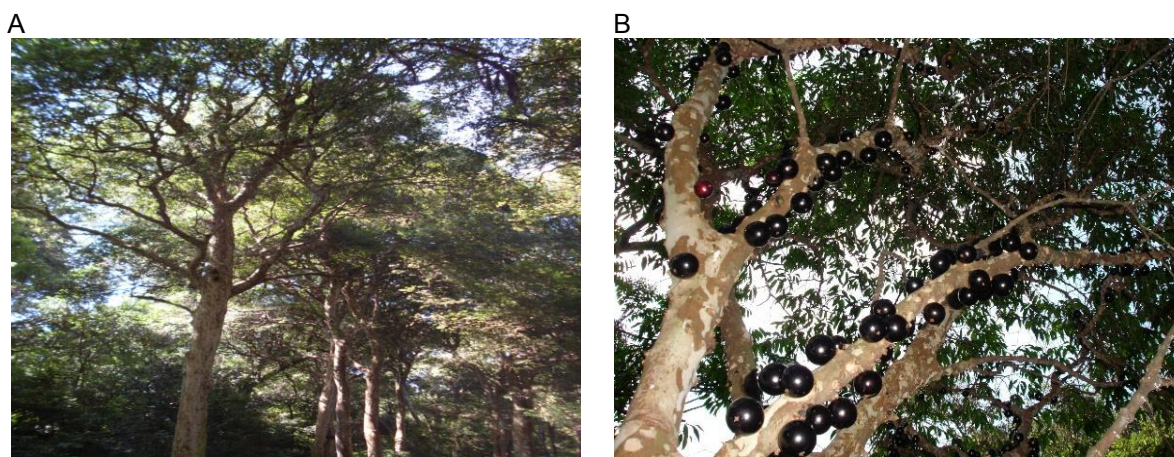


Figura 02 – Agrupamento de jabuticabeiras (*Plinia cauliflora*) adultas (A) e frutos de jabuticabeiras nativas (B) do fragmento florestal de Vitorino, Paraná. UTFPR Câmpus Pato Branco, 2016.
Fonte: O Autor (2016).

Para este estudo foram coletadas folhas recém expandidas e sadias de 207 jabuticabeiras adultas e 110 juvenis, pois as demais plantas não se encontravam mais com a identificação original, ambas foram armazenadas em sacos plásticos contendo sílica gel. Todas as plantas amostradas foram mapeadas (coordenadas UTM – Universal Transversa de Mercator - com uso de estação total e GPS de navegação), mensuradas (altura e diâmetro) e genotipadas.

Para diferenciar as árvores adultas das juvenis, as jabuticabeiras com altura superior a três metros foram observadas quanto à presença de estruturas reprodutivas (flores e/ou frutos) em setembro/outubro de 2014.

Extração de DNA e genotipagem por microssatélites

A extração de DNA e a análise por microssatélites foi conduzida no Laboratório de Fisiologia do Desenvolvimento e Genética Vegetal da Universidade Federal de Santa Catarina. Das folhas desidratadas realizou-se a extração do DNA com o Kit *NucleoSpin® Plant II*, conforme o protocolo do fabricante (*Machereu-Nagel*). O DNA foi quantificado em espectrofotômetro *NanoDrop® 1000* (*Thermo Scientific*), e a qualidade do DNA foi avaliada por eletroforese em gel de agarose 1,5%, sendo então diluído à concentração de $5 \text{ ng } \mu\text{L}^{-1}$ e estocado em freezer (-18°C).

Foram utilizados sete locos microssatélites (Pli_01, Pli_02, Pli_10, Pli_12, Pli_15, Pli_16 e Pli_18), desenvolvidos de uma biblioteca genômica de jabuticabeira (*Plinia sp.*) no laboratório citado acima (dados não publicados). As reações de amplificação do DNA por PCR (*Polymerase Chain Reaction* - reação em cadeia da polimerase) foram realizadas com volume total de 12 μL , contendo 20 ng de DNA, 0,2 mM de cada dNTP, 0,2 μM de cada primer microssatélite e 0,8 U da enzima *Taq polimerase* (GENET BIO Prime Taq DNA Polymerase, Daejeon, Korea) em tampão 10X (100 mM KCl; 0,5 mM EDTA; 20 mM Tris-HCl, pH 9,0; 0,1 mM DTT; 0,5% Tween 20; 0,5% Nonidet P-40; 20 mM de MgCl_2 ; 50% glicerol).

As amplificações foram realizadas usando termociclador modelo Veriti® (*Applied Biosystems*) com o seguinte programa: desnaturação inicial do DNA a 95°C por 3 minutos, seguido de 35 ciclos de 95°C (desnaturação) por 30 segundos, temperatura de anelamento (56°C a 62°C) por 30 segundos e 72°C (polimerização) por 30 segundos, seguido da extensão final a 72°C por 10 minutos. Os produtos de amplificação foram submetidos à eletroforese em gel de agarose 1,5% e a

visualização em transiluminador sob luz ultravioleta, para verificar a efetividade da PCR. As amostras foram mantidas a 4°C.

A genotipagem foi realizada por eletroforese capilar, com o uso de sistemas *biplex*, de acordo com a fluorescência e/ou tamanho esperado do fragmento (Tabela 1), em sequenciador ABI 3500xl (Applied Biosystems), com 24 capilares. A reação foi realizada com 1,0 µL da solução de DNA amplificado diluído 7,5X em água ultrapura, 8,0 µL de Tween 20 (0,1%), 26,4 µL de GS 600 LIZ® (padrão de tamanho de fragmento), 924 µL de formamida Hi-Di®. Os tamanhos dos alelos (pares de base - pb) foram identificados com o auxílio do software GeneMapper® (Applied Biosystems).

Tabela 1 - Informações dos locos microssatélites utilizados no estudo. UTFPR Câmpus Pato Branco-PR, 2016.

Locos	Sequência	T (°C)	Marcação	Tamanho esperado (pb)
Pli_01	F:GAGAGCCGCGAAATTAACAG R: ATGCGTTCAGCGACCATAG	62	NED	130-162
Pli_02	F: CATCGGCTTACGCTTCTTTC R:CTCGCTCGCTCTCTCAATCT	62	VIC	140-200
Pli_10	F: TGGCTGAGGTTTACTCGTGA R:AACGAAAGATGAGGCACTGA	62	VIC	230-250
Pli_12	F: CAACCTGCCACGTAGTTCAA R:TGGGAGAGGACTGTGAAACC	62	6-FAM	155-200
Pli_15	F: GCCGTCTCCTACACCAGATT R:CTGTATGTTGATGTCGGTGCT	56	6-FAM	170-196
Pli_16	F: TCGCATTATTTGAAGCCAGA R:TTCCTCGCCCTTAACTCTGT	59	NED	130-222
Pli_18	F: CTCCTCATCGCTCACTCTCC R:CACCCTCAAGCAACCTACCA	62	6-FAM	176-226

T (°C): temperatura de anelamento. Todos os alelos tem o motivo de repetição dinucleotídeos, com exceção de PLI_02 e PLI_10 (trinucleotídeos). Utilizou-se os sistemas *biplex* das combinações: Pli_01 e Pli_10; Pli_02 e Pli_12; Pli_15 e Pli_18. Pli_16 teve eletroforese individual.

Análise da diversidade genética intrapopulacional

A diversidade genética para jabuticabeiras adultas e juvenis foi caracterizada pelo número total de alelos, número de alelos por locos (A), riqueza alélica (R) calculada por rarefação (EL MOUSADIK e PETIT, 1996), heterozigosidade observada (H_o) e heterozigosidade esperada (H_e) sob equilíbrio de Hardy-Weinberg, calculada pela média aritmética entre todos os locos polimórficos analisados (NEI, 1987). A presença de endogamia foi investigada pelo índice de fixação ($F = 1 - \frac{H_o}{H_e}$) ou coeficiente de endogamia de Wright (1931) e sua significância estatística foi estimada utilizando 200

permutações de Monte Carlo (alelos entre indivíduos), seguida de correção de Bonferroni (95%, $\alpha = 0,05$) para evitar falsos positivos. Todos estes índices foram calculados utilizando o programa FSTAT (GOUDET, 1995).

Análise da diversidade clonal

A presença de jabuticabeiras adultas e juvenis clonais na população foi estimada utilizando o programa CERVUS 3.0 (MARSHALL et al., 1998; KALINOWSKI et al., 2007). A diversidade clonal (apomítica) foi analisada de acordo com a riqueza genotípica, estimada por $\hat{R} = \frac{G-1}{n-1}$, onde G é o número de genótipos diferentes e n é o número de indivíduos analisados (DORKEN e ECKERT, 2001).

Análise da estrutura genética espacial (EGE)

A EGE para jabuticabeiras adultas e juvenis da população foi estimada com base no coeficiente de coancestria de Nason (θ_{xy}) entre pares de indivíduos, descrito em Loiselle et al. (1995). Para visualizar a EGE, o valor de θ_{xy} foi plotado em classes de distância (intervalos de 5 m, até 80 m), com uso do programa Spagedi 1.3 (HARDY e VEKEMANS, 2002). A significância do θ_{xy} para cada classe de distância foi obtida por comparação dos limites do intervalo de confiança a 95% de probabilidade, calculados por 1000 permutações de Monte Carlo (indivíduos entre classes de distância). Para comparar a extensão da EGE entre adultos e juvenis, efetuou-se o cálculo da estatística S_p (VEKEMANS e HARDY, 2004) pela fórmula: $S_p = \frac{-b_k}{1-\theta_1}$, onde θ_1 é a média do coeficiente de coancestria calculado entre todos os pares de indivíduos dentro da primeira classe de distância (0-5 m) e b_k é o declive da regressão de coeficiente de coancestria contra o logaritmo da distância espacial (0-100 m). Para testar a EGE, a posição espacial dos indivíduos foram permutadas (1000 vezes) para obter a distribuição de frequência de b_k sob a hipótese nula de que θ_1 e $\ln(d_{xy})$ não são correlacionados.

3.5 RESULTADOS

Diversidade genética intrapopulacional

Os sete locos analisados exibiram diversidade genética baixa, tanto para jabuticabeiras adultas quanto juvenis da população, pois o número de alelos por locos (1 a 3) foi menor que o esperado para locos microssatélites, que normalmente são altamente polimórficos (multialélicos). O número total de alelos na população foi 14, encontrados nos indivíduos adultos, enquanto os indivíduos juvenis tiveram os mesmos alelos, com exceção do alelo 162 do locos Pli_12, o qual foi exclusivo dos adultos (Tabela 2). Os locos Pli_02 e Pli_16 foram monomórficos (apenas 1 alelo).

Tabela 2 - Índices de diversidade genética de jabuticabeiras nativas (*Plinia cauliflora*) adultas e juvenis do fragmento florestal de Vitorino, Paraná. UTFPR Câmpus Pato Branco, 2016.

Jabuticabeiras	<i>k</i>	<i>R</i> ± <i>SD</i>	<i>H_o</i> ± <i>SD</i>	<i>H_e</i> ± <i>SD</i>	<i>F</i> ± <i>SD</i>
Adultas (n=207)	14	1,83 ± 0,60	0,612 ± 0,022	0,502 ± 0,030	-0,219 ± 0,287*
Juvenis (n=110)	13	1,86 ± 0,69	0,666 ± 0,149	0,517 ± 0,037	-0,289 ± 0,274*

K é número de alelos; *R* é a riqueza alélica (EL MOUSADIK e PETIT, 1996); *SD* é o desvio padrão; *H_o* é heterozigosidade observada; *H_e* é heterozigosidade esperada; *F* é o índice de fixação (WRIGHT, 1931). *Significância ($P \leq 0,05$) baseada em 200 permutações de Monte Carlo.

Não foi detectada diferença significativa entre jabuticabeiras adultas e juvenis em nenhum dos índices de diversidade genética calculados (*R*, *H_o*, *H_e*, *F*), o que pode ser verificado pelo desvio-padrão (*SD* – *standard deviation*), demonstrando o comportamento semelhante para estas estatísticas entre as duas classes de plantas. A média de riqueza alélica (*R*) verificada para adultos (1,83) e para juvenis (1,86) é similar à média de alelos por locos (2,0 e 1,86, respectivamente). Isto indica que a frequência alélica é semelhante entre os alelos de mesmos locos, pois *R* é baseada no número e frequência de cada alelo nos locos (EL MOUSADIK e PETIT, 1996).

Os valores médios de *H_o* e *H_e* foram 0,612 e 0,502 para jabuticabeiras adultas e 0,666 e 0,517 para juvenis, respectivamente. Detectou-se valor de *H_o* significativamente superior à *H_e* para adultos e também para juvenis e isso gerou o índice de fixação (*F*) negativo e significativo para ambas as classes de jabuticabeiras. Isso representa que há excesso de heterozigotos na população, em relação ao que seria esperado segundo a Lei de Equilíbrio de Hardy-Weinberg (EHW), e o indício de que não há endogamia na população (WRIGHT, 1931).

Diversidade clonal

As 207 jabuticabeiras adultas apresentaram apenas sete genótipos

multilocos únicos, sendo os demais indivíduos clones destes genótipos. Por sua vez, as 110 jabuticabeiras juvenis apresentaram apenas três genótipos multilocos únicos, sendo os demais indivíduos juvenis clones destes. Agrupando adultos e juvenis, as 317 plantas representam apenas sete genótipos únicos, pois os três genótipos dos juvenis já estavam presentes nos adultos (Clones 1, 4 e 7). Um simples clone (Clone 1) foi o mais frequente em ambas classes de jabuticabeiras (adultas e juvenis), totalizando 60,2% de todas as plantas genotipadas da população. Desta forma a riqueza genotípica foi baixa para adultos (0,030), juvenis (0,018) e agrupando adultos e juvenis (0,019) (Tabela 3).

Tabela 3 - Número e frequência de indivíduos dos sete clones e riqueza genotípica (\hat{R}) de jabuticabeiras (*Plinia cauliflora*) adultas e juvenis do fragmento florestal de Vitorino, Paraná. UTFPR Câmpus Pato Branco, 2016.

	Adultos	Juvenis	Adultos + juvenis (%)
Tamanho da amostra: <i>n</i>	207	110	317
Número de clones	7	3	7
Clone 1: <i>n</i>	107	84	191 (60,2)
Clone 2: <i>n</i>	32	-	32 (10,1)
Clone 3: <i>n</i>	18	-	18 (5,7)
Clone 4: <i>n</i>	10	22	32 (10,1)
Clone 5: <i>n</i>	28	-	28 (8,8)
Clone 6: <i>n</i>	5	-	5 (1,6)
Clone 7: <i>n</i>	7	4	11 (3,5)
\hat{R}	0,030	0,018	0,019

\hat{R} é a riqueza genotípica.

Além deste baixo número de clones, a diferenciação entre os genótipos multilocos dos clones também foi pequena, pois os sete clones se diferenciam apenas nos locos Pli_12 e Pli_15, tendo o mesmo genótipo em heterozigose nos locos Pli_01, Pli_10 e Pli_18 (Tabela 4).

Tabela 4 - Genótipos multilocos (tamanho dos alelos, em pares de base) dos sete clones de jabuticabeira (*Plinia cauliflora*) detectados no estudo. UTFPR Câmpus Pato Branco, 2016.

	Pli_01	Pli_02	Pli_10	Pli_12	Pli_15	Pli_16	Pli_18
Clone 1	150/154	178/178	235/244	152/156	178/186	161/161	180/182
Clone 2	150/154	178/178	235/244	156/156	178/186	161/161	180/182
Clone 3	150/154	178/178	235/244	156/156	186/186	161/161	180/182
Clone 4	150/154	178/178	235/244	152/156	186/186	161/161	180/182
Clone 5	150/154	178/178	235/244	156/162	178/186	161/161	180/182
Clone 6	150/154	178/178	235/244	156/162	186/186	161/161	180/182
Clone 7	150/154	178/178	235/244	152/156	184/186	161/161	180/182

Com relação à localização dos sete clones pode-se observar que o Clone 1 está amplamente distribuído em toda a área do fragmento florestal, em função do grande número de indivíduos. No lado leste do fragmento florestal foram encontrados a maior parte das jabuticabeiras adultas e juvenis. Nos cantos superior

esquerdo e inferior do mapa, apesar de ter mais do que 25 jabuticabeiras adultas, não foram encontradas jabuticabeiras juvenis (Figura 03).

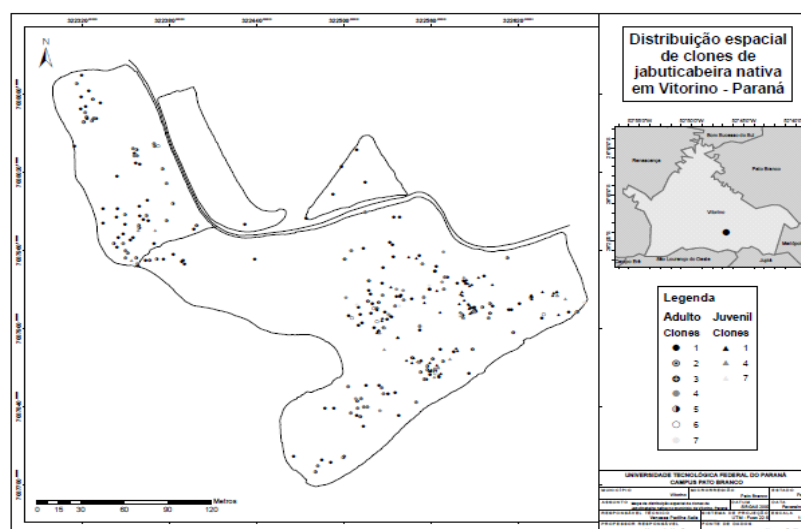


Figura 03 - Distribuição espacial dos sete clones de jabuticabeiras (*Plinia cauliflora*) adultas e juvenis no fragmento florestal de Vitorino, Paraná. UTFPR Câmpus Pato Branco, 2016.

Estrutura genética espacial (EGE)

Na análise do correlograma verificou-se que os coeficientes de coancestria entre pares de indivíduos diminuem com o aumento da distância, demonstrando um típico efeito de isolamento por distância (WRIGHT, 1943). Entre as jabuticabeiras adultas da população verificou-se EGE significativa até 10 metros de distância e entre os juvenis até 20 metros de distância (Figura 04).

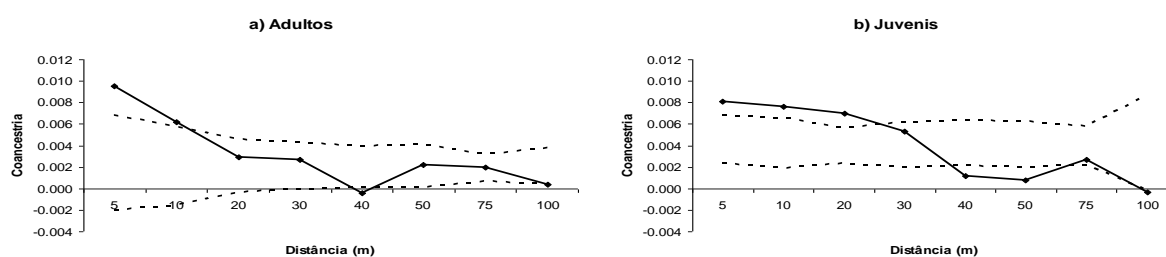


Figura 04 – Estrutura genética espacial em jabuticabeiras (*Plinia cauliflora*) adultas e juvenis do fragmento florestal de Vitorino, Paraná. A linha contínua representa o coeficiente médio de coancestria (θ_{xy}) e as linhas tracejadas representam o intervalo de confiança a 95% de probabilidade da hipótese de ausência de estrutura genética espacial (hipótese $H_0: \theta_{xy} = 0$). UTFPR Câmpus Pato Branco, 2016.

A EGE significativa dos indivíduos nas duas ou nas quatro primeiras classes de distância (0-5, 5-10, 10-15 e 15-20 metros) representa que há o agrupamento de indivíduos com maior nível de parentesco do que o esperado, uma vez que o coeficiente de coancestria é um índice de parentesco entre os indivíduos. Como a maior parte dos indivíduos de jabuticabeira desta população são clones entre

si, o coeficiente de coancestria esperado seria próximo de 0,5. Porém, este coeficiente foi extremamente baixo ($< 0,010$) mesmo nas classes de distância em que a EGE foi significativa, sendo menor inclusive que o valor de parentesco esperado entre primos ($\theta_{xy} = 0,0625$) (SEBBENN, 2006). Este efeito inesperado pode ser explicado pelo viés causado nos dados devido baixo polimorfismo detectado, em termos de número de alelos por locos (apenas 2 ou 3), bem como o baixo número de locos utilizado e o excesso de heterozigotos encontrado na população.

A inclinação da regressão (b_k) para o coeficiente de coancestria sobre o logaritmo da distância espacial (0-100 m) foi baixo mas significativo ($P > 0,05$) (sendo diferente de zero) para ambas as classes, adultos ($b_k = -0,0027^*$) e juvenis ($b_k = -0,0015^*$), confirmando a presença de isolamento por distância. Além disso, a intensidade da EGE na primeira classe de distância (0-5 m), medida pela estatística Sp foi maior para adultas ($Sp = 0,0028$) do que para juvenis ($Sp = 0,0015$), porém os índices não foram significativos ($P > 0,05$) em ambas as classes, demonstrando a distribuição aleatória dos genótipos na área, sem formação de estruturação genética (VEKEMANS e HARDY, 2004).

3.6 DISCUSSÃO

Diversidade genética intrapopulacional

A baixa quantidade de alelos detectados na população (total de 14 alelos) não era esperada, uma vez que os locos microssatélites são altamente polimórficos. Em estudos com espécies arbóreas brasileiras, o valor mais baixo de alelos verificado na literatura foi em cacau (*Theobroma cacao*), detectou-se total de 26 alelos em uma população com propagação clonal, de 156 indivíduos adultos e 450 sementes genotipadas com oito marcadores microssatélites (SILVA et al., 2010). Por outro lado, de 978 indivíduos de 25 progênies de polinização aberta oriundas de 25 matrizes de duas populações de aroeira (*Myracrodruon urundeuva*) em oito locos microssatélites foram detectados de 6 a 27 alelos por locos, no total de 118 alelos detectados (VIEGAS et al., 2011).

Apesar da baixa diversidade alélica, as heterozigosidades observada e esperada (H_o e H_e) foram superiores à 0,5, tanto para jabuticabeiras adultas quanto para as juvenis, que é considerado valor alto (HAMRICK e MURAWSKI, 1991). Isto

indica que se houvessem cruzamentos entre estes genótipos para formação das progênes, novas combinações alélicas poderiam ser geradas, ou seja, há potencial de geração de diversidade genética de jabuticabeira na população estudada.

Em concordância com o significativo maior valor de H_o em relação à H_e , o índice de fixação (F) foi negativo e significativamente diferente de zero, tanto para jabuticabeiras adultas quanto para as juvenis, o que é um indicativo de que ocorreu e está ocorrendo seleção à favor de heterozigotos na população e que a espécie não apresenta endogamia devido ao sistema de reprodução (WRIGHT, 1931). Seleção à favor de heterozigotos são documentadas especialmente em espécies alógamas ou de sistema misto de reprodução com predominância de cruzamentos, pois estas espécies não toleram endogamia, uma vez que locos em homozigose podem tornar-se deletérios, comprometendo a sobrevivência (depressão endogâmica). Este processo ocorre pela eliminação de plantas endogâmicas entre a fase de fertilização e a fase adulta (SAVOLAINEM et al., 1992; GRIBEL e GIBBS, 2002; HUFFORD e HAMRICK, 2003; NAITO et al., 2008; AGAPITO-TENFEN et al., 2011).

O excesso de heterozigotos detectado também pode ser um efeito da ocorrência de fragmentação florestal e drástica redução populacional de jabuticabeiras, condizente com o histórico da área e da região. É comum populações que passaram por um processo recente de gargalo genético (*bottleneck*) apresentarem um excesso temporário de heterozigosidade ($H_o > H_e$), o qual persiste algumas dezenas de gerações até um novo equilíbrio ser estabelecido (CORNUET e LUIKART, 1996; LUIKART et al., 1998; PIRY et al., 1999).

A riqueza alélica é mais sensível à redução no tamanho populacional do que a heterozigosidade, devido à eliminação preferencial de alelos raros, os quais contribuem pouco para a estimativa de H_e (NEI et al., 1975; VARVIO et al., 1986; COURNUET e LUIKART, 1996). Este efeito parece ter ocorrido na população de jabuticabeira estudada, com a aparente perda de alelos. A longo prazo, a redução da riqueza alélica pode limitar o potencial evolutivo desta população, ou seja, a habilidade da espécie em responder às mudanças ambientais (ELLSTRAND e ELAM, 1993).

Apesar disso, a baixa diversidade alélica verificada nos locos microsatélites pode ser apenas aparente, uma vez que mesmo em um loco determinado como monomórfico para tamanho de alelo (133 pb) em mais de 100 indivíduos de *Butia eriospatha*, foi revelada variação nas sequências de DNA. Verificou-se por alinhamento de sequências muitos sítios polimórficos na região

flanqueadora do motivo de repetição deste microssatélite, as quais foram geradas por inserções e substituições de nucleotídeos. Esta pode ser uma fonte de variação genética em indivíduos de populações naturais, a qual não é detectada quando se avalia o tamanho de alelos microssatélites (NAZARENO e REIS, 2011).

Diversidade clonal

A detecção de apenas sete genótipos multilocos na população de jabuticabeiras adultas, permite delimitar a hipótese de um forte efeito fundador, com poucos indivíduos geradores. Além disso, o alto índice de heterozigose nos locos é um indicativo de que as plantas fundadoras podem ter sido geradas por cruzamentos, o qual gera heterozigose em pelo menos 50% dos locos (SEBBENN, 2006). Uma vez que há elevada predominância de indivíduos com o mesmo genótipo (Clone 1 = 60,2% das jabuticabeiras), e que as jabuticabeiras juvenis possuem apenas três genótipos multilocus únicos, já presentes nas adultas, há um forte indício que a população formou-se por apomixia nas sementes (clones das matrizes), seguida de seleção à favor de clones. Soma-se a isso que não houve fluxo gênico (por sementes e pólen), o que causaria a introdução de novos alelos de outras populações, o que indica que esta população está geneticamente isolada, mesmo existindo um fragmento florestal que contém 100 jabuticabeiras adultas localizado à distância de 1,8 km do fragmento estudado.

Além da evidência molecular, a hipótese de seleção à favor de clones é reforçada pela ausência de duas plântulas crescendo justapostas, o que indicaria terem sido geradas da mesma semente. É comum a ocorrência da poliembrionia (presença de mais de um embrião por semente), quando as sementes de jabuticabeira são semeadas em viveiro, verificada pela emergência de mais de uma plântula por semente nas três principais espécies de jabuticabeiras, *Plinia cauliflora*, *P. trunciflora* e *P. jaboticaba* (GURGEL e SOUBIHE SOBRINHO, 1951; DANNER et al., 2011a; WAGNER JÚNIOR et al., 2011).

Devido as jabuticabeiras juvenis da população serem clones das jabuticabeiras adultas evidencia a ocorrência de apomixia em *Plinia cauliflora*. A geração de sementes com embriões apomíticos parece ser a provável causa da clonagem na população de jabuticabeira, uma vez que a clonagem natural por outros propágulos não ocorre na espécie, e mesmo a estaquia em ambiente controlado

apresenta muito baixo enraizamento (SASSO et al., 2010a).

A poliembrionia de jabuticabeira parece ser resultado de apomixia dependente da fecundação, com formação por embrionia adventícia, em que são gerados um embrião zigótico (que pode ou não sobreviver na semente) e um ou mais embriões apomíticos (clones da árvore materna), como ocorre em *Citrus* sp. (NAKANO et al., 2013). Isto devido à ausência de frutos/sementes em ramos que tiveram as flores emasculadas e protegidas (VILELA et al., 2012) e em ramos submetidos ao ensacamento (DANNER et al., 2011b). Com isto, são geradas duas hipóteses sobre a apomixia de jabuticabeiras da população estudada: 1) as sementes das jabuticabeiras geram apenas embriões apomíticos, devido morte dos embriões zigóticos em formação; ou 2) as sementes das jabuticabeiras geram embriões zigóticos e apomíticos e durante a germinação ou crescimento das plântulas ocorre a seleção natural à favor dos indivíduos clonais. A veracidade de uma dessas hipóteses pode ser testada através do estudo do sistema de reprodução, pela coleta e genotipagem de sementes das plantas matrizes (SILVA et al., 2011; BRESSAN et al., 2013) dos sete genótipos multilocus detectados na população, conjugados com estudos da embriologia (KOLTUNOW e GROSSNIKLAUS, 2003), ou seja, acompanhamento da formação dos embriões em sementes de jabuticabeiras.

O processo de ocorrência de apomixia gerando clones da planta-matriz pode ser vantajoso no caso de não haver disponibilidade ou haver baixa disponibilidade de pólen de outras plantas, de forma a evitar a ocorrência de autofecundação em espécies autocompatíveis. Em consequência, a apomixia preserva a heterozigosidade da planta-materna nas progênes, oferecendo vantagens em relação à autofecundação, a qual resultaria na redução da heterozigosidade e conduziria à depressão endogâmica (FINKELDEY, 2005). Este efeito de ocorrência de apomixia e manutenção da heterozigosidade foi verificado na população de jabuticabeira do presente estudo, o que poderia ser uma estratégia desenvolvida pela espécie na população, para evitar a autofecundação ou cruzamentos de poucos genótipos distintos.

Além disso, espécies que apresentam estrutura genética clonal sofrem menor efeito da deriva genética, uma vez que evita a perda de variabilidade genética na progênie através da clonagem (FISCHER et al., 2000). Outras vantagens da apomixia inclui a facilidade de dispersão devido formação de clones nas sementes e que as plantas apomíticas disseminam genótipos extremamente adaptados, pois os

genótipos menos adaptados acabam sendo eliminados pela seleção natural. Por outro lado, as desvantagens são a incapacidade de evitar acúmulo de mutações desvantajosas e de acelerar a evolução da espécie frente a mudanças ambientais, pois o nicho populacional é bastante estreito (RICHARDS, 2003). Por isso, do ponto de vista adaptativo, seria melhor a espécie conjugar a ocorrência de apomixia com a reprodução sexual. Em 248 estudos revisados, referentes a mais de 2000 populações de 218 espécies de plantas, foi verificado que a maior frequência de clonagem ocorreu em populações de plantas raras ou ameaçadas e com o aumento da idade da população (SILVERTOWN, 2008).

A diversidade clonal foi representada pela riqueza genotípica a qual foi muito baixa ($\hat{R} = 0,019$), devido à relação entre o número de genótipos distintos (apenas sete) e o número de indivíduos genotipados ($n=317$) (Tabela 03). Isto representa uma taxa de clonagem de 97,8% (310 indivíduos adultos e juvenis são clones de apenas sete indivíduos distintos). Tão baixo número de genótipos multilocus únicos e baixa diversidade clonal ainda não havia sido documentada na literatura para espécies arbóreas com uso de marcadores microssatélites. Em revisão de 52 trabalhos com genotipagem usando microssatélites de espécies de vários táxons que apresentam clonagem, a média de riqueza clonal foi $\hat{R} \cong 0,60$ (ARNAUD-HAOND et al., 2007). Considerando uma espécie arbórea, *Magnolia tomentosa*, de uma população de Nagoya, Japão, de 1044 plantas genotipadas foram detectados 175 genótipos multilocus (SETSUKO et al., 2004). Para o cacaueteiro (*Theobroma cacao*), do total de 156 indivíduos analisados de uma população natural da floresta Amazônica no estado do Pará, 29 indivíduos foram clones de 21 genótipos multilocus únicos, totalizando 50 indivíduos clonais (29+21), enquanto que as restantes 106 árvores foram genótipos multilocus únicos. No cacaueteiro a clonagem ocorre por brotações de rizomas (SILVA et al., 2011). No caso da espécie arbustiva *Jatropha curcas*, em um banco de germoplasma de São Paulo, verificou-se que 13% das sementes deram origem a clones das árvores maternas (mesmo genótipo multilocus), o que foi um indicativo de apomixia (BRESSAN et al., 2013).

A redução do número de genótipos distintos nos juvenis em relação aos adultos, indica a ocorrência de deriva genética, ou seja, a perda dos genótipos multilocus dos clones 2, 3, 5 e 6, que foram exclusivos dos adultos (Tabela 03). Esta deriva genética pode estar sendo causada pela menor produção de frutos/sementes dos adultos reprodutivos destes quatro genótipos clonais e também devido menor

sobrevivência das plântulas. Especialmente para o Clone 1, evidenciou-se a relação entre maior número de adultos reprodutivos (107) e maior número de juvenis (84), o que se justifica devido maior produção de sementes e maior dispersão na área. Isto deve gerar maior probabilidade de dispersão das sementes em microsítios adequados ao estabelecimento das plântulas.

O número de plantas genotipadas para jabuticabeiras adultas (n=207) foi quase o dobro em relação às juvenis (n=110), mas isso não justifica terem sido encontrados sete genótipos diferentes nas adultas e apenas três genótipos diferentes nas juvenis. Isso porque os alelos detectados foram os mesmos entre adultas e juvenis, à exceção do alelo 162 do locus Pli_12 que foi exclusivo das jabuticabeiras adultas. Além disso, as 110 jabuticabeiras juvenis genotipadas representam 70% do total (157) de indivíduos desta classe identificados na população.

Estrutura genética espacial (EGE)

Os resultados de EGE baseados no coeficiente de coancestria e nas estatísticas b_k e S_p suportam que o nível de parentesco é baixo e que os genótipos de jabuticabeira da população estão distribuídos de forma não aleatória na área. Este efeito não foi verificado para outra espécie da família Myrtaceae, *Myrcia splendens*, para a qual os genótipos estavam distribuídos aleatoriamente em todos os cinco fragmentos florestais estudados (BRANDÃO et al., 2011).

A EGE em populações naturais de plantas é definida como a distribuição não aleatória da variação genética e demonstra que existem indivíduos aparentados na população que se encontram agrupados. Os fatores de importância primária para a formação da EGE são a seleção natural, a habilidade da espécie de dispersar pólen e sementes (fluxo gênico), o tamanho efetivo populacional e a deriva genética (LOVELESS e HAMRICK, 1984; LOISELLE et al., 1995). A causa mais prevalente para o arranjo espacial dos genótipos em estruturação de famílias é a dispersão de sementes à curtas distâncias, próximas da planta matriz, associada à baixa taxa de imigração de sementes de outros locais para a população, a qual pode ser restrita na falta de animais dispersores (LATTA et al., 1998; SMOUSE e PEAKALL, 1999; VEKEMANS e HARDY, 2004).

Em espécies arbóreas e frutíferas brasileiras é comum a detecção de EGE até distâncias curtas, por exemplo, até 20 metros para a espécie *Euterpe edulis*

- palmeira-juçara (VIEIRA et al., 2010), até 15 metros para *Theobroma cacao* - cacau (SILVA et al., 2011), até cinco metros para *Hymenaea stigonocarpa* – jatobá-do-cerrado (DEFAVARI et al., 2009). Estes agrupamentos familiares intrapopulacionais favorecem cruzamentos entre parentes, gerando endogamia, o que ser prejudicial à sobrevivência da espécie (SATO et al., 2006). Conhecer a estrutura genética espacial de populações de espécies arbóreas é fundamental para programas de conservação, restauração ambiental e melhoramento genético, pois indica a distância mínima entre matrizes para coleta de sementes de forma a obter maior diversidade genética *ex situ* (SEBBENN, 2003; CLOUTIER et al., 2007; BITTENCOURT e SEBBENN, 2008).

O fluxo gênico por pólen e sementes de outras populações é o mecanismo para contrapor os efeitos de EGE e aumentar a diversidade genética desta população de jabuticabeira. Em uma população de copaíba (*Copaifera langsdorffii*) em São Paulo verificou-se altos níveis de diversidade genética devido a intensa imigração de pólen e sementes (CARVALHO et al., 2010), assim como também verificado em *Araucaria angustifolia* em Santa Catarina (MEDINA-MACEDO et al., 2015).

Implicações para a conservação da população

A população de jabuticabeira estudada representa um fragmento florestal de 4,0 hectares, criado do desmatamento e queimada para abertura de áreas de lavouras e pastagens, ocorrido há mais de 60 anos. Antes deste período, a população de jabuticabeira tinha um tamanho muito maior. Os resultados do presente trabalho indicam o isolamento genético da população, devido falta de imigração de pólen e sementes, que poderia introduzir novos alelos não presentes nesta população. Vários estudos de genética de populações indicam que a fragmentação florestal pode causar vários danos a uma população, principalmente nas progênies, pois se as populações permanecem pequenas e isoladas por muitas gerações poderá haver um aumento da endogamia e da deriva genética, devido à ocorrência de cruzamentos entre os poucos indivíduos remanescentes e à limitação do fluxo de genes via pólen e sementes entre fragmentos, e alterar processos de seleção e sistema de reprodução (ALDRICH et al., 1998; DAYANANDAN et al., 1999; WHITE et al., 1999; MARGIS et al., 2002; JUMP e PENUELAS, 2006; SORK e SMOUSE, 2006; NAITO et al., 2008; PAKKAD et al., 2008; BITTENCOURT e SEBBENN, 2009). A principal consequência

desses processos é a redução da diversidade genética, que pode acarretar redução na adaptabilidade de populações remanescentes e na extinção da espécie (ENGLAND et al., 2002).

Ainda não está claramente definido o sistema de reprodução da jabuticabeira. Nos trabalhos realizados sobre o modo de reprodução verificou-se que os principais insetos polinizadores da jabuticabeira são as abelhas africanizadas - *Apis mellifera* (MALERBO-SOUZA et al., 2004) e que *Plinia cauliflora* necessita dos agentes polinizadores para frutificar, uma vez que não houve frutificação em ramos ensacados com tecido evitando a entrada de insetos (DANNER et al., 2011b). Inclusive, a composição e os níveis de parentesco das progênes de jabuticabeiras ainda precisa ser investigado, através da genotipagem de sementes e de suas matrizes com uso de marcadores microssatélites. Uma vez que as flores de jabuticabeira são hermafroditas e aparentemente não apresentam autoincompatibilidade (VILELA et al., 2012), a forma de forrageamento das abelhas pode fazer com que a polinização/fertilização seja por cruzamentos (pólen trazido de outras plantas), por geitonogamia (pólen de flores da mesma planta) e por autogamia (abelhas efetuam contato do pólen da mesma flor no estigma). Assim, as progênes geradas das sementes de jabuticabeira poderiam ser formadas por uma mistura de irmãos-completos, meio-irmãos, irmãos de autofecundação e irmãos de autofecundação e cruzamento (SEBBENN et al., 2006), além dos embriões gerados por apomixia.

Por outro lado, tal conformação das progênes pode não ser verdadeira se apenas os embriões apomíticos sobreviverem nas sementes, conforme sugerido pela diversidade clonal apresentada anteriormente. Porém, a ocorrência de formação por clonagem nesta população não é um indicativo de que outras populações de jabuticabeira também tenham este padrão de sistema de reprodução. Isto porque há alguns exemplos de plantas em que a clonagem por segmentos de ramos ocorre naturalmente e nas quais verificou-se populações com apenas um ou poucos clones e populações com muitos genótipos multilocos detectados - alta diversidade clonal (DORKEN e ECKERT, 2001; KAPRALOV, 2004; OLSEN et al., 2004). Desta forma, justifica-se o estudo da diversidade e estrutura genética das outras populações de jabuticabeira localizadas em fragmentos florestais na região Sudoeste do Paraná (DANNER et al., 2010).

Apesar da alta densidade de indivíduos adultos ($241/4,0 = 60,25$

indivíduos por hectare), esta população de jabuticabeira apresenta-se vulnerável, uma vez que o número de genótipos distintos é baixo (apenas sete). Isto pode resultar no baixo potencial adaptativo da espécie as mudanças ambientais (ISAGI et al., 2007; DORKEN e ECKERT, 2001).

Além disso, há baixa regeneração de jabuticabeira na mata. O número total de indivíduos juvenis foi de 157, que representa apenas 0,65 juvenil por jabuticabeira adulta (total de 241). Isto pode ser efeito de três fatores principais que representam barreiras para a regeneração da espécie na população: 1) as sementes de jabuticabeiras são recalcitrantes e perdem rapidamente a viabilidade (DANNER et al., 2011c), o que reduz a probabilidade de emergência de plântulas; 2) falta de animais dispersores efetivos da espécie, uma vez que a mata é um pequeno fragmento no qual não foram encontrados pequenos e médios mamíferos e aves frugívoras, os quais são essenciais para dispersão de sementes de frutos carnosos de espécies da família Myrtaceae (GRESSLER et al., 2006; JORDANO et al., 2006); 3) a ação antrópica de coleta excessiva de frutos para comercialização reduz a quantidade de sementes disponíveis para a regeneração (PIZO e VIEIRA, 2004) e, ainda, as roçadas realizadas no sub-bosque para facilitar a coleta de frutos ocasiona o corte de juvenis de jabuticabeira.

Para a efetiva sobrevivência da espécie, deveria haver juvenis de jabuticabeira de estágios ontogenéticos (estratos) intermediários, de forma a proporcionar recrutamento (passagem do estágio de juvenil para adulto reprodutivo), para substituição das jabuticabeiras adultas quando morrerem. No período do estudo (2014-2015) verificou-se a morte (tombamento devido ventos fortes) de duas jabuticabeiras adultas na mata e ainda algumas jabuticabeiras adultas tem o tronco apodrecido, ficando suscetíveis ao tombamento. Estima-se que as jabuticabeiras adultas tenham mais de 150 anos, devido a jabuticabeira ser de crescimento lento (DANNER et al., 2007) e devido à baixa fertilidade do solo nos locais de ocorrência de jabuticabeira na região Sudoeste do Paraná (DANNER et al., 2010). Apesar disso, as jabuticabeiras adultas da população tem altura média de 17,57 metros e diâmetro à altura do peito (DAP) médio de 40,25 cm (Apêndice 01).

Praticamente não há indivíduos juvenis em estágio intermediário para recrutamento. A maioria dos juvenis são de tamanho pequeno (média geral: altura = 0,54 m, DAP = 0,64 cm), indicando terem sido originados nos últimos cinco eventos reprodutivo (anos). Foram verificados apenas oito indivíduos juvenis com altura $\geq 1,0$

metro (e máxima de 2,2 m), e apenas um indivíduo com altura maior que 2,2 metros (indivíduo número 161, altura = 6,0 m, DAP = 9,55 cm), o qual foi considerado juvenil (Apêndice 02), pois não apresentou estruturas reprodutivas nas duas safras observadas durante o período do estudo.

As áreas com maior número de plântulas (Figura 03) coincidem com a área de mata fechada, com dossel dominado por vários agrupamentos de jabuticabeiras adultas, mas com o sub-bosque relativamente descoberto e ausência de taquaras e outras gramíneas rasteiras. Estas condições deve proporcionar maior disponibilidade de sementes e também abrigo aos animais dispersores, os quais preferem se alimentar em zonas mais protegidas da mata (IOB e VIEIRA, 2008) e, em consequência, isto deve proporcionar maior emergência das plântulas. Porém, a falta de indivíduos juvenis em estágios ontogenéticos intermediários (altura superior à 2 metros) indica que para a efetiva regeneração da jabuticabeira em área florestal, a espécie depende da abertura de clareiras. Isto determinaria que a espécie é uma pioneira de vida longa, ou seja, emerge e sobrevive crescendo pouco durante alguns anos mas não permanece durante longo tempo em ambiente sombreado, sem grande incidência de luminosidade, assim como determinado para *Araucaria angustifolia* após vários estudos na Floresta Ombrófila Mista (SOUZA, 2007; SOUZA et al., 2008). Para confirmar esta hipótese estudos específicos sobre a regeneração da jabuticabeira (taxa de produção de frutos, predação de sementes, mortalidade de plântulas, luminosidade e abertura do dossel em micrositios com regenerantes, etc) devem ser realizadas em várias populações na região Sudoeste do Paraná.

Sob condições naturais, as sementes de jabuticabeira parecem ser dispersas secundariamente por animais, principalmente pequenos primatas, roedores e pássaros. Entretanto, humanos parecem ser o mais eficiente agente dispersor. Esta evidência é reforçada pois as sementes de jabuticabeiras são recalcitrantes e perdem a viabilidade em menos de 10 dias após coleta (DANNER et al., 2011c). Além disso, em estudo com o cachorro-do-mato ou graxaim (*Dusicyon thous*), verificou-se cinco sementes de jabuticabeira coletadas nas fezes, as quais não apresentaram capacidade de germinação (MOTTA-JUNIOR et al., 1994). Assim, provavelmente a ocupação do local com as jabuticabeiras adultas há mais de 150 anos, deva ter sido efetuada em áreas mais abertas e através de plantios por populações humanas (indígenas e/ou caboclos que habitavam a região). Tal ação antrópica principalmente dos indígenas tem sido comprovada em estudos arqueológicos e palinológicos,

explicando a ampla ocupação e dispersão da espécie *Araucaria angustifolia* nos campos do Sul do Brasil (BITENCOURT e KRASPENHAR, 2006; REIS et al., 2014).

Soma-se a isso que a produção de frutos de jabuticabeiras na região Sudoeste do Paraná aparentemente têm decrescido nos últimos 10 anos em relação aos períodos anteriores. Isto pode ser efeito das mudanças climáticas com alterações na fenologia das plantas (MORELLATO et al., 2016) e/ou devido à menor disponibilidade de abelhas para polinização, o qual é um problema para a polinização de plantas detectado mundialmente (BREEZE et al., 2014), haja vista a importância das abelhas na formação de frutos de jabuticabeira (DANNER et al., 2011b; VILELA et al., 2012).

As jabuticabeiras são muito utilizadas em quintais urbanos no Brasil, mas poucos são os pomares comerciais da espécie, o que somado à intensa fragmentação florestal de sua região de ocorrência natural (Mata Atlântica brasileira – MORELLATO e HADDAD, 2000) gera um baixo aproveitamento e conservação de germoplasma da espécie. Devido à importância econômica e cultural da espécie no Brasil, torna-se imprescindível a formação de Bancos Ativos de Germoplasma (BAG) contendo genótipos dos vários locais de ocorrência da jabuticabeira, contidos em cultivos ou em populações naturais, visando à conservação *ex situ* e proporcionando o uso futuro da espécie.

Os estudos com jabuticabeiras tem sido realizados principalmente em Minas Gerais e São Paulo, basicamente sobre a caracterização de frutos em pomares da variedade ‘Sabará’ (ex.: OLIVEIRA et al., 2003; BECKER et al., 2015). Poucos são os trabalhos com jabuticabeiras de populações naturais (CITADIN et al., 2005; DANNER et al., 2011a), o que parece indicar que raras são estas populações no Brasil e que a região Sudoeste do Paraná, a qual contém pelo menos 14 fragmentos florestais com mais de 4 mil jabuticabeiras adultas nativas (DANNER et al., 2010), representa uma importante região para conservação *in situ* e coleta de germoplasma da espécie em ambiente natural.

Os resultados de baixa diversidade genética e ocorrência de clones por apomixia na população de jabuticabeira deste estudo, delimita que as estratégias de coleta de germoplasma para conservação *ex situ* devem priorizar a coleta de genótipos de vários locais distintos no Brasil e baixo número de genótipos em cada população. Por outro lado, devido à evidência de variação epigenética na espécie, pois está documentada ampla variação de caracteres fenotípicos apesar da estreita

base genética detectada por marcadores moleculares, seria viável coletar sementes de jabuticabeiras mesmo sendo clones entre si, para mantê-las no BAG.

A confirmação da produção de sementes contendo somente embriões apomíticos poderia ser utilizada em seleção e melhoramento genético, para obtenção de clones de genótipos promissores encontrados na natureza usando sementes, o que facilita o transporte. No caso desta população de jabuticabeira de Vitorino, a coleta de sementes ou a propagação por enxertia ou alporquia (DANNER et al., 2006; SASSO et al., 2010b) poderia ser utilizada para produção de mudas de matrizes dos sete genótipos distintos detectados na população, para incluí-las em bancos de germoplasma de instituições públicas brasileiras.

Este é o primeiro trabalho realizado sobre aspectos de genética de populações em jabuticabeira, a qual pode ser considerada uma espécie modelo para elucidar respostas do impacto da apomixia na dinâmica da diversidade genética de populações.

3.7 CONCLUSÕES

A população de jabuticabeira foi formada por poucos indivíduos geradores (efeito fundador), seguida de ocorrência de clonagem por apomixia nas sementes e seleção para clones com alta heterozigose.

Não há evidência de forte estrutura genética espacial entre os indivíduos adultos e juvenis da população.

Para incluir genótipos desta população em bancos de germoplasma para conservação e melhoramento da espécie é viável coletar sementes e propagar apenas os sete genótipos distintos detectados, pois os demais indivíduos são clones destes.

3.8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGAPITO-TENFEN, S.Z.; STEINER, N.; GUERRA, M.P.; NODARI, R.O. Patterns of polyembryony and frequency of surviving multiple embryos of the Brazilian pine *Araucaria angustifolia*. **Australian Journal of Botany**, v.59, p.749-755, 2011.

ALDRICH, P.R.; HAMRICK, J.L.; CHAVARRIAGA, P.; KOCHERT, G. Microsatellite analysis of demographic genetic structure in fragmented population of the tropical tree *Symphonia globulifera*. **Molecular Ecology**, v.7, p.933-944, 1998.

ANDRADE, D.M.L.; REIS, C.F.; CASTRO, P.F.S.; BORGES, L.L.; AMARAL, N.O.; TORRES, I.M.S.; REZENDE, S.G.; GIL, E.S.; CONCEICAO, E.C.; PEDRINO, G.R.;

ROCHA, M.L. Vasorelaxant and hypotensive effects of jaboticaba fruit (*Myrciaria cauliflora*) extract in rats. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v.2015, p.1-8, 2015.

ARNAUD-HAOND, S.; DUARTE, C.M.; ALBERTO, F.; SERRÃO, E.A. Standardizing methods to address clonality in population studies. **Molecular Ecology**, v.16, p.5115-5139, 2007.

ASQUIERI, E.R.; SILVA, A.G.M.; CÂNDIDO, M.A. Aguardente de jaboticaba obtida da casca e borra da fabricação de fermentado de jaboticaba. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.29, n.4, p.896-904, 2009.

BALERDI, C.F.; RAFIE, R.; CRANE, J. Jaboticaba (*Myrciaria cauliflora*, Berg.): a delicious fruit with an excellent market potential. **Proceedings of the Florida State Horticultural Society**, v.119, p.66-68, 2006.

BECKER, F.S.; VILAS BOAS, A.C.; SALES, A.; TAVARES, L.S.; SIQUEIRA, H.H.; VILAS BOAS, E.V.B. Characterization of 'Sabará' jaboticabas at different maturation stages. **Acta Scientiarum - Agronomy**, v.37, n.4, p.457-462, 2015.

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

BITENCOURT, A.L.V.; KRAUSPENHAR, P.M. Possible prehistoric anthropogenic effect on *Araucaria angustifolia* (Bert.) O. Kuntze expansion during the late Holocene. **Revista Brasileira de Paleontologia**, v.9, n.1, p.109-116, 2006.

BITENCOURT, J.V.M.; SEBBENN, A.M. Patterns of pollen and seeds dispersal in a small, fragmented population of the wind-pollinated tree *Araucaria angustifolia* in southern Brazil. **Heredity**, v.99, p.580-591, 2007.

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

BITENCOURT, J.V.M.; SEBBENN, A.M. Genetic effects of forest fragmentation in high-density *Araucaria angustifolia* populations in Southern Brazil. **Tree Genetics & Genome**, v.5, p.573-582, 2009.

BRANDÃO, M.M.; VIEIRA, F.A.; CARVALHO, D. Estrutura genética em microescala espacial de *Myrcia splendens* (Myrtaceae). **Revista Árvore**, v.35, n.5, p.957-964, 2011.

BREEZE, T.D.; VAISSIÈRE, B.E.; BOMMARCO, R.; PETANIDOU, T.; SERAPHIDES, N.; KOZÁK, L.; SCHEPER, J.; BIESMEIJER, J.C.; KLEIJN, D.; GYLDENKÆRNE, S.; MORETTI, M.; HOLZSCHUH, A.; STEFFAN-DEWENTER, I.; STOUT, J.C.; PÄRTEL, M.; ZOBEL, M.; POTTS, S.G. Agricultural policies exacerbate honeybee pollination service supply-demand mismatches across Europe. **PLoS ONE**, v.9, n.1, e82996, 2014.

BRESSAN, E.A.; SEBBENN, A.M.; FERREIRA, R.R.; LEE, T.S.G.; FIGUEIRA, A. *Jatropha curcas* L. (Euphorbiaceae) exhibits a mixed mating system, high correlated mating and apomixis. **Tree Genetics & Genomes**, v.9, p.1089-1097, 2013.

CARVALHO, A.C.M.; FREITAS, M.L.M.; MORAES, S.M.B.; MORAES M.L.T.; STRANGHETTI, V.; ALZATE-MARIN, A.L.; SEBBENN, A.M. Diversidade genética, endogamia e fluxo gênico em pequena população fragmentada de *Copaifera langsdorffii*. **Revista Brasileira de Botânica**, v.33, n.4, p.599-606, 2010.

CASTELLA, P.R.; BRITZ, R.M.A (Orgs.). **Floresta com Araucária no Paraná: conservação e diagnóstico dos remanescentes florestais**. Brasília: Ministério do Meio Ambiente, 2004. 233p.

CITADIN, I.; VICARI, I.J.; SILVA, T.T.; DANNER, M.A. Qualidade de frutos de jaboticabeira (*Myrciaria cauliflora*) sob influência de duas condições de cultivo: sombreamento natural e pleno sol. **Revista Brasileira de Agrociência**, v.11, n.3, p.373-375, 2005.

CLOUTIER, D.; KANASHIRO, M.; CIAMPI, A.Y.; SCHOEN, D.J. Impact of selective logging on inbreeding and gene dispersal in an Amazonian tree population of *Carapa guianensis* Aubl. **Molecular Ecology**, v.16, n.4, p.797-809, 2007.

CORNUET, J.M.; LUIKART, G. Description and power analysis of two tests for detecting recent population bottlenecks from allele frequency data. **Genetics**, v.144, n.4, p.2001-2014, 1996.

DANNER, M.A.; CITADIN, I.; FERNANDES JUNIOR, A.A.; ASSMANN, A.P.; MAZARO, S.M.; DONAZZOLO, J.; SASSO, S.A.Z. Enraizamento de jaboticabeira (*Plinia trunciflora*) por mergulhia aérea. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.28, n.3, p.530-532, 2006.

DANNER, M.A.; CITADIN, I.; FERNANDES JÚNIOR, A.A.; ASMANN, A.P.; MAZARO, S.M.; SASSO, S.A.Z. Formação de mudas de jaboticabeira (*Plinia* sp.) em diferentes substratos e tamanhos de recipiente. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.29, n.1, p.179-182, 2007.

DANNER, M.A.; CITADIN, I.; SASSO, S.A.Z.; TOMAZONI, J.C. Diagnóstico ecogeográfico da ocorrência de jaboticabeiras nativas no Sudoeste do Paraná. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.32, n.3, p.746-753, 2010.

DANNER, M.A.; CITADIN, I.; SASSO, S.A.Z.; SCARIOT, S.; BENIN, G. Genetic dissimilarity among jaboticaba trees native to Southwestern Paraná, Brazil. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.33, n.2, p.517-525, 2011a.

DANNER, M.A.; CITADIN, I.; SASSO, S.A.Z.; SACHET, M.R.; MALAGI, G. Modo de reprodução e viabilidade de pólen de três espécies de jaboticabeira. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.33, n.2, p.345-352, 2011b.

DANNER, M.A.; CITADIN, I.; SASSO, S.A.Z.; AMBROSIO, R.; WAGNER JÚNIOR, A. Armazenamento a vácuo prolonga a viabilidade de sementes de jaboticabeira. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.33, n.1, p.246-252, 2011c.

DAYANANDAN, S.; DOLE, J.; BAWA, K.S.; KESSELI, R. Population structure delineated with microsatellites markers in fragmented populations of a tropical tree, *Carapa guianensis* (Meliaceae). **Molecular Ecology**, v.8, p.1585-1592, 1999.

DEFAVARI, G.R.; TARAZI, R.; MORENO, M.A.; FERRAZ, E.M.; GANDARA, F.B.; KAGEYAMA, P.K. Estrutura genética espacial intrapopulacional de *Hymenaea stigonocarpa* Mart. Ex Hayne na Estação Ecológica de Itirapina, SP. **Scientia Forestalis**, v.37, n.81, p.89-98, 2009.

DEGEN, B.; SEBBENN, A.M. Genetics and tropical forests. In: PANCEL, L.; MICHAEL KÖHL, M. (Eds.). **Tropical Forestry Handbook**. 2nd Ed. Berlim: Springer Verlag, 2014. p.30-61.

DEMATTE, M.E.S.P. Ornamental use of Brazilian Myrtaceae. **Acta Horticulturae**, n.452, p.143-179, 1997.

DORKEN, M.E.; ECKERT, C.G. Severely reduced sexual reproduction in northern populations of a clonal plant, *Decodon verticillatus* (Lythraceae). **Journal of Ecology**, v.89, p.339-350, 2001.

EL MOUSADIK, A.; PETIT, R.J. High level of genetic differentiation for allelic richness among populations of the argan tree [*Argania spinosa* (L.) Skeels] endemic of Morocco. **Theoretical and Applied Genetics**, v.92, p.832-839, 1996.

ELLSTRAND, N.C.; ELAM, D.R. Population genetic consequences of small population size: implications for plant conservation. **Annual Review of Ecology and Systematics**, v.24, p.217-242, 1993.

ENGLAND, P.R.; USHER, A.V.; WHELAN, R.J.; AYRE, D.J. Microsatellite diversity and genetic structure of fragmented populations of the rare, fire-dependent shrub *Grevillea macleayana*. **Molecular Ecology**, v.11, p.967-977, 2002.

FINKELDEY, R. **An introduction to tropical forest genetics**. Göttingen: Institute of Forest Genetics and Forest Tree Breeding, 2005. 219p.

FISCHER, M.; HUSI, R.; PRATI, D.; PEINTINGER, M.; KLEUNEN, M.; SCHMID, B. RAPD variation among and within small and large populations of the rare clonal plant *Ranunculus reptans* (Ranunculaceae). **American Journal of Botany**, v.87, n.8, p. 1128-1137, 2000.

GOUDET, J. FSTAT (Version 1.2): a computer program to calculate F-statistics. **The Journal of Heredity**, v.86, n.6, p.485-486, 1995.

GRESSLER, E.; PIZO, M.A.; MORELLATO, L.P.C. Polinização e dispersão de sementes em Myrtaceae do Brasil. **Revista Brasileira de Botânica**, v.29, n.4, p.509-530, 2006.

GRIBEL, R.; GIBBS, P.E. High outbreeding as a consequence of selfed ovule mortality and single vector bat pollination in the Amazonian tree *Pseudobombax munguba* (Bombacaceae). **International Journal of Plant Sciences**, v.163, n.6, p.1035-1043, 2002.

GURGEL, J.T.A.; SOUBIHE SOBRINHO, J. Poliembrionia em mirtáceas frutíferas. **Bragantia**, v.11, n.4/6, p.141-163, 1951.

HAMRICK, J.L.; MURAWSKI, D.A. Levels of allozyme diversity in populations of uncommon Neotropical tree species. **Journal of Tropical Ecology**, v.7, n.3, p.395-399, 1991.

HARDY, O.J.; VEKEMANS, X. SPAGeDi: a versatile computer program to analyse spatial genetic structure at the individual or population levels. **Molecular Ecology Notes**, v.2, p.618-620, 2002.

HUFFORD, K.M.; HAMRICK, J.L. Viability selection at three early life stages of the tropical tree, *Platypodium elegans* (Fabaceae, Papilionoideae). **Evolution**, v.57, n.3, p.518-526, 2003.

IOB, G.; VIEIRA, V.M. Seed predation of *Araucaria angustifolia* (Araucariaceae) in the Brazilian Araucaria Forest: influence of deposition site and comparative role of small and 'large' mammals. **Plant Ecology**, v.198, p.185-196, 2008.

ISAGI, Y.; TATENO, R.; MATSUKI, Y.; HIRAO, A.; WATANABE, S.; SHIBATA, M. Genetic and reproductive consequences of forest fragmentation for populations of *Magnolia obovata*. **Ecological Research**, v.22, p.382-389, 2007.

JORDANO, P.; GALETTI, M.; PIZO, M.A.; SILVA, W.R. Ligando frugivoria e dispersão de sementes à biologia da conservação. In: ROCHA, C.F.D.; BERGALLO, H.G.; ALVES, M.A.S. (Eds.). **Biologia da conservação: essências**. São Carlos: Rima, 2006. p.411-436.

JUMP, A.S.; PENUELAS, J. Genetic effects of chronic habitat fragmentation in a wind-pollinated tree. **Proceedings of National Academy of Science of the United States of America**, v.103, p.8096-8100, 2006.

KALINOWSKI, S.T.; TAPER, M.L.; MARSHALL, T.C. Revising how the computer program CERVUS accommodates genotyping error increases success in paternity assignment. **Molecular Ecology**, v.6, p.1099-1106, 2007.

KAPRALOV, M.V. Genotypic variation in populations of the clonal plant *Saxifraga cernua* in the central and peripheral regions of the species range. **Russian Journal of Ecology**, v.35, p.413-416, 2004.

KOLTUNOW, A.M.; GROSSNIKLAUS, U. Apomixis: a developmental perspective. **Annual Review of Plant Biology**, v.54, p.547-574, 2003.

LATTA, R.G.; LINHART, Y.B.; FLECK, D.; ELLIOT, M. Direct and indirect estimates of

seed versus pollen movement within a population of Ponderosa pine. **Evolution**, v.52, n.1, p.61-67, 1998.

LEITE-LEGATTI, A.V.; BATISTA, A.G.; DRAGANO, N.R.V.; MARQUES, A.C.; MALTA, L.G.; RICCIO, M.F.; EBERLIN, M.N.; MACHADO, A.R.T.; CARVALHO-SILVA, L.B.; RUIZ, A.L.T.G.; CARVALHO, J.E.; PASTORE, G.M.; MARÓSTICA JÚNIOR, M.R. Jaboticaba peel: Antioxidant compounds, antiproliferative and antimutagenic activities. **Food Research International**, v.49, p.596-603, 2012.

LENQUISTE, S.A.; BATISTA, A.G.; MARINELI, R.S.; DRAGANO, N.R.V.; MARÓSTICA JÚNIOR, M.R. Freeze-dried jaboticaba peel added to high-fat diet increases HDL-cholesterol and improves insulin resistance in obese rats. **Food Research International**, v.49, p.153-160, 2012.

LEWIN, B. The mystique of epigenetics. **Cell**, v.93, n.3, p.301-303, 1998.

LOISELLE, B.A.; SORK, V.L.; NASON, J.D.; GRAHAM, C. Spatial genetic structure of a tropical understory shrub, *Psychotria officinalis* (Rubiaceae). **American Journal of Botany**, v.11, p.1420-1425, 1995.

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

LUIKART, G.; ALLENDORF, F.W.; CORNUET, J.M.; SHERWIN, W.B. Distortion of allele frequency distributions provides a test for recent population bottlenecks. **Journal of Heredity**, v.89, n.3, p.238-247, 1998.

MALERBO-SOUZA, D.T.; NOGUEIRA-COUTO, R.H.; TOLEDO, V.A.A. Abelhas visitantes nas flores da jaboticabeira (*Myrciaria cauliflora* Berg) e produção de frutos. **Acta Scientiarum – Animal Sciences**, v.26, n.1, p.1-4, 2004.

MARGIS, R.; FELIX, D.; CALDAS, J.F.; SALGUEIRO, F.; ARAUJO, D.S.D.; BREYNE, P.; VAN MONTAGU, M.; OLIVEIRA, D.E.; MARGIS-PINHEIRO, M. Genetic differentiation among three neighboring Brazil-cherry (*Eugenia uniflora* L.) populations within the Brazilian Atlantic rainforest. **Biodiversity and Conservation**, v.11, p.149-163, 2002.

MARSHALL, T.C.; SLATE, J.; KRUK, L.E.B.; PEMBERTON, J.M. Statistical confidence for likelihood-based paternity inference in natural populations. **Molecular Ecology**, v.7, p.639-655, 1998.

MATTOS, J.R. **Frutíferas nativas do Brasil: jaboticabeiras**. Porto Alegre: Nobel, 1983. 92p.

MATTOS, J.R. Novidades taxonômicas em Myrtaceae – XV. **Loefgrenia: comunicações avulsas de Botânica**, Florianópolis, n.112, 1998. 9p.

MEDINA-MACEDO, L.; SEBBENN, A.M.; LACERDA, A.E.B.; RIBEIRO, J.Z.; SOCCOL, C.R.; BITTENCOURT, J.V.M. High levels of genetic diversity through pollen flow

of the coniferous *Araucaria angustifolia*: a landscape level study in Southern Brazil. **Tree Genetics & Genomes**, v.11, p.814-827, 2015.

MORELLATO, L.P.C.; HADDAD, C.F.B. Introduction: The Brazilian Atlantic Forest. **Biotropica**, v.32, p.4, p.786-792, 2000.

MORELLATO, L.P.C.; ALBERTON, B.; ALVARADO, S.T.; BORGES, B.; BUISSON, E.; CAMARGO, M.G.G.; CANCIAN, L.F.; CARSTENSEN, D.W.; ESCOBAR, D.F.E.; LEITE, P.T.P.; MENDOZA, I.; ROCHA, N.M.W.B.; SOARES, N.C.; SILVA, T.S.F.; STAGGEMEIER, V.G.; STREHER, A.S.; VARGAS, B.C.; PERES, C.A. Linking plant phenology to conservation biology. **Biological Conservation**, v.195, p.60-72, 2016.

MOTTA-JUNIOR, J.C.; LOMBARDI, J.A.; TALAMONI, S.A. Notes on crab-eating fox (*Dusicyon thous*) seed dispersal and food habits in southeastern Brazil. **Mammalia**, v.58, n.1, p.156-159, 1994.

NAITO, Y.; KANZAKI, M.; IWATA, H.; OBAYASHI, K.; LEE, S.L.; MUHAMMAD, N.; OKUDO, T.; TSUMURA, Y. Density-dependent selfing and its effects on seed performance in a tropical canopy tree species, *Shorea acuminata* (Dipterocarpaceae). **Forest Ecology and Management**, v.256, p.375-383, 2008.

NAKANO, M.; KIGOSHI, K.; SHIMIZU, T.; ENDO, T.; SHIMADA, T.; FUJII, H.; OMURA, M. Characterization of genes associated with polyembryony and in vitro somatic embryogenesis in Citrus. **Tree Genetics & Genomes**, v.9, n.3, p.795-803, 2013.

NAZARENO, A.G.; REIS, M.S. The same but diferente: monomorphic microsatellite markers as a new tool for genetic analysis. **American Journal of Botany**, v.98, n.10, p.265-267, 2011.

NEI, M.; MARUYAMA, T.; CHAKRABORTY, R. The bottleneck effect and genetic variability in populations. **Evolution**, v.29, p.1-10, 1975.

NEI, M.F. **Molecular evolutionary genetics**. New York: Columbia University Press, 1987. 512 p.

OLIVEIRA, A.L.; BRUNINI, M.A.; SALANDINI, C.A.R.; BAZZO, F.R. Caracterização tecnológica de jabuticabas 'Sabará' provenientes de diferentes regiões de cultivo. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.25, n.3, p.397-400, 2003.

OLSEN, J.L.; STAM, W.T.; COYER, J.A.; REUSCH, T.B.; BILLINGHAM, M.; BOSTRÖM, C.; CALVERT, E.; CHRISTIE, H.; GRANGER, S.; LA LUMIÈRE, R.; MILCHAKOVA, N.; OUDOT-LE SECQ, M.P.; PROCACCINI, G.; SANJABI, B.; SERRAO, E.; VELDSINK, J.; WIDDICOMBE, S.; WYLLIE-ECHEVERRIA, S. North Atlantic phylogeography and large scale population differentiation of the seagrass *Zostera marina* L. **Molecular Ecology**, v.13, n.7, p.1923-1941, 2004.

PAKKAD, G.; UENO, S.; YOSHIMARU, H. Gene flow and mating system in a small population of *Quercus semiserrata* Roxb. (Fagaceae). **Forest Ecology and Management**, v.255, p.3819-3826, 2008.

PEREIRA, M.; OLIVEIRA, A.L.; PEREIRA, R.E.A.; SENA, J.A.D.; COSTA, J.R.V.; ALMEIDA, M.; GONÇALVES, A.N. Morphologic and molecular characterization of *Myrciaria* spp. species. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.27, n.3, p.507-510, 2005.

PIRY, S.; LUIKART, G.; CORNUET, J.M. BOTTLENECK: a computer program for detecting recent reductions in the effective population size using allele frequency data. **Journal of Heredity**, v.90, p.502-503, 1999.

PIZO, M.A.; VIEIRA, E.M. Palm harvesting affects seed predation of *Euterpe edulis*, a threatened palm of the Brazilian Atlantic Forest. **Brazilian Journal of Biology**, v.64, n.3b, p.669-676, 2004.

REIS, M.S.; LADIO, A.; PERONI, N. Landscapes with Araucaria in South America: evidence for a cultural dimension. **Ecology and Society**, v.19, n.2, p.43-56, 2014.

RICHARDS, A.J. Apomixis in flowering plants: an overview. **Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences**, v.358, p.1085-1093, 2003.

SÁ, L.Z.C.M.; CASTRO, P.F.S.; LINO, F.M.A.; BERNARDES, M.J.C.; VIEGAS, J.C.J.; DINIS, T.C.P.; SANTANA, M.J.; ROMAO, W.; VAZ, B.G.; LIÃO, L.M.; GHEDINI, P.C.; ROCHA, M.L.; GIL, E.S. Antioxidant potential and vasodilatory activity of fermented beverages of jaboticaba berry (*Myrciaria jaboticaba*). **Journal of Functional Foods**, v.8, p.169-179, 2014.

SASSO, S.A.Z.; CITADIN, I.; DANNER, M.A. Propagação de jaboticabeira por estaquia. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.32, n.2, p.577-583, 2010a.

SASSO, S.A.Z.; CITADIN, I.; DANNER, M.A. Propagação de jaboticabeira por enxertia e alporquia. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.32, n.2, p.571-576, 2010b.

SATO, T.; ISAGI, Y.; SAKIO, H. OSUMI, K.; GOTO, S. Effect of gene flow on spatial genetic structure in the riparian canopy tree *Cercidiphyllum japonicum* revealed by microsatellite analysis. **Heredity**, v.96, p.79-84, 2006.

SAVOLAINEN, O.; KARKKAINEN, K.; KUITTINEN, H. Estimating numbers of embryonic lethals in Conifers. **Heredity**, v.69, p.308-314, 1992.

SEBBENN, A.M. Tamanho amostral para conservação *ex situ* de espécies arbóreas com sistema misto de reprodução. **Revista do Instituto Florestal de São Paulo**, v.15, n.2. p.147-162, 2003.

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

SETSUKO, S.; ISHIDA, K.; TOMARU, N. Size distribution and genetic structure in relation to clonal growth within a population of *Magnolia tomentosa* Thunb.

(Magnoliaceae). **Molecular Ecology**, v.13, p.2645-2653, 2004.

SILVA, C.R.S.; ALBUQUERQUE, P.S.B.; ERVEDOSA, F.R.; MOTA, J.W.S.; FIGUEIRA, A.; SEBBENN, A.M. Understanding the genetic diversity, spatial genetic structure and mating system at the hierarchical levels of fruits and individuals of a continuous *Theobroma cacao* population from the Brazilian Amazon. **Heredity**, v.106, p.973-985, 2011.

SILVEIRA, F.T.; ORTOLANI, F.A.; MATAQUEIRO, M.F.; MORO, J.R. Caracterização citogenética em duas espécies do gênero Myrciaria. **Revista de Biologia e Ciências da Terra**, v.6, n.2, p.327-333, 2006.

SILVERTOWN, J. The evolutionary maintenance of sexual reproduction: evidence from ecological distribution of asexual reproduction in clonal plants. **International Journal of Plant Science**, v.169, n.1, p.157-168, 2008.

SMOUSE, P.E.; PEAKALL, R. Spatial autocorrelation analysis of individual multiallele and multilocus genetic structure. **Heredity**, v.82, n.5, p.561-573, 1999.

SORK, V.L.; SMOUSE, P.E. Genetic analysis of landscape connectivity in tree populations. **Landscape Ecology**, v.21, p.821-836, 2006.

SOUZA, A.F. Ecological interpretation of multiple population size structures in trees: The case of *Araucaria angustifolia* in South America. **Australian Ecology**, v.32, p.524-533, 2007.

SOUZA, A.F.; FORGIARINI, C.; LONGHI, S.J.; BRENA, D.A. Regeneration patterns of a long-lived dominant conifer and the effects of logging in southern South America. **Acta Oecologica**, v.34, p.221-232, 2008.

TEIXEIRA, L.N.; STRINGHETA, P.C.; OLIVEIRA, F.C. Comparação de métodos para quantificação de antocianinas. **Revista Ceres**, v.55, n.4, p.297-304, 2008.

VARVIO, S.L.; CHAKRABORTY, R.; NEI, M. Genetic variation in subdivided populations and conservation genetics. **Heredity**, v.57, p.189-198, 1986.

VEKEMANS, X.; HARDY, O.J. New insights from fine-scale spatial genetic structure analyses in plant populations. **Molecular Ecology**, v.13, p.921-935, 2004.

VIEGAS, M.P.; SILVA, C.L.S.P.; MOREIRA, J.M.; CARDIN, L.T.; AZEVEDO, V.C.R.; CIAMPI, A.Y.; FREITAS, M.L.M.; MORAES, M.L.T.; SEBBENN, A.M. Diversidade genética e tamanho efetivo de duas populações de *Myracrodruon urundeuva* Fr. All., sob conservação *ex situ*. **Revista Árvore**, v.35, n.4, p.769-779, 2011.

VIEIRA, F.A.; CARVALHO, D.; HIGUCHI, P.; MACHADO, E.L.M.; SANTOS, R.M. Spatial pattern and fine-scale genetic structure indicating recent colonization of the palm *Euterpe edulis* in a Brazilian Atlantic forest fragment. **Biochemical Genetics**, v.48, n.1, p.96-103, 2010.

VIEIRA, V.L.L.P.; FERREIRA, W.R. A festa da jabuticaba e o empreendedorismo

feminino no município de Sabará/MG. **Revista Brasileira de Gestão e Engenharia**, n.8, p.1-28, 2013.

VILELA, R.C.F.; ASSIS, J.G.A.; NOBREGA FILHO, L.; VIANA, B.F. Sistema reprodutivo e diversidade genética de quatro espécies de *Myrciaria* (Myrtaceae, jabuticabeiras). **Acta Botanica Brasilica**, v.26, n.4, p.727-734, 2012.

WAGNER JÚNIOR, A.; COSTA E SILVA, J.O.; PIMENTEL, L.D.; SANTOS, C.E.M.; BRUCKNER, C.H. Germinação e desenvolvimento inicial de duas espécies de jabuticabeira em função do tamanho de sementes. **Acta Scientiarum - Agronomy**, v.33, n.1, p.105-109, 2011.

WHITE, G.M.; BOSHIER, D.H.; POWELL, W. Genetic variation within a fragmented population of *Swietenia humilis* Zucc. **Molecular Ecology**, v.8, p.1899-1909, 1999.

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

WRIGHT, S. Isolation by distance. **Genetics**, v.28, p.114-138, 1943.

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Para melhor entender e utilizar os resultados deste estudo é necessário a realização de mais pesquisas, seguindo os seguintes passos: 1) ampliar o número de marcadores microssatélites utilizados na genotipagem, para discriminar com maior confiança os genótipos clonais; 2) genotipar sementes formadas de matrizes dos sete genótipos distintos na população, para confirmar ou refutar a ocorrência de seleção à favor de clones e verificar o sistema de reprodução da espécie e a ocorrência de imigração de pólen; 3) genotipar outras populações de jabuticabeira na região Sudoeste do Paraná, para verificar se este padrão de ocorrência de clonagem se repete. Estes trabalhos permitirão a ampliação do entendimento da ecologia e demografia da espécie, visando subsidiar o manejo e conservação *in situ* e a coleta de germoplasma para a conservação *ex situ*.

De forma complementar aos estudos de genética de populações da jabuticabeira, são necessários estudos sobre biologia floral, fenologia reprodutiva, distribuição espacial e regeneração da espécie, os quais são ainda incipientes com a espécie no Brasil.

A caracterização das populações de jabuticabeira na região Sudoeste do Paraná deve ser prioridade visando à conservação de recursos genéticos da espécie, pois parece ser uma das únicas regiões com grande distribuição desta planta em florestas naturais no Brasil.

APÊNDICES

APÊNDICE 01 - Altura (H, em metros) e diâmetro à altura do peito (DAP, em centímetros) de jabuticabeiras (*Plinia cauliflora*) adultas no fragmento florestal de Vitorino, Paraná. UTFPR, Campus Pato Branco, 2016.

N°	H	DAP	N°	H	DAP	N°	H	DAP	N°	H	DAP	N°	H	DAP
1	15,0	51,9	47	22,8	50,6	95	15,0	53,2	144	20,0	38,2	188	20,0	41,4
2	14,0	43,0	48	10,8	50,9	97	9,0	25,5	145	15,2	16,6	189	21,0	45,2
3	13,7	39,2	49	13,3	42,7	98	17,0	49,3	146	17,7	28,3	200	19,0	51,6
4	15,5	52,8	50	19,0	73,2	102	18,0	45,8	147	17,2	25,2	201	21,3	66,2
5	12,8	14,5	51	19,0	70,0	103	17,0	37,6	148	18,0	29,6	202	21,0	38,5
6	13,7	55,4	52	13,5	57,3	104	16,3	35,7	149	21,0	40,1	203	20,5	69,7
7	12,5	45,2	53	19,5	54,1	105	16,9	25,8	150	22,0	41,4	204	20,0	27,1
8	21,2	47,3	61	19,6	51,6	106	18,0	32,8	151	20,0	41,1	205	18,7	32,8
9	17,9	41,5	62	16,0	33,4	107	17,0	43,9	152	21,0	49,3	206	15,8	25,2
10	19,0	48,7	63	16,3	38,5	108	16,3	33,1	153	16,5	32,8	207	22,0	43,9
11	18,5	48,4	64	19,8	52,8	109	17,1	38,8	154	17,3	37,2	208	19,8	39,5
12	15,8	43,5	65	20,0	24,2	114	19,0	54,1	155	20,7	74,8	209	16,5	26,4
13	19,4	57,4	66	16,0	17,5	115	17,8	43,9	156	20,5	44,3	210	18,2	10,5
14	18,7	49,0	67	18,0	34,1	116	13,5	14,0	157	17,9	49,3	212	16,8	46,8
15	19,0	54,1	68	19,0	35,0	117	17,0	14,3	158	21,0	41,1	213	23,0	38,5
16	8,7	23,4	69	18,0	30,2	118	11,4	43,9	159	15,6	36,3	216	17,0	32,5
17a	19,6	44,9	70	17,7	43,6	119	12,4	38,2	160	22,0	43,0	217	23,6	82,4
17b	18,0	43,0	71	18,0	37,9	120	10,8	37,6	161	23,8	37,9	218	17,8	49,0
18a	19,0	85,9	72	6,3	14,3	121	18,8	30,6	162	20,5	40,7	219	18,0	36,0
18b	16,0	50,9	73	16,7	56,3	122	18,0	31,5	163	17,3	18,1	220	17,9	51,6
19	9,7	15,6	74	16,8	46,8	124	11,7	14,6	164	19,8	53,8	221	19,0	31,8
25	14,0	16,6	75	20,0	46,8	125	15,0	17,5	165	21,0	49,3	222	15,3	43,3
27	20,0	42,3	76	19,0	50,9	126	14,2	41,4	166	21,0	49,0	223	20,5	48,4
28	18,8	28,3	77	18,7	21,7	127	14,3	45,2	167	19,6	32,8	224	23,0	50,6
29	18,8	28,7	78	8,8	14,6	128	14,5	43,0	168	19,5	29,9	225	22,5	49,0
30	7,5	38,8	79	10,0	22,3	129	15,2	44,6	170	19,8	34,4	226	15,5	29,9
31	18,3	12,7	80	15,5	37,9	130	11,0	25,8	171	19,0	30,6	227	19,0	36,0
32	17,2	37,6	81	15,9	31,2	131	14,0	25,5	172	16,4	10,5	228	15,0	39,8
33	18,7	48,4	82	18,0	31,8	132a	11,0	35,7	173	21,2	49,7	229	20,0	38,2
35	19,0	42,7	83	18,0	31,8	132b	11,0	35,0	174	16,9	47,8	230	21,5	42,7
36	17,2	39,3	84	10,0	17,8	133	14,0	38,5	175	23,5	49,3	231	20,5	42,3
37	10,9	33,9	85	15,6	56,7	134	15,0	18,8	176	23,5	57,3	232	22,0	52,2
38	18,6	52,5	86	16,5	53,5	135	22,6	59,5	177	20,0	48,4	233	20,0	42,0
39	19,2	49,3	87	18,0	37,6	136	20,0	50,9	178	21,5	57,3	234	20,0	42,7
40	14,5	37,6	88	17,0	36,3	137	15,0	30,9	179	20,0	54,1	238	21,8	48,7
41	23,4	52,5	89	22,0	42,3	138	14,9	30,9	181	21,5	34,4	239	19,0	15,6
42	23,0	50,9	90	13,9	35,7	139	20,9	71,6	182	10,0	31,2	240	23,0	43,0
43	20,9	50,0	91	12,1	24,5	140	19,0	19,1	183	22,0	33,4	241	23,0	43,9
44	12,4	16,9	92	14,8	40,1	141	16,6	54,8	184	21,5	55,7	242	24,0	43,9
45	15,0	39,8	93	16,0	31,5	142	23,3	50,9	185	20,6	44,6	244	1,2	4,1
46	23,7	82,8	94	10,7	41,1	143	20,5	43,0	185	20,6	44,6			

APÊNDICE 02 - Altura (H, em metros) e diâmetro à altura do peito (DAP, em centímetros) de jabuticabeiras (*Plinia cauliflora*) juvenis no fragmento florestal de Vitorino, Paraná. UTFPR, Campus Pato Branco, 2016.

N°	H	DAP	N°	H	DAP	N°	H	DAP	N°	H	DAP	N°	H	DAP
3	2,20	3,50	43	0,20	0,22	74	0,90	0,22	119	0,20	0,22	148	0,30	0,22
4	0,40	0,22	44	0,20	0,22	76	0,80	1,59	121	0,20	0,22	150	0,50	0,22
6	0,50	0,66	45	0,40	0,22	83	0,20	0,22	122	0,20	0,22	152	0,50	0,22
8	1,70	2,01	49	0,30	0,22	84	0,20	0,22	123	0,30	0,22	153	0,50	1,18
17	0,80	0,95	50	0,30	0,22	93	0,90	1,08	124	0,50	0,92	154	0,30	1,18
20	0,60	0,89	51	0,50	0,22	94	0,30	0,22	125	0,60	1,15	155	0,60	0,64
21	0,50	0,70	52	0,50	0,22	95	0,30	0,22	129	0,80	1,24	156	1,40	1,59
22	0,30	0,22	53	1,20	1,78	97	0,40	0,22	130	0,20	0,22	157	0,70	1,27
23	0,40	1,05	58	0,30	0,22	99	0,20	0,22	131	0,50	0,22	158	1,70	1,59
24	0,30	0,22	59	0,00	0,22	100	0,30	0,22	132	0,50	0,22	159	0,60	0,64
25	0,50	0,46	61	0,30	0,22	101	0,30	0,22	133	0,30	0,16	161	6,00	9,55
27	0,30	0,22	62	0,40	0,22	102	0,20	0,22	135	0,60	0,22	162	0,60	0,32
29	0,40	0,22	64	0,40	0,22	103	0,30	0,22	136	0,20	0,22	163	0,60	0,64
30	0,30	0,22	65	0,20	0,22	104	0,60	0,60	137	0,30	0,22	164	0,40	0,80
34	0,50	0,92	66	0,30	0,22	106	0,40	0,22	140	0,40	0,22	165	0,70	0,64
35	0,30	0,22	67	0,30	0,22	108	1,00	1,21	141	0,40	0,22	166	0,70	0,64
36	0,30	0,73	68	0,20	0,22	110	1,10	1,56	142	0,40	0,60	167	1,80	2,86
37	0,40	0,89	70	0,20	0,22	113	0,30	0,22	143	0,40	0,83	172	0,30	0,64
40	0,60	0,22	71	0,30	0,22	115	0,30	0,22	144	0,90	1,37	188	0,70	0,37
41	0,40	0,22	72	0,30	0,22	116	0,20	0,22	146	0,20	0,22	109a	0,20	0,22
42	0,40	0,92	73	0,70	1,23	118	0,30	0,22	147	0,40	0,22	109b	0,20	0,22

APÊNDICE 03 - Distribuição espacial dos sete clones de jabuticabeiras (*Plinia cauliflora*) adultas e juvenis em fragmento florestal de Vitorino, Paraná. UTFPR, Campus Pato Branco, 2016.

