

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA**

**CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS**

**CURSO DE GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA**

**CARACTERIZAÇÃO DA DIVERSIDADE E ESTRUTURA GENÉTICA  
DE POPULAÇÕES NATURAIS DE *Calophyllum brasiliense* (CLUSIACEAE)  
EM SANTA CATARINA E IMPLICAÇÕES PARA A COLETA DE SEMENTES.**

**FERNANDO ANDRÉ LOCH SANTOS DA SILVA**

Trabalho de Conclusão  
de Curso apresentado à  
Universidade Federal de  
Santa Catarina, como  
requisito parcial para  
obtenção do título de  
Engenheiro Agrônomo.

**FLORIANÓPOLIS**

**JUNHO – 2011**

**FERNANDO ANDRÉ LOCH SANTOS DA SILVA**

**CARACTERIZAÇÃO DA DIVERSIDADE E ESTRUTURA GENÉTICA  
DE POPULAÇÕES NATURAIS DE *Calophyllum brasiliense* (CLUSIACEAE)  
EM SANTA CATARINA E IMPLICAÇÕES PARA A COLETA DE SEMENTES.**

Orientador: MAURÍCIO SEDREZ DOS REIS

Supervisor: RICARDO BITTENCOURT

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Universidade Federal de Santa Catarina, como requisito parcial para obtenção do título de Engenheiro Agrônomo.

**FLORIANÓPOLIS**

**JUNHO – 2011**

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

**CARACTERIZAÇÃO DA DIVERSIDADE E ESTRUTURA GENÉTICA  
DE POPULAÇÕES NATURAIS DE *Calophyllum brasiliense* (CLUSIACEAE)  
EM SANTA CATARINA E IMPLICAÇÕES PARA A COLETA DE SEMENTES.**

FERNANDO ANDRÉ LOCH SANTOS DA SILVA

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Universidade Federal de Santa Catarina, como requisito parcial para obtenção do título de Engenheiro Agrônomo.

**BANCA EXAMINADORA:**

---

Prof. Dr. Maurício Sedrez dos Reis  
(Orientador)

---

M.Sc. Ricardo Bittencourt  
(Supervisor)

---

Prof. Dra. Cileide M. M. Coelho Arruda de Souza  
(Membro da banca)

FLORIANÓPOLIS

JUNHO - 2011

## **AGRADECIMENTOS**

Aos meus pais, Jorge e Nalita e irmãos, Douglas e Carolina por toda dedicação, amor e carinho;

Aos meus familiares, pelos incentivos e momentos de alegria;

Ao professor Maurício Sedrez dos Reis, pela oportunidade e por toda orientação, dedicação e amizade durante estes 5 anos de vida acadêmica;

Aos produtores de mudas de Olandi em SC, pelas importantes informações cedidas;

Ao Eng. Agrônomo e amigo Ricardo Bittencourt, pela supervisão neste trabalho e também pelas valiosas sugestões;

A todos os amigos e colegas do Núcleo de Pesquisas em Florestas Tropicais, pelo auxílio nas coletas, análises em laboratório e valiosas discussões, especialmente: Felipe Steiner, Alex Zechini, Luiz Guilherme Ugioni, Juliano Zago, Diogo Klock, Samantha Filippin e Andréa Mattos.

Aos amigos e agregados da turma 2006.2, especialmente: Caio Dáros Fernandes, Georg Altrak, Tiago Montagna, Jociel Surdi, Lucas Benedet, Fernando de Luca e Dilton Martins, pela amizade, companheirismo e momentos de alegria durante a faculdade;

Ao CNPQ e FAPESC, pelo auxílio financeiro concedido.

Muito Obrigado!

# CARACTERIZAÇÃO DA DIVERSIDADE E ESTRUTURA GENÉTICA DE POPULAÇÕES NATURAIS DE *Calophyllum brasiliense* (CLUSIACEAE) EM SANTA CATARINA E IMPLICAÇÕES PARA A COLETA DE SEMENTES.

Autor: Fernando André Loch Santos da Silva

Orientador: Prof. Dr. Maurício Sedrez dos Reis

## RESUMO

*Calophyllum brasiliense* Camb. é conhecida popularmente no sul do Brasil como Olandi ou Guanandi. É uma espécie nativa da Mata Atlântica, ocorrendo em nosso estado em formações associadas denominadas de Florestas de Planícies Quaternárias, muito exploradas no passado. Sendo assim, a espécie foi incluída para caracterização da diversidade genética no âmbito do Inventário Florístico e Florestal de Santa Catarina devido a sua grande importância e potencial de representatividade nas Florestas de Planícies Quaternárias. Diante deste contexto, há a necessidade da recuperação destas áreas degradadas, e a falta de sementes com boa qualidade genética é um fator limitante para a recuperação destes ambientes. A estratégia de utilizar o tamanho efetivo para coletar um número adequado de plantas matrizes, auxilia na redução de problemas como a endogamia e deriva genética, minimizando problemas nas gerações futuras. Foram amostradas nove populações naturais de *C. brasiliense* no litoral de Santa Catarina, nas quais foram coletados em média 51 indivíduos adultos, em áreas de ocorrência de florestas de planície quaternária. Foram empregados 10 sistemas isoenzimáticos para analisar a diversidade genética da espécie, ambos em tampão Tris-Citrato (*IDH, 6PGDH, PGI, PGM, SKDH, GOT, PRX, ME, MDH e DIA*). Foram feitas visitas técnicas a três viveiros que comercializam mudas de *C. brasiliense* com o intuito de compreender as metodologias que envolvem a coleta de sementes da espécie. Os 14 locos alozímicos (9 polimórficos) estudados permitiram a detecção de 30 alelos, com uma média de 44,2% de locos polimórficos. A diversidade genética média ( $H_E$ ) foi 0,135, sendo este um valor intermediário. O índice de fixação ( $f$ ) médio foi de 0,259 e houve a presença de alelos raros em todas as populações. A divergência genética entre as populações ( $F_{ST}$ ) foi de 0,140 e entre as bacias hidrográficas foi de 0,057. O tamanho efetivo foi calculado através da

expressão  $N_e = \frac{n}{(1+f)}$  e foram determinados três valores de referência de tamanho

efetivo: 50, 500 e 1000. Em todas as populações o  $N_e$  foi menor do que o número de indivíduos coletados para todos os valores de referência, indicando assim uma menor representatividade genética. Para um valor de referência ( $N_e = 50$ ), seria necessário coletar em média ( $63 \pm 5$ ) indivíduos. Seria necessário coletar em média ( $629 \pm 26$ ) indivíduos para obter um  $N_e = 500$ . E para um tamanho efetivo de 1000, seria necessária uma amostragem de em média ( $1259 \pm 93$ ) indivíduos. Os fragmentos localizados em Gov. Celso Ramos, B. Camboriú e Araquari foram os que apresentaram os mais elevados índices de diversidade, sendo os prioritários para coleta de sementes em suas microrregiões/bacias hidrográficas, desde que alguns critérios de coleta sejam adotados. A atual metodologia de coleta de sementes realizada pelos produtores de mudas de *C. brasiliense* em SC pode comprometer os projetos de recuperação de áreas degradadas com a utilização da espécie.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Detalhe da casca de <i>C. brasiliense</i> com exsudação de látex e folhas e frutos de um exemplar da espécie.....	15
Figura 2: Municípios de coleta das populações naturais de <i>C. brasiliense</i> no estado de Santa Catarina. NPFT-UFSC, 2011.....	23
Figura 3: Bacias Hidrográficas de inserção dos municípios de coleta das populações naturais de <i>C. brasiliense</i> no estado de Santa Catarina. NPFT-UFSC, 2011.....	23
Figura 4: Microrregiões de coleta das populações naturais de <i>C. brasiliense</i> no estado de Santa Catarina. NPFT-UFSC, 2011.....	24
Figura 5: Imagem de satélite da área de estudo localizada no município de Florianópolis (SC), NPFT-UFSC, 2011.....	25
Figura 6: Imagem de satélite da área de estudo localizada no município de Governador Celso Ramos (SC), NPFT-UFSC, 2011.....	25
Figura 7: Imagem de satélite da área de estudo localizada no município de Tijucas (SC), NPFT-UFSC, 2011.....	26
Figura 8: Imagem de satélite da área de estudo localizada no município de Balneário Camboriú (SC), NPFT-UFSC, 2011.....	27
Figura 9: Imagem de satélite da área de estudo localizada no município de Itajaí (SC), NPFT-UFSC, 2011.....	27
Figura 10: Imagem de satélite da área de estudo localizada no município de Penha (SC), NPFT-UFSC, 2011.....	28
Figura 11: Imagem de satélite da área de estudo localizada no município de Araquari (SC), NPFT-UFSC, 2011.....	29
Figura 12: Imagem de satélite da área de estudo localizada no município de São Francisco do Sul (SC), NPFT-UFSC, 2011.....	29
Figura 13: Imagem de satélite da área de estudo localizada no município de Itapoá (SC), NPFT-UFSC, 2011.....	30
Figura 14: Identidades genéticas não viesadas de Nei (1978) entre as 9 populações de <i>C. brasiliense</i> no Estado de Santa Catarina, NPFT-UFSC, 2011.....	51
Figura 15: Correlograma de Mantel entre as distâncias genéticas e geográficas das nove populações naturais de <i>C. brasiliense</i> em SC. NPFT-UFSC, 2011.....	53

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Número de indivíduos, coordenadas e informações geográficas das 9 populações de estudo, NPFT-UFSC, 2011.....	21
Tabela 2: Sistemas enzimáticos analisados pela técnica de eletroforese de isoenzimas. NPFT-UFSC, 2011.....	32
Tabela 3: Freqüências alélicas em 14 locos enzimáticos em 9 populações naturais de <i>C. brasiliense</i> no Estado de Santa Catarina. NPFT-UFSC, 2011.....	38
Tabela 4: Freqüências alélicas em 14 locos enzimáticos nas 3 microrregiões/bacias hidrográficas de inserção de 9 populações naturais de <i>C. brasiliense</i> no Estado de Santa Catarina. NPFT-UFSC, 2011.....	41
Tabela 5: Índices de diversidade intrapopulacional, alelos raros e exclusivos de nove populações naturais de <i>C. brasiliense</i> em SC. NPFT-UFSC, 2011.....	43
Tabela 6: Índices de diversidade, alelos raros e exclusivos das 3 microrregiões e bacias hidrográficas de inserção das populações naturais de <i>C. brasiliense</i> em SC. NPFT-UFSC, 2011.....	47
Tabela 7: Índices de diversidade genética, divergência genética e fixação das nove populações naturais de <i>C. brasiliense</i> em SC. NPFT-UFSC, 2011.....	48
Tabela 8: Matriz de distâncias geográficas (em km) entre os 9 locais de coleta de <i>C. brasiliense</i> no estado de SC. NPFT-UFSC, 2011.....	51
Tabela 9: Matriz de distâncias genéticas baseados no GST de Hedrick para as nove populações naturais de <i>C. brasiliense</i> em SC. NPFT-UFSC, 2011.....	52
Tabela 10: Tamanho efetivo para os valores de referência 50, 500 e 1000 para as nove populações naturais de <i>C. brasiliense</i> no estado de SC. NPFT-UFSC, 2011.....	54
Tabela 11: Tamanho amostral, efetivo, razão do tamanho efetivo e amostral, área do fragmento e densidade (plantas/ha) de três das nove unidades amostrais analisadas, NPFT-UFSC, 2001.....	56
Tabela 12: Número de árvores necessárias para coleta de sementes visando um tamanho efetivo mínimo de 25 indivíduos. NPFT-UFSC, 2011.....	62

## SUMÁRIO

APRESENTAÇÃO .....	11
1. INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA.....	12
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	14
2.1 A ESPÉCIE.....	14
2.2 FLORESTAS DE PLANÍCIES QUATERNÁRIAS .....	16
2.3 COLETA DE SEMENTES.....	18
3. OBJETIVO GERAL .....	20
4. OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	20
5. MATERIAL E MÉTODOS.....	21
5.1 COLETA .....	21
5.2 DESCRIÇÃO DAS ÁREAS DE ESTUDO .....	23
5.3 ELETROFORESE DE ISOENZIMAS.....	31
5.4 SISTEMAS ENZIMÁTICOS .....	33
5.5 ANÁLISE DOS DADOS .....	34
5.5.1 Freqüências alélicas .....	34
5.5.2 Índices de diversidade genética.....	34
5.6 VISITAS TÉCNICAS A VIVEIROS DE PRODUÇÃO DE MUDAS DA ESPÉCIE EM SANTA CATARINA .....	37
6. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	37
6.1 FREQUÊNCIAS ALÉLICAS.....	37
6.1.1 Populações.....	37
6.1.2 Microrregiões e Bacias hidrográficas .....	41
6.2 ÍNDICES DE DIVERSIDADE .....	44
6.2.1 Populações.....	44
6.2.2 Microrregiões e Bacias hidrográficas .....	47

6.3	ESTRUTURA.....	49
6.4	DISTÂNCIAS GENÉTICAS E GEOGRÁFICAS .....	51
6.5	TAMANHO EFETIVO POPULACIONAL.....	54
6.6	RECOMENDAÇÕES DE COLETA .....	59
6.7	IMPLICAÇÕES DA COLETA DE SEMENTES REALIZADA ATUALMENTE POR PRODUTORES DE SANTA CATARINA .....	62
7.	CONSIDERAÇÕES FINAIS .....	64
8.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	66



## APRESENTAÇÃO

O presente trabalho tem o objetivo de apresentar as atividades desenvolvidas durante o estágio de conclusão no curso de Agronomia da Universidade Federal de Santa Catarina.

O estágio foi realizado durante o primeiro semestre letivo de 2011, no Núcleo de Pesquisas em Florestas Tropicais (NPFT) do Centro de Ciências Agrárias/ UFSC, que há 30 anos desenvolve atividades de pesquisa relacionadas à conservação e manejo de espécies nativas da Mata Atlântica, sob orientação do Prof. Dr. Maurício Sedrez dos Reis e supervisão do M.Sc. Ricardo Bittencourt

Este trabalho está inserido no contexto do projeto Inventário Florístico e Florestal de Santa Catarina (IFF-SC), realizado em parceria pela FURB (Blumenau), EPAGRI e UFSC, e financiado pela FAPESC, que tem como principais objetivos a elaboração da lista das espécies vegetais ameaçadas de extinção, e definição das áreas prioritárias para recuperação e recomposição dos recursos florestais nativos, em atendimento à Resolução CONAMA nº 278/2001, bem como fundamentar políticas públicas para o setor florestal catarinense (NPFT, 2008).

O NPFT está realizando a terceira etapa da meta responsável por diagnosticar e caracterizar a diversidade genética de populações naturais de 13 espécies presentes nas formações florestais do Estado de Santa Catarina empregando marcadores alozímicos.

Durante as duas primeiras etapas do IFF-SC, deu-se prioridade a aquelas espécies que constavam na lista de espécies da flora nativa ameaçadas de extinção (Port. 037/IBAMA/1992) e também com histórico de exploração e uso no Estado de Santa Catarina, como a Imbuia (*Ocotea porosa*), Araucária (*Araucaria angustifolia*), Xaxim (*Dicksonia selowianna*) e Palmiteiro (*Euterpe edulis*).

Na última etapa, foram elencadas outras espécies de importância que ocorrem naturalmente nas formações florestais de nosso estado, mesmo não constando da lista de espécies ameaçadas de extinção, porém devido as suas características ecológicas e a pressão antrópica sofrida, podem ser incluídas em nova lista.

Neste sentido, por sua representatividade nas florestas de planícies quaternárias o *Calophyllum brasiliense* (Olandi) foi uma das espécies elencadas pelo IFF-SC e escolhida para a realização deste trabalho.

## 1. INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA

A zona costeira do Brasil, desde o Rio Grande do Norte até o Rio Grande do Sul era originalmente ocupada por uma formação florestal tropical denominada de Mata Atlântica. Originalmente, esta formação cobria 1.306.421 km<sup>2</sup>, o que correspondia a quase 15% do território brasileiro (SementeSul, 2005).

Inserido integralmente no bioma Mata Atlântica, o Estado de Santa Catarina sofreu durante décadas a super exploração de forma não sustentável de seus recursos. Estima-se que atualmente apenas 36,5% do território catarinense seja coberto ainda por remanescentes de Mata Atlântica, sendo que apenas 5% pode ser considerado como mata primária (Vibrans, 2010). Estes remanescentes, em sua maioria se resumem em pequenos e isolados fragmentos florestais.

Os impactos da fragmentação das populações sobre a diversidade genética, diferenciação, endogamia e risco de extinção dependem do nível de fluxo gênico entre os fragmentos, que por sua vez depende do número de fragmentos populacionais, distribuição dos tamanhos populacionais nos fragmentos, distribuição geográfica das populações, distância entre os fragmentos, entre outros aspectos (Frankham, 2008).

Com a necessidade premente da conservação, manejo e recuperação dos fragmentos, do que resta da Floresta Tropical Atlântica, é imprescindível que conceitos teóricos básicos dos ecossistemas tropicais sejam invocados, para a construção de tecnologias adequadas para essas ações. Para análise da estrutura da população, julga-se fundamental a junção de conceitos da ecologia de populações e da genética de populações de forma a orientar as ações a serem efetuadas e definir parâmetros adequados para o monitoramento das mesmas (Kageyama & Gandara, 2003).

Neste sentido, surge a necessidade de estudos também a cerca das espécies mais importantes do ponto de vista do manejo e conservação, para que se norteiem planos de conservação do patrimônio natural catarinense (Eckel, 2003), além de

iniciativas que visem à recuperação de forma adequada, com a adoção de critérios, destas áreas degradadas. Além disto, é urgente a necessidade de diagnosticar e inventariar as condições e status de conservação das florestas nativas de Santa Catarina e também o contexto que as envolve (Bittencourt, 2004).

Os estudos relativos à caracterização da diversidade genética em populações naturais de plantas têm gerado grandes avanços no conhecimento relativo aos processos microevolutivos envolvidos, sendo que tais estudos trazem fundamentos tanto para o estabelecimento de estratégias de conservação, como também para o estabelecimento de estratégias de manejo sustentável das populações naturais de plantas (NPFT, 2008). Além disso, fornecem importantes informações para o estabelecimento de potenciais áreas de produção de sementes.

Estudos genéticos envolvendo espécies representativas para determinadas formações florestais, tanto em florestas primárias como em matas secundárias, vêm demonstrando o efeito da ação antrópica em suas populações naturais, auxiliando assim na definição dos parâmetros genéticos mais adequados para orientar e monitorar as ações nesses ecossistemas (Kageyama & Gandara, 1998).

As planícies foram as primeiras áreas a serem devastadas, devido ao fácil acesso e também a baixa declividade, simplificando assim o processo de devastação principalmente para expansão de atividades agrícolas e pecuárias (Atanazio, 1996) e nos últimos anos para a construção de empreendimentos imobiliários, principalmente em localidades próximas ao litoral.

Uma das espécies de fundamental importância nas florestas de planície quaternária que ocorrem no estado de Santa Catarina é o *Calophyllum brasiliense* Cambessedes (Clusiaceae), conhecido popularmente como Olandi ou Guanandi aqui no sul do Brasil (Carvalho, 2003).

Devido à situação atual em que se encontram grande parte dos remanescentes com ocorrência natural da espécie, o Olandi foi incluído na última fase da meta 3 do Inventário Florístico e Florestal de Santa Catarina (IFF-SC), responsável pela caracterização da diversidade genética das espécies.

## 2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 A ESPÉCIE

*Calophyllum* é um gênero de espécies arbóreas tropicais composto por cerca de 100 espécies distribuídas na América, Ásia, Madagascar e Austrália, sendo que a espécie *C. brasiliense* é a considerada de maior importância nas Américas (Flores, 2002).

O *Calophyllum brasiliense* Cambessedes (A. St. Hilaire, 1828) é conhecido popularmente como olandi, guanandi, jacareúba e guanandi-cedro. É uma espécie arbórea perenifólia pertencente à família Clusiaceae que possui uma ampla área de ocorrência natural, desde a latitude 18º N, na Costa Rica, até 28º10' no Brasil (Carvalho, 2003).

Em nosso país, ocorre naturalmente em diferentes biomas, podendo ser encontrado no Cerrado, Amazônia, Restingas e Mata Atlântica, abrangendo todas as cinco regiões geográficas brasileiras, sempre em planícies inundadas temporariamente (Carvalho, 2003) e no estado de Santa Catarina está limitada quase exclusivamente às planícies do quaternário do litoral, onde pode tornar-se muito freqüente e nos solos brejosos ou muito úmidos é uma das espécies dominantes, constituindo os denominados olandizais que são observados ao longo do litoral, desde o município de Garuva até Paulo Lopes, onde já é bastante rara (Reitz *et al.*, 1979).

É uma espécie heliófita que costuma ser abundante nas áreas brejosas das matas de planícies quaternárias de quase todo litoral catarinense (Eckel, 2003) e também ocorre naturalmente em solos aluviais com drenagem deficiente, em locais úmidos periodicamente inundáveis e brejosos, com textura arenosa a franca, e ácidos (pH 4,5 a 6,0) (Carvalho, 2003), podendo também desenvolver-se em solos com características edáficas semelhante aos manguezais (Klein, 1978b), não tolerando baixas temperaturas (Carvalho, 2003). Sua madeira é considerada imputrescível por muitas vezes estar submersa em água, além de pesada e dura (Klein, 1978b).

Na região sul pode atingir uma altura de até 25 metros e um diâmetro de 70 cm na altura do peito (Reitz, 1979) e seu tronco reto e cilíndrico pode apresentar um fuste de até 15 metros (Carvalho, 2003). A casca externa é marrom escura e finamente fissurada de alto a baixo e a casca interna é rósea e aromática, que exsuda látex

amarelo-esverdeado (Figura 1) e possui uma copa larga, arredondada e densa, apresentando uma folhagem de coloração verde-escura (Carvalho, 2003).

A espécie apresenta sistema reprodutivo complexo, pois possui flores hermafroditas e masculinas em indivíduos separados ou em diferentes proporções num mesmo indivíduo (Botrel *et al.*, 2006). Segundo Sebbenn (2006) são classificadas como androdíicas, pois apresentam tanto plantas bissexuais com flores femininas e masculinas (hermafroditas ou monóicas), como unisexuais masculinas. As flores masculinas são similares as hermafroditas na morfologia e tamanho, exceto pela ausência do pistilo (Fisher & Santos, 2001).

A época de floração é bastante variável, sendo que a frutificação ocorre durante os meses de julho a novembro, no estado de Santa Catarina (Carvalho, 2003). Suas flores são polígamas, ordenadas em címulas trifloras que se dispõem em curtos racemos axilares (Reitz, 1979). O fruto é do tipo drupa globosa, indeiscente e o pericarpo de coloração verde lactescente quando madura (Figura 1) e a dispersão dos frutos e sementes pode ser autocórica e hidrocórica, porém ocorre predominantemente de forma zoocórica (Carvalho, 2003).

Sua madeira possui excelentes características e diversos usos (Flores, 2002) sendo comumente empregada na construção naval, construção cível, carpintaria e produção de móveis, dentre outros (Reitz *et al.*, 1978; Carvalho, 2003). Devido a elevada oferta de frutos e conseqüente procura pela fauna, a espécie é indicada para ser utilizada projetos de recuperação ambiental, principalmente da mata ciliar em ambientes com drenagem insuficiente (Carvalho, 2003).



**Figura 1:** detalhe da casca de *C. brasiliense* com exsudação de látex e folhas e frutos de um exemplar da espécie. (Fotos: Priscila Moreira Ambrósio, 2011).

## 2.2 FLORESTAS DE PLANÍCIES QUATERNÁRIAS

As planícies quaternárias são áreas planas e arenosas presentes no litoral de Santa Catarina, formadas por sedimentos marinhos durante o período geológico do quaternário (há pelo menos cinco mil anos), constituindo exatamente os solos das restingas (Cecca, 1997; Caruso, 1990; Bisheimer, 2010).

Os solos desta formação florestal apresentam maior quantidade de matéria orgânica, umidade e sedimentos como argila das encostas próximas, resultado de um contínuo processo de evolução, a partir de um ambiente antes ocupado pela restinga (Cecca, 1997; Bisheimer, 2010). É uma vegetação de transição entre a restinga e a Floresta Ombrófila Densa (Cecca, 1997), ou Floresta Pluvial da Encosta Atlântica (Klein, 1978a), possuindo maior diversidade de espécies que as áreas com vegetação de restinga e menor diversidade que a Floresta Pluvial da Encosta Atlântica (Bisheimer, 2010).

Na classificação realizada pelo IBGE (1992), esta formação é denominada de Floresta Ombrófila Densa Aluvial, e caracteriza-se por ser uma formação ribeirinha que ocorre ao longo dos cursos de água ocupando os terraços antigos das planícies

quaternárias. Esta formação é constituída por macro, meso e microfanerófitos, de rápido crescimento e em geral possuem casca lisa, tronco cônico e raízes tabulares.

A floresta aluvial apresenta com freqüência um dossel emergente, entretanto, devido a exploração principalmente para fins madeireiros, a sua fisionomia torna-se bastante aberta. É uma formação com muitas palmeiras no estrato intermediário, apresentando na submata nanofanerófitos e caméfitos no meio de plântulas de regeneração natural do estrato emergente (IBGE, 1992).

O estrato superior das florestas de planície quaternária atinge em média 15 metros de altura, sendo o olandi (*Calophyllum brasiliense*) a espécie característica a ocupar este estrato (Bisheimer, 2010). Outras espécies como a copiúva (*Tapirira guianensis*), figueira-da-folha-miúda (*Ficus organensis*), figueira-do-brejo (*Coussapoa schottii*), ipê-da-várzea (*Tabebuia umbellata*) também figuram no estrato superior (Bisheimer, 2010). No estrato médio destacam-se o guamirim-de-facho (*Myrcia dichrophylla*) e o cambuí (*M. multiflora*), e na vegetação arbustiva são freqüentes as palmeiras guaricana (*Geonoma schottiana*) e o tucum (*Bactris lindmaniana*) (Bisheimer, 2010).

Na descrição da cobertura vegetal do estado de Santa Catarina realizada por Klein (1978a), ele classifica a floresta tropical das planícies quaternárias setentrionais, que se estendem ao longo do litoral norte de SC, desde a desembocadura do rio Saí-guaçu até o rio Itapocu e são cobertas por um tipo bem característico de mata, bastante uniforme quanto à sua composição, bem como quanto ao seu aspecto fisionômico. Nesta formação predominam dois grupamentos distintos: O primeiro, com um aspecto mais homogêneo e bastante característico, com abundância de cupiúva (*Tapirira guianensis*), canela sassafrás (*Ocotea pretiosa*), canela amarela (*Ocotea aciphylla*), Olandi (*Calophyllum brasiliense*) e tanheiro (*Alchornea triplinervia*), que podem estar entremeadas por figueiras (*Ficus spp.*) de grande porte. O outro geralmente situa-se nas depressões do terreno, onde há pequenos cursos de água, caracterizado principalmente pela abundância do pau-de-santa-rita (*Richeria australis*).

Outras espécies características das planícies quaternárias, segundo Klein (1978a) são: o pau-angelim (*Andira fraxinifolia*), canela-sebo (*Persea racemosa*), o capororocão (*Rapanea venosa*), e a baga-de-pomba (*Byrsonima ligustrifolia*). Ainda segundo Klein (1978), no estrato médio destas matas podem-se encontrar as seguintes espécies: baga-de-morcego (*Guarea lessoniana*), cortiça (*Guatteria dusenii*), seca-ligeiro (*Pera glabrata*) e também o con-con (*Erytroxylum amplifolium*).

As florestas tropicais de planícies quaternárias ocorrem também no Sul do estado, na área compreendida entre Jaguaruna-Tubarão e o extremo sul (Sombrio e Praia Grande), onde predominam grandes planícies quaternárias de sedimentação marinha e terrestre, onde se encontra uma floresta muito característica, adaptada as condições edáficas especiais destas planícies úmidas, entretanto não há indícios de ocorrência natural de *C. brasiliense* na região (Klein, 1978a).

Segundo Cecca (1997), as florestas das planícies quaternárias na Ilha de SC encontram-se quase totalmente destruídas, pois suas áreas de ocorrência foram praticamente ocupadas pela agricultura e áreas de pastagem, principalmente devido a sua posição na paisagem (Bisheimer, 2010) restando atualmente apenas alguns capões isolados (Cecca, 1997). Nas últimas décadas, o processo de expansão das áreas urbanas concomitante com a crescente especulação imobiliária vem diminuindo consideravelmente os remanescentes florestais das planícies quaternárias (Cecca, 1997).

Neste sentido, fica clara a necessidade da recuperação dos ambientes no qual o Olandi ocorre naturalmente, assim como a criação de unidades de conservação em áreas de abrangência das florestas de planícies quaternárias, promovendo assim a manutenção deste ecossistema tão peculiar e importante para o estado de Santa Catarina.

## **2.3 COLETA DE SEMENTES**

A necessidade da restauração ambiental, após o forte processo de fragmentação provocado pelo uso da terra de forma não sustentável, tem levantado necessidades de caracteres técnicos bem diversificados, principalmente diante da forte mentalidade de que o modelo básico deve ser baseado nos plantios para produção (Reis & Wiesbauer, 2006).

Conforme Reis & Wiesbauer (2006), a deficiência de sementes para os projetos de restauração abre um campo de comercialização para os produtores que tenham este produto conforme as especificações necessárias previstas dentro da atual legislação de sementes (Lei nº 10.711 de 05/08/03 e Decreto nº 5.153 de 22/07/04).

Em programas de reflorestamento utilizando espécies nativas, um ponto de fundamental importância é a origem genética das sementes (Sebbenn, 2002). A origem ou procedência, número de matrizes, número de sementes coletadas e a contribuição gamética têm papel central no sucesso destes programas, sendo que a recuperação de áreas depende, em parte, do potencial genético do material utilizado no reflorestamento (Sebbenn, 2002).

Na prática, os produtores de mudas (viveiristas) estão utilizando sementes compradas de alguns poucos produtores que atuam no mercado nacional (Higa, 2006). Isso significa que grande parte das restaurações florestais está sendo realizada de forma inadequada sob o ponto de vista genético, pois não respeita a zona de coleta e o uso das sementes e como consequência pode haver uma diminuição na variabilidade genética da espécie (Higa, 2006).

A utilização de sementes coletadas de uma ou poucas árvores pode causar o que se conhece por “gargalo genético”, levando a fundação de populações sujeitas aos efeitos da deriva genética, como alterações nas frequências alélicas, perda e fixação de alelos, redução na heterozigosidade e aumento nos níveis de endogamia (Sebbenn, 2002).

A coleta de sementes para reflorestamentos ambientais requer a retirada de amostras representativas da variabilidade genética de uma ou várias populações, a fim de evitar endogamia nas futuras gerações e conservar o potencial evolutivo das espécies, sendo que é desejável que os plantios depois de estabelecidos, mantenham-se por tempo indefinido a partir de sementes originadas dos cruzamentos dos próprios indivíduos da população fundada (plantio) (Sebbenn, 2002).

Para Lorza (2002), a coleta de sementes em fragmentos florestais tem sido a principal forma de coletar para a produção de mudas, embora apresente dificuldades técnicas, principalmente nas distâncias e tempo de deslocamento para a marcação de matrizes e coleta de sementes, bem como na localização das espécies que ocorrem naturalmente em baixa densidade na floresta.

Sendo assim, a implantação de áreas produtoras de sementes seria uma alternativa de obtenção de sementes de um maior número de espécies em regiões geográficas mais restritas, o que facilitaria a coleta e, ao mesmo tempo, asseguraria a qualidade genética das sementes e das mudas a serem utilizadas nos projetos de restauração (Lorza, 2002).

Conforme o decreto nº 5.153 de 22/07/04, que é um regulamento da Lei 10.711 e que dispõe sobre o Sistema Nacional de Sementes e Mudas e em seu capítulo XII trata das espécies florestais, nativas ou exóticas e das de interesse medicinal e ambiental, existem diferentes tipos de áreas de coleta de sementes: Área natural de coleta de sementes, Área natural de coleta de sementes com matrizes marcadas, Área alterada de coleta de sementes, Área alterada de coleta de sementes com matrizes marcadas, Área de coleta de sementes com matrizes selecionadas e Área de produção de sementes.

Segundo Lorza (2002), entre os anos de 2001 e 2005 houve um grande impulso nos assuntos relacionados aos parâmetros de produção de sementes, em especial no que se refere à qualidade técnica e aos parâmetros genéticos. Esta evolução foi resultado da articulação das Redes de Sementes Florestais, do processo de discussão da e regulamentação da Lei de sementes (Lei 10.711/03) e do Decreto regulamentador 5.153/04.

Neste sentido, fica clara a necessidade da definição de possíveis áreas de coleta de sementes da espécie em Santa Catarina e também a adoção de critérios, sempre quando possível, e que estes sejam embasados em resultados da diversidade e estrutura genética.

### **3. OBJETIVO GERAL**

Caracterizar a diversidade e a estrutura genética de populações naturais de *Calophyllum brasiliense* no estado de Santa Catarina e estabelecer potenciais áreas para coleta de sementes da espécie a partir dos dados de diversidade genética

### **4. OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- Caracterizar os níveis de diversidade genética através de marcadores alozímicos de nove populações naturais da espécie em remanescentes de florestas de planícies quaternárias em Santa Catarina;

- Estimar a estrutura genética entre populações, bacias hidrográficas e microrregiões na área de ocorrência da espécie em SC;
- Gerar informações sobre o número de matrizes com potencial de produção de sementes por meio da caracterização do tamanho efetivo de cada população;
- Conhecer a cadeia produtiva de mudas e metodologias de coleta de sementes da espécie no âmbito estadual.

## 5. MATERIAL E MÉTODOS

### 5.1 COLETA

A intensa degradação dos ambientes naturais com ocorrência natural de *C. brasiliense* em Santa Catarina, principalmente nas áreas litorâneas onde existiam remanescentes de Florestas de Planície Quaternária, resultou na fragmentação florestal desse ambiente. Neste sentido, houve uma real dificuldade de encontrar remanescentes florestais que permitissem a amostragem adequada para a realização do trabalho.

Inicialmente, das 214 unidades amostrais (UAs) levantadas pela equipe de campo da FURB responsável pela Florística na Floresta Ombrófila Densa (FOD), 36 eram passíveis de ocorrência da espécie. Destas, 11 UAs apresentaram ocorrência de *C. brasiliense*, sendo que apenas 3 UAs foram utilizadas na realização deste trabalho, considerados aqueles fragmentos próximos a elas.

A amostragem para coleta de dados da parte Florística e Florestal do IFF-SC, realizada pela FURB, partiu da rede de pontos sistematizados (grade de pontos) de 10 x 10 km que cobria todo o Estado, onde logo após era realizada uma seleção das áreas com ocorrência de florestas. Cada UA é composta por um conglomerado básico com área total de 4.000m<sup>2</sup>, constituído por quatro subunidades, com área de 1.000m<sup>2</sup> cada, medindo 20m de largura e 50m de comprimento, orientadas na direção dos quatro pontos cardeais (Norte, Sul, Leste e Oeste), mantendo, cada uma, 30 m de distância do centro do conglomerado, conferindo ao mesmo uma área de inclusão de 2,56 ha (Vibrans, 2010).

Devido ao reduzido número e não ocorrência de indivíduos de *C. brasiliense* em grande parte das UAs amostradas foi necessária a utilização de outras áreas no Estado para a realização da coleta. Para isso, foram percorridos diversos municípios do Estado com histórico de ocorrência da espécie em busca de remanescentes florestais que permitissem a amostragem.

Nas populações amostradas, a coleta dos indivíduos adultos foi realizada aleatoriamente, procurando sempre respeitar uma distância mínima de 50 metros entre os indivíduos amostrados com o intuito de reduzir o efeito do cruzamento entre indivíduos aparentados. Procurou-se obter uma amostra de no mínimo 50 indivíduos por população, uma vez que Berg & Hamrick (1997) indicam que para a caracterização da diversidade genética são necessárias de 30 a 50 plantas por população.

Apenas a população localizada no município de Araquari apresentou uma amostra menor do que a recomendada, com 48 plantas coletadas. Nas outras oito populações, o número de indivíduos amostrados foi superior a recomendação de Berg & Hamrick (1997). Na tabela 1 estão expostas as informações de número de indivíduos coletados, coordenadas e informações geográficas das nove populações naturais de *C. brasiliense* utilizadas neste estudo.

**Tabela 1.** Número de indivíduos, coordenadas e informações geográficas das 9 populações de estudo, NPFT-UFSC, 2011.

Pop.	Município	Nº Indivíduos	Coordenadas geográficas	Microrregião	Bacia hidrográfica
1	Fpolis	52	27°28'16.01"S 48°29'16.44"O	Florianópolis/ Tijucas	Cubatão Sul/Biguaçu/Tijucas
2	Gov. Celso Ramos	52	27°20'31.17"S 48°36'24.38"O	Florianópolis/ Tijucas	Cubatão Sul/Biguaçu/Tijucas
3	Tijucas	52	27°13'31.80"S 48°39'45.00"O	Florianópolis/ Tijucas	Cubatão Sul/Biguaçu/Tijucas
5	B.Camboriú	54	27° 1'48.61"S 48°35'11.95"O	Itajaí	Itajaí
4	Itajaí	51	26°55'9.47"S 48°43'11.84"O	Itajaí	Itajaí
6	Penha	51	26°49'7.25"S 48°42'44.77"O	Itajaí	Itajaí
7	Araquari	48	26°31'57.72"S 48°38'53.89"O	Joinville	Itapocu/Cubatão Norte
8	S.Francisco do Sul	51	26°23'58.52"S 48°36'50.15"O	Joinville	Itapocu/Cubatão Norte

9	Itapoá	51	26° 0'9.78"S 48° 38'33.63"O	Joinville	Itapocu/Cubatão Norte
---	--------	----	--------------------------------	-----------	--------------------------

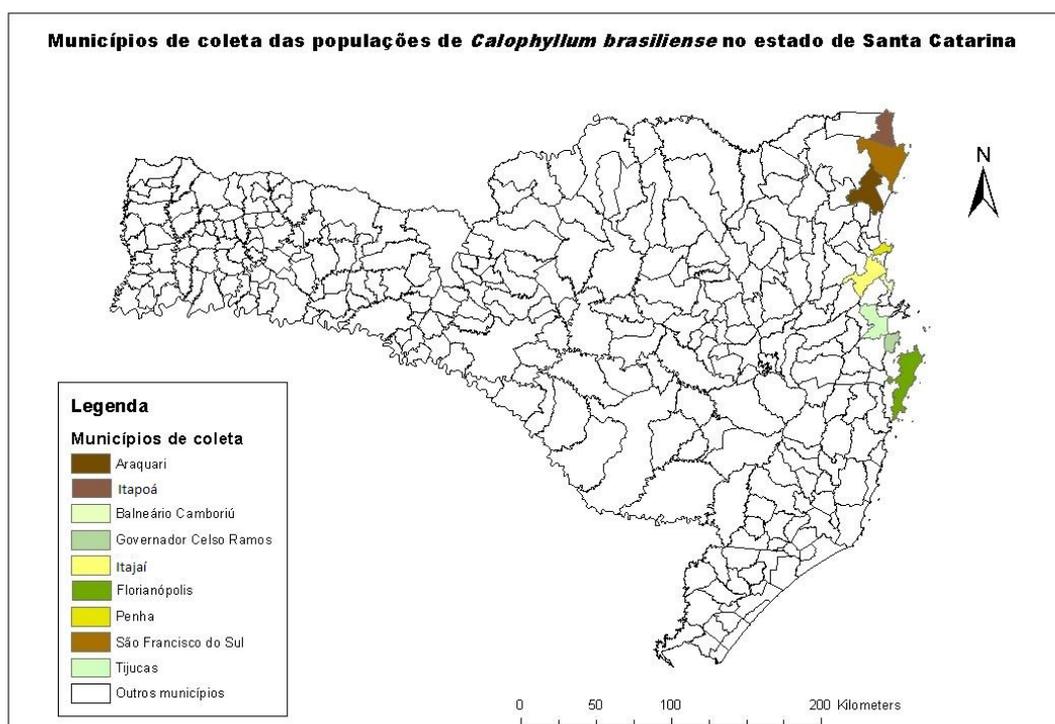
---

A coleta foi realizada com o auxílio de estilingue e pedras, uma vez que grande parte das árvores ultrapassava 10 metros de altura. Procurou-se sempre utilizar ramos com folhas intactas e viáveis para proporcionar uma adequada extração em laboratório.

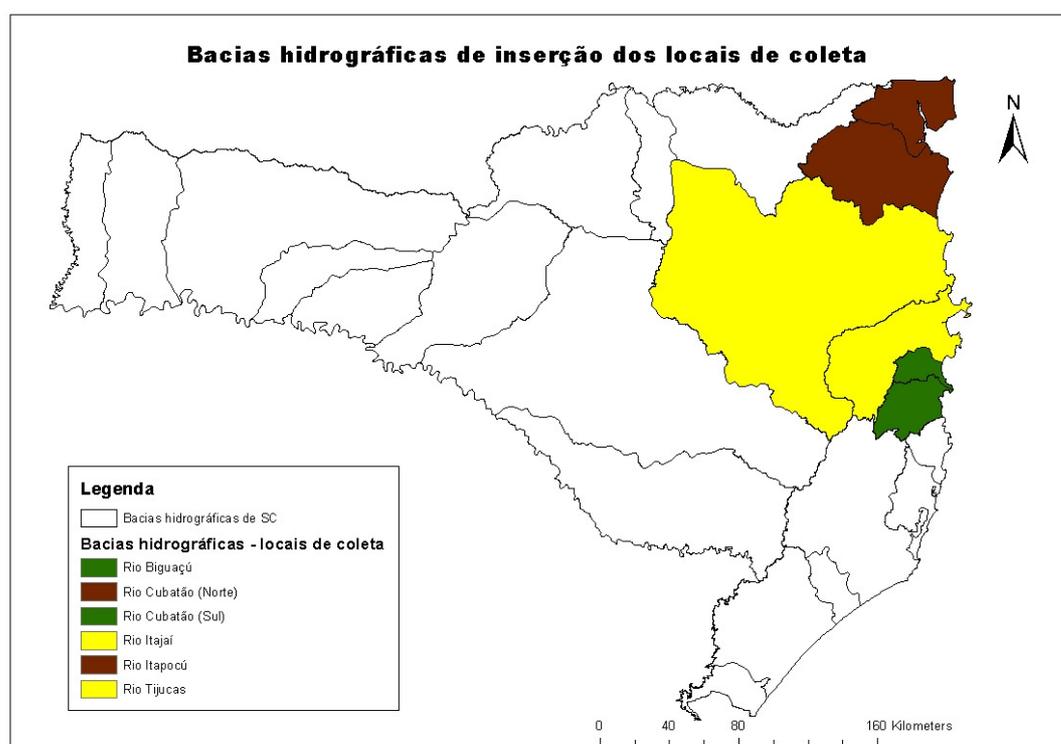
As amostras foram acondicionadas em sacos plásticos previamente identificados e armazenados em caixa térmica até o momento do transporte ao Laboratório de Fisiologia Desenvolvimento e Genética da UFSC, onde foram transferidas para a geladeira com temperatura em torno de 5° C, tudo isso para manter a atividade enzimática ativa. O material foliar foi mantido na geladeira até o momento da realização do procedimento de extração, que foi realizado sempre na semana subsequente a coleta das amostras.

## 5.2 DESCRIÇÃO DAS ÁREAS DE ESTUDO

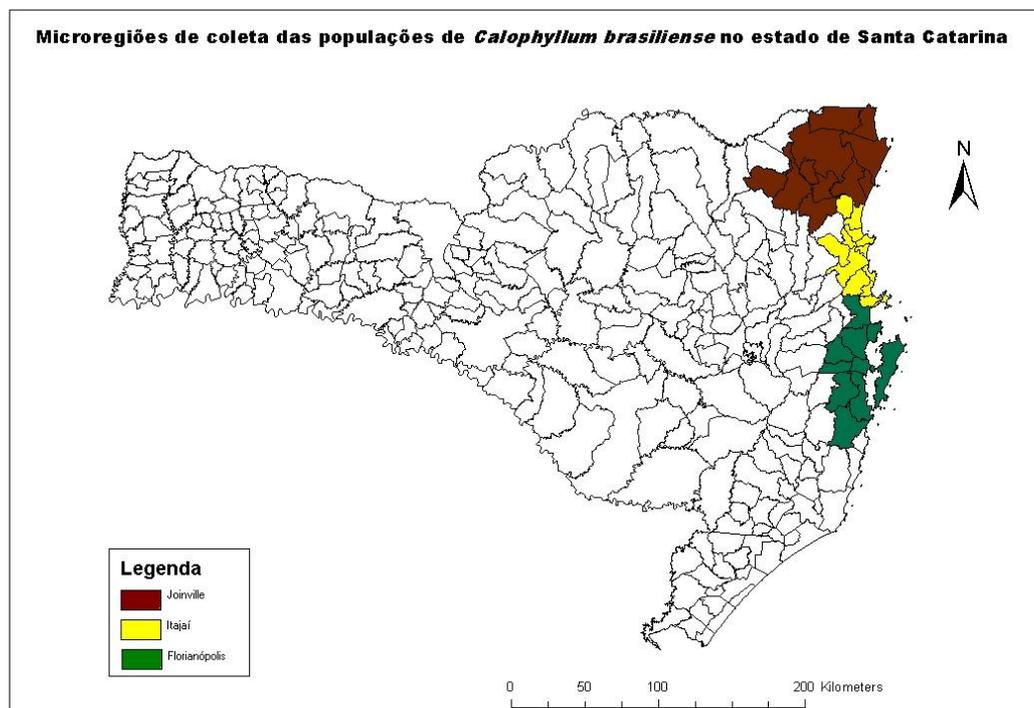
Os locais de estudo utilizados na realização deste trabalho abrangeram 9 municípios (Figura 2) no Estado de Santa Catarina, inseridos em três diferentes bacias hidrográficas (Figura 3) e microrregiões (Figura 4)



**Figura 2.** Municípios de coleta das populações naturais de *C. brasiliense* no estado de Santa Catarina. NPFT-UFSC, 2011.



**Figura 3.** Bacias Hidrográficas de inserção dos municípios de coleta das populações naturais de *C. brasiliense* no estado de Santa Catarina. NPFT-UFSC, 2011.



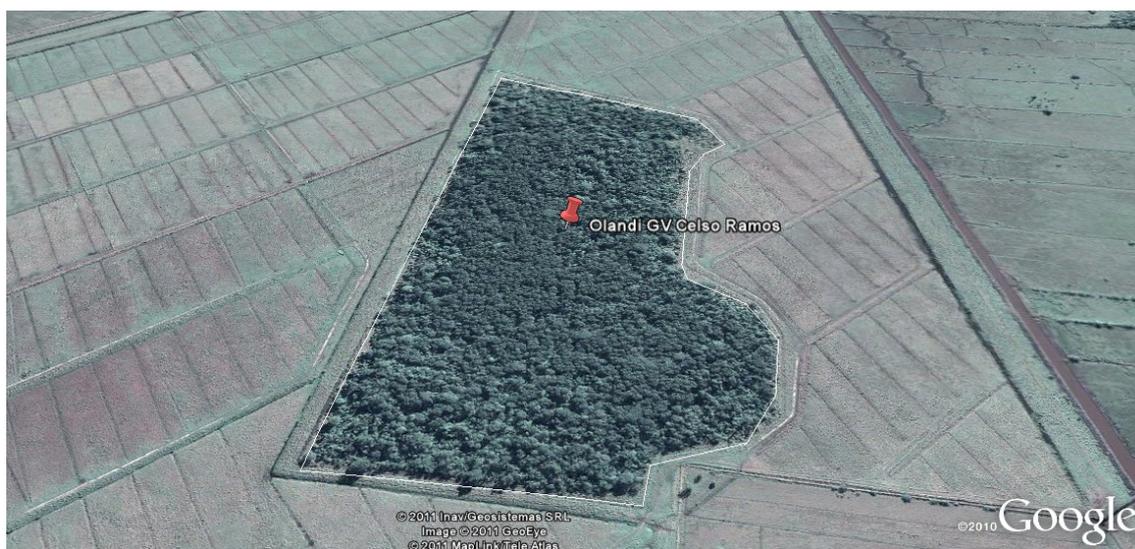
**Figura 4.** Microrregiões de coleta das populações naturais de *C. brasiliense* no estado de Santa Catarina. NPFT-UFSC, 2011.

1 – Florianópolis: área localizada no residencial Jurerê Internacional, no norte da Ilha de Santa Catarina, entre as coordenadas geográficas 27°28'16.01" Sul e 48°29'16.44" Oeste (Figura 5). Possui uma área aproximada de 100 hectares, porém aproximadamente 33,2 hectares existe a ocorrência natural da espécie, onde está em projeto a criação do Parque Municipal Reserva Natural do Olandi-Jurerê. Está inserida na bacia do Rio Ratonés e microrregião de Florianópolis, abrigando as seguintes formações vegetais distintas: manguezal, vegetação de transição e restinga arbórea.



**Figura 5.** Imagem de satélite da área de estudo localizada no município de Florianópolis (SC), NPFT-UFSC, 2011.

2 – Governador Celso Ramos: área localizada nas proximidades da SC-410, que liga a BR-101 ao município de Governador Celso Ramos, entre as coordenadas geográficas 27°20'31.17" Sul e 48°36'24.38" Oeste (Figura 6). É um pequeno e isolado fragmento florestal, entretanto bem conservado e sem o histórico de corte raso da vegetação, onde observa-se uma grande densidade de indivíduos regenerantes. Possui uma área aproximada de 39,9 hectares localizada em uma fazenda de bovinocultura de corte, que apresentou uma alta densidade de indivíduos de adultos de *C. brasiliense*.



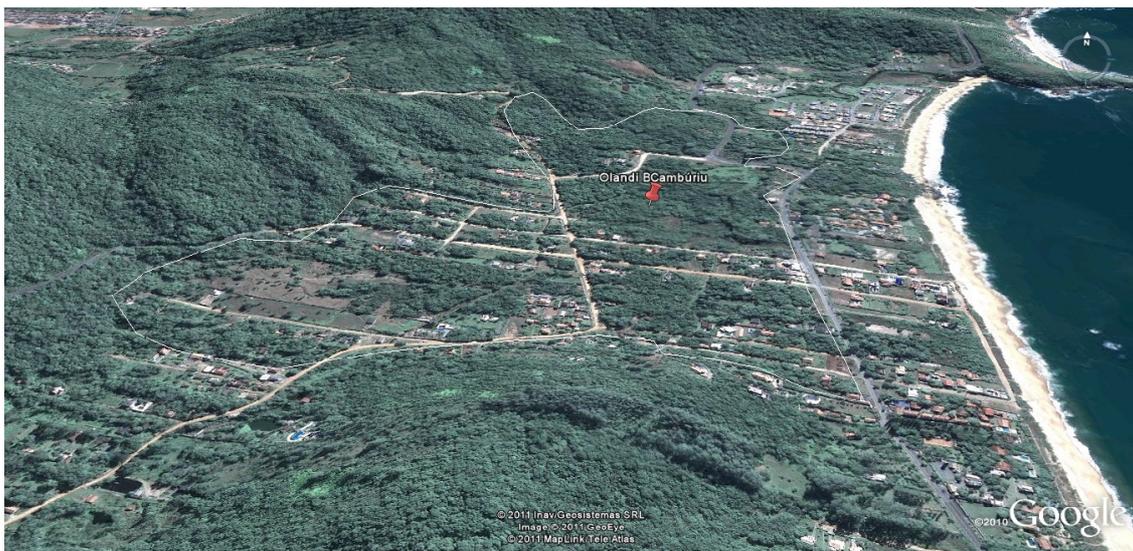
**Figura 6.** Imagem de satélite da área de estudo localizada no município de Governador Celso Ramos (SC), NPFT-UFSC, 2011.

3 – Tijucas: área localizada nas proximidades da rodovia SC-409, entre as coordenadas geográficas 27°13'31.80" Sul e 48°39'45.00" Oeste (Figura 7). Fragmento Florestal relativamente grande localizado em propriedade particular com área aproximada de 78,4 hectares e também em bom estado de conservação, com indivíduos de *C. brasiliense* de porte elevado e que foram utilizados para coleta de sementes para implantação de plantio comercial da espécie em outra área da propriedade.



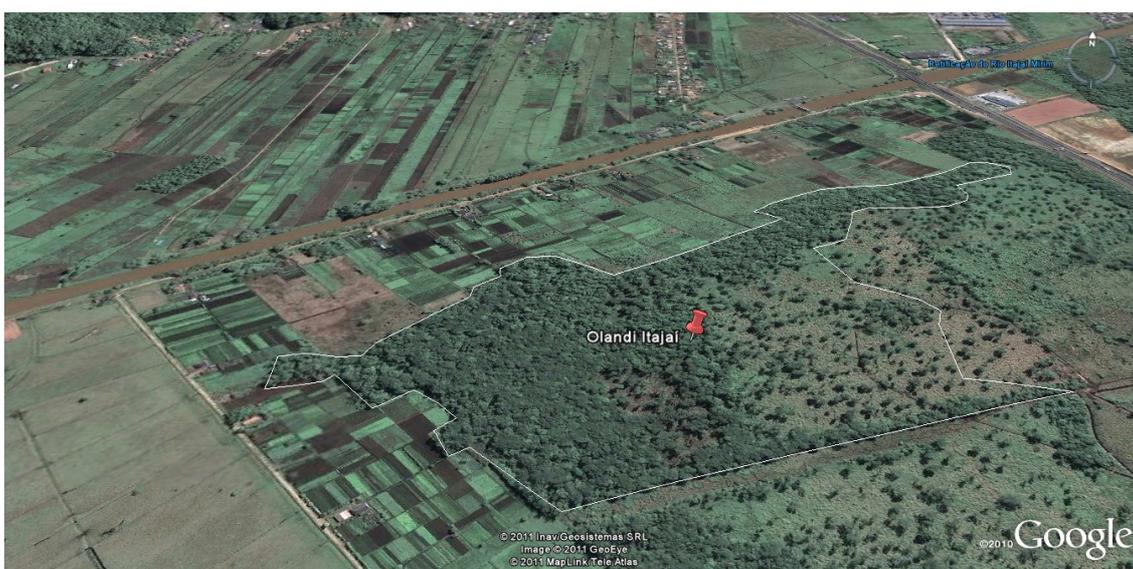
**Figura 7.** Imagem de satélite da área de estudo localizada no município de Tijucas (SC), NPFT-UFSC, 2011.

4 – Balneário Camboriú: área localizada na rodovia Interpraias (ligação da BR-101 para o município de Balneário Camboriú), em um loteamento residencial na praia do Estaleirinho, entre as coordenadas geográficas 27°1'48.61" Sul e 48°35'11.95" Oeste (Figura 8). Área intensamente degradada e fragmentada, com aproximadamente 64,5 hectares e que apresentou grande dificuldade para adequação da metodologia de coleta, uma vez que havia um pequeno fragmento central e houve a necessidade de em algumas vezes realizar a coleta na área residencial.



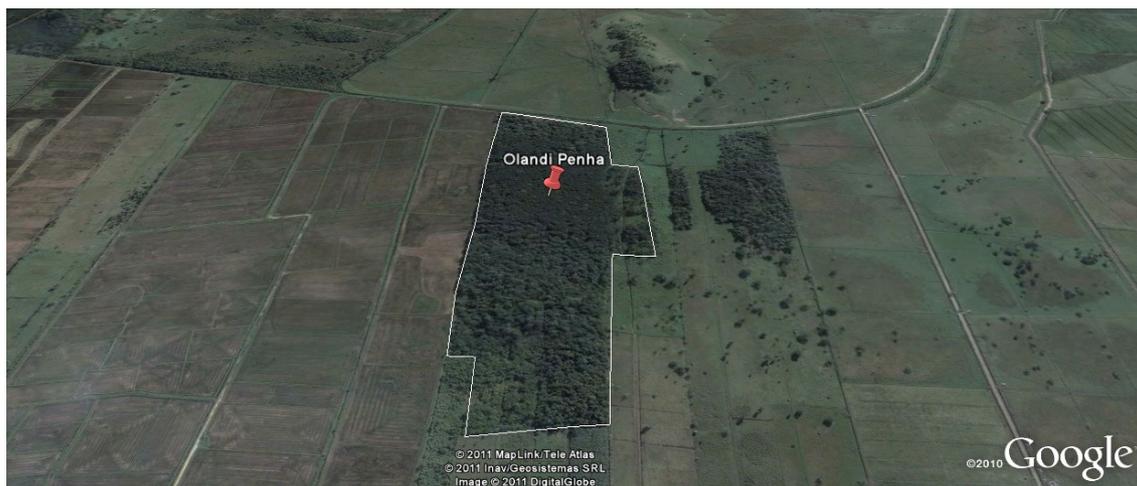
**Figura 8.** Imagem de satélite da área de estudo localizada no município de Balneário Camboriú (SC), NPFT-UFSC, 2011.

5 – Itajaí: área localizada em propriedade particular próxima ao trevo que liga a cidade de Itajaí (BR-101) e faz divisa com o rio Itajaí-Mirim, entre as coordenadas geográficas 26°55'9.47" Sul e 48°43'11.84" Oeste (Figura 9). Fragmento florestal intensamente degradado e fragmentado, com histórico atual de corte seletivo de espécies de interesse (inclusive *C. brasiliense*) e com uma área de 42,9 hectares. Nesta área de estudo a ação antrópica e a presença do gado no sub-bosque são visíveis. Os indivíduos coletados nesse local eram todos reprodutivos com diâmetros acima de 20 cm.



**Figura 9.** Imagem de satélite da área de estudo localizada no município de Itajaí (SC), NPFT-UFSC, 2011.

6 – Penha: área localizada em propriedade particular com exploração agrícola, próxima a intersecção da BR-101 e BR-470, entre as coordenadas geográficas 26°49'7.25" Sul e 48°42'44.77" Oeste (Figura 10). Fragmento florestal isolado com área total aproximada de 25,8 hectares, com intensa degradação principalmente em suas bordas, porém com presença de indivíduos de grande porte da espécie em estudo. Neste local de estudo, o fragmento não apresenta degradação do sub-bosque, ou seja, sem presença do gado.



**Figura 10.** Imagem de satélite da área de estudo localizada no município de Penha (SC), NPFT-UFSC, 2011.

7 – Araquari: área localizada na Fazenda experimental Yakult, de propriedade da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), entre as coordenadas geográficas 26°31'57.72" Sul e 48°38'53.89" Oeste (Figura 11). Fragmento florestal grande, com uma área total aproximada de 1.859 hectares, que apresentou características distintas em sua totalidade, com áreas alagadas e diferentes estágios de sucessão natural.



**Figura 11.** Imagem de satélite da área de estudo localizada no município de Araquari (SC), NPFT-UFSC, 2011.

8 – São Francisco do Sul: área localizada em propriedade particular nas margens da Baía da Babitonga, na rodovia que liga S. Francisco do Sul a Praia do Ervino, entre as coordenadas geográficas 26°23'58.52" Sul e 48°36'50.15" Oeste (Figura 12). Fragmento florestal com uma área total aproximada de 66,47 hectares, em bom estado de conservação e em estágio avançado de regeneração, com relictos da presença indígenas no litoral de Santa Catarina, representados pela ocorrência de Sambaquis. Apresentou intensa regeneração natural da espécie e também se pode observar a constante oferta de sementes e também a existência de áreas com má drenagem do solo.



**Figura 12.** Imagem de satélite da área de estudo localizada no município de São Francisco do Sul (SC), NPFT-UFSC, 2011.

9 – Itapoá: grande contínuo florestal localizado em área particular entre as coordenadas 26°0'9.78" Sul e 48°38'33.63" Oeste (Figura 13). Possui uma área de 1.607 hectares, grande parte coberta por solos com drenagem deficiente e alta densidade de indivíduos de *C. brasiliense*. Neste local observou-se uma grande quantidade de regenerantes da espécie estudada. Área de grande valor para a conservação efetiva da espécie por ser um grande contínuo florestal.



**Figura 13.** Imagem de satélite da área de estudo localizada no município de Itapoá (SC), NPFT-UFSC, 2011.

### 5.3 ELETROFORESE DE ISOENZIMAS

Foram utilizados os marcadores alozímicos para realizar a caracterização genética das 9 populações naturais de *C. brasiliense*, segundo os procedimentos de Alfenas *et al.* (1998). Esta é uma técnica bastante usual em estudos que visam estimar os níveis e entender a estrutura da variabilidade genética de populações naturais, além de muito útil para análises genéticas que não requeiram uma ampla amostragem do genoma (Grattapaglia & Ferreira, 1998).

Por ser um marcador molecular co-dominante, onde genótipos homozigotos e heterozigotos são identificados com facilidade, certos parâmetros como a frequência genotípica e alélica e posteriormente os índices de diversidade e estrutura são

estimadas a partir das análises genéticas das populações (Weir, 1990 citado por Grattapaglia & Ferreira, 1998).

A detecção das isoenzimas envolve basicamente três passos: a extração de proteínas do tecido vegetal, a separação destas proteínas através de eletroforese e a coloração histoquímica do gel, que permite a visualização do produto da reação enzimática na forma de uma “banda” no gel (Grattapaglia & Ferreira, 1998).

O procedimento em laboratório foi realizado entre 3 e 5 dias após a coleta, onde durante este período as amostras eram conservadas a baixa temperatura. O gel de amido de milho (penetrose 30 – 13%) foi o meio suporte utilizado no desenvolvimento deste trabalho e o processo de extração foi realizado com o auxílio do equipamento Precellys® 24, a uma rotação de 6.000 RPM durante 10 segundos. Cerca de 50mg do material foliar era depositado em tubo plástico Hard tissue grinding MK28, contendo 5 pequenas esferas de aço, juntamente com 3 gotas da solução de extração nº 1 de Alfenas (1998) e aproximadamente 10 mg de Polivinil Pirrolidona (PVP). Após o fechamento dos tubos com a tampa específica, os mesmos eram acondicionados no aparelho seguindo o programa pré-estabelecido (10” a 6.000 RPM).

O material extraído era absorvido em papel filtro (Whatman nº 3), com dimensões de 5 x 20 mm (wicks) e transferido para o gel, que era então submetido ao processo de eletroforese.

O sistema tampão-eletródo utilizado foi o Tris-citrato (TC), utilizando 27 g/L de Tris e 16,52 g/L de ácido cítrico, em pH 7,5. As voltagens utilizadas durante o processo de migração foram 80 V (20 minutos), 100 (20 minutos) e 160 V (de 4 a 6 horas).

Após a completa revelação das enzimas, as bandas formadas nos géis e chamadas de zimogramas, que representam a estrutura quaternária da enzima, eram avaliadas conforme a representação do genótipo do indivíduo, sendo que os locos e alelos eram numerados de forma crescente, daquele que apresenta a maior mobilidade para o que apresenta-se menor mobilidade. Em cada gel era aplicado um indivíduo testemunha (árvore localizada no CCA-UFSC), que auxiliava na definição das posições dos alelos para nos diferentes géis (Bittencourt, 2004).

## 5.4 SISTEMAS ENZIMÁTICOS

Para realizar a caracterização genética das 9 populações naturais de *C. brasiliense* estudadas, foram testados 24 sistemas enzimáticos em 2 diferentes tampões de revelação. Destes sistemas, 10 foram passíveis de interpretação por apresentarem uma boa resolução das bandas, ambos em tampão Tris-Citrato (Tabela 2). Os sistemas 6PGDH e MDH apresentaram dois locos passíveis de interpretação e o sistema DIA três locos, sendo interpretado um único loco nos sistemas IDH, PGI, PGM, SKDK, GOT, PRX e ME.

**Tabela 2.** Sistemas enzimáticos analisados pela técnica de eletroforese de isoenzimas. NPFT-UFSC, 2011.

Enzima	Código	Estrutura	Nº locos analisados
Diaforase (DIA)	EC 1.8.1.4	monomérica	3
6 Fosfogluco-desidrogenase (6PGDH)	EC 1.1.1.44	monomérica	2
Malato desidrogenase (MDH)	EC 1.1.1.37	dimérica	2
Isocitrato Desidrogenase (IDH)	EC 1.1.1.42	monomérica	1
Fosfoglucoisomerase (PGI)	EC 5.3.1.9	monomérica	1
Fosfoglucomutase (PGM)	EC 5.4.2.2	dimérica	1
Xiquimato Desidrogenase (SKDH)	EC 1.1.1.25	monomérica	1
Glutamato Oxalacetato Transaminase (GOT)	EC 2.6.1.1	monomérica	1
Peroxidase (PRX)	EC 1.11.1.7	monomérica	1
Enzima Málica (ME)	EC 1.1.1.40	monomérica	1

Os 10 sistemas enzimáticos analisados permitiram a revelação de um total de 14 locos interpretáveis, sendo 9 destes polimórficos (IDH, 6PGDH1, 6PGDH2, PGI2, PGM, SKDH, PRX2, MDH1 e DIA3) e 5 monomórficos (GOT, ME, MDH2, DIA1 e DIA2).

## 5.5 ANÁLISE DOS DADOS

Após a interpretação dos zimogramas obtidos a partir da revelação de 14 locos nas nove populações naturais de *C. brasiliense* no estado de SC, foram calculadas as freqüências alélicas, índices de diversidade (porcentagem de locos polimórficos, número total de alelos ( $n$  alelos), número médio de alelos por loco ( $A$ ) e loco polimórfico ( $A_p$ ), heterozigosidade esperada ( $H_E$ ) e observada ( $H_O$ ) e índice de fixação.

Além disso, foram estimados alelos raros e exclusivos por população, microbacia e microrregião geográfica, as estatísticas  $F$  de Wright (1951), índice de divergência de Hedrick ( $G_{ST}$  de Hedrick), tamanho efetivo populacional ( $N_e$ ), a correlação entre as distâncias genéticas e distâncias geográficas das 9 populações naturais analisadas.

### 5.5.1 Freqüências alélicas

Após a análise e interpretação dos zimogramas obtidos, foram calculadas as freqüências alélicas com o auxílio do programa FSTAT (Goudet, 2002), sendo:

$$\hat{p}_{ij} = n_{ij} / n_j$$

onde:

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

$n_{ij}$  = número de ocorrências do alelo  $i$  na população  $j$ ;

$n_j$  = número total de alelos amostrados na população  $j$ .

### 5.5.2 Índices de diversidade genética

Para a obtenção dos índices de diversidade genética também foram utilizados os programas FSTAT (Goudet, 2002) e GDA (Lewis & Zaykin, 2002). A porcentagem de locos polimórficos (%P) foi estimada considerando o número de locos que

apresentam o alelo mais freqüente com ocorrência inferior a 99% em relação ao total de locos.

O número médio de alelos por loco (A) foi obtido através da média aritmética do número de alelos em cada loco, em cada amostra e para cada loco, fazendo-se a média aritmética entre os locos observados.

O número médio de alelos por loco polimórfico ( $A_p$ ) foi obtido através da média aritmética do número de alelos em cada loco polimórfico ( $P_{99\%}$ ), em cada amostra e para cada loco polimórfico, fazendo-se a média aritmética entre os locos polimórficos observados.

O número de alelos por população (n alelos) foi obtido através do somatório do número de alelos em cada loco por população.

A heterozigiosidade observada ( $H_o$ ) foi obtida através da média aritmética entre o número de indivíduos heterozigotos dividido pelo número de indivíduos amostrados.

$$H_o = [(\sum P_{ij}) / n] / l$$

onde:

( $\sum P_{ij}$ ) = somatório dos heterozigotos ( $i \neq j$ );

n = número de indivíduos total;

l = número de locos.

A heterozigiosidade esperada ( $H_e$ ), foi obtida através do estimador não viesado de Nei (1978):

$$H_e = 2n(1 - \sum \hat{p}_i^2) / (2n - 1)$$

Sendo:

$\hat{p}_i$  = freqüência do alelo i

O índice de fixação ( $\hat{F}$ ) foi estimado pelo desvio da heterozigiosidade esperada, onde:

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

A significância de ( $\hat{F}$ ) ( $\hat{F} = 0$ ) foi testada para as populações utilizando:

$$\chi^2 = N \hat{F}^2 (k-1); \text{ com GL} = [k(k-1)] / 2 \text{ Li \& Horwitz (1953)}$$

onde:

$N$  = tamanho médio da amostra por loco;

$\hat{F}$  = índice de fixação;

$k$  = número médio de alelos por loco.

Para a obtenção de alelos raros, foi considerada a frequência (< 5%) de um alelo em determinado loco. Já os alelos são considerados exclusivos quando sua ocorrência está restrita a uma única população, microrregião ou bacia hidrográfica.

As estatísticas  $F$  de Wright (1951) ( $F_{IS}$ ,  $F_{IT}$ ,  $F_{ST}$ ) foram estimadas empregando-se o programa GDA (Lewis & Zaykin, 2002), através do método de Weir & Kockerham (1984) que se baseiam na variância das frequências alélicas, sendo o  $F_{IT}$  o índice de fixação médio considerando em conjunto todas as subpopulações;  $F_{IS}$  o índice de fixação médio dentro das populações e o  $F_{ST}$  o índice de divergência genética entre as populações (Moreira, 2009).

A diversidade genética média total foi calculada através da fórmula  $H_T = H_S + D_{ST}$ , onde  $H_S$  é a diversidade genética média dentro das populações e  $D_{ST}$  é a diversidade genética média entre as populações. A divergência genética entre as populações foi calculada pela fórmula  $G_{ST} = D_{ST}/H_T$ , sendo todos os cálculos realizados com o auxílio do programa FSTAT (Goudet, 2002).

O índice de divergência genética que leva em consideração a identidade dos alelos ( $G_{ST}$  Hedrick) foi calculado através da fórmula  $G_{ST} \text{ Hedrick} = G_{ST} * (1 + H_S) / (1 + H_S)$ , segundo Hedrick (2005).

Para realizar a análise de agrupamentos UPGMA para as identidades genéticas não-viesadas de Nei (1978), foi utilizado o programa GDA (Lewis & Zaykin, 2002). A correlação entre distâncias geográficas e genéticas foram avaliadas a partir do teste de Mantel (Mantel & Valand, 1970), a partir das distâncias geográficas de cada população amostrada combinadas par-a-par, assim como o índice de divergência genética  $G_{ST}$  Hedrick também combinados par-a-par.

O tamanho efetivo populacional, segundo Vencovsky (1992) é calculado

através da expressão  $Ne = \frac{n}{(1 + f)}$  e baseado nas variâncias das frequências

alélicas dos indivíduos adultos de cada população, onde  $n$ : número de amostras e  $f$  o índice de fixação da população.

## **5.6 VISITAS TÉCNICAS A VIVEIROS DE PRODUÇÃO DE MUDAS DA ESPÉCIE EM SANTA CATARINA**

Para conhecer a cadeia produtiva de sementes e mudas de *C. brasiliense* em Santa Catarina foram realizadas visitas técnicas a viveiros que comercializavam sementes e mudas da espécie. Foram visitados três viveiros no estado de Santa Catarina, sendo dois na região do Vale do Itajaí e um na região norte do estado.

Essas visitas foram realizadas com o intuito de conhecer principalmente os aspectos que envolvem a coleta de sementes para a produção de mudas da espécie. Sendo assim, foram feitas entrevistas com os proprietários/responsáveis dos viveiros durante a visita, para que os procedimentos de coleta de sementes realizados pela empresa fossem descritos.

## **6. RESULTADOS E DISCUSSÃO**

### **6.1 FREQUÊNCIAS ALÉLICAS**

#### **6.1.1 Populações**

Analisando as frequências alélicas das 9 populações naturais de *C. brasiliense* (Tabela 3), pode-se observar que dos 14 locos analisados, apenas 9 apresentaram polimorfismo, sendo que o número de alelos variou de 1 a 3 nos locos estudados, obtendo um número total de 30 alelos distribuídos nos 14 locos analisados. Os locos GOT, ME, MDH2, DIA1 e DIA2 foram monomórficos em todas as 9 populações, havendo então a fixação do alelo 1 em todas as populações.

O número de locos polimórficos utilizados com marcadores aloenzimáticos para caracterização genética de espécies arbóreas é bastante variável (Reis, 2006). Kawaguici & Kageyama (2001), utilizaram 6 locos polimórficos para caracterizar geneticamente uma população natural de *C. brasiliense* em mata de galeria no Estado de Minas Gerais.

Em estudo realizado na bacia do Alto Rio Grande (MG), para caracterizar a estrutura genética de *C. brasiliense*, Souza (2006) utilizou 14 locos polimórficos para

os indivíduos adultos e 12 para as progênes. Botrel *et al.* (2006), em trabalho realizado em duas populações naturais de *C. brasiliense* no município de Lavras (MG), analisou respectivamente 3 e 4 locos polimórficos nas populações estudadas.

Berg & Hamrick (1997) afirmam que em estudos de caracterização da diversidade genética são necessários de 10 a 20 locos polimórficos para obter tal resultado.

Neste sentido, pode-se considerar que o número de locos analisados neste trabalho é suficiente para caracterização genética das 9 populações naturais da espécie.

O alelo 1 do loco IDH foi encontrado apenas nas populações Tijucas e Itapoá, apresentando baixa frequência (< 5%) em ambas populações, sendo considerado então como um alelo raro. Já o alelo 2 do loco 6PGDH1 apresentou baixa frequência (< 5%) na maioria das populações, e apenas na população Araquari sua frequência foi maior do que 5%, sendo que na população Itajaí este loco não foi encontrado.

No loco 6PGDH2 foram encontrados 3 alelos, sendo que o alelo 1 foi considerado raro (< 5%) nas populações de Florianópolis, Tijucas e Itapoá. Em relação ao alelo 2, apenas na população Araquari este foi considerado raro. Já o alelo 3 foi exclusivo da população Governador Celso Ramos. Nos 3 alelos encontrados no loco PGI2, o alelo 1 teve uma frequência (> 5%) em todas as populações e o alelo 2 apareceu com uma frequência (< 5%) apenas na população Araquari. Já o alelo 3, foi encontrado apenas nas populações Florianópolis, Balneário Camboriú e Araquari, sendo que em ambas com frequência (< 5%), sendo então considerado com um alelo raro nestas populações.

No loco PGM foram revelados 3 alelos, sendo que o alelo 1 apareceu em baixa frequência apenas nas populações Tijucas e São Francisco do Sul. O alelo 2 não foi encontrado na população Penha e nas outras apresentou frequência (> 5%). O alelo 3 apresentou frequência (> 5%) em todas as 9 populações.

O loco SKDH também apresentou 3 alelos em sua constituição, sendo o alelo 1 mais comum em todas as populações, sempre com frequência (> 5%). O alelo 2 não foi encontrado nas populações Balneário Camboriú e Itapoá, sendo que nas outras populações apresentou também alta frequência. Já o alelo 3 não foi encontrado nas populações Florianópolis, Tijucas, Balneário Camboriú, Penha e Itapoá, sendo que nas

populações Gov. Celso Ramos, Itajaí, Araquari e São Francisco do Sul a freqüência foi baixa (<5 %), sendo considerado então como alelo raro para estas populações.

Em relação aos 3 alelos encontrados no loco PRX2, o alelo 1 foi encontrado apenas nas populações Florianópolis e Gov. Celso Ramos e em baixa freqüência (<5 %), sendo então um alelo raro para estas duas populações. O alelo 2 foi fixado em 7 populações, sendo que nas populações Florianópolis e Gov. Celso Ramos sua freqüência foi de 99 e 95%, respectivamente. O alelo 3 foi exclusivo da população Gov. Celso Ramos.

O loco MDH1 também apresentou 3 alelos, sendo que os alelos 1 e 3 apresentaram freqüência (> 5%) em ambas populações. O alelo 2 foi raro (freqüência <5 %) nas populações Florianópolis, Tijucas, Balneário Camboriú e São Francisco do Sul.

Nos 3 alelos encontrados no loco DIA3, o alelo 1 foi exclusivo da população Balneário Camboriú. O alelo 2 apresentou freqüência (> 5%) em ambas populações, sendo fixado nas populações Itajaí, Penha, Araquari, São Francisco do Sul e Itapoá. O alelo 3 apresentou baixa freqüência (< 5%) na população Balneário Camboriú. Nas populações Florianópolis, Gov. Celso Ramos e Tijucas a freqüência encontrada foi (>5 %) e nas restantes o alelo não esteve presente.

**Tabela 3.** Freqüências alélicas em 14 locos enzimáticos em 9 populações naturais de *C. brasiliense* no Estado de Santa Catarina. NPFT-UFSC, 2011.

ALELO	Florianópolis	Gov. Celso Ramos	Tijucas	Balneário Camboriú	Itajaí	Penha	Araquari	S. Francisco do Sul	Itapoá	Total	
<b>IDH</b>	1	0	0	0,047	0	0	0	0	0,019	0,007	
	2	1	1	0,953	1	1	1	1	0,981	0,993	
	<b>N</b>	52	53	53	54	53	52	52	53	52	
<b>6PGDH1</b>	1	0,971	0,981	0,962	1	NA	0,981	0,419	0,99	0,962	0,934
	2	0,029	0,019	0,038	0	NA	0,019	0,581	0,01	0,038	0,066
	<b>N</b>	52	53	53	54	0	52	31	49	52	

<b>6PGDH2</b>	1	0,048	0,115	0,009	0,333	NA	0,096	0,984	0,188	0,03	0,185
	2	0,952	0,865	0,991	0,667	NA	0,904	0,016	0,813	0,97	0,812
	3	0	0,019	0	0	NA	0	0	0	0	0,003
	<b>N</b>	52	52	53	51	0	52	31	48	50	
<b>PGI2</b>	1	0,788	0,683	0,698	0,676	0,88	0,873	0,935	0,877	0,863	0,805
	2	0,192	0,317	0,302	0,287	0,12	0,127	0,043	0,123	0,137	0,187
	3	0,019	0	0	0,037	0	0	0,022	0	0	0,009
	<b>N</b>	52	52	53	54	46	51	46	53	51	
<b>PGM</b>	1	0	0	0,023	0,113	0,133	0,365	0,302	0,031	0,054	0,112
	2	0,442	0,547	0,398	0,226	0,337	0	0,417	0,5	0,489	0,373
	3	0,558	0,453	0,58	0,66	0,531	0,635	0,281	0,469	0,457	0,515
	<b>N</b>	52	53	44	53	49	48	48	49	46	
<b>SKDH</b>	1	0,721	0,721	0,761	1	0,806	0,814	0,73	0,802	1	0,82
	2	0,279	0,269	0,239	0	0,153	0,186	0,24	0,151	0	0,167
	3	0	0,01	0	0	0,041	0	0,03	0,047	0	0,013
	<b>N</b>	52	52	46	54	49	51	50	43	52	
<b>GOT</b>	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	<b>N</b>	52	51	53	54	52	52	52	53	52	
<b>PRX2</b>	1	0,01	0,01	0	0	0	0	0	0	0	0,002
	2	0,99	0,95	1	1	1	1	1	1	1	0,994
	3	0	0,04	0	0	0	0	0	0	0	0,004
	<b>N</b>	50	50	53	53	52	52	52	53	52	
<b>ME</b>	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	<b>N</b>	52	51	53	54	52	52	52	53	52	
<b>MDH1</b>	1	0,077	0,147	0,269	0,102	0,167	0,329	0,135	0,208	0,16	0,173
	2	0,038	0,118	0,038	0,046	0,069	0	0,115	0,047	0,06	0,06
	3	0,885	0,735	0,692	0,852	0,765	0,671	0,75	0,745	0,78	0,766
	<b>N</b>	52	51	52	54	51	41	52	53	50	
<b>MDH2</b>	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	<b>N</b>	52	51	53	54	52	52	52	53	52	
<b>DIA1</b>	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	<b>N</b>	52	51	53	54	52	52	52	53	52	
<b>DIA2</b>	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	<b>N</b>	52	51	53	54	52	52	52	53	52	
<b>DIA3</b>	1	0	0	0	0,058	0	0	0	0	0	0,006
	2	0,865	0,824	0,925	0,913	1	1	1	1	1	0,948
	3	0,135	0,176	0,075	0,029	0	0	0	0	0	0,046
	<b>N</b>	52	51	53	52	52	52	52	53	52	

(N) = número de amostras

### 6.1.2 Microrregiões e Bacias hidrográficas

As freqüências alélicas das três microrregiões e bacias hidrográficas de inserção das 9 populações naturais de *C. brasiliense* utilizadas neste estudo encontram-se expostas na Tabela 4.

No loco IDH, foram encontrados 2 alelos sendo que o alelo 1 apresentou baixa freqüência (<5 %) na Microrregião Florianópolis/Bacia Cubatão Sul/Biguaçu/Tijucas e Microrregião Joinville/Bacia Cubatão Norte/Itapocu, não sendo encontrado na Microrregião/Bacia do Itajaí. O alelo 2 teve uma freqüência (> 5%) em ambas microrregiões/bacias.

O loco 6PGDH1 apresentou 2 alelos, sendo que o alelo 1 apareceu com freqüência (>5 %) em todas microrregiões/bacias hidrográficas. Já o alelo 2 apareceu com freqüência (>5 %) na Microrregião Joinville/Bacia Cubatão Norte/Itapocu e com freqüência (<5 %) Microrregião Florianópolis/Bacia Cubatão Sul/Biguaçu/Tijucas e Microrregião/Bacia do Itajaí, sendo considerado um alelo raro nestas.

O loco 6PGDH2 também apresentou 3 alelos, sendo que os alelos 1 e 2 tiveram uma alta freqüência (> 5%) em ambas microrregiões/bacias e o alelo 3 foi exclusivo da Microrregião Florianópolis/Bacia Cubatão Sul/Biguaçu/Tijucas.

O loco PGI2 também apresentou 3 alelos, sendo que os alelos 1 e 2 apareceram com freqüência (> 5%) em ambas microrregiões/bacias hidrográficas e o alelo 3 com freqüência (< 5%) também em ambas microrregiões/bacias hidrográficas, sendo então um alelo raro para estas.

Nos 3 alelos encontrados no loco PGM, o alelo 1 foi raro (freqüência < 5%) apenas na Microrregião Florianópolis/Bacia Cubatão Sul/Biguaçu/Tijucas. Os alelos 2 e 3 tiveram uma freqüência (> 5%) em ambas microrregiões/bacias hidrográficas.

No loco SKDH também foram encontrados 3 alelos, sendo que os alelos 1 e 2 tiveram uma freqüência (> 5%) em ambas microrregiões/bacias hidrográficas e o alelo 3 foi raro (freqüência < 5%) também em ambas microrregiões/bacias hidrográficas.

O loco PRX2 apresentou 3 alelos, sendo o alelo 1 e 3 exclusivo da Microrregião Florianópolis/Bacia Cubatão Sul/Biguaçu/Tijucas. O alelo 2 apareceu com frequência (> 5%) em ambas microrregiões/bacias hidrográficas.

Nos 3 alelos encontrados no loco MDH1, os alelos 1 e 3 tiveram uma frequência (> 5%) em ambas microrregiões/bacias hidrográficas. O alelo 2 foi raro (frequência < 5%) apenas na Microrregião/Bacia do Itajaí.

No loco DIA3, foram encontrados 3 alelos sendo o alelo 1 exclusivo da Microrregião/Bacia do Itajaí. O alelo 2 teve frequência (> 5 %) em ambas microrregiões/bacias hidrográficas. Já o alelo 3, apresentou frequência (> 5 %) na Microrregião Florianópolis/Bacia Cubatão Sul/Biguaçu/Tijucas, foi considerado raro (frequência < 5%) na Microrregião/Bacia do Itajaí e não foi encontrado na Joinville/Bacia Cubatão Norte/Itapocu.

Os locos GOT, ME, MDH2, DIA1 e DIA2 foram monomórficos em todas as 3 microrregiões/bacias hidrográficas, havendo então a fixação do alelo 1 em todas as situações.

**Tabela 4. Frequências alélicas em 14 locos enzimáticos nas 3 microrregiões/bacias hidrográficas de inserção de 9 populações naturais de *C. brasiliense* no Estado de Santa Catarina. NPFT-UFSC, 2011.**

ALELO	Microregião Florianópolis/Bacia Cubatão Sul/Biguaçu/Tijucas			Microregião Joinville/Bacia C. Norte/Itapocu	Total
	Microregião Florianópolis/Bacia Cubatão Sul/Biguaçu/Tijucas	Microregião/Bacia Itajaí	Microregião Joinville/Bacia C. Norte/Itapocu		
IDH	1	0,016	0	0,006	0,007
	2	0,984	1	0,994	0,993
	N	158	159	157	
6PGDH1	1	0,972	0,991	0,845	0,934
	2	0,028	0,009	0,155	0,066
	N	158	106	132	
6PGDH2	1	0,057	0,214	0,318	0,185
	2	0,936	0,786	0,682	0,812

	3	0,006	0	0	0,003
	<b>N</b>	157	103	129	
<b>PGI2</b>	1	0,723	0,805	0,89	0,805
	2	0,271	0,182	0,103	0,187
	3	0,006	0,013	0,007	0,009
	<b>N</b>	157	151	150	
<b>PGM</b>	1	0,007	0,2	0,129	0,112
	2	0,466	0,19	0,469	0,373
	3	0,527	0,61	0,402	0,515
	<b>N</b>	149	150	143	
<b>SKDH</b>	1	0,733	0,877	0,848	0,82
	2	0,263	0,11	0,128	0,167
	3	0,003	0,013	0,024	0,013
	<b>N</b>	150	154	145	
<b>GOT</b>	1	1	1	1	1
	<b>N</b>	156	158	157	
<b>PRX2</b>	1	0,007	0	0	0,002
	2	0,98	1	1	0,994
	3	0,013	0	0	0,004
	<b>N</b>	153	157	157	
<b>ME</b>	1	1	1	1	1
	<b>N</b>	156	158	157	
<b>MDH1</b>	1	0,165	0,188	0,168	0,173
	2	0,065	0,041	0,074	0,06
	3	0,771	0,771	0,758	0,766
	<b>N</b>	155	146	155	
<b>MDH2</b>	1	1	1	1	1
	<b>N</b>	156	158	157	
<b>DIA1</b>	1	1	1	1	1
	<b>N</b>	156	158	157	
<b>DIA2</b>	1	1	1	1	1
	<b>N</b>	156	158	157	
<b>DIA3</b>	1	0	0,019	0	0,006
	2	0,872	0,971	1	0,948
	3	0,128	0,01	0	0,046
	<b>N</b>	156	156	157	

(N) = Número de amostras

## 6.2 ÍNDICES DE DIVERSIDADE

### 6.2.1 Populações

Na tabela 5 estão expostos os índices de diversidade intrapopulacional e os índices de fixação para as nove populações de *C. brasiliense* estudadas.

**Tabela 5.** Índices de diversidade intrapopulacional, alelos raros e exclusivos de nove populações naturais de *C. brasiliense* em SC. NPFT-UFSC, 2011.

População	N	%P <sub>99%</sub>	n alelos	A	Ap	H <sub>e</sub>	H <sub>o</sub>	f	Exclus.	Raros
<b>População</b>										
<b>Florianópolis</b>	52	57,1	24	1,71	2,30	0,134	0,102	0,238*	0	5
<b>Gov. Celso Ramos</b>	52	57,1	26	1,86	2,50	0,175	0,136	0,225*	2	3
<b>Tijucas</b>	52	57,1	24	1,71	2,30	0,149	0,112	0,246*	0	5
<b>Itajaí</b>	51	33,3	19	1,58	2,80	0,127	0,072	0,438*	0	1
<b>B.Camboriú</b>	54	35,7	23	1,64	2,80	0,132	0,08	0,392*	1	3
<b>Penha</b>	51	42,9	20	1,43	2,00	0,119	0,091	0,233*	0	1
<b>Araquari</b>	48	42,9	24	1,71	2,80	0,153	0,123	0,197*	0	4
<b>S.Francisco do Sul</b>	51	42,9	23	1,64	2,50	0,130	0,105	0,193*	0	4
<b>Itapoá</b>	51	42,9	23	1,57	2,30	0,095	0,079	0,168*	0	3
<b>MÉDIA</b>	<b>51</b>	<b>44,2</b>	<b>23</b>	<b>1,65</b>	<b>2,48</b>	<b>0,135</b>	<b>0,100</b>	<b>0,259</b>		
<b>DESVIO PADRÃO</b>	<b>1,6</b>	<b>9,2</b>	<b>2,15</b>	<b>0,12</b>	<b>0,282</b>	<b>0,023</b>	<b>0,022</b>	<b>0,093</b>		

N: número de amostras; %P<sub>99%</sub>: porcentagem de locos polimórficos; n alelos: número total de alelos; A: alelos por loco; Ap: alelos por loco polimórfico; H<sub>e</sub>: heterozigosidade média esperada; H<sub>o</sub>: heterozigosidade média observada; f: índice de fixação; \* $\chi^2$ , p<0,01

A média de locos polimórficos (%P) foi de (44,2% ± 9,2), variando de 57,1% nas populações Florianópolis, Gov. Celso Ramos e Tijucas a 33,3% em Itajaí, sendo que dentre os 14 locos alozímicos estudados, cinco locos (GOT, ME, MDH2, DIA1 e DIA2) apresentaram alelos fixados em todas as populações.

Hamrick & Godt (1989) em trabalho que reuniu informações de diversidade genética de 449 espécies, obtiveram um ( $P_{99\%}$ ) de 50,5%. Para espécies de clima tropical ( $N = 76$ ), a porcentagem de locos polimórficos ( $P_{99\%}$ ) estimada foi de 49,2%.

Kawaguici & Kageyama (2001), estudando uma população natural de *C. brasiliense* em mata de galeria obtiveram uma porcentagem de locos polimórficos ( $P_{95\%}$ ) de 42,86 para os indivíduos adultos, analisando também 14 locos. Uma baixa porcentagem de locos polimórficos também foi encontrada por Botrel *et al.* (2006), que em trabalho realizado em duas populações naturais obteve índices uma porcentagem de locos polimórficos ( $P_{95\%}$ ) de 37,5 e 50%, respectivamente. Sendo assim, ao analisar a porcentagem de locos polimórficos obtida neste trabalho, observa-se que os valores foram semelhantes a outros trabalhos desenvolvidos com a espécie.

Os 14 locos alozímicos estudados permitiram a detecção de 30 alelos, sendo que a média de alelos por população foi de  $(23 \pm 2,15)$ , variando de 26 alelos na população Gov. Celso Ramos a 19 alelos na população Itajaí. O número médio de alelos por loco ( $A$ ) foi de  $(1,65 \pm 0,12)$ , variando de 1,71 nas populações Florianópolis, Tijucas e Araquari a 1,43 na população Penha.

O número de alelos por loco polimórfico ( $A_p$ ) variou de 2,8 nas populações Itajaí, B. Camboriú e Araquari a 2,0 na população Penha, com uma média de  $(2,48 \pm 0,282)$  alelos por loco polimórfico.

O número médio de alelos por loco ( $A = 1,65$ ) foi inferior aos encontrados por Hamrick & Godt (1989) para espécies tropicais ( $A = 1,81$ ) e Souza (2006), que obteve um ( $A = 2,0$ ) para indivíduos adultos de *C. brasiliense* em duas populações naturais em mata ciliar. Entretanto, foi superior a uma das duas populações estudadas por Botrel *et. al* (2006), que obteve um valor de ( $A = 1,50$ ).

A diversidade genética ( $H_e$ ) apresentou valor máximo na população Gov. Celso Ramos (0,175) e mínimo na população Itapoá (0,095), e uma média de  $(0,135 \pm 0,023)$ . A heterozigosidade observada ( $H_o$ ) apresentou uma média de  $(0,100 \pm 0,022)$ , variando de 0,136 em Gov. Celso Ramos a 0,072 em Itajaí.

Souza (2006), estudando duas populações naturais de *C. brasiliense* em floresta paludosa obteve valores de  $H_e$  de 0,406 e 0,447, valores estes consideravelmente superiores aos encontrados nas nove populações naturais em SC.

O índice de fixação ( $f$ ) médio foi de  $(0,259 \pm 0,093)$  e significativamente diferente de zero em todas as populações, obtendo os mais altos índices nas populações Itajaí (0,438) e Balneário Camboriú (0,392). Em todas as populações o índice de fixação foi positivo, evidenciando que as freqüências genotípicas observadas desviam-se das freqüências esperadas segundos os pressupostos do equilíbrio de Hardy-Weinberg.

Observa-se também que o índice de fixação médio ( $f$ ) foi superior a 0,2 em seis das nove populações, conferindo assim um valor elevado de fixação em grande parte das populações estudadas, caracterizado pelo excesso de indivíduos homocigotos.

Houve a ocorrência de alelos raros (freqüência  $< 5\%$ ) em todas as populações, sendo que em Florianópolis e Tijucas foram constatados 5 alelos raros e em Araquari e São Francisco do Sul 4 alelos raros. Também foram detectados alelos exclusivos no conjunto de dados analisado, onde houve dois alelos exclusivos em Governador Celso Ramos e um alelo exclusivo em Balneário Camboriú.

A redução nos índices de diversidade genética e perda de alelos pode ser um reflexo da intensa degradação e fragmentação, ocorrida no passado, nas áreas de ocorrência das florestas de planície quaternária. Indivíduos em fragmentos isolados tendem a apresentar uma maior taxa de cruzamento entre indivíduos aparentados, tendo como conseqüência uma redução dos valores de heterozigosidade, levando um aumento nos índices de fixação.

Segundo Seoane (2007), a principal conseqüência da fragmentação florestal, no tocante a genética, é que as espécies têm sua sobrevivência comprometida devido as alterações nos padrões de trocas de genes. Em populações pequenas, as freqüências podem ser diferentes de uma geração para outra, aleatoriamente, dependendo simplesmente do acasalamento e reprodução dos indivíduos, sendo este processo conhecido como deriva genética (Primack, 2001), que depende do tamanho da população remanescente e do número de gerações desde a fragmentação florestal (Seoane, 2007).

Pode haver também uma redução no número total de indivíduos, sendo que o declínio nos tamanhos populacionais médios e a separação de fragmentos florestais por áreas não florestadas afetam processos genéticos fundamentais ocorrentes nas populações, como a deriva genética, o fluxo gênico e a reprodução (Seoane, 2007).

Sendo assim, a fragmentação florestal leva a redução do tamanho populacional, criando assim gargalos genéticos, onde os indivíduos remanescentes contêm apenas uma pequena amostra do conjunto gênico original (Seoane, 2007).

A redução no tamanho populacional faz com que a população remanescente tenha um tamanho menor que o mínimo adequado ( $N_e$  mínimo) para que o mesmo possa ter sua normal continuidade e evolução. Nessa população pequena pode ocorrer, a curto prazo, efeitos expressivos da deriva genética, o que significa ter as freqüências de seus genes afastadas daquelas da população original, inclusive chegando a perder alelos. Em longo prazo, ainda pode haver um aumento da endogamia, decorrente da maior probabilidade de autofecundação e acasalamento entre os indivíduos aparentados (Kageyama & Gandara, 1998).

A presença de alelos raros e exclusivos nas populações naturais de estudadas são um indicativo que o fluxo gênico destas populações é restrito (Bittencourt, 2004). A fixação de alelos em 5 dos 14 locos analisados sugerem que existem altos níveis de deriva genética nas populações, sendo que outros fatores também podem estar influenciando este resultado. Estes fatores acima citados podem ser decorrentes da fragmentação na qual os ambientes naturais de ocorrência de *C. brasiliense* estão inseridos.

Estes alelos que ocorrem em baixa freqüência (alelos raros) e em populações relativamente pequenas, a possibilidade de perda é grande a cada geração que passa. Neste sentido, ações que visem a conservação destes remanescentes devem ser priorizadas, principalmente com a criação de unidades de conservação nas três microrregiões/bacias hidrográficas de inserção das populações naturais de *C. brasiliense* em SC.

### **6.2.2 Microrregiões e Bacias hidrográficas**

Considerando o conjunto de populações inseridas nas três diferentes bacias hidrográficas e microrregiões, foram estimados os índices de diversidade e números de alelos raros e exclusivos, que podem ser conferidos na Tabela 6.

**Tabela 6.** Índices de diversidade, alelos raros e exclusivos das 3 microrregiões e bacias hidrográficas de inserção das populações naturais de *C. brasiliense* em SC. NPFT-UFSC, 2011.

	n	%P	n alelos	A	Ap	H <sub>e</sub>	H <sub>o</sub>	f	Exclus.	Raros
<b>Microrregião</b>										
<b>Mic.Fpolis/Bacia do Cub.Sul/Tijucas/Biguaçu</b>	155	64,3	29	2,07	2,66	0,154	0,116	0,243	3	5
<b>Microrregião/Bacia do Itajaí</b>	147	50,0	26	1,86	2,83	0,134	0,080	0,406	1	5
<b>Microrregião Joinville/Bacia do Cubatão norte/Itapocu</b>	150	50,0	25	1,79	2,66	0,155	0,101	0,350	0	3
<b>MÉDIA</b>	<b>151</b>	<b>54,8</b>	<b>27</b>	<b>1,90</b>	<b>2,72</b>	<b>0,148</b>	<b>0,099</b>	<b>0,333</b>		
<b>DESVIO PADRÃO</b>	<b>4</b>	<b>8,2</b>	<b>2,1</b>	<b>0,15</b>	<b>0,10</b>	<b>0,012</b>	<b>0,018</b>	<b>0,083</b>		

N: número de amostras; %P<sub>99%</sub>: porcentagem de locos polimórficos; n alelos: número total de alelos; A: alelos por loco; Ap: alelos por loco polimórfico; H<sub>e</sub> : heterozigosidade média esperada; H<sub>o</sub> : heterozigosidade média observada; f : índice de fixação.

A porcentagem de locos polimórficos média foi de (54,8% ± 8,2), sendo que a microrregião de Florianópolis/Bacia do Cubatão sul/Biguaçu/Tijucas apresentou 64,3% de locos polimórficos. O Número médio de alelos por loco polimórfico (Ap) foi de (2,83 ± 0,10), sendo que a microrregião/bacia do Itajaí apresentou 2,83 alelos por loco polimórfico.

O número médio de alelos (n alelos) analisados nas três microrregiões e bacias hidrográficas de inserção das 9 populações naturais da espécie foi de (27 ± 2,1) e o número médio de alelos por loco (A) foi de (1,90 ± 0,15). Na microrregião de Florianópolis/Bacia do Cubatão sul/Biguaçu/Tijucas observa-se a ocorrência de 29 alelos, totalizando então 2,07 alelos por loco (A).

A diversidade genética (H<sub>e</sub>) média foi de (0,148 ± 0,012), variando de 0,155 na microrregião Joinville/bacia do Cubatão Norte/Itapocu a 0,134 na microrregião/bacia do Itajaí. A microrregião de Florianópolis/Bacia do Cubatão sul/Biguaçu/Tijucas apresentou uma diversidade genética (H<sub>e</sub>) de 0,154.

O conjunto de populações inseridas na microrregião de Florianópolis/Bacia do Cubatão sul/Biguaçu/Tijucas foram as que apresentaram os maiores índices de diversidade, com um número de locos polimórficos (%P = 64,3%), número de alelos (n alelos = 29), alelos por loco (A = 2,07). O maior número de alelos por loco polimórfico

( $A_p = 2,83$ ) foi encontrado na microrregião/bacia do Itajaí e a maior diversidade genética na microrregião Joinville/bacia do Cubatão norte/Itapocu, com ( $H_e = 0,155$ ), sendo este valor semelhante ao da microrregião de Florianópolis/Bacia do Cubatão sul/Biguaçu/Tijucas, com ( $H_e = 0,154$ ).

O maior índice de fixação ( $f$ ) está presente no conjunto de populações inseridos na microrregião/bacia do Itajaí, com 0,406. Em todas microrregiões/bacias hidrográficas de inserção das nove populações naturais de *C. brasiliense* os valores foram superiores a 0,2, sendo então considerado um alto índice de fixação.

### 6.3 ESTRUTURA

Os valores de diversidade genética média ( $H_S$ ), diversidade genética total ( $H_T$ ), índices de divergência genética ( $G_{ST}$ ,  $G_{ST}$  Hedrick e  $F_{ST}$ ), o índice de fixação médio para o conjunto de subpopulações ( $F_{IT}$ ) e o índice de fixação médio dentro das populações ( $F_{IS}$ ), para o conjunto de unidades amostrais analisados e respectivas microrregiões e bacias hidrográficas de inserção estão dispostos na tabela 7.

**Tabela 7.** Índices de diversidade genética, divergência genética e fixação das nove populações naturais de *C. brasiliense* em SC. NPFT-UFSC, 2011.

		$H_S$	$H_T$	$G_{ST}$	$G_{ST}$ Hedrick	$F_{IT}$	$F_{ST}$	$F_{IS}$
Microrregião	Florianópolis	0,152	0,154	0,009	0,012	0,246	0,014	0,235
	Itajaí	0,128	0,135	0,051	0,066	0,425	0,081	0,374
	Joinville	0,126	0,164	0,229	0,295	0,412	0,280	0,184
<b>Entre microrregiões</b>		<b>0,148</b>	<b>0,154</b>	<b>0,037</b>	<b>0,050</b>	<b>0,366</b>	<b>0,057</b>	<b>0,328</b>
Bacia	Cubatão	0,152	0,154	0,009	0,012	0,246	0,014	0,235
	sul/Biguaçu/Tijucas	0,128	0,135	0,051	0,066	0,425	0,081	0,374
	Itajaí	0,126	0,164	0,229	0,295	0,412	0,280	0,184
<b>Entre bacias</b>		<b>0,148</b>	<b>0,154</b>	<b>0,037</b>	<b>0,050</b>	<b>0,366</b>	<b>0,057</b>	<b>0,328</b>
<b>Entre populações (Total)</b>		<b>0,135</b>	<b>0,160</b>	<b>0,153</b>	<b>0,201</b>	<b>0,365</b>	<b>0,140</b>	<b>0,261</b>

A divergência genética ( $F_{ST}$ ) para o conjunto das populações estudadas foi de 0,140, ou de 0,201 (20,1%), considerando o valor de  $G_{ST}$  Hedrick, indicando uma elevada estruturação genética entre as populações.

A divergência genética foi mais alta entre as populações que integram a microrregião Joinville/Bacia do Cubatão norte/Itapocu, com um índice de 0,280 ou 0,295 -  $G_{ST}$  Hedrick, conferindo assim uma alta estruturação das populações nesta microrregião/bacia hidrográfica. Sendo assim, uma grande parte (29,5%) da variabilidade genética encontra-se entre as populações e 69,5%, dentro delas.

A divergência genética entre as microrregiões/bacias hidrográficas de inserção das nove populações naturais de *C. brasiliense* foi de 0,050, valor este bastante inferior ao comparado a divergência genética interpopulacional (0,201). Este resultado reforça a hipótese de que a maior parte da diversidade genética encontra-se dentro das populações estudadas, revelando uma menor estruturação genética entre as microrregiões/bacias hidrográficas.

A elevada estruturação genética dentro das Bacias hidrográficas pode ser reflexo da distribuição espacial da espécie ser influenciada pelas condições edáficas do ambiente de ocorrência natural da espécie, principalmente saturação hídrica e alta umidade.

Entretanto, Reis (2009) analisando a estrutura genética espacial de uma população de *C. brasiliense* observou estruturação familiar apenas em indivíduos jovens, com altura entre 0,3 e 1 metro, nas árvores próximas até uma distância de 10 metros, considerando então um padrão aleatório de distribuição dos genótipos dos indivíduos adultos.

Sendo assim, pode-se considerar que a amostragem realizada a campo foi eficiente, uma vez que os genótipos dos indivíduos adultos distribuem-se aleatoriamente na população.

Os altos valores de fixação, tanto considerando em conjunto as populações ( $F_{IT}$ ) como o índice de fixação dentro das populações ( $F_{IS}$ ) podem ser observados em ambas microrregiões/bacias hidrográficas onde estão inseridas em conjunto as populações, assim como na análise entre microrregiões/bacias hidrográficas e na análise no conjunto de populações.

O índice de fixação médio considerando o conjunto de populações ( $F_{IT}$ ), para as nove populações naturais de *C. brasiliense* foi de 0,365 e dentro das populações ( $F_{IS}$ ), 0,261. Para o conjunto de microrregiões/bacias hidrográficas observam-se valores semelhantes e superiores, com um ( $F_{IT} = 0,366$ ) e um ( $F_{IS} = 0,328$ ).

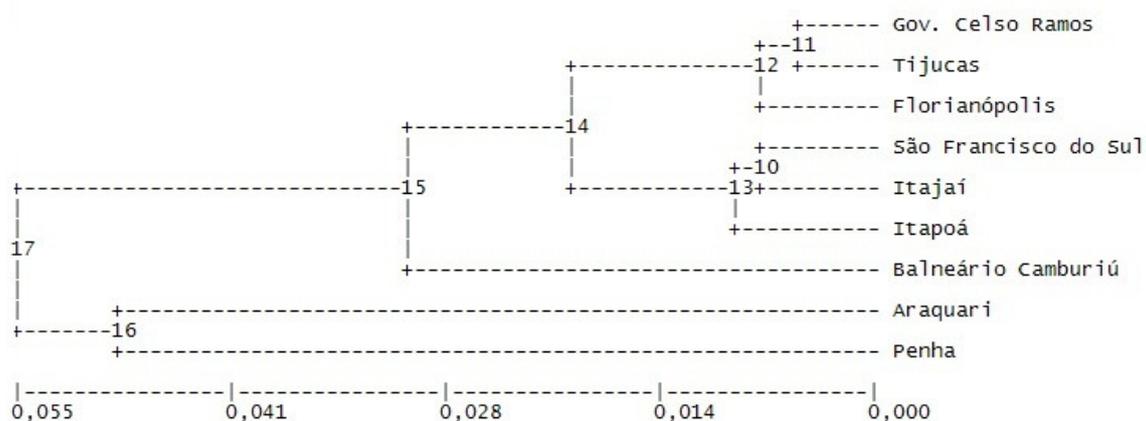
Valores inferiores de ( $F_{IT}$ ) foram encontrados por Souza (2006), que em duas populações naturais de *C. brasiliense* e mata de galeria obteve índices de fixação total ( $F_{IT}$ ) de 0,185 e 0,172.

As populações inseridas na microrregião/bacia do Itajaí foram as que em conjunto, apresentaram os maiores índices de fixação, considerando tanto o conjunto de populações ( $F_{IT}$ ) como dentro das populações ( $F_{IS}$ ), com índices de fixação de 0,425 e 0,374, respectivamente. Estes resultados condizem podem estar refletindo o status de conservação dos ambientes, onde observou-se fragmentos intensamente degradados e com histórico de uso atual.

Já as populações inseridas na microrregião de Florianópolis/Bacia do Cubatão sul/Biguaçu/Tijucas e microrregião Joinville/bacia do Cubatão norte/Itapocu também apresentaram elevados índices de fixação para o conjunto de populações e também médio das populações, com valores de ( $F_{IT}$ ) de 0,246 e 0,412 e ( $F_{IS}$ ) 0,235 e 0,185, respectivamente.

#### **6.4 DISTÂNCIAS GENÉTICAS E GEOGRÁFICAS**

A técnica de agrupamentos UPGMA para as identidades genéticas não viesadas de Nei (1978), apresentou um agrupamento entre as três populações inseridas na microrregião Florianópolis/Bacia do Cubatão Sul/Biguaçu/Tijucas (Figura 14), sendo que a população Governador Celso Ramos está mais próxima geneticamente da população Tijucas. As populações Penha e Araquari não se agrupam e estão distantes de todos os outros grupos. Outro agrupamento é observado entre as populações São Francisco do Sul, Itajaí e Itapoá, porém estas não estão inseridas na mesma Microrregião/Bacia hidrográfica.



**Figura 14.** Identities genéticas não viesadas de Nei (1978) entre as 9 populações de *C. brasiliense* no Estado de Santa Catarina, NPFT-UFSC, 2011.

Analisando as distâncias geográficas entre as nove populações naturais de *C. brasiliense* no estado de SC (Tabela 8), medidas a partir das coordenadas geográficas com o auxílio do Google Earth®, constata-se que a menor distância entre as populações é observada entre Itajaí e Penha, com 10,93 km. A maior distância é observada entre Florianópolis e Itapoá, com 163,36 km.

**Tabela 8.** Matriz das distâncias geográficas (em km) entre as nove populações naturais de *C. brasiliense* em SC. NPFT-UFSC, 2011.

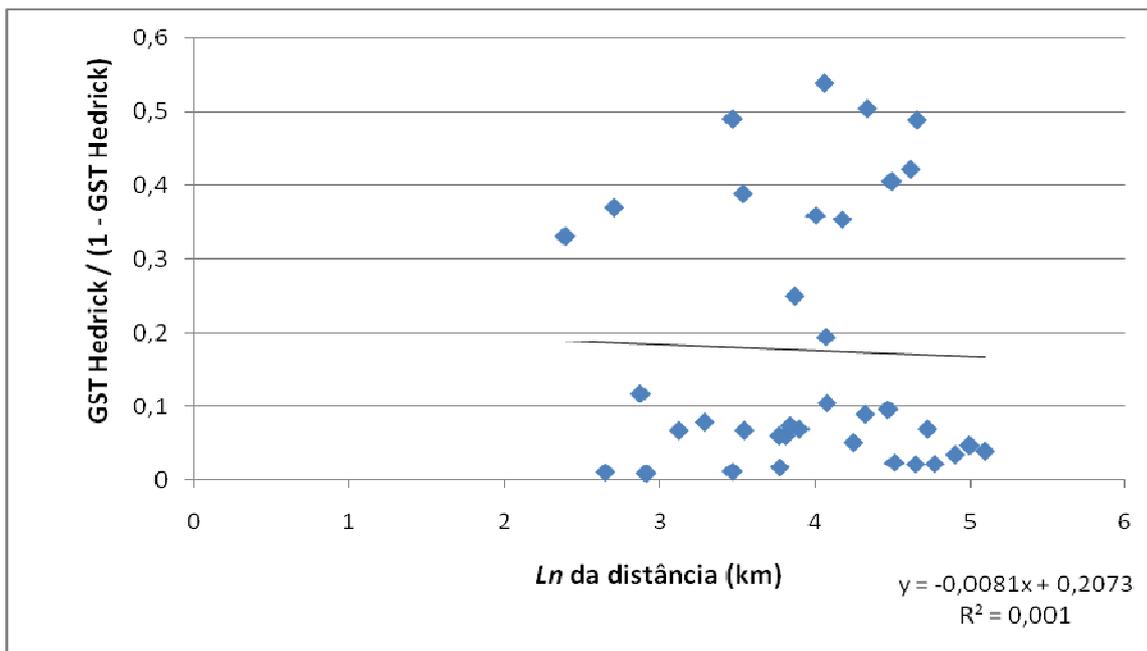
Populações	Florianópolis	GV Celso Ramos	Tijucas	Baln. Camboriú	Itajaí	Penha	Araquari	S. Francisco	Itapoá
Florianópolis	0								
GV Celso Ramos	18,42	0							
Tijucas	32,13	14,17	0						
Baln. Camboriú	49,6	34,6	22,76	0					
Itajaí	65,23	48,21	34,35	17,77	0				
Penha	75,78	59,01	45,44	26,92	<b>10,93</b>	0			
Araquari	105,52	89,6	76,85	54,92	43,48	32,13	0		
S. Francisco	118,49	104,56	91,28	70,2	58,62	46,7	15,01	0	
Itapoá	<b>163,36</b>	148,16	135,41	113,06	101,19	87,61	58,01	43,71	0

As distâncias genéticas estimadas a partir do índice de divergência genética  $G_{ST}$  Hedrick, analisadas par-a-par estão apresentadas na Tabela 9. As populações mais próximas geneticamente são Florianópolis e Governador Celso Ramos (0,008) e as que apresentaram a maior distância genética foram Itapoá e Araquari (0,350).

**Tabela 9.** Matriz de distâncias genéticas baseados no  $G_{ST}$  de Hedrick para as nove populações naturais de *C. brasiliense* em SC. NPFT-UFSC, 2011.

Populações	Florianópolis	GV Celso Ramos	Tijucas	Baln. Camboriú	Itajaí	Penha	Araquari	S. Francisco	Itapoá
Florianópolis	0								
GV Celso Ramos	<b>0,008</b>	0							
Tijucas	0,011	0,010	0						
Baln. Camboriú	0,064	0,063	0,062	0					
Itajaí	0,261	0,199	0,280	0,105	0				
Penha	0,081	0,094	0,056	0,072	0,248	0			
Araquari	0,328	0,288	0,335	0,264	0,056	0,329	0		
S. Francisco	0,021	0,020	0,023	0,048	0,162	0,068	0,270	0	
Itapoá	0,038	0,045	0,033	0,064	0,296	0,087	<b>0,350</b>	0,016	0

Entretanto, quando comparada às distâncias genéticas com as geográficas (Figura 15), não foi encontrada uma correlação entre os dados observados, utilizando o teste de Mantel ( $r = 0,001$ ). Sendo assim, os efeitos da fragmentação florestal tem maiores efeitos do que o isolamento por distância existentes entre as populações.



**Figura 15.** Correlograma de Mantel entre as distâncias genéticas e geográficas das nove populações naturais de *C. brasiliense* em SC. NPFT-UFSC, 2011.

## 6.5 TAMANHO EFETIVO POPULACIONAL

Os processos genéticos em populações relativamente pequenas dependem do tamanho populacional efetivo ( $N_e$ ), e não do número de indivíduos (Frankham, 2008). O tamanho efetivo de uma população é o tamanho de uma população idealizada que perderia diversidade genética (ou se tornaria endogâmica) na mesma taxa da população atual, sendo assim o  $N_e$  de uma população é uma medida de seu comportamento genético, relativo aquele de uma população ideal (Frankham, 2008).

O tamanho efetivo populacional ( $N_e$ ) é um parâmetro muito importante a ser conhecido nas atividades de coleta de sementes e conservação *in situ*, uma vez que trata da representatividade genética das amostras (Botrel *et al.*, 2006). Primack & Rodrigues (2001) indicam que as populações isoladas precisam ter pelo menos, 50 indivíduos, e preferencialmente 500, para manter sua variabilidade genética.

Entretanto, esta é uma regra de difícil aplicabilidade prática, pois supõe que uma população é composta de  $N$  indivíduos, onde todos têm uma probabilidade igual

de cruzamentos (Primack & Rodrigues, 2001). Outro fator que deve ser levado em consideração é a sobreposição de gerações nas espécies arbóreas, que pode reduzir o tamanho efetivo de variância, pela geração de endogamia biparental, sendo assim outros tamanhos efetivos como 100 e 150 podem ser considerados (Sebbenn, 2003)

Segundo Sebbenn (2003), um  $N_e$  de 50 conserva muito dos genes de uma população e pode ser suficiente para evitar danos da depressão por endogamia no curto prazo, mas não é suficiente para manter por longo tempo grande proporção. Neste sentido, utilizaremos os valores de referência sugeridos por Primack & Rodrigues (2001), com um  $N_e = 50$  visando uma conservação a curto prazo, um  $N_e = 500$  visando a conservação a médio prazo e o valor sugerido por Lynch (1996) para conservação a longo prazo, que é igual ( $N_e = 1000$ ).

O tamanho efetivo para os valores de referência 50, 500 e 1000 para as nove populações naturais de *C. brasiliense* no estado de SC é apresentado na tabela 10.

**Tabela 10.** Tamanho efetivo para os valores de referência 50, 500 e 1000 para as nove populações naturais de *C. brasiliense* no estado de SC. NPFT-UFSC, 2011.

<b>POPULAÇÃO</b>	<b><i>n</i></b>	<b><i>f</i></b>	<b><math>N_e</math></b>	<b><math>n/N_e</math></b>	<b><math>N_e</math> 50</b>	<b><math>N_e</math> 500</b>	<b><math>N_e</math> 1000</b>
<b>Florianópolis</b>	52	0,238	42	1,238	62	619	1238
<b>Gov. Celso Ramos</b>	52	0,225	42	1,225	61	613	1225
<b>Tijucas</b>	52	0,246	42	1,246	62	623	1246
<b>Itajaí</b>	54	0,438	38	1,438	72	719	1438
<b>B.Camboriú</b>	51	0,392	37	1,392	70	696	1392
<b>Penha</b>	51	0,233	41	1,233	62	617	1233
<b>Araquari</b>	48	0,197	40	1,197	60	599	1197
<b>S.Francisco do Sul</b>	51	0,193	43	1,193	60	597	1193
<b>Itapoá</b>	51	0,168	44	1,168	58	584	1168
<b>MÉDIA</b>	<b>51</b>	<b>0,259</b>	<b>41</b>	<b>1,259</b>	<b>63</b>	<b>629</b>	<b>1259</b>
<b>DESVIO PADRÃO</b>	<b>1,6</b>	<b>0,093</b>	<b>2,39</b>	<b>0,093</b>	<b>5</b>	<b>46</b>	<b>93</b>

n: número de amostras; *f*: índice de fixação;  $N_e$ : tamanho efetivo populacional;  $n/N_e$ : razão entre o número de amostras e o tamanho efetivo populacional;  $N_e$  50: tamanho efetivo referência de 50 indivíduos;  $N_e$  500: tamanho efetivo referência de 500 indivíduos;  $N_e$  1000: tamanho efetivo referência de 1000 indivíduos.

O tamanho efetivo médio das amostras considerando o conjunto de populações naturais de *C. brasiliense* no em Santa Catarina foi de 41 indivíduos, considerando um tamanho amostral médio de 51 indivíduos e um índice de fixação médio de 0,259. Com uma amostra de 51 indivíduos, a população de Balneário Camboriú foi a que apresentou o menor tamanho efetivo, com uma representatividade genética de 37 indivíduos. O maior tamanho efetivo para a amostragem realizada em campo foi encontrada na população de Itapoá, onde 51 indivíduos coletados representariam efetivamente 44.

Para a obtenção de um tamanho efetivo de 50 indivíduos, visando a conservação a curto prazo, observa-se a necessidade de amostragem média de  $(63 \pm 5)$  indivíduos considerando o conjunto de populações. Este valor variou de 72, na população Itajaí a 58, na população Itapoá. Observa-se também que em oito das nove populações naturais de *C. brasiliense* é necessária uma amostragem de mais de 60 indivíduos para obter um tamanho efetivo de 50.

Visando a conservação a médio prazo ( $N_e = 500$ ), a amostragem média necessária é de  $(629 \pm 46)$  indivíduos, variando de 719 indivíduos na população Itajaí a 584 na população Itapoá. Em seis das nove populações naturais de *C. brasiliense* analisadas, uma amostragem superior a 600 indivíduos é necessária para obtenção de um tamanho efetivo de 500 indivíduos.

Para conservação a longo prazo, é indicado um tamanho efetivo de 1000 indivíduos. Para este valor de referência, observa-se a necessidade de uma amostragem média de  $(1259 \pm 93)$ , com uma variação de 1438 indivíduos na população Itajaí a 1168 em Itapoá, sendo que em seis das nove populações naturais uma amostragem superior a 1200 indivíduos é necessária para obter tal valor de referência.

As populações inseridas na Microrregião Florianópolis/Bacia Cubatão Sul/Biguaçu/Tijucas (Florianópolis, Governador Celso Ramos e Tijucas) apresentaram tamanhos efetivos idênticos ( $N_e = 42$ ) para a amostragem realizada a campo ( $n = 52$ ).

Em relação aos valores de referência, para ambos as três populações apresentaram valores com pouca variação. Esta similaridade se deve ao tamanho amostral ser idêntico ( $n = 52$ ) e também a pequena variação entre o índice de fixação das populações.

Já as populações da microrregião/bacia do Itajaí (Itajaí, Balneário Camboriú e Penha) foram as que apresentaram em média, os menores tamanhos efetivos (38, 37 e 41, respectivamente) com tamanhos amostrais a campo de 54 indivíduos para a população Itajaí e 51, para as populações de Balneário Camboriú e Penha, sendo esta última a unidade amostral que apresentou a maior representatividade genética nos três valores de referência (62, 617 e 1233).

As populações Araquari, São Francisco do Sul e Itapoá, inseridas na Microrregião Joinville/Bacia Cubatão Norte/Itapocu foram as que apresentaram em média, os maiores tamanhos efetivos em relação ao número de indivíduos amostrados a campo. Nestes locais, observa-se também os menores índices de fixação encontrados no conjunto de populações, sendo assim encontramos também as maiores representatividades genéticas (58, 584 e 1168), em ambos os tamanhos de referência, na população localizada no município de Itapoá.

Os dados referentes à razão do tamanho efetivo e amostragem a campo ( $N_e/N$ ), área do fragmento e densidade de plantas por hectare de três das nove unidades amostrais analisadas estão expostos na tabela 11.

**Tabela 11.** Tamanho amostral, efetivo, razão do tamanho efetivo e amostral, área do fragmento e densidade (plantas/ha) de três das nove unidades amostrais analisadas, NPFT-UFSC, 2011.

<b>POPULAÇÃO</b>	<b>N</b>	<b><math>N_e</math></b>	<b><math>N_e/N</math></b>	<b>ÁREA (ha)</b>	<b>densidade (plantas/ha)</b>
<b>Florianópolis</b>	52	42	0,81	33,22	15
<b>São Francisco do Sul</b>	51	43	0,84	66,47	50
<b>Itapoá</b>	51	44	0,86	1.607	3

Devido a inexistência da informação do número de plantas por hectare de todas as unidades amostrais, serão utilizados os dados coletados pela equipe de

Florística do IFF-SC (Vibrans *et al.*, 2010) apenas nas populações localizadas em Florianópolis, São Francisco do Sul e Itapoá.

A população localizada em São Francisco do Sul apresentou a maior densidade, com 50 plantas por hectare. Com uma área de aproximadamente 66,47 hectares, o tamanho efetivo representado atualmente por este fragmento é de cerca de 2.792 indivíduos. A unidade amostral que se encontra no município de Florianópolis e possui uma área aproximadamente 33,22 hectares apresentou uma densidade de 15 plantas por hectare. Sendo assim, esta densidade representa atualmente um tamanho efetivo de cerca de 403 indivíduos.

Já a população localizada no norte do estado de SC, no município de Itapoá apresentou a menor densidade, com 3 plantas por hectare. Este fragmento possui uma área de 1.607 hectares e com estas condições o tamanho efetivo representado atualmente é de 4.146 indivíduos.

Seguindo a recomendação de Lynch (1996), que indica um tamanho efetivo de 1.000 indivíduos para a conservação a longo prazo observa-se que apenas o fragmento localizado no município de Florianópolis apresentou um tamanho efetivo inferior ao recomendado, com um déficit de cerca de 597 indivíduos efetivos. O tamanho efetivo encontrado atualmente também é inferior a indicação de Primack & Rodrigues (2001) para a conservação a médio prazo, que recomenda um ( $N_E = 500$ ), ocasionando um déficit de 97 indivíduos efetivos.

O tamanho efetivo encontrado atualmente nas populações localizadas em São Francisco do Sul e Itapoá atende as recomendações de Primack & Rodrigues (2001) para uma conservação a curto e médio prazo e também a indicação de Lynch (1996) para a conservação a longo prazo. Entretanto, são populações com intermediários índices de diversidade genética ( $H_E$ ) e fixação ( $f$ ) e que contam com a presença de alelos raros, o que reforça a necessidade de ações que visem a conservação e ampliação destes fragmentos.

No entanto, devido a metodologia utilizada pela equipe de florística do IFF-SC incluir plantas com DAP > 5 cm, indivíduos jovens que ainda não contribuem para o tamanho efetivo da população podem ter sido identificados e incluídos nestas populações.

## 6.6 RECOMENDAÇÕES DE COLETA

De forma geral, as nove populações naturais apresentaram uma média diversidade genética ( $H_E = 0,135$ ) e um elevado índice de fixação ( $f = 0,259$ ). Neste sentido, a coleta de sementes de árvores matrizes de *C. brasiliense* existentes nestes fragmentos deve seguir algumas recomendações.

Analisando separadamente as populações dentro das microrregiões/bacias hidrográficas, observa-se que o fragmento localizado no município de Governador Celso Ramos e inserido na bacia microrregião de Florianópolis/Bacia do Cubatão sul/Biguaçu/Tijucas apresentou os maiores índices de diversidade ( $n$  alelos=26;  $A=1,86$ ;  $A_p=2,50$  e  $H_E=0,175$ ), além da presença de dois alelos exclusivos e três alelos raros.

Mesmo sendo um fragmento isolado e relativamente pequeno (39,9 ha), apresenta um enorme potencial para a coleta de sementes, uma vez que não há histórico de corte seletivo na área, que apresenta alguns indivíduos com DAP acima de 30 cm e altura de 20 metros. Além disso, está inserida em uma microrregião/bacia hidrográfica que possui uma reduzida divergência genética entre suas populações, com um ( $F_{ST} = 0,014$ ) e um elevado índice de fixação ( $f = 0,225$ ).

Sendo assim, não há tanta necessidade de ampliação da coleta de sementes utilizando outros fragmentos, uma vez que existe uma baixa divergência genética entre as populações estudadas. Para reduzir os efeitos do elevado índice de fixação seria indicado que a coleta de sementes abrangesse o maior número de árvores possível.

Na microrregião/bacia hidrográfica do Itajaí o fragmento localizado no município de Balneário Camboriú foi o que apresentou os mais elevados índices de diversidade ( $n$  alelos=23;  $A=1,64$ ;  $A_p=2,80$  e  $H_E=0,132$ ), além da presença de um alelo exclusivo e três alelos raros e um elevado índice de fixação ( $f= 0,392$ ).

No entanto, por estar localizado em uma área nobre do litoral catarinense é um fragmento sensivelmente ameaçado pela especulação imobiliária e ações de conservação são de difícil implantação. Mesmo assim, é uma área que apresenta elevado potencial para a coleta de sementes. As populações inseridas nesta microrregião/bacia hidrográfica apresentaram uma média divergência genética ( $F_{ST} =$

0,081), o que indica que a coleta de sementes deve ser complementada em outros fragmentos da microrregião/bacia hidrográfica.

O fragmento localizado no município de Araquari e inserido na Microrregião Joinville/Bacia Cubatão Norte/Itapocu apresentou os maiores índices de diversidade ( $n$  alelos=24;  $A=1,71$ ;  $A_p=2,80$  e  $H_E=0,153$ ) entre as populações inseridas nesta microrregião/bacia hidrográfica, além de contar com a presença de alelos raros e um intermediário índice de fixação ( $f = 0,197$ ).

O fragmento de Araquari é o maior fragmento dentre os nove estudados, com uma área de aproximadamente 1.859 hectares, sendo então uma área prioritária para conservação na microrregião/bacia hidrográfica. A divergência genética entre populações nesta microrregião foi alta, com um ( $F_{ST} = 0,280$ ), o que reforça a necessidade de que a coleta de sementes seja ampliada com a utilização de sementes de outros fragmentos existentes na microrregião/bacia hidrográfica.

No entanto, as microrregiões/bacias hidrográficas que apresentaram acentuados índices de divergência entre as populações ( $F_{ST}$ ) devem ter um maior cuidado na coleta de sementes para não sofrer as consequências da depressão exogâmica, uma vez que segundo (Groom *et al.*, 2005) quando existe uma elevada divergência genética entre os indivíduos translocados, a população a ser fundada pode estar sujeita a esta condição.

O índice de divergência genética é importante para definição de zonas de coleta de sementes. Sebbenn (2002) considera que dentro de uma zona de coleta de sementes a divergência genética entre as populações seja inferior a 5%, e a coleta de sementes impliquem na amostragem de mesmo conjunto gênico, com potencial particular para a adaptação a locais da própria zona ou com características ecológicas similares. Entre as zonas, espera-se que a divergência genética entre populações seja média (5% a 15%) ou grande ( $> 5\%$ ) e assim as novas populações fundadas nas diferentes zonas respeitarão os padrões de estrutura observados na natureza (Sebbenn, 2002).

Se o reflorestamento for realizado fora da zona de coleta de sementes, deve-se procurar incluir amostras de sementes de todas as zonas, a fim de aumentar a probabilidade de sucesso no plantio (Sebbenn, 2002).

Outra preocupação é com relação ao número de sementes por árvore a ser coletado. Sebbenn (2002) relata que para atenuar os efeitos da correlação de

paternidade, apomixia, endogamia e variações na taxa de cruzamento entre frutos em diferentes posições na copa deve-se coletar grande quantidade de sementes por árvore e misturá-las em quantidades iguais ou aproximadamente iguais por árvore, sendo desejável que as sementes sejam coletadas na parte superior da copa, o que poderia aumentar a qualidade e viabilidade das sementes e a qualidade e eficiência dos plantios.

O tamanho da nova área a ser recuperada também é um fator importante no momento de planejar a coleta de sementes. Segundo Sebbenn (2002), o reflorestamento de áreas iguais ou menores do que 100 hectares podem ser feitos a partir da coleta de sementes em 25 árvores, sendo importante saber a densidade de exemplares da espécie a ser utilizada. A coleta em pequenos fragmentos ou em árvores isoladas deve ser evitada, uma vez que é grande a probabilidade de ocorrer cruzamentos biparentais (Sebbenn, 2002).

Em áreas maiores do que 100 hectares, Sebbenn (2002) considera que o tamanho efetivo referencial de 50 é insuficiente para formar a nova população. Sendo assim, deve-se adotar um maior tamanho efetivo de referência para evitar repetir populações provenientes de mesma base genética e conseqüentemente problemas futuros, como os efeitos da deriva genética e aumento de parentesco e endogamia. O tamanho efetivo de 1.000 proposto por Lynch (1996) para áreas superiores a 500 hectares é suficiente para manter a taxa de endogamia na faixa de 1% por geração, evitando assim problemas de deriva genética.

Além dos aspectos citados anteriormente, os estudos do sistema de reprodução, distribuição da diversidade genética entre e dentro de populações, fluxo gênico entre populações e distribuição espacial de genótipos dentro de populações podem ajudar em muito a definir populações, número adequado de árvores para a coleta de sementes e o zoneamento de áreas para a coleta de sementes (Sebbenn, 2002).

## 6.7 IMPLICAÇÕES DA COLETA DE SEMENTES REALIZADA ATUALMENTE POR PRODUTORES DE SANTA CATARINA

Atualmente são poucos os viveiros que trabalham com a produção de mudas de *C. brasiliense* em Santa Catarina, sendo que grande parte das mudas comercializadas em nosso estado é originada de sementes provenientes do Paraná e São Paulo.

Isto foi constatado durante as visitas técnicas realizadas a três viveiros que atualmente comercializam mudas de Olandi, onde em dois deles a produção de mudas era realizada através de sementes provenientes do Paraná. A principal consequência disto é que a população a ser fundada poderá sofrer os efeitos da depressão exogâmica, uma vez que o cruzamento entre plantas provenientes de ambientes distintos podem causar o rompimento de vários complexos gênicos co-adaptados as suas origens (Shimizu, 2007).

Além disso, Souza & Higa (2006) recomendam que as sementes utilizadas sejam coletadas em fragmentos próximos a região de implantação. A zona de coleta não pode ser muito pequena, dado que o fluxo de pólen entre zonas vizinhas pode prevenir o desenvolvimento de diferenciação genética entre populações de diferentes zonas (Sebbenn, 2002).

Outro aspecto associado a forma com que os produtores vêm obtendo sementes de *C. brasiliense* é realizado a coleta em uma única árvore, muitas vezes utilizando indivíduos isolados. Para Sebbenn (2002), a utilização de sementes coletadas de uma ou poucas árvores pode causar o que se conhece por “gargalo genético”, levando a fundação de populações sujeitas aos efeitos da deriva genética, como alterações nas frequências alélicas, perda e fixação de alelos, redução na heterozigidade e aumento nos níveis de endogamia.

Sendo assim, da maneira que vem sendo realizada a coleta de sementes para a produção de mudas de *C. brasiliense* no estado de SC, as novas populações a serem fundadas estão seriamente ameaçadas a sofrer pelos efeitos da depressão exogâmica e exogâmica, além dos efeitos da deriva genética, ficando clara a necessidade de adoção, quando possível, de metodologias de coleta de sementes baseadas em estudos que envolvam a caracterização da diversidade e estrutura genética de populações naturais de espécies nativas.

Levando em consideração os dados de diversidade genética gerados por este trabalho, os fragmentos localizados nos municípios de Governador Celso Ramos, Balneário Camboriú e Araquari foram os que apresentaram o maior potencial para coleta de sementes em suas microrregiões/bacias hidrográficas de inserção, sendo então prioritários para tal atividade.

Na tabela 12 estão dispostos o número de árvores necessárias para obter um tamanho efetivo mínimo de 25 indivíduos para as nove populações de *C. brasiliense* em SC.

**Tabela 12.** Número de árvores necessárias para coleta de sementes visando um tamanho efetivo mínimo de 25 indivíduos. NPFT-UFSC, 2011.

POPULAÇÃO	N	f	Ne	N/Ne	Ne 25
Florianópolis	52	0,238	42	1,24	31
Gov. Celso Ramos	52	0,225	42	1,23	31
Tijucas	52	0,246	42	1,25	31
Itajaí	54	0,438	38	1,44	36
B.Camboriú	51	0,392	37	1,39	35
Penha	51	0,233	41	1,23	31
Araquari	48	0,197	40	1,20	30
S.Francisco do Sul	51	0,193	43	1,19	30
Itapoá	51	0,168	44	1,17	29
<b>MÉDIA</b>					31
<b>DESVIO PADRÃO</b>					2,3

Sebbenn (2002) indica que a coleta de sementes para reflorestamentos de áreas até 100 hectares deve ser realizada em no mínimo em 25 árvores. Levando em consideração os elevados índices de fixação ( $f$ ) encontrados nas populações estudadas, seria necessária uma amostragem de em média 31 indivíduos adultos para obter um tamanho efetivo de 25.

Os fragmentos localizados em Itajaí e Balneário Camboriú, ambos inseridos na microrregião/bacia do Itajaí, necessitariam que a coleta fosse realizada em um maior número de árvores, 36 e 35, respectivamente. Esta maior amostragem é consequência do elevado índice de fixação ( $f$ ) nestas populações. Apesar do elevado índice de fixação encontrado em Balneário Camboriú, a coleta de sementes neste fragmento é

indicada, uma vez que entre as populações inseridas na microrregião/bacia hidrográfica do Itajaí esta foi a que apresentou os maiores índices de diversidade.

Para obter um tamanho efetivo mínimo de 25 indivíduos nos fragmentos localizados em Florianópolis, Governador Celso Ramos e Tijucas, inseridos na microrregião Florianópolis/bacia Cubatão Sul/Biguaçu/Tijucas seria necessário a coleta de sementes em 31 árvores.

Já as populações inseridas na Microrregião Joinville/Bacia Cubatão Norte/Itapocu (Araquari, S.Francisco do Sul e Itapoá) foram as que apresentaram as menores necessidades de coleta, com 30 árvores nos dois primeiros fragmentos e 29 no último.

Sendo assim, uma proposta plausível a curto prazo para recuperação de áreas inferiores a 100 hectares com ocorrência natural de *C. brasiliense* em SC seria a utilização do tamanho efetivo de referência de 25 indivíduos, coleta de sementes respeitando uma distância mínima de 50 metros entre as matrizes e preferencialmente realizada na parte superior da copa, além da utilização de sementes de fragmentos o mais próximos possíveis do local de implantação e de preferência na mesma bacia hidrográfica.

## **7. CONSIDERAÇÕES FINAIS**

As nove populações naturais de *C. brasiliense* nas florestas de planície quaternária no estado de SC analisadas neste estudo apresentaram uma intermediária diversidade genética e um elevado índice de fixação.

Foi detectado também um alto índice de divergência genética entre as populações, sendo que grande parte da diversidade encontra-se dentro das populações e indicando uma elevada estruturação genética entre elas.

Entre as bacias hidrográficas/microrregiões houve uma menor divergência genética se comparado as populações, sendo este um resultado esperado devido a maior distância geográfica existente entre as populações.

A presença de alelos raros e exclusivos, além da fixação de alelos em grande parte das populações e o índice de divergência genética são um indicativo que o fluxo

gênico é restrito, havendo a possibilidade de diminuição na diversidade pela conseqüente perda de alelos.

Os fragmentos localizados em Governador Celso Ramos, Balneário Camboriú e Araquari foram os que apresentaram os mais elevados índices de diversidade, sendo os prioritários para coleta de sementes em suas microrregiões/bacias hidrográficas.

A criação de unidades de conservação nas três microrregiões/bacias hidrográficas de inserção das populações naturais de *C. brasiliense* em Santa Catarina é de fundamental importância não só para conservação da espécie, assim como para os poucos remanescentes de florestas de planícies quaternárias.

A atual metodologia de coleta de sementes realizada pelos produtores de mudas de *C. brasiliense* em Santa Catarina pode comprometer os projetos de recuperação de áreas degradadas com a utilização da espécie.

Contudo, nas populações existentes em SC, especialmente nos fragmentos localizados em Governador Celso Ramos, Balneário Camboriú e Araquari é possível obter sementes com elevada variabilidade genética, desde que a coleta seja realizada observando alguns critérios.

A continuidade e complementação destes estudos são de fundamental importância tanto para ações de conservação quanto para recuperação de áreas degradadas.

## 8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALFENAS, A.C. 1998. Eletroforese de isoenzimas e proteínas afins: fundamentos e aplicações em plantas e microorganismos. Viçosa: UFV. 547p.

ATANAZIO, Z. D. Estudos Fitossociológicos em formações florestais secundárias no domínio da floresta atlântica em Santa Catarina. 1996. Trabalho de Conclusão de Curso (Ciências Biológicas) – UFSC, Florianópolis, 1996.

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

BITTENCOURT, R. CARACTERIZAÇÃO DA DIVERSIDADE GENÉTICA DE POPULAÇÕES NATURAIS DE *Ocotea porosa* (LAURACEAE) NO ESTADO DE SANTA CATARINA. 2004. 41 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Agronomia) - UFSC, Florianópolis, 2004.

BOTREL, M.C.G.; SOUZA, A.M.; CARVALHO, D.; PINTO, S.I.C.; MOURA, M.C.O.; ESTOPA, R.A. Caracterização genética de *Calophyllum brasiliense* Camb. em duas populações de mata ciliar. Revista Árvore, Viçosa, v.30, n.5, p.821-827, 2006.

BISHEIMER, M. V et al. A Mata Atlântica na ilha de Santa Catarina. Ed. Lagoa, Florianópolis (SC) – 2010, 272p.

CARUSO, M. M. L. (1990) O desmatamento da Ilha de Santa Catarina de 1500 aos dias atuais, 2ª ed. Florianópolis: UFSC.

CARVALHO, P. E. R. Guanandi, circular técnica nº 78. Embrapa Florestas. Colombo-PR, 2003.

CECCA (Centro de Estudos Cultura e Cidadania) (1997) Unidades de Conservação e Áreas Protegidas da Ilha de Santa Catarina: caracterização e legislação. Florianópolis: Insular.

ECKEL, R. L. Aspectos biométricos do “Olandi”, *Calophyllum brasiliense* Camb., num fragmento de Floresta de Planície Quaternária em Ratoles (Ilha de Santa Catarina, SC). 2003. 41 p. Trabalho de Conclusão de Curso (Ciências Biológicas) – UFSC, Florianópolis, 2003.

FERREIRA, M. E.; GRATTAPAGLIA, D. Introdução ao uso de marcadores moleculares em análise genética. 3. ed. Brasília: Embrapa-Cenargen, 1998. 220 p. (Weir, 1990 citado por Grattapaglia & Ferreira, 1998).

FLORES, E.M. 2002. *Calophyllum brasiliense* Camb. IN: Vozzo, J. A. (ed.). Tropical Tree Seed Manual. Agricultural Handbook 721. Washington: Forest Service, United States Department of Agriculture. p. 353-356.

FISHER, E.; SANTOS, F. A. M. Demography, phenology and sex of *Calophyllum brasiliense* (Clusiaceae) trees in the Atlantic Forest. 2001. Journal of Tropical Ecology (2001) 17: p. 903–909, Cambridge University.

FRANKHAM, R.; BALLOU, J. D. & BRISCOE, D.A. (2008). Fundamentos da Genética da Conservação. Sociedade Brasileira de Genética. 262 pp.

GOUDET, J. (1995). Fstat version 1.2: a computer program to calculate Fstatistics. Journal of Heredity. 86(6): 485-486.

GROOM, M.J.; MEFFE, G.K.; CARROLL, C.R. 2005. Principles of Conservation Biology. Third edition. Massachusetts, USA: Sinauer Associates, Inc.

HAMRICK, J.L.; GODT, M.J.W. Allozyme diversity in plant species. In: SOLTIS, D.E.; SOLTIS, P.S. (Ed.) Isozymes in plant biology. Portland: Discorides Press, 1989. p.43-63.

HEDRICK, P. 2005. A Standardized Genetic Differentiation Measure. Evolution 59: 1633-1638.

HIGA, A. R. Pomar de sementes de espécies florestais nativas. FUPEF, 2006.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. Manual técnico da vegetação brasileira: série manuais técnicos em geociências. Rio de Janeiro, n. 1, 1992.

KAGEYAMA, P. & GANDARA, F.B. 1998. Conseqüências genéticas da fragmentação sobre populações de espécies arbóreas. Série Técnica IPEF 12(32): 65-70.

KAWAGUICI, C.B.; KAGEYAMA, P.Y. Diversidade genética de três grupos de indivíduos (adultos, jovens e plântulas) de *Calophyllum brasiliense* Camb. em uma população de mata de galeria. Scientia Forestalis, n. 59, p. 131-143, 2001.

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

KLEIN, R. M. 1978b. Contribuições ao conhecimento da flora e da vegetação do vale do Itajaí – Santa Catarina. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo. 412p.

LEWIS, P.O.; ZAYKIN, D. GDA - Genetic Data Analysis: version 1.1 for Windows 95/NT. Disponível em: <<http://www.lewis.eeb.uconn.edu/lewishome/>>.

LI, C.C. HORWITZ, D.G. 1953. Some methods do estimating the inbreeding coefficient. Am. J. Human Genet. 5 (2): 107-117.

LYNCH, M. 1996. A quantitative-genetic perspective on conservation issues. Pp. 471-501 *In* Conservation Genetics: Case Histories from Nature (J.C. Avise and J.L. Hamrick, eds.). Chapman & Hall, NY.

LORZA, R. F. Pomares de sementes de espécies nativas – Situação atual. In: HIGA, A. R.; SILVA, L. D. Pomares de sementes de espécies florestais nativas. Curitiba: FUPEF, 2006. p.41-65.

MANTEL N. & VALAND R.S. 1970. A technique of nonparametric multivariate analysis. Biometrics. 26 : 547-558.

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

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

NPFT, 2008. Caracterização da Diversidade Genética Inventário Florístico-Florestal de Santa Catarina, Etapa 3. Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2008.

PRIMACK, R. B.; RODRIGUES, E. *Biologia da conservação*. Londrina: E. Rodrigues, 2001. v. 3. 327 p.

Produção e manejo de sementes da Mata Atlântica do Sul do Brasil / colaboradores Rosa Neli Bento de Andrade *et al.* – ed. rev. e atual – Florianópolis : Projeto Rede Semente Sul : UFSC/CCB, 2005.

REIS, A. & WIESBAUER, M.B. 2006. O uso de sementes na restauração florestal. In: HIGA, A. R.; SILVA, L. D. *Pomares de sementes de espécies florestais nativas*. Curitiba: FUPEF, 2006. p. 83-93

REIS, C. A. F. *et al.* DIVERSIDADE E ESTRUTURA GENÉTICA ESPACIAL DE *Calophyllum brasiliense* Camb. (CLUSIACEAE) EM UMA FLORESTA PALUDOSA. R. *Árvore*, Viçosa-MG, v.33, n.2, p.265-275, 2009.

REIS, C. A. F. DIVERSIDADE GENÉTICA DE PLÂNTULAS, ÁRVORES JOVENS E ADULTAS DE *Calophyllum brasiliense* Camb. EM UMA FLORESTA PALUDOSA. 2006. 47p. Trabalho de Conclusão de Curso (Engenharia Florestal), Universidade federal de Lavras, 2006.

REITZ, R.; Klein, R. M.; Reis, A.. Madeiras do Brasil. Florianópolis: Lunardelli, 1979. 320 p.

REITZ, R.; KLEIN, R. M.; REIS, A. Projeto Madeira de Santa Catarina. Sellowia, Itajaí, n.28-30, p.3-320, 1978.

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

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

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

SEOANE, C. E. S. Efeitos da fragmentação florestal sobre o sistema de reprodução e migração de sementes em remanescentes populacionais de *Euterpe edulis* Martius. 2007. Doc. 152, Embrapa Florestas, Colombo-PR, 2007.

SILVA, L. D.; HIGA, A. R. Planejamento em implantações de pomares de sementes de espécies florestais nativas. In: HIGA, A. R.; SILVA, L. D. Pomares de sementes de espécies florestais nativas. Curitiba: FUPEF, 2006. p.13-40.

SOUZA, A. M. Estrutura genética de populações naturais de *Calophyllum brasiliense* Camb. na bacia do alto Rio Grande. Tese (Doutorado) Universidade Federal de Lavras, Pós-Graduação em Engenharia Florestal – Lavras : UFLA, 2006. 154 p. : il.

VENCOVSKY, R. Análise de variância de frequências alélicas. Revista Brasileira de Genética, v. 15, p.53-60, 1992. Suplemento, 1.

VIBRANS, A.C., SEVEGNANI, L., LINGNER, D.V., DE GASPER, A.L., SABBAGH, S. Inventário Florístico Florestal de Santa Catarina (IFFSC): aspectos metodológicos e operacionais. *Pesquisa Florestal Brasileira*, v. 30, n. 64, p. 291-302, 2010.

WEIR, B.S.; COCKERHAM, C.C. Estimating F-statistics for the analysis of population structure. *Evolution*, v.38, p1358-1370, 1984.

WRIGHT, S. 1951. The genetical structure of populations. *Annals of Eugenics*, 15: 395-420.