

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”  
FACULDADE DE ENGENHARIA  
CÂMPUS DE ILHA SOLTEIRA**

**LUCIANE MISSAE SATO**

**VARIABILIDADE E DIVERSIDADE GENÉTICA DE POPULAÇÕES NATURAIS  
E CONSERVADAS *EX SITU* DE Myracrodruon urundeuva (AROEIRA)**

Ilha Solteira  
2021

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA (SISTEMAS DE  
PRODUÇÃO)**

**LUCIANE MISSAE SATO**

**VARIABILIDADE E DIVERSIDADE GENÉTICA DE POPULAÇÕES NATURAIS  
E CONSERVADAS *EX SITU* DE Myracrodruon urundeuva (AROEIRA)**

Tese apresentada à Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira – UNESP como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutora em Agronomia. Especialidade: Sistemas de Produção

Mario Luiz Teixeira de Moraes  
**Orientador**

Miguel Luiz de Menezes Freitas  
**Coorientador**

José Cambuim  
**Coorientador**

Damase Khasa  
**Coorientador**

FICHA CATALOGRÁFICA

Desenvolvido pelo Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação

S253v Sato, Luciane Missae.  
Variabilidade e diversidade genética de populações naturais e conservadas ex situ de *Myracrodruon urundeuva* (aroeira) / Luciane Missae Sato. -- Ilha Solteira: [s.n.], 2021  
134 f. : il.

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista. Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira. Especialidade: Sistemas de Produção, 2021

Orientador: Mario Luiz Teixeira de Moraes  
Coorientador: Miguel Luiz de Menezes Freitas  
Inclui bibliografia

1. Sequenciamento genético de nova geração. 2. Variabilidade química do solo. 3. Modelos lineares mistos. 4. Anacardiaceae. 5. Cerrado. 6. Single nucleotide polymorphism.

  
Raiane da Silva Santos

**CERTIFICADO DE APROVAÇÃO**

**TÍTULO DA TESE: VARIABILIDADE E DIVERSIDADE GENÉTICA DE POPULAÇÕES NATURAIS E CONSERVADAS EX SITU DE *Myracrodruon urundeuva* (AROEIRA)**

**AUTORA: LUCIANE MISSAE SATO**

**ORIENTADOR: MARIO LUIZ TEIXEIRA DE MORAES**

**COORIENTADOR: JOSÉ CAMBUIM**

**COORIENTADOR: MIGUEL LUIZ MENEZES FREITAS**

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Doutora em AGRONOMIA, área: Sistemas de Produção pela Comissão Examinadora:



Prof. Dr. MARIO LUIZ TEIXEIRA DE MORAES (Participação Virtual)  
Departamento de Fitotecnia, Tecnologia de Alimentos e Sócio Economia / Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira - UNESP

Prof. Dr. JOAO ANTONIO DA COSTA ANDRADE (Participação Virtual)  
Departamento de Biologia e Zootecnia / Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira - UNESP

Dr. ALEXANDRE MARQUES DA SILVA (Participação Virtual)  
Fazenda de Ensino, Pesquisa e Extensão / Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira - UNESP

Prof. Dr. CELSO LUIS MARINO (Participação Virtual)  
Departamento de Genética / Faculdade de Ciências Agronômicas de Botucatu - UNESP

Prof. Dr. FLÁVIO BERTIN GANDARA MENDES (Participação Virtual)  
Departamento de Ciências Biológicas / Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz - ESALQ/USP

Ilha Solteira, 24 de agosto de 2021

## **SOBRE A AUTORA**

Luciane Missae Sato, nascida em 7 de abril de 1987 na cidade de Andradina, São Paulo, é filha de Ilda Aparecida Ribeiro Sato e Sérgio Mitsuo Sato e tem um irmão, Renan Hitoshi Sato. Obteve o título de Licenciada e Bacharel em Ciências Biológicas pela Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (UNESP) – *campus* de Botucatu em 2009 e 2010, respectivamente. Durante a graduação se dedicou às atividades de pesquisa no Instituto de Biociências de Botucatu no Departamento de Genética na área de Genética Molecular de Plantas (bolsista PIBIC/CNPq 2006-2007) e no Departamento de Educação com Ensino de Ciências (bolsista PROEX UNESP 2007-2009). Ainda na graduação, na Faculdade de Ciências Agrônômicas de Botucatu, Departamento de Ciência Florestal, atuou com pesquisas na área de Restauração Florestal (bolsista FAPESP 2009-2010). Fez o curso de Mestrado pelo Programa de Pós-Graduação em Ciência Florestal pela UNESP *campus* de Botucatu na área de Ecologia da Restauração entre 2011 e 2013 (bolsista FAPESP 2012-2013). Atuou como Professora Colaboradora Mestre do curso de Ciências Biológicas da Universidade Estadual do Norte do Paraná (UENP) – *campus* de Cornélio Procópio entre 2014 e 2016. Em 2017, ingressou no curso de Doutorado pelo Programa de Pós-Graduação em Agronomia (Sistemas de Produção – Genética, Melhoramento e Propagação de Plantas) da UNESP *campus* de Ilha Solteira. De 2018 a 2019, atuou como Estagiária de Pesquisa no *Institut de Biologie Intégrative da Université Laval*, Québec, Canadá (bolsista CAPES PDSE), onde desenvolveu parte das atividades de pesquisa de tese nas áreas de sequenciamento genético de nova Geração e bioinformática. Ao longo do ano de 2020, atuou na cidade de São Paulo como Analista de Projetos de P&DI e Analista de Laboratório, aplicando procedimentos de biologia molecular para o diagnóstico da Covid-19.

**Aos meus pais, Ilda Aparecida e Sérgio Mitsuo,**

**Ao meu irmão, Renan Hitoshi,**

**e**

**A todos profissionais da ciência e educação,**

**DEDICO**



**À minha avó materna, Hilda Brum (*in memoriam*),**

**Ao meu parceiro, Sérgio Luiz,**

**OFEREÇO**

## AGRADECIMENTOS

*“Se hoje enxergo mais longe é porque me apoiei em ombros de gigantes”*

(atribuída a Isaac Newton)

Este trabalho jamais teria sido feito sem a colaboração em vários níveis de muitas pessoas e instituições. A minha gratidão está longe de ser completamente representada por palavras, mas segue minha singela tentativa...

Agradeço aos gigantes nos quais me apoiei...

... Acima de tudo, mãe, Ilda Aparecida Ribeiro Sato e pai, Sérgio Mitsuo Sato, gigantes com os melhores e mais fortes ombros que já conheci, pessoas preciosas que materializaram toda a força e propósito Divinos, abrindo os caminhos para minha existência. Obrigada por me permitirem ser filha de vocês! Obrigada pela vida, por todo amor, paciência e doação! Eterno amor e gratidão por absolutamente tudo!

... Meu irmão, Renan Hitoshi Sato e cunhada, Anna Flávia Lima Sato, pelo amor, carinho e incentivo sempre. Minha avó materna, Hilda Brum Borges (*in memoriam*) que me ensinou a nunca desistir. Tenho certeza de que celebra nosso amor junto de Deus e sempre olha por nós! (Conseguimos, vó!). Minha avó paterna (*batyan*) Fukue Sato pelo exemplo de garra e persistência. Meus primos-padrinhos, Maira Zonta, Carlos Zonta e Vinícius Zonta, pelo incentivo e carinho;

... Meu parceiro, Sérgio Luiz Colacino Jr., pela paciência, compreensão, cuidado, ajuda e carinho em todos os aspectos da nossa vida, especialmente durante todo o período de doutorado;

... Minhas amigas de infância do nosso “Quarteto” (Mariana Fioravante, Amanda Cardoso e Raquel Scarabello) e suas amadas famílias pela amizade, carinho, incentivo e paciência;

... Às minhas orientadoras de iniciação científica (FAPESP) e mestrado (FAPESP), Professora Vera Lex Engel e Dra. Giselda Durigan, minhas mães científicas, por me iniciarem e me impulsionarem na vida acadêmica, me ensinando desde cedo a importância de sempre (nos) questionar. Muito obrigada! Agradeço também aos meus outros orientadores de iniciação científica Professores Ivan

Godoy Maia (PIBIC/CNPq) e Cláudio Oliveira pelos primeiros passos na genética. E, por fim, à minha orientadora de extensão Professora Luciana Maria Lunardi Campos (PROEX UNESP) por me ensinar a importância de entregarmos o pouco do que aprendemos em prol da sociedade;

... Ao PPGA UNESP *campus* de Ilha Solteira, na pessoa do coordenador prof. Paulo Ceresini, pela paciência e apoio em todos os momentos. O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001 - Processo nº 88882.433604/2019-01 (Demanda Social) e Processo nº 88881.188882/2018-01 (Programa de Doutorado Sanduíche no Exterior). Estes auxílios foram concedidos a mim por intermédio do PPGA UNESP e financiaram minha formação no doutorado bem como parte desta pesquisa. Ainda, parte deste trabalho também foi realizado com o apoio do projeto CNPq Processo no.: 303103/2017-8, sob coordenação do Prof. Dr. Mario Moraes;

... Ao Professor Mario Luiz Teixeira de Moraes, meu estimado orientador de doutorado, pela paciência, pelos preciosos ensinamentos, conselhos, orientações, trocas de ideias edificantes, oportunidades, condições e confiança depositada para a realização deste trabalho. Alegria e honra em tê-lo como referência e trabalhar em seu grupo. Minha eterna gratidão!

... Ao Professor Miguel Luiz Menezes Freitas, meu coorientador de doutorado, por todas as conversas, orientações, oportunidades, confiança e apoio na qualificação e na saída para estágio no exterior;

... Ao Professor José Cambuim, meu coorientador no doutorado, pelos auxílios nas coletas de dados e material de campo, incentivo e apoio sempre, pela amizade, convivência e preciosos ensinamentos;

... Ao Professor Damase Khasa, meu coorientador no Canadá, pela confiança, apoio em todas as etapas da pesquisa na Université Laval, pelas conversas edificantes, pelos pontos de vista, pela oportunidade de encabeçar uma aula de sua disciplina no mestrado em Agrofloresta, por financiar o meu treinamento nas análises de bioinformática, pelos novos contatos e oportunidades! Obrigada a você e à sua esposa por tudo!

... À Professora Andréia Alves Rezende pela oportunidade de participar da elaboração de um projeto temático da FAPESP e pelas trocas de ideias;



... À Professora Flávia Lisoni e ao Professor João Antônio da Costa Andrade pela oportunidade de fazer estágio de docência em suas disciplinas (Genética Geral e Genética Quantitativa, respectivamente);

... Ao Professor João Antônio da Costa Andrade pelas contribuições no exame de qualificação e pelo apoio no desenvolvimento dos cálculos do capítulo 3 desta tese;

... Ao Professor Celso Luís Marino, pelas aulas ainda na graduação, pelo exemplo profissional e pela colaboração no capítulo 1 desta tese;

... Ao Dr. Bruno César Rossini pelo seu tempo, pela grande paciência e ajuda, pelas conversas e ensinamentos, por sua colaboração no capítulo 1 desta tese, pelas análises dos dados do sequenciamento, auxílio na elaboração da escrita de parte dos métodos e por sua disponibilidade;

... Ao Professor Alan Rodrigo Panosso pelas incríveis aulas na pós, pelo apoio, pela avaliação e contribuições no exame de qualificação, pela colaboração no capítulo 2 desta tese e pelas trocas de ideias;

... Ao Me. Kleve Canteral pelo seu tempo, por toda paciência, colaboração, análises e elaboração dos gráficos no R, conversas e ensinamentos, por sua disponibilidade nas urgências;

... À Dr<sup>a</sup>. Daniele Fernanda Zulian e à Me. Francieli Caldeira Saul pela amizade, compartilhamento de histórias, superação de dificuldades durante o doutorado e, claro, companheirismo e diversão nas coletas em campo;

... Ao Dr. Alexandre Marques pela amizade e catalogação georreferenciada das matrizes, pelos mapas, pelos auxílios nas coletas, pelas amostras de solo;

... Ao Alonso Ângelo pela amizade e convivência e por toda ajuda em todas as coletas em campo;

... À Dr<sup>a</sup> Patrícia Alves pela amizade e pela condução das extrações das amostras de DNA para o sequenciamento;

... Ao Sérgio Colacino Jr. pela logística entre Brasil e Canadá das amostras de DNA das matrizes de Aramina, SP;

... A todos do Laboratório de Genética de Populações, Evolução e Silvicultura (LGPS), com gratidão especial a: Mário Moraes, José Cambuim, Daniele Fernanda Zulian, Francieli Caldeira Saul, Lara Comar Riva, Murilo Silva, José Carlos, Selma Buzetti Moraes, Patrícia Ferreira Alves, Alexandre Marques da Silva e Alonso Ângelo pelo ajuda em campo e em laboratório. Agradeço carinhosamente Darlin Zaruma,

Maiara Cornacini, Marcelo Alcântara e Juliana Corrêa pela amistosidade durante a trajetória do doutorado;

... A Dra. Ananda Virgínia Aguiar (EMBRAPA Florestas) e ao Dr. Wanderley dos Santos pela ajuda com o transporte internacional de amostras biológicas;

... Aos proprietários e funcionários dos estabelecimentos rurais nos municípios de Aramina, SP e Selvíria, MS, verdadeiros guardiões e manejadores da biodiversidade vegetal, animal e do solo, que permitiram a coleta de sementes e amostras de tecido vegetal para as análises genéticas: Aramina, SP - Luiz Torrezan Filho (*in memoriam*), Ricardo Torrezan, José Torrezan (*in memoriam*), Paulino Scandiuzzi (*in memoriam*), Sucena Scandiuzzi Bichuete (*in memoriam*) e Walter Bichuete; Selvíria, MS - Fazenda Colina, Cláudio de Souza e dona Juce;

... A todos os funcionários do departamento de Fitotecnia pela ajuda em todos os momentos;

... A todos os funcionários da FEPE pela valiosa e incansável ajuda em campo nas fases de coleta de dados das progênies;

... A todos os funcionários da seção técnica de pós graduação pela ajuda e resolução das dúvidas e problemas em todos os momentos;

... À Carla Carolina Moraes por sua amizade e ajuda essencial para que eu chegasse mais preparada e acolhida em Québec. Muitíssimo obrigada pelo cuidado, apoio e dicas!

... Ao pessoal do IBIS (Institute de Biologie Intégrative et des Systèmes) da Université Laval, em especial: Professor Damase Khasa, Marie-Ève Beaulieu, Brian Boyle, Gaétan Légaré, Jérôme Laroche, Donna Mazerolle, Micheline Girard, Mario Boutin (*in memoriam*), Kevin Kamtche, Chantal Giroux, Sheetal Rimal, Degi Asmara, Jean-Marc Kaumbu, Edith Muwawa, Rodrigue Daassi, Halim Maaroufi, Professor Juan Carlos Aguilar, Professora Ilga Porth, Thaís Campos, Martha Alonso, Denis, Justine Loué, Anthony Piot e Roos.

... À Marie-Ève Beaulieu pela alegria, bom humor, amizade, pelos grandes ensinamentos de gestão de pessoas, financeira e de laboratório, pelas resoluções de problemas com rapidez, pelas conversas, dicas e compartilhamento de experiências;

... Ao Brian Boyle pelos ensinamentos, profissionalismo, humor, oportunidades no setor de sequenciamento genético e nas disciplinas do programa de Genética e conversas edificantes;

... Ao Jérôme Laroche pelos ensinamentos e treinamento em bioinformática, pelas conversas, dicas, visões, profissionalismo e humor;

... Ao Gaétan Légaré pelo ótimo humor, compreensão, ensinamentos a “mão na massa” em laboratório, pelas ajudas valiosas e dicas;

... Ao Halim Maaroufi pela alegria, bom humor, treinamento em bioinformática, pelas dicas e conversas;

... Ao grupo “brazuca” em Québec: Lívia Torres, Verônica Alves, Isabelle Prado, Daniele Marconato, Thaís Campos, Lucas Zimmerman, Everton Ferreira, Walmir da Silva, Rafael Salgado, Mauro Silvério, Gilberto Keserle, pelos momentos de ajuda mútua e alegria, amenizando a saudade do Brasil. Muito obrigada a todos vocês!

... À Francine Caron pela amizade, cuidado e bom-humor diários entre novembro de 2018 e maio de 2019, concedendo um teto quentinho e confortável em Québec;

... Ao Justin Houde por sua amizade, paciência, alegria e leveza no ensino da língua francesa, facilitando minha comunicação verbal e escrita, essencial para o desenvolvimento deste trabalho,

... Ao Marc-André Lamay, pela amizade formada e acolhida do grupo “brazuca” junto à sua família.

De tudo ficaram três coisas:

A certeza de que estamos começando

A certeza de que é preciso continuar

A certeza de que podemos ser interrompidos antes de  
terminar

Façamos da interrupção um novo caminho,

Da queda, um passo de dança

Do medo, uma escada

Do sonho, uma ponte

Da procura, um encontro!

Fernando Sabino

"O Encontro Marcado" (adaptado)

## NOTA

Esta tese de doutorado se refere às atividades de pesquisa segundo método científico desenvolvidas entre março de 2017 e fevereiro de 2021 no Laboratório de Genética de Populações, Evolução e Silvicultura (LGPS), Faculdade de Engenharia, UNESP *campus* de Ilha Solteira, São Paulo e no Instituto de Biologia Integrativa e dos Sistemas, Université Laval, Québec, Canadá.

As produções adicionais desenvolvidas durante o período citado estão nos Apêndices.

## RESUMO

A conservação *in situ* e *ex situ* de populações em bancos genéticos são importantes estratégias para conservação de espécies ameaçadas por evitarem o estreitamento da base genética da espécie. Inúmeras populações da espécie arbórea nativa da América do Sul *Myracrodruon urundeuva* têm experienciado significativa redução no número de indivíduos ao longo dos últimos anos, principalmente pelo uso e manejo inadequado dos ambientes nos quais estão inseridos. Assim, o número efetivo de indivíduos pode não estar sendo suficiente para garantir a persistência dos indivíduos nos locais de origem (e agora modificados), podendo haver redução na variabilidade genética. Entendendo que o planejamento e implementação de ações de conservação e restauração podem ser embasadas no conhecimento acerca da variabilidade e diversidade genética a partir de marcadores genéticos tanto de natureza morfológica quanto molecular em nível de DNA, o objetivo principal deste trabalho foi verificar o status da variabilidade e diversidade genética da aroeira (*M. urundeuva*). Para tanto, a espécie foi investigada em duas populações geograficamente distintas, cada uma em i) em dois contextos ambientais distintos (ambientes naturais com diferentes pressões de seleção antrópicas e sob conservação *ex situ*) e ii) em duas gerações (progenitores e progênies da geração 1). A abordagem *de novo* revelou baixo número de loci SNPs (99), ao passo que a abordagem de alinhamento com a espécie *Pistacia vera* (pistache) como referência revelou alto número de loci SNPs (1.118). O número de alelos privados é maior na população de Aramina, SP (577) em comparação com a população de Selvíria, MS (196), ressaltando a importância da conservação dessas populações. O tipo de atividade antrópica não influencia na diversidade genética baseada na análise de SNPs, visto que não há diferença significativa neste parâmetro entre as duas populações estudadas. De todas as variáveis mensuradas correspondentes ao fenótipo, genótipo e composição química do solo do entorno das árvores matrizes avaliadas em ambas as populações, as características do solo apresentaram maior variabilidade. É possível separar as matrizes em dois grupos, sendo um com 25% das árvores e outro, com 75% delas, podendo-se inferir que as condições atuais de ambiente, genótipo e fenótipo atuam de forma desuniforme na espécie, mas com tendências similares nas populações. A herdabilidade da medida composta

padronizada é menor em comparação com os demais caracteres isolados. A medida composta padronizada (MCP) permite fazer inferências sobre o comportamento das progênies por tornar caracteres de naturezas distintas comparáveis entre si.

**Palavras-chave:** cerrado; **Anacardiaceae**; sequenciamento genético de nova geração; single nucleotide polymorphism; variabilidade química do solo; análise de componentes principais; modelos lineares mistos; caracteres de crescimento; silvicultura tropical.

## ABSTRACT

In situ and Ex situ conservation of populations in gene banks are important strategies for the conservation of threatened species, as they avoid the narrowing of the genetic base of the species. Numerous populations of the tree species native to South America *Myracrodruon urundeuva* have experienced a significant reduction in the number of individuals over the last few years, mainly due to the inadequate use and management of the environments in which they are inserted. Thus, the effective number of individuals may not be sufficient to guarantee the persistence of individuals in their original (and now modified) places, which may lead to a reduction in genetic variability. Understanding that the planning and implementation of conservation and restoration actions can be based on knowledge about genetic variability and diversity from genetic markers of both morphological and molecular nature at the DNA level, the main objective of this work was to understand the status of variability and genetic diversity of aroeira (*M. urundeuva*). Therefore, the species was investigated in two geographically distinct populations, each in i) in two distinct environmental contexts (natural environments with different anthropogenic selection pressures and under ex situ conservation) and ii) in two generations (parents and progenies de geração 1) . The de novo approach revealed a low number of SNPs loci (99), while the alignment approach with the *Pistacia vera* (pistachio) species as reference revealed a high number of SNPs loci (1,118). The number of private alleles is greater in the population of Aramina, SP (577) compared to the population of Selvíria, MS (196), highlighting the importance of conservation of these populations. The type of anthropic activity does not influence the genetic diversity based on the analysis of SNPs, as there is no significant difference in this parameter between the two populations studied. Of all the measured variables corresponding to the phenotype, genotype and chemical composition of the soil of the parent trees evaluated in both populations, the soil characteristics showed greater variability. It is possible to separate the matrices into two groups, one with 25% trees and the other with 75% of them. populations. The heritability of the standardized composite measure is lower compared to the other isolated characters. The standardized composite measure (MCP) allows making inferences about the behavior of the progenies by making characters of different natures comparable to each other.



**Keywords:** cerrado; anacardiaceae; next generation sequencing; single nucleotide polymorphism; chemical soil variability; principal components analysis; mixed linear models; growth characters; tropical silviculture.

## SUMÁRIO

<b>INTRODUÇÃO</b>	<b>14</b>
<b>CAPÍTULO 1. DIVERSIDADE GENÉTICA DE <i>Myracrodruon urundeuva</i> Allemão A PARTIR DE MATRIZES DE DUAS POPULAÇÕES</b>	
1. INTRODUÇÃO	20
1.1. Descrição do contexto histórico e ambiental das regiões nas quais as matrizes de <i>Myracrodruon urundeuva</i> estão inseridas	25
2. Material e métodos	36
2.1. Áreas de estudo	36
2.2. Amostragem	36
2.3. Bibliotecas genômicas ddRAD e sequenciamento	38
2.4. Identificação dos SNPs e análises estatísticas	38
2.5. Estruturação populacional	41
3. Resultados e discussão	42
3.1. Qualidade dos dados brutos provenientes do sequenciamento	42
3.2. SNPs e processamento dos reads	43
3.3. Diversidade genética	43
3.4. Estruturação populacional	44
3.5. Análise de Variância Molecular (AMOVA)	46
4. Conclusão	54
Referências	54
<b>CAPÍTULO 2. RELAÇÕES ENTRE VALORES GENÉTICOS, CARACTERÍSTICAS FENOTÍPICAS E ATRIBUTOS DO SOLO DO ENTORNO DE MATRIZES DE <i>Myracrodruon urundeuva</i> Allemão EM DIFERENTES PAISAGENS ANTROPIZADAS</b>	<b>64</b>
1. Introdução	64
2. Material e métodos	68
2.1. Análises genéticas	68

2.2. Determinação dos atributos químicos do solo	69
2.3. Análise estatística	69
3. Resultados e discussão	71
3.1. Similaridade entre pares de variáveis: correlação de Pearson	71
3.2. Estrutura interna dos dados e variância: análises de componentes principais (PCA)	74
3.3. Caracteres silviculturais e atributos do solo no entorno das árvores matrizes nas duas populações isoladas de <i>Myracrodruon urundeuva</i>	75
4. Conclusões	80
Referências	80
<b>CAPÍTULO 3. MEDIDA COMPOSTA: UMA FERRAMENTA BIOMÉTRICA ALTERNATIVA PARA INFERÊNCIAS SOBRE ADAPTAÇÃO DE ESPÉCIES ARBÓREAS</b>	<b>84</b>
1. Introdução	84
2. Material e métodos	88
2.1. Histórico da coleta de sementes e descrição da área de estudo	88
2.2. Delineamento experimental	90
2.3. Amostragem e padronização dos dados	91
3. Resultados e discussão	93
3.1. Análise de deviance	93
3.2. Estimativa dos parâmetros populacionais genético-estatísticos	95
3.3. Uso do índice Z na conservação genética ex situ	98
4. Conclusões	101
Referências	101
<b>CONCLUSÕES GERAIS</b>	<b>107</b>
<b>APÊNDICES</b>	<b>109</b>

Apêndice 1A - Concentração de DNA genômico de folhas de indivíduos de duas populações in situ de <i>Myracrodruon urundeuva</i> . A quantificação foi feita por dois métodos distintos: espectrofotometria (NanDrop Thermo Fisher Scientific) e fluorometria (QuBit Thermo Fisher Scientific).	109
Apêndice 2A - Número de reads para cada amostra após filtragem dos dados pelo pipeline STACKS.	112
Apêndice 3A - Atributos do Solo	114
Apêndice 4A - Diluições feitas nas amostras de DNA a fim de padronizá-las para a montagem da placa de sequenciamento.	117
Apêndice 5A - Esquema de uma placa de sequenciamento de 96 poços representando a maneira como as amostras de DNA deste estudo foram alocadas.	120
Apêndice 6A - Produções adicionais	121
<b>ANEXOS</b>	<b>127</b>
Anexo 1A: Protocolo de extração de DNA genômico a partir de folhas de <i>Myracrodruon urundeuva</i> , adaptado de Souza <i>et al.</i> , 2017.	127

## INTRODUÇÃO

O desmatamento em zonas tropicais e subtropicais foi de, aproximadamente, 7 milhões de hectares nos últimos anos e se deve, primariamente, às atividades agrícolas comerciais de grande escala (40%) e às infraestruturas e exploração de recursos naturais - água e minérios, por exemplo (27%) (FAO, 2015). A supressão florestal desestruturada resulta na perda de populações arbóreas e não arbóreas e, em última instância, da diversidade genética. Além disso, mudanças aceleradas nos padrões climáticos permitem esboçar previsões com baixo grau de certeza sobre a manutenção da integridade da biodiversidade ainda restante (NEWBOLD *et al.*, 2015), não garantindo à humanidade que as práticas agrícolas e florestais predominantes na atualidade sejam plausíveis em longo prazo. Assim, ações para a manutenção e o bom manejo dos recursos naturais se faz conveniente e necessária.

A perda de biodiversidade em todos os níveis é um assunto que vem sendo discutido por lideranças regionais e globais desde o início da década de 70 na Conferência de Estocolmo e, então, a importância do assunto em nível mundial foi consagrada na ECO-92 no Rio de Janeiro. A partir dos acordos firmados nas discussões, metas e planos têm sido estabelecidos como estratégias para desacelerar e cessar a destruição da diversidade biológica. É imperativo, portanto, que cada país e/ou região *i*) conheça bem quais são os componentes que formam sua biodiversidade, *ii*) identifique de que maneira que ela vem sendo explorada, *iii*) como é possível parar sua destruição, *iv*) recuperar o que foi e/ou tem sido perdido e *v*) conciliar seu uso para prover as necessidades humanas sem comprometer a sua integridade.

O restabelecimento dos mecanismos mantenedores e/ou geradores da biodiversidade pode ser alcançado ao protegê-la em seus variados níveis (macro [ecossistemas], taxonômico [espécies] e micro [genético]). Em nível de recursos genéticos, o Brasil formalizou a estratégia de proteção por meio acesso de dados provindos de bancos de germoplasma. Os recursos genéticos podem ser definidos como um componente dos recursos naturais cujo material hereditário possui valor atual e/ou potencial para a humanidade, sendo estes últimos quaisquer materiais que contenham unidades funcionais de hereditariedade (FAO, 2013). Os recursos genéticos podem ser conservados em populações *in situ*, ou seja, em seu ambiente

de origem (florestas, rios, pântanos etc.) ou também podem ser *ex situ*, o que significa que as populações cujos materiais hereditários são de interesse devem ser instaladas fora de seu local de origem (EMBRAPA, 2010). A prática desta última almeja, essencialmente, a conservação da variabilidade genética da espécie em questão fora de seu habitat natural, de modo que o estreitamento da base genética da espécie seja evitado. Portanto, os recursos genéticos são passíveis de serem utilizados quando as populações que os contêm persistem nos locais onde estão inseridas (*in* ou *ex situ*) e isto é possível quanto maior for a variabilidade genética.

O processo pelo qual materiais genéticos com variabilidade genética mínima passam a ser considerados recursos genéticos efetivamente manejáveis pode ser chamado de domesticação. Em outras palavras, é preciso que estes materiais sejam/produzam genótipos que exibam fenótipos desejados por processos sexuais ou assexuais (HARFOUCHE *et al.*, 2012). Por isso, um entendimento acerca dos termos *germoplasma* e *coleção de germoplasma* convém ser dado aqui, podendo *germoplasma* se referir à base física do cabedal genético que reúne o conjunto de materiais hereditários de uma espécie e *coleção de germoplasma* como um conjunto de genótipos de uma espécie com origens geográfica e ambiental variadas e que se constitui em matéria-prima para programas de pesquisa e melhoramento (VALOIS *et al.*, 1996).

É interessante ressaltar a importância das coleções de *germoplasma* para ações de pré melhoramento, uma vez que é à partir de coleções de *germoplasma* bem estabelecidas (leia-se conservadas *ex situ* e bem manejadas por sucessivas seleções) que se obtêm materiais robustos para início de programas de melhoramento de uma espécie. Em última instância, pode-se inferir que só é possível se pensar em melhoramento genético de uma espécie se sua base genética estiver bem representada, conservada e manejada em coleções próprias. Antes, porém, é preciso se atentar às fontes primárias de obtenção desses materiais, isto é, na parcela dos recursos naturais que contenham recursos genéticos.

Nesse sentido, em consonância com a estratégia assumida pelo Brasil de conservar seus recursos genéticos em *in situ* e em coleções de *germoplasma* (*ex situ*), salienta-se o importante papel das árvores isoladas na paisagem e/ou localizadas em pequenas reservas e matas nas pequenas e médias propriedades

para manutenção do fluxo gênico entre as populações e, conseqüentemente, manutenção da variabilidade e diversidade genética ao longo das sucessivas gerações. Ainda, uma coleção ativa de germoplasma permite que sejam feitos estudos de caracterização e pesquisa de materiais para uso posterior. Avaliações de caracteres de crescimento, mensuradas em campo com instrumentos corriqueiros na silvicultura, estimativas de seus valores genéticos bem como a mensuração da influência ambiental podem ser úteis nas inferências mais generalizadas das trajetórias evolutivas da espécie como um todo. Por isso, conhecer populações de espécies nativas é essencial para se traçar diretrizes para a conservação efetiva da espécie em consonância com quaisquer que sejam as influências/pressões ambientais e, conseqüentemente, viabilizar o pré-melhoramento de nossas espécies.

Entendendo que o planejamento e implementação de ações de conservação e restauração podem ser embasadas no conhecimento acerca da variabilidade e diversidade genética a partir de marcadores genéticos, tanto de natureza morfológica quanto molecular em nível de DNA, esta tese de doutorado tem como objetivo principal verificar o status da variabilidade e diversidade genética da aroeira (*M. urundeuva*), espécie arbórea nativa da América do Sul e de potencial importância na silvicultura brasileira. Para tanto, a espécie foi investigada em duas populações distintas (Aramina e Selvíria), cada uma em dois níveis de parentesco (matrizes e geração 1). As matrizes de cada população encontram-se atualmente conservadas *in situ* em seus ambientes naturais com diferentes pressões antrópicas e as suas progênies da geração 1, sob conservação *ex situ* em coleção de germoplasma.

No estudo 1 é descrita a localização e o histórico das áreas nas quais matrizes de *M. urundeuva* estão inseridas e das quais as sementes foram coletadas para os testes de progênies instalados há 29 anos. Além disso, buscou-se conhecer a variabilidade genética das árvores matrizes que formam duas populações distintas por meio da descrição de um conjunto de marcadores genéticos SNP para *M. urundeuva*. Finalmente, partindo-se do pressuposto de que a perda de indivíduos devido às ações antrópicas na paisagem natural reduz a diversidade genética, verificou-se se há diferenças nessas populações, com enfoque nos sistemas de produção na qual cada uma está inserida: um agrônomo (cana-de-açúcar, soja etc.) e o outro, pecuário-florestal (pastagens e plantações de eucalipto).

No estudo 2, a influência dos atributos do solo na expressão de fenótipos das árvores matrizes foram investigados a fim de verificar se as possíveis diferenças de diversidade genética poderiam ser relacionadas com os meios físicos naturais e quais implicações haveria para a escolha de árvores matrizes em ambiente natural para coleta de sementes com alta variabilidade genética.

No estudo 3, mostrou-se o quanto as progênies de geração 1 destas matrizes diferem entre si em situação de conservação *ex situ*, com base em dados de caracteres silviculturais importantes para a produção madeireira, no intuito de melhor entender o comportamento de diferentes genótipos em um mesmo ambiente.

Dessa maneira, esta tese investigou separadamente os componentes que permitem inferir sobre o fenótipo de *Myracrodruon urundeuva*, com base em duas populações e duas gerações, observando-se os seguintes aspectos: genótipo (estudo 1), ambiente (estudo 2) e interação genótipo x ambiente (estudo 3).



## REFERÊNCIAS

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA - EMBRAPA. **Manual de curadores de germoplasma vegetal**: legislação relacionada com acesso aos recursos genéticos. Brasília, DF, 2010. Disponível em: <https://www.embrapa.br/documents/1355163/2005846/doc308.pdf/38302da9-afdf-4175-816c-d9da26090039>. Acesso em: 4 ago. 2021.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. **Marco da programação no país (CPF) FAO para o Brasil 2013-2016**. Roma, 2013. Disponível em: <http://www.fao.org/3/bp560o/bp560o.pdf>. Acesso em: 4 ago. 2021.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. **Global Forest Resources Assessment 2015**. Roma, 2015. Disponível em: <http://www.fao.org/3/i4808e/i4808e.pdf>. Acesso em: 4 ago. 2021.

Harfouche, A.; Meilan, R.; Kirst, M.; Morgante, M.; Boerjan, W.; Sabatti, M.; Mugnozza, G.S. Accelerating the domestication of forest trees in a changing world. **Trends in Plant Science**, Oxford, v. 17, n. 2, p. 64-72, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2011.11.005>

NEWBOLD, T. *et al.* Global effects of land use on local terrestrial biodiversity. **Nature**, Londres, v. 520, p. 45–50, 2015.

VALOIS, A.C.C.; SALOMÃO, A. N.; ALLEM, A. C. **Glossário de recursos genéticos vegetais**. Brasília: Embrapa-SPI, 1996. 62 p. (Documentos; 22).

## **CAPÍTULO 1. DIVERSIDADE GENÉTICA DE *Myracrodruon urundeuva* Allemão A PARTIR DE MATRIZES DE DUAS POPULAÇÕES SOB DIFERENTES CONTEXTOS AMBIENTAIS**

### **1. INTRODUÇÃO**

Pelo fato de a mensuração da diversidade ser naturalmente complexa nos sistemas biológicos devido à heterogeneidade de habitats, às inúmeras maneiras como as espécies podem se distribuir espacialmente e aos níveis de organização biológica atualmente aceitos (ex: molecular a ecossistemas), é importante que o delineamento das ações de conservação biológica considere várias óticas (MARGULES; PRESSEY, 2000). Em um nível mais específico, a perda de indivíduos não apenas influi nos processos ecológicos devido, por exemplo, à redução da abundância e papéis ecológicos de uma espécie, mas também pode afetar os processos microevolutivos dentro das populações. A perda da diversidade genética pode ocorrer pela redução dos tamanhos populacionais que efetivamente se reproduzem sexualmente ( $N_e$ ), diminuindo aleatoriamente as frequências alélicas por deriva genética, aumentando a probabilidade de perda dos conjuntos gênicos localmente adaptados (NEI *et al.*, 2010). Em um estudo amplo sobre o status da distribuição da diversidade e conservação de 55 espécies vegetais do Cerrado, Ballesteros-Meija *et al.* (2018) evidenciaram que as informações sobre a variabilidade genética estão disponíveis para 0,5% das espécies vegetais deste bioma e, desta porcentagem, algumas espécies são estudadas intensamente, ao passo que outras, as informações são escassas. A perda da diversidade genética pode ser considerada, portanto, como a consequência última da perda do *continuum* populacional de uma espécie em uma determinada área.

As novas técnicas para coleta de dados em nível de genoma têm facilitado os estudos ecológicos nos últimos 20 anos, permitindo inferências acuradas sobre as características, o papel, as relações e as possíveis trajetórias evolutivas de uma espécie em uma determinada época e ambiente (BAIRD *et al.*, 2008; BONASIO *et al.*, 2010). Marcadores genético-moleculares vêm sendo amplamente utilizados em estudos populacionais, podendo ter aplicação em variados contextos, incluindo médicos, ecológicos, agrônômicos e zootécnicos. Por definição, eles se referem a

características do DNA que podem ser herdadas ao longo das gerações e que permitem a diferenciação de um ou mais indivíduos dentro de uma população ou de populações distintas. A partir de sua descoberta e uso, novas tecnologias de detecção da variabilidade em nível genômico foram e vêm até hoje sendo desenvolvidas de modo cada vez mais simples, rápido, preciso e eficaz. A detecção de polimorfismos no DNA começou a ser implementada a partir da consolidação de técnicas do DNA Recombinante e da amplificação do DNA por reação em cadeia da enzima polimerase (PCR - *Polymerase Chain Reaction*), duas importantes tecnologias-conceito do campo da Genética.

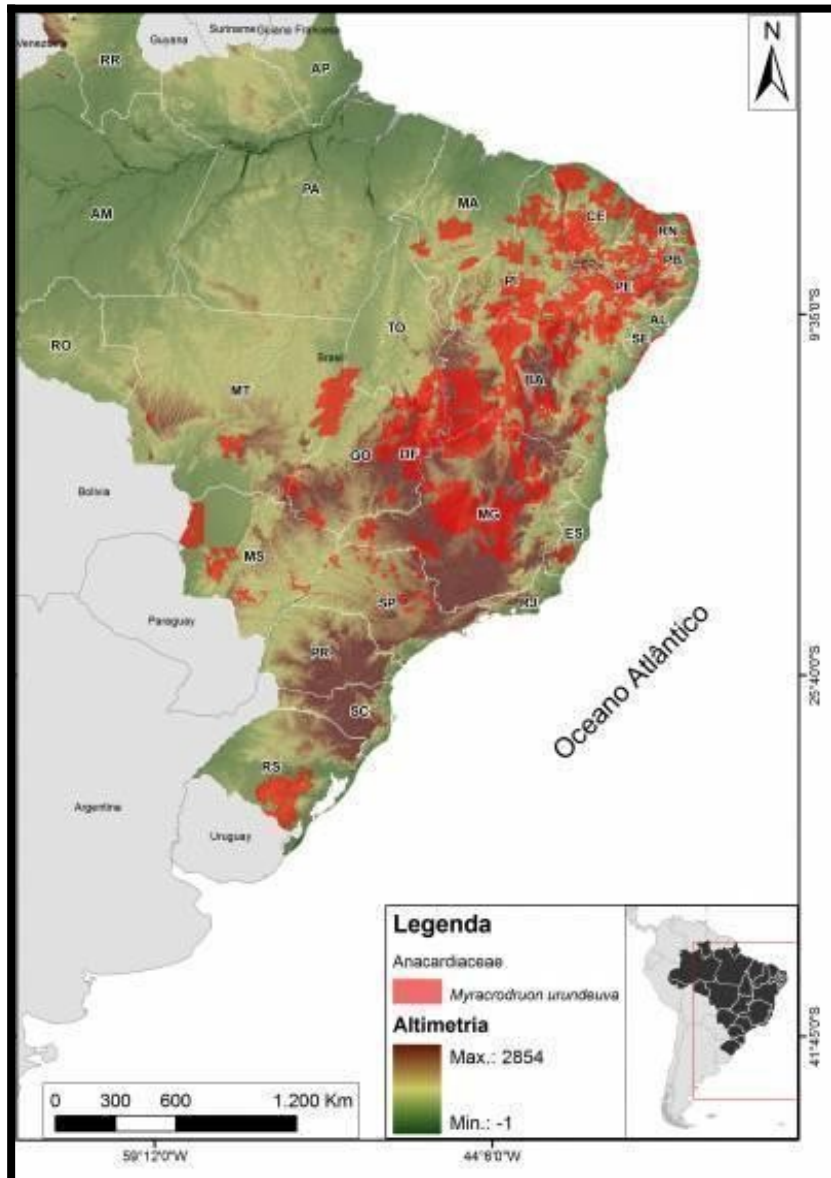
Métodos de sequenciamento *de novo* (sequenciamento de novos genomas em que não existem sequências de referência previamente descritas para alinhamento), tal como o sequenciamento de fragmentos de DNA associado a sítios de restrição (RADSeq) permitem a posterior identificação de SNPs (*single nucleotide polymorphisms*, polimorfismos de nucleotídeo único), sendo possível inferir, por exemplo, sobre a heterozigosidade da população em espécies não-modelo (que ainda não possuem descrição de seu genoma completo) de forma rápida e com custos relativamente baixos (ANDREWS *et al.*, 2016). Para esses casos, a investigação de SNPs pode ser a melhor maneira de encontrar genes que estão sob seleção, podendo facilitar o estudo da dinâmica desses genes em populações naturais (LUIKART *et al.* 2003; MORIN *et al.*, 2004).

A identificação dos polimorfismos em nível de um único nucleotídeo (SNPs) por meio dessas ferramentas permite inferências sobre a diversidade genética da espécie e estimar a influência das atividades antrópicas na estruturação de suas populações. De fato, muitos esforços têm sido feitos para quantificar a variabilidade genética e, junto com avanços na modelagem de nicho e análises genômicas, a catalogação de informações minuciosas sobre as populações tem sido amplamente facilitada. Ainda permanecem, no entanto, lacunas sobre como incorporar todas essas informações em ações que levem em consideração as circunstâncias e consequências da perda e/ou mudança da variabilidade genética constatada (MABLE, 2018), como por exemplo, para planos de ocupação da terra e manejo e para projetos de restauração ecológica.

O gênero *Myracrodruon* foi descrito pela primeira vez por F. Allemão em 1872, pertence à família botânica Anacardiaceae e compreende 2 espécies de árvores ou arvoretas caducifólias que ocorrem na América do Sul: *Myracrodruon*

*balansae* (Engl.) Santin e *Myracrodruon urundeuva* Allemão (GBIF; SILVA-LUZ *et al.*, 2020). A espécie *Myracrodruon urundeuva* Allemão, conhecida popularmente no Brasil como aroeira, aroeira-do-sertão ou urundeúva, é uma espécie tropical nativa da e amplamente distribuída na América do Sul, em especial no noroeste da Argentina, Paraguai, Bolívia e no Brasil central (SATIN e LEITÃO-FILHO, 1991). Possui ocorrências documentadas no Brasil nos biomas Caatinga (Maranhão, Piauí, Rio Grande do Norte, Paraíba, Pernambuco, Sergipe e Bahia) e Cerrado (Goiás, Mato Grosso do Sul, Minas Gerais, Espírito Santo, Rio de Janeiro e São Paulo) (RIZZINI, 1979; SANTIN; LEITÃO-FILHO, 1991; LORENZI, 1992) (Figura 1). A espécie ocorre em florestas sazonalmente secas no eixo das bacias hidrográficas Paraná-São Francisco e cuja precipitação anual varia entre 400 e 1.700 mm (SPICHIGER *et al.*, 2004; CAETANO *et al.*, 2005).

Figura 1. Mapa de distribuição geográfica da espécie *Myracrodruon urundeuva* Allemão no Brasil.



Fonte: Centro Nacional de Conservação da Flora (2018).

*M. urundeuva* é também encontrada naturalmente no *Gran Chaco*, ecorregião sul-americana de 800 km<sup>2</sup> com predomínio de florestas secas. Nela, há porções territoriais da Argentina (maioria), Bolívia, Paraguai e Brasil (NUNES *et al.*, 2008). A aroeira (*M. urundeuva*) é predominantemente dióica, tendo registros de indivíduos monóicos e hermafroditas (GAINO *et al.*, 2011). Os indivíduos de *M. urundeuva* possuem fenologia sazonal, apresentando caducifolia total nos meses mais secos e frios do ano, o que evidencia a estreita relação evolutiva em ambientes secos, como

a Caatinga e Cerrado brasileiros. Na fase reprodutiva, os indivíduos da espécie podem produzir muitas sementes que podem ser dispersas sem auxílio de agentes externos (autocoria) ou pelo vento (anemocoria) e/ou, secundariamente, por animais (zoocoria). Além disso, seus indivíduos apresentam grande porte, podendo atingir 30 m de altura e 80 cm de DAP.

O ritmo de supressão das florestas destes biomas ocorreu de forma predatória e demasiadamente acelerada desde a chegada dos colonizadores europeus, de modo que suas inúmeras populações desapareceram, restando, atualmente, poucos indivíduos isolados. A espécie possui centro de origem provável no Brasil (RIZZINI, 1979; SANTIN; LEITÃO-FILHO, 1991) e está classificada atualmente nas categorias de ameaça “LC” - Menos Preocupante - segundo o Livro Vermelho da Flora do Brasil (CNCFlora, 2018) e “DD” – Deficiência em Dados – de acordo com a Lista Vermelha Mundial de Espécies Ameaçadas (PRADO *et al.*, 1998). Sua categorização como “menos preocupante” pode ser decorrente, portanto, dos poucos dados existentes acerca de seu *status* de conservação.

*M. urundeuva* possui potencial madeireiro e medicinal em sistemas de produção que mesclam a conservação, silvicultura, culturas agronômicas e/ou pastoreio: os Sistemas Agroflorestais (SAFs). Dentre as propriedades físicas da madeira de *M. urundeuva*, há estudos que relatam características como densidade básica de  $770 \text{ kg.m}^{-3}$ , densidade aparente em umidade de equilíbrio de  $984 \text{ kg.m}^{-3}$  (KELLER *et al.*, 2017) e de densidade de seu cerne com valores de até  $1,19 \text{ g.cm}^{-3}$  (LORENZI, 2002). Assim, a madeira de *M. urundeuva* é considerada como “muito durável” e “imputrescível” (MANIERI e CHIMELO, 1989) pelo Instituto de Pesquisas Tecnológicas (IPT), órgão vinculado à Secretaria de Desenvolvimento Econômico, Ciência, Tecnologia e Inovação do Estado de São Paulo. Para tanto, é necessário que os agrossilvicultores tenham acesso a sementes e mudas de qualidade em número suficiente para atender à demanda da cadeia produtiva agrossilvicultural, de modo a viabilizar a implementação de SAFs nas propriedades. Estes produtos, além da garantia de preservação dos ecossistemas, seus serviços e das ações de restauração, só serão viáveis a partir de ações direcionadas à conservação do patrimônio genético de espécies ameaçadas no Brasil, a exemplo dos bancos de germoplasma para *M. urundeuva*.

Em decorrência de sua distribuição natural atual ser esparsa e restringida a pequenos fragmentos florestais, ela está atualmente conservada *ex situ* em um banco de ativo germoplasma (BAG-A) localizado em Selvíria, Mato Grosso do Sul, Brasil. O BAG-A tem mais de 30 anos e possui progênies (geração 1) oriundas de diferentes estados brasileiros, perfazendo 20 populações distribuídas em 3 tipos de formações vegetacionais: Cerrado, Caatinga e Floresta Estacional Semidecidual. Estudos com marcadores genético-morfológicos com essas progênies e suas respectivas famílias vêm sendo feitos desde sua implementação e analisaram essas progênies oriundas de matrizes de polinização aberta isoladas nas diferentes paisagens. Isso vem sendo possível a partir do monitoramento e coleta de dados biométricos de cada indivíduo, isto é, da mensuração de caracteres de importância silvicultural, tais como altura, diâmetro do tronco à altura do peito, diâmetro da copa, espessura da casca e forma do fuste. Dessa maneira, vem sendo possível fazer inferências sobre a variabilidade genética dos acessos conservados no BAG-A por meio de análises destes dados, utilizando modelos lineares mistos. De modo geral, os diversos pesquisadores que já analisaram as diferentes populações contidas no BAG-A sugerem que grande parte da variação genética é, hoje, encontrada dentro das populações (BALERONI *et al.*, 2003; FREITAS *et al.*, 2006a; TUNG *et al.*, 2010; CANUTO *et al.*, 2017, MARTINS *et al.*, 2018).

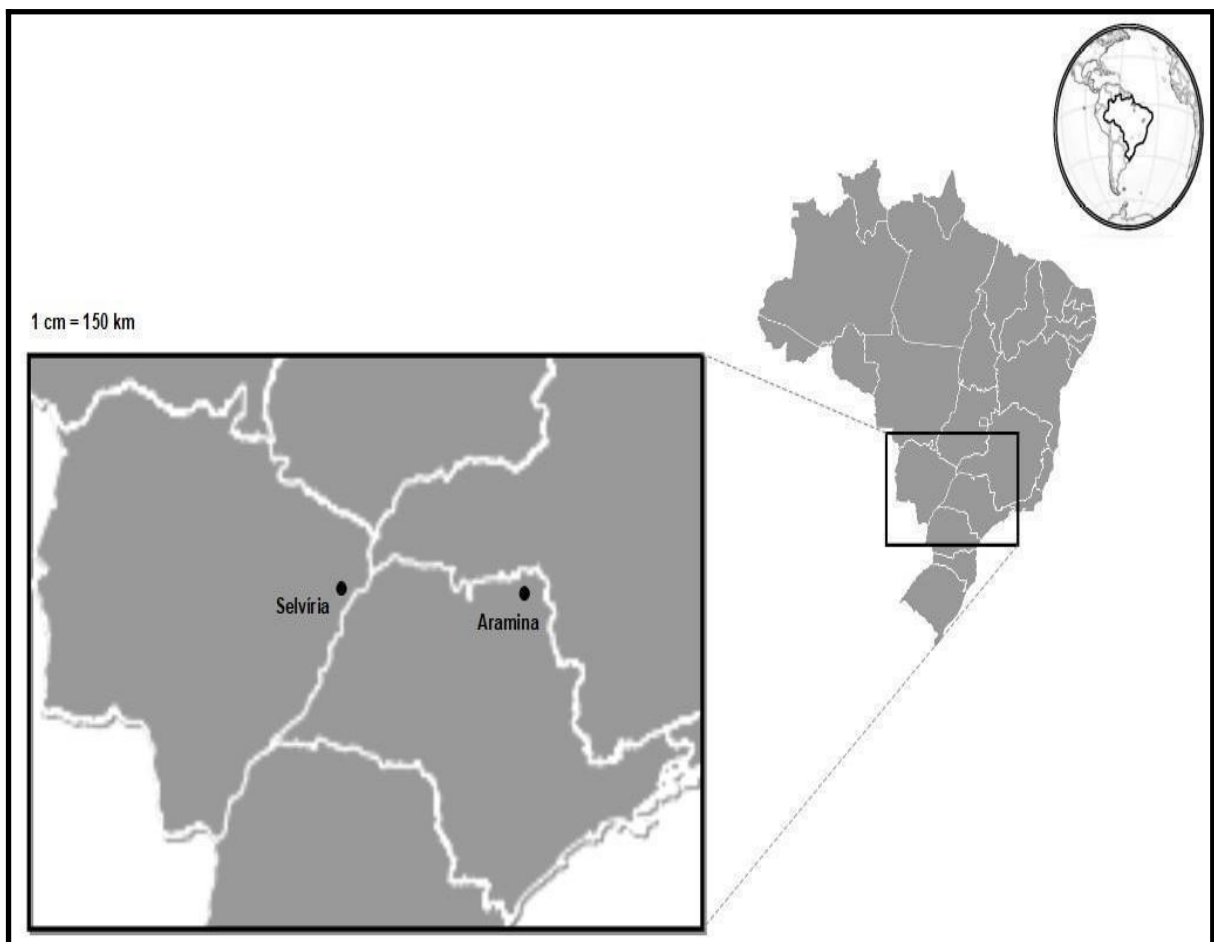
Com relação aos marcadores genético-moleculares, os estudos para esta espécie se iniciaram no fim dos anos 90 com isoenzimas (LACERDA *et al.*, 1999; MORAES *et al.*, 2005); seguidos por RAPD (REIS e GRATTAPAGLIA, 2004); AFLP (FREITAS *et al.*, 2005) e, por fim, microssatélites (CAETANO *et al.*, 2005; GAINO *et al.*, 2011; VIÉGAS *et al.*, 2011; SOUZA *et al.*, 2018).

### **1.1. Descrição do contexto histórico e ambiental das regiões nas quais as matrizes de *Myracrodruon urundeuva* estão inseridas**

As regiões nas quais se encontram as árvores matrizes de *Myracrodruon urundeuva* das populações estudadas diferem entre si quanto à situação atual bem como ao histórico de uso da terra (Apêndice A). No entanto, é comum para todas as situações o fato de as matrizes estarem espalhadas na paisagem fragmentada e

fortemente antropizada, como indivíduos isolados ou em pequenas demes em áreas não cultiváveis, onde há discretas manchas de vegetação nativa (Figura 2).

Figura 2. Contextualização geográfica das matrizes de duas populações de *M. urundeuva*.



Fonte: Adaptado de Google Earth pela própria autora.

A primeira, localizada no município de Selvíria, Estado do Mato Grosso do Sul, Brasil, está na Costa Leste do Mato Grosso do Sul (CLMS), região recentemente designada ao que era chamado anteriormente de Bolsão Sul Matogrossense (BSM), e possui, aproximadamente, 280 mil habitantes distribuídos em 57 mil km<sup>2</sup> (IBGE, 2021). A região está próxima de municípios atualmente

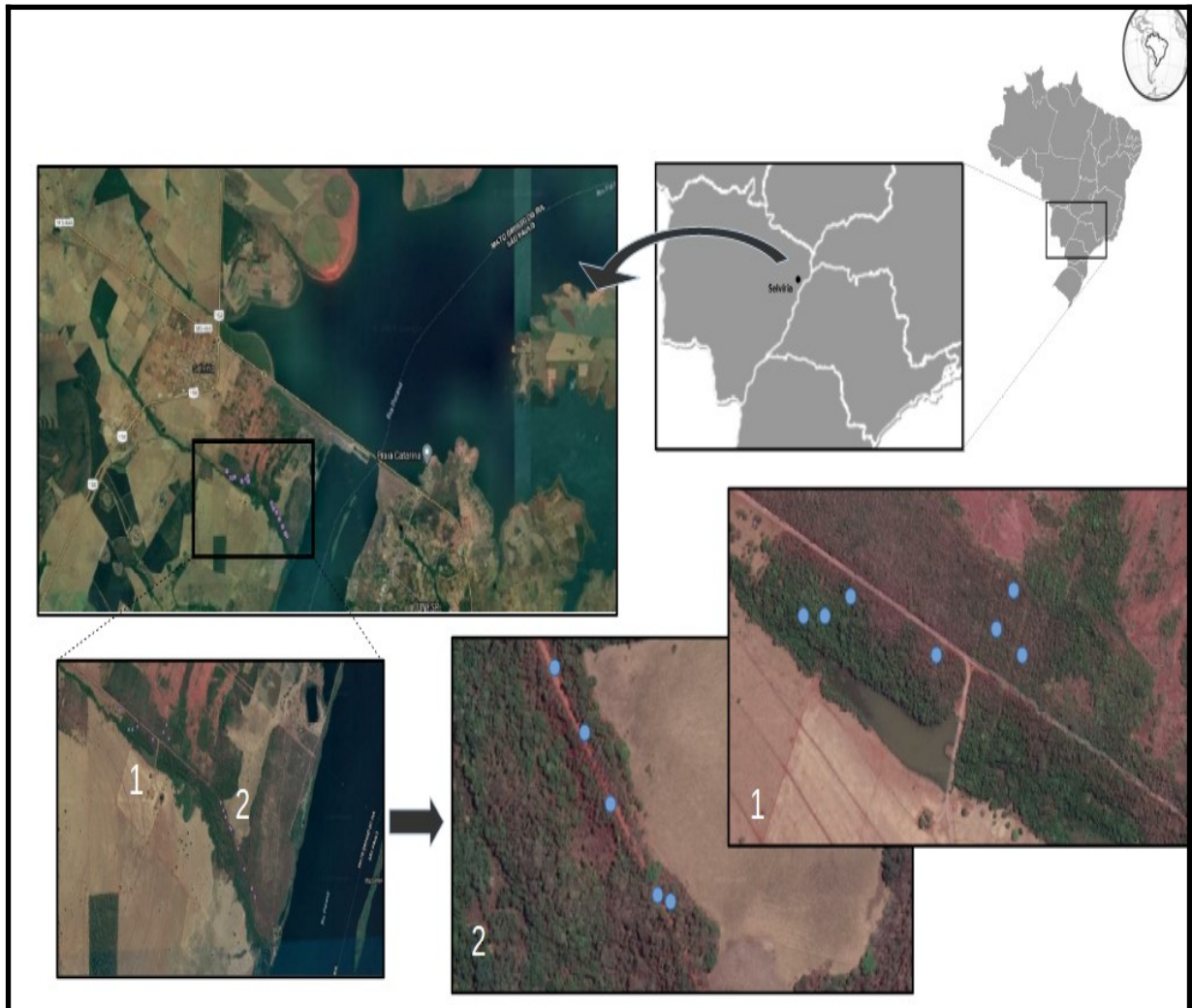


importantes para a economia do Estado, tais como Três Lagoas, Paranaíba, Cassilândia e Chapadão do Sul.

Em seus primórdios, a população humana da região era constituída unicamente por indígenas da etnia Caiapó, motivo pelo qual a região fora anteriormente chamada de Caiapolândia (DARGEL, 2003). Há evidências de que a CLMS fora ocupada posteriormente por bandeirantes paulistas e fazendeiros portugueses vindos de Minas Gerais (descendentes da família Garcia Leal principalmente) no início dos anos 1800, que adentraram o Estado para reconhecimento e exploração do território (DARGEL, 2003). Há relatos de que a família Garcia Leal tenha trazido consigo inúmeras cabeças de gado, iniciando assim as atividades pecuárias na região.

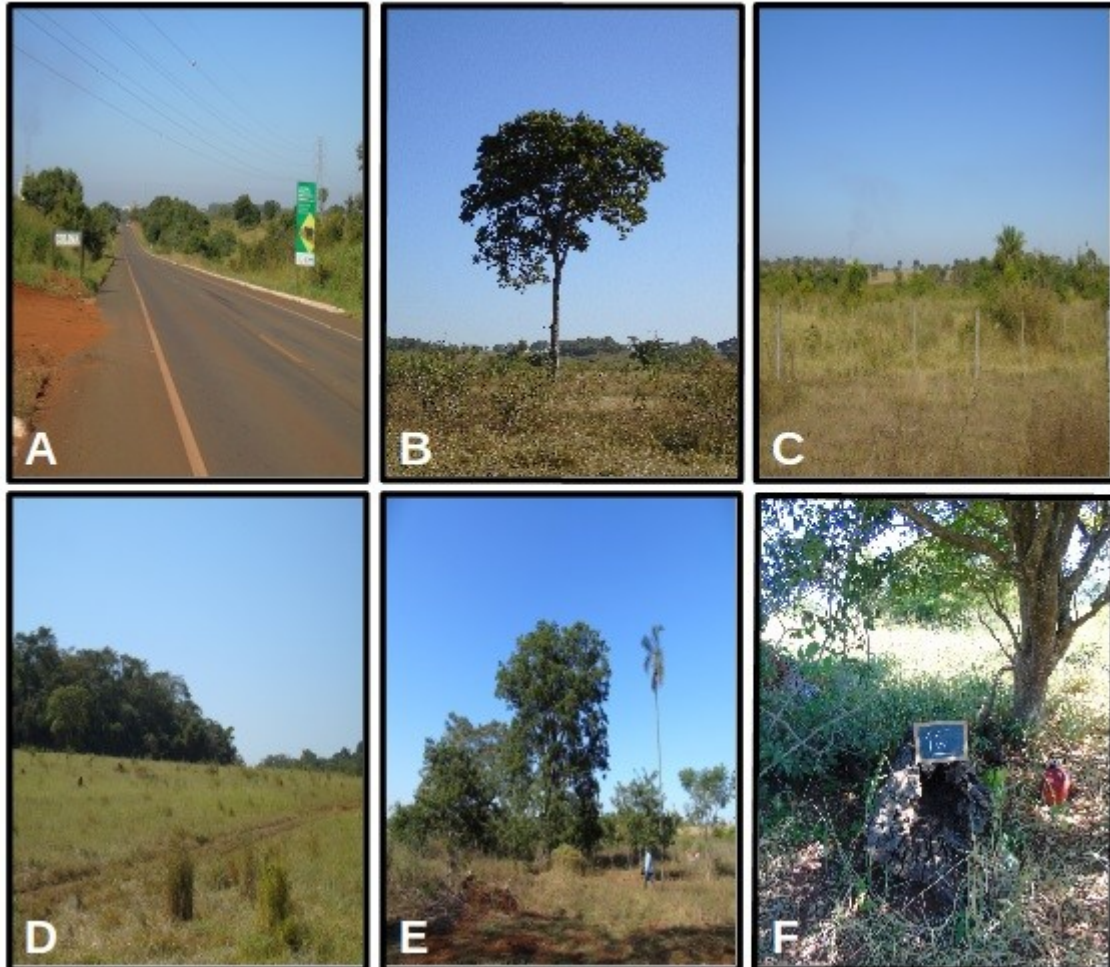
A construção da Usina Hidrelétrica de Ilha Solteira, no início dos anos 60, culminou na fundação do município de Selvíria em maio de 1980, intensificando as atividades econômicas da região. Paralelamente, a partir de 1970, com os programas de incentivo à industrialização no país, a região foi aderindo gradativamente às atividades de silvicultura de *Eucalyptus* spp. como alternativa à pecuária, tendo desenvolvido fortemente as atividades de produção de celulose nos últimos 15 anos (ANTUNES *et al.*, 2018). Entre 2010 e 2020, a área destinada a plantações de eucalipto triplicou, saindo de 340 mil hectares para 1,124 milhão de hectares (IBÁ, 2020). A estrutura da vegetação original da região foi, portanto, alterada pelas culturas implementadas e a construção da Usina. Assim, as árvores matrizes desta região continuam sob forte influência antrópica, estando isoladas em regiões de grandes pastos e/ou em pequenas manchas de vegetação nativa perturbada (Figuras 3 e 4).

Figura 3. Localização de algumas das árvores matrizes (pontos azuis) de *Myracrodruon urundeuva* em Selvíria, MS, Brasil.



Nota: Imagens de satélite originais preparadas por Lara Comar Riva (Eng. Agr., Me). Fonte: Própria autora

Figura 4. Encarte de fotografias representando a variabilidade microambiental da localização das árvores matrizes de *Myracrodruon urundeuva* em Selvíria, MS.

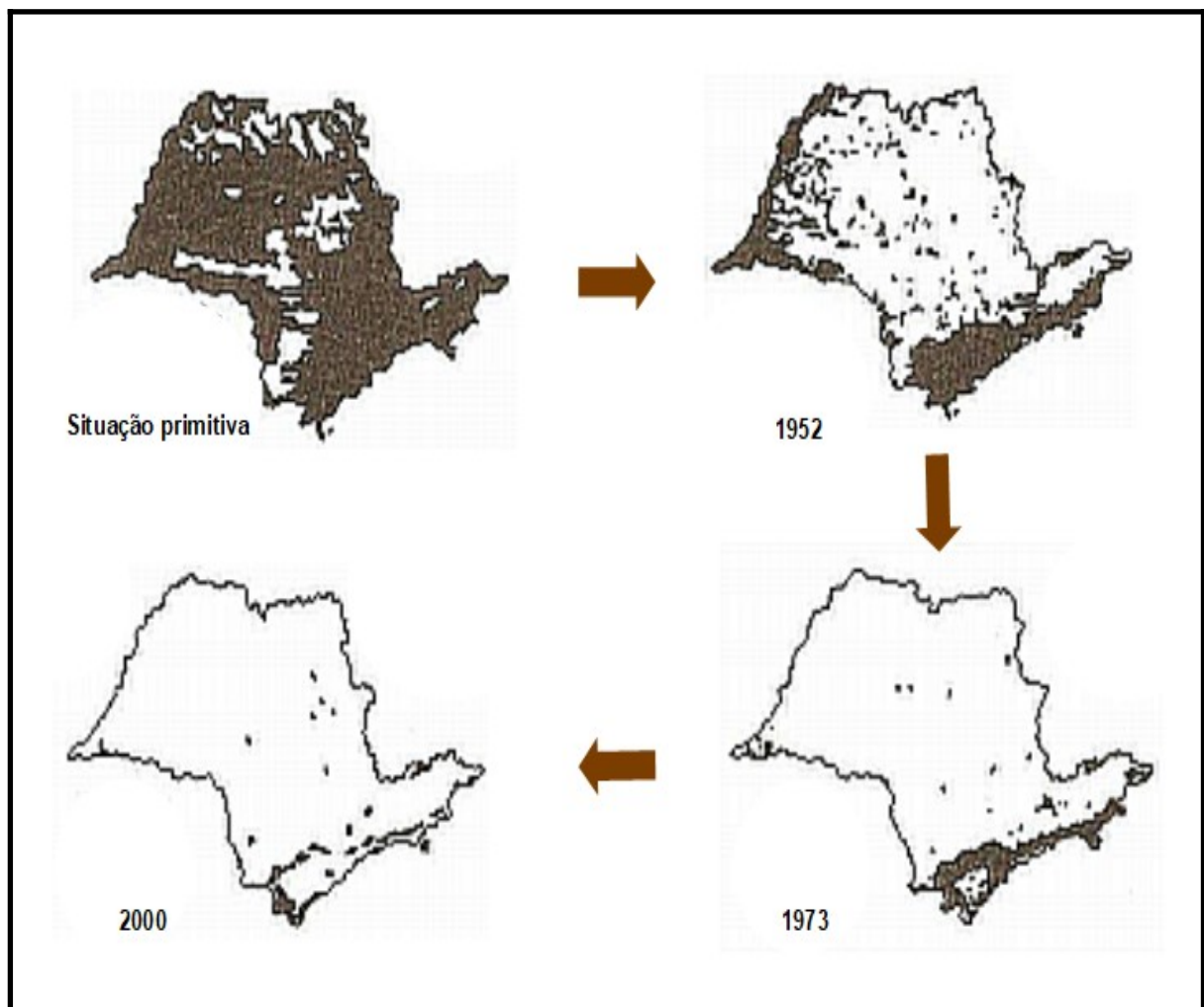


Nota: Fotografias tiradas em maio de 2018 por Mário Luiz Teixeira de Moraes. Uso autorizado pelo fotógrafo. Fonte: Própria autora.

A segunda região, no município de Aramina, Estado de São Paulo, Brasil, é localizada na região norte do Estado e insere-se na microrregião da cidade de Ituverava que possui, aproximadamente, 100 mil habitantes ao longo de 2 mil km<sup>2</sup>. A microrregião é geopoliticamente subordinada à mesorregião de Ribeirão Preto, que atualmente se mantém como importante pólo agroindustrial, de saúde e educação no Estado, tendo Ribeirão Preto, Franca, Jaboticabal e Barretos como cidades principais (IBGE, 2021). A história do município de Aramina coincide com a criação, no início dos anos 1900, de uma das estações da Companhia Mogiana de Estradas de Ferro, cuja sede era em Campinas. A expansão da cultura do café em direção ao

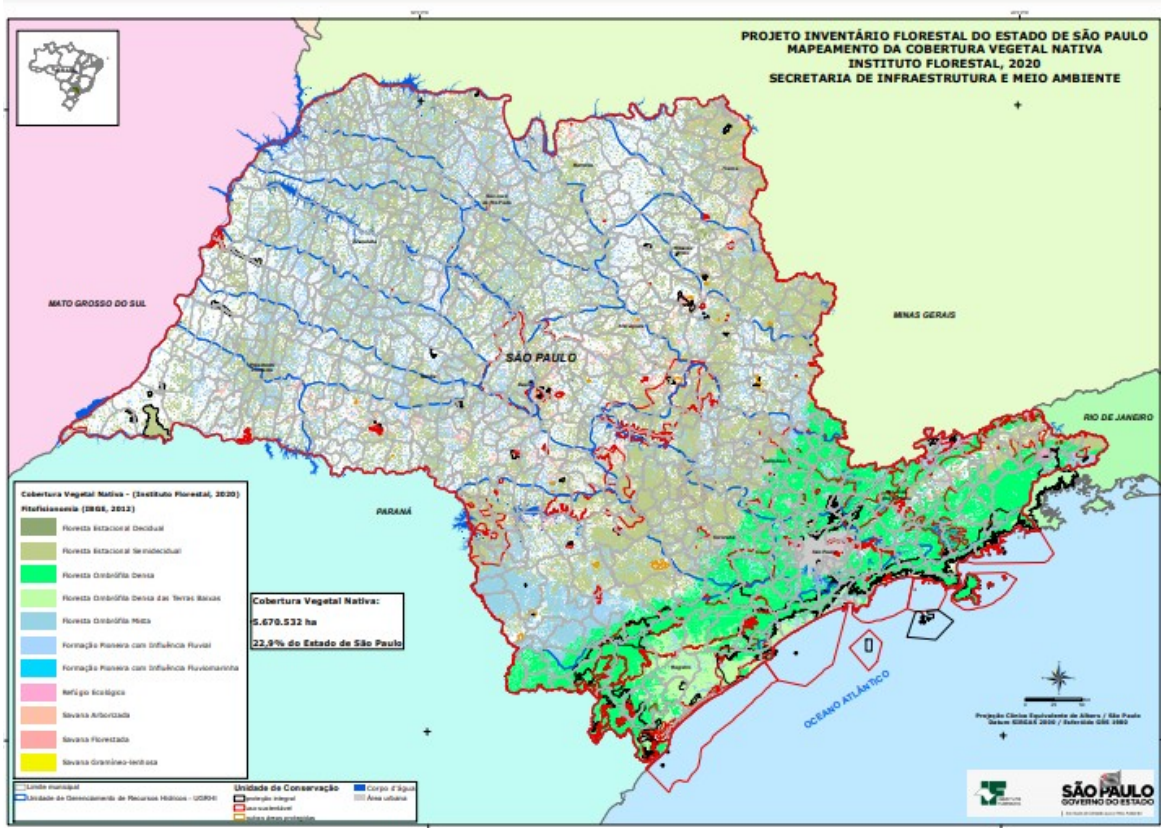
interior do Estado permitiu a ocupação da região (e posterior fundação do município) por incentivar a chegada de trabalhadores da estação e por auxiliar no escoamento dos grãos de café produzidos na região. Com o passar do tempo, as grandes plantações de café foram substituídas por outras culturas, tais como a batata, soja e a cana-de-açúcar, sendo esta última a predominante. Desde o início da exploração do estado, perdas vegetais consecutivas ocorreram, sendo que atualmente a vegetação vem sendo lentamente recuperada, principalmente, por meio de programas de restauração (Figuras 5 e 6).

Figura 5. Sequência histórica da cobertura vegetal nativa no estado de São Paulo entre o período sem alterações significativas (situação primitiva) até o ano 2000.



Fonte: Adaptado de Victor *et al.* (2005) pela própria autora.

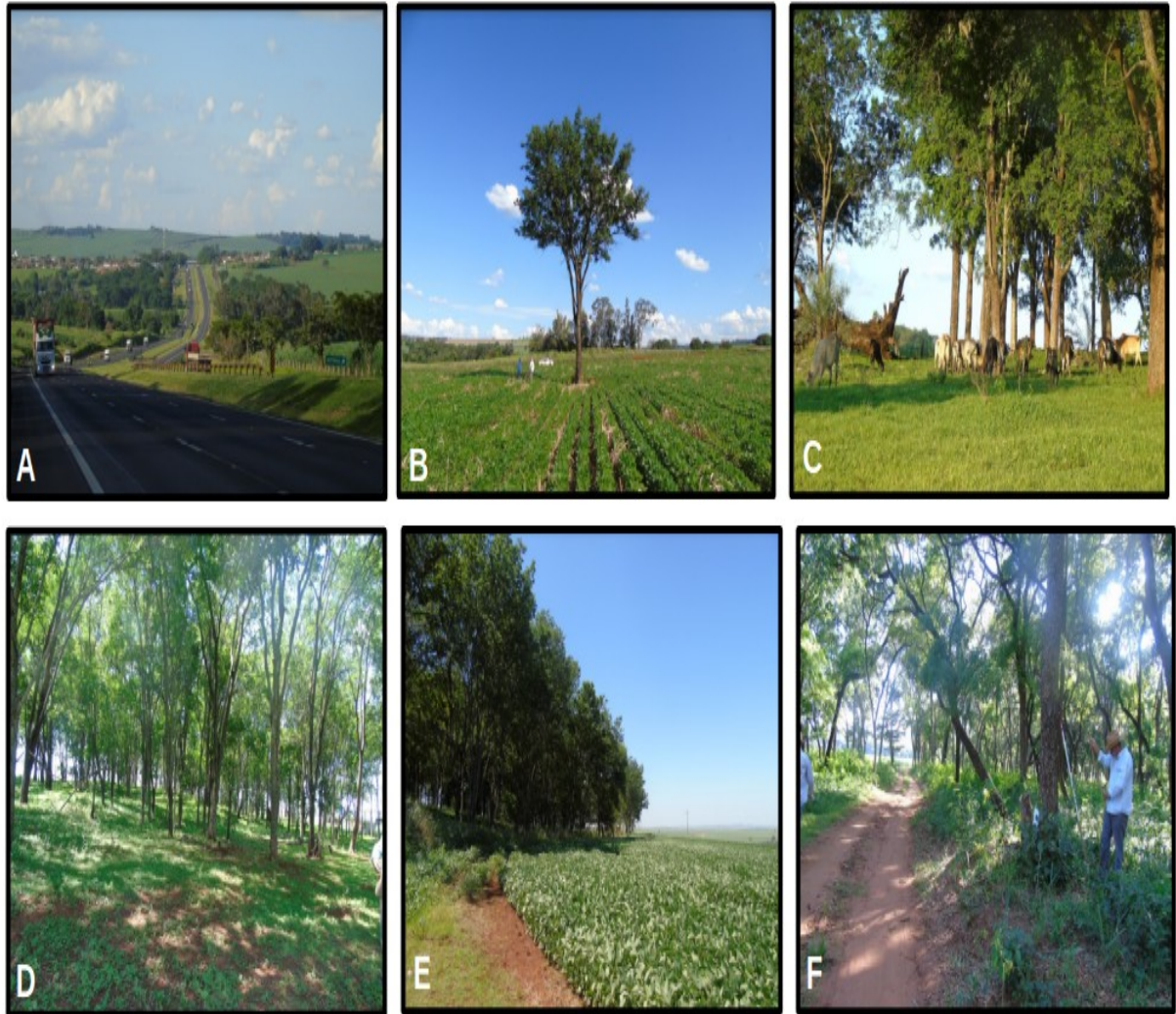
Figura 6. Cobertura vegetal nativa do estado de São Paulo em 2020.



Fonte: Instituto Florestal do Estado de São Paulo (2020).

Antes da ocupação pela companhia férrea, a região caracterizava-se por ser zona de ecótono entre formações florestais da Mata Atlântica, mais especificamente Floresta Estacional Semidecidual, e de Cerrado florestado (Cerradão). As árvores matrizes encontram-se em diferentes microambientes perpassados pela rodovia Anhanguera (Figura 7A), variando entre indivíduos isolados no interior de uma enorme plantação de soja (Figura 7B) ou em pequenos fragmentos em sua borda (7E), dentro de propriedades de médio produtores (Figura 7C e 7F) e agregados em áreas elevadas, como região de morro, não sendo difícil presumir nesta última, aos olhos de quem a visita, a possibilidade de os indivíduos estarem inseridos no microambiente formando uma pequena subpopulação dominante da espécie (MORAES, M. L. T. e CAMBUIM, J. - comunicações pessoais) (Figura 7D).

Figura 7. Encarte de fotografias representando a variabilidade microambiental dos locais onde as árvores matrizes de *Myracrodruon urundeuva* estão inseridas em Aramina, SP.



Nota: Fotografias A a F tiradas em novembro de 2018 por Mário Luiz Teixeira de Moraes. Uso autorizado pelo fotógrafo. Fonte: Própria autora.

## 1.2. Objetivos

Sabendo-se da pressão de seleção exercida nas matrizes de ambas as populações ao longo do tempo por causa das diferentes atividades antrópicas que ali foram desenvolvidas, as seguintes perguntas surgiram:

- Populações que estão sob diferentes tipos de pressões antrópicas ao longo do tempo são distintas entre si, em termos de diversidade genética?
- Qual é o grau de polimorfismo de nucleotídeo único em nível de DNA genômico nuclear para a espécie *M. urundeuva*, baseada nas árvores matrizes dessas duas populações?

## 1.3. Hipóteses

Com base nessas perguntas, as seguintes hipóteses foram levantadas:

H<sub>0</sub>: A diversidade genética **não é influenciada** pelo tipo de atividade antrópica que vem sendo praticada, isto é, ela não é nem maior e nem menor em nenhum dos contextos.

H<sub>1</sub>: A diversidade genética **é influenciada** pelo tipo de atividade antrópica que vem sendo praticada, isto é, ela é maior ou menor em um dos contextos.

## **2 MATERIAL E MÉTODOS**

### **2.1 Áreas de estudo**

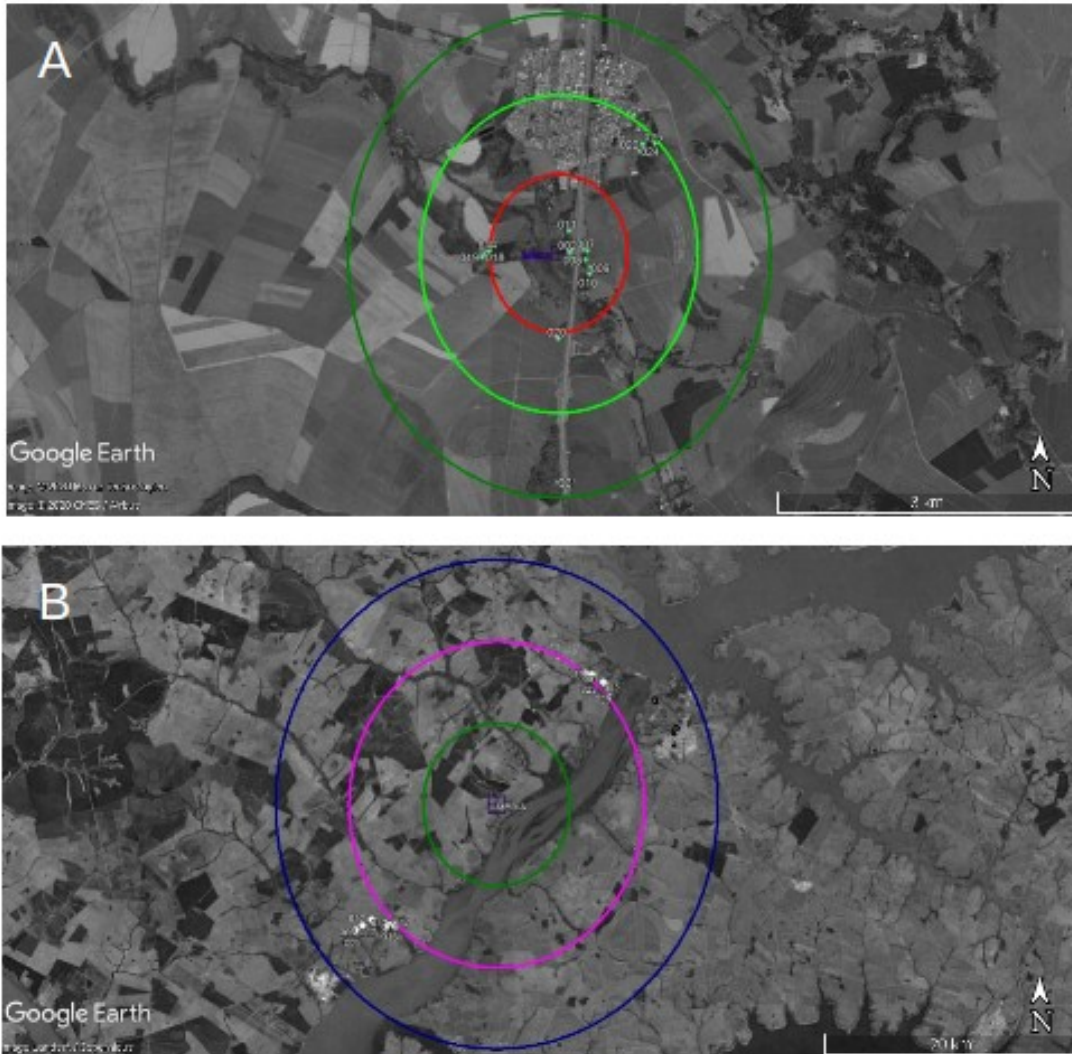
Foram consideradas 2 áreas de savana florestada (Cerradão), uma em Aramina e a outra, em Selvíria, conforme localização prévia da Figura 2. As regiões de estudo distam, em linha reta, aproximadamente 600 km entre si. Cada uma está representada nas figuras 8a e 8b.

### **2.2 Amostragem**

O DNA genômico foi extraído de folhas não senescentes e com boa integridade física de 25 indivíduos adultos femininos de *M. urundeuva* de cada população, perfazendo um total de 50 árvores matrizes amostradas. A extração do DNA seguiu o método CTAB com modificações (DOYLE; DOYLE, 1990) (Anexo A) e a qualidade e a concentração foram verificadas por meio de espectrofotômetro UV NanoDrop (Thermo Fisher Scientific) e fluorômetro Qubit 2.0 (Invitrogen) (Apêndices 1A e 2A).



Figura 8. Localização das matrizes de *Myracrodruon urundeuva* da população de Aramina, SP (A) e Selvíria, MS (B).

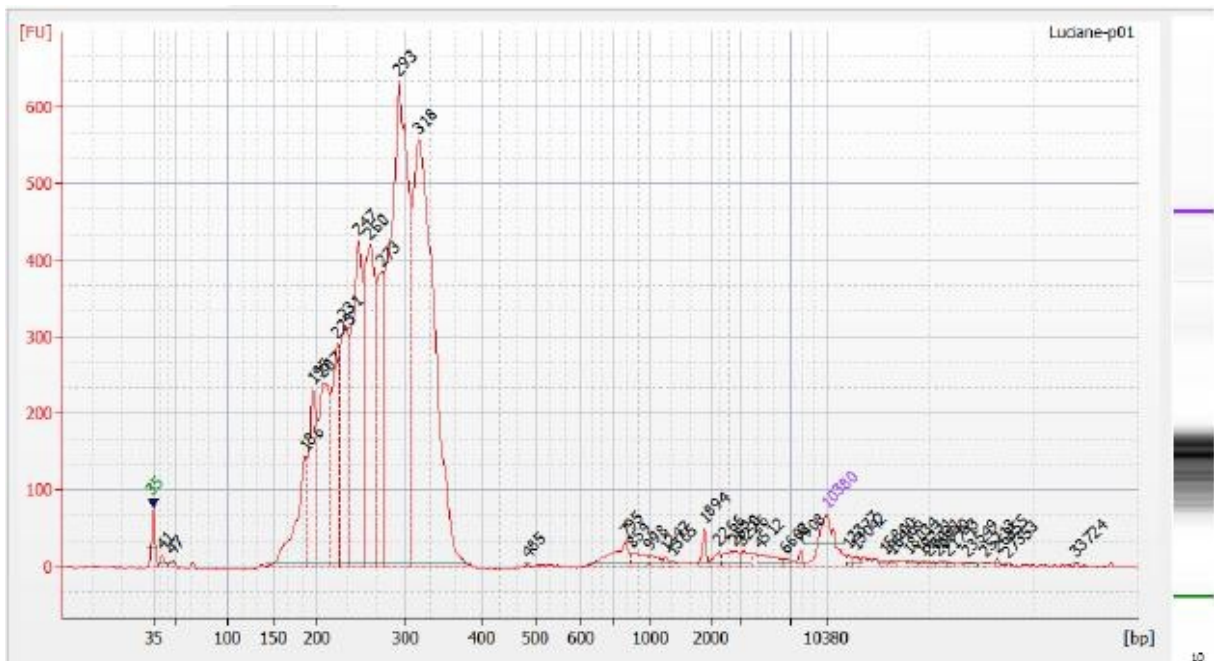


Nota: Imagens preparadas por Alexandre Marques (Geog., Dr.). Fonte: Própria autora.

### 2.3 Bibliotecas genômicas ddRAD e sequenciamento

Tanto as bibliotecas genômicas quanto o sequenciamento das amostras foram realizados na Plataforma de Sequenciamento do *Institute de Biologie Intégrative et des Systèmes da Université Laval*, Québec, Canadá. As bibliotecas genômicas foram construídas de acordo com o protocolo modificado de Poland *et al.* (2012) (Anexo 2A), que utiliza dupla digestão com as enzimas de restrição PstI e MspI (Figura 9). O sequenciamento das amostras foi feito em sequenciador da marca Ion Proton®, instrumento da linha Ion Torrent da empresa Thermo Fisher Scientific. As diluições feitas para padronização da concentração final das amostras e o esquema de disposição das amostras em placa para sequenciamento estão nos Apêndices C e D.

Figura 9. Biblioteca genômica. No eixo x estão plotados os valores dos tamanhos dos fragmentos da biblioteca em pares de base (bp) e o eixo y contém os valores de unidades de fluorescência, que representam a quantidade de fragmentos no chip do gel.



Fonte: Própria autora

## 2.4 Identificação dos SNPs e análises estatísticas

Uma vez que o volume de dados brutos gerados pós-sequenciamento do DNA genômico é grande, estes são organizados em um banco de dados. Estes dados se referem a muitas sequências de pares de bases (*reads*) que devem ser organizadas e analisadas por meio de ferramentas que englobam a informática, estatística e matemática, chamados coletivamente de *pipeline* de bioinformática.

Neste estudo, para a identificação dos SNPs, o *pipeline* utilizado foi o STACKS 2.53. Este *pipeline* foi e é periodicamente atualizado para trabalhos que utilizam dados (bibliotecas) formados pela técnica de corte do DNA em regiões específicas por enzimas de restrição. Assim, para a identificação de sequências polimórficas e a distinção destas daquelas derivadas de erros de sequenciamento, são utilizados modelos estatísticos de máxima verossimilhança. Com estes modelos, é possível estimar parâmetros que fazem uso de estimativas que maximizam o valor da função de verossimilhança em questão. Para tanto, é necessária a adoção de fluxo de trabalho definido para o trabalho com esses dados. Este fluxo é composto por grupo de análises, etapas, que variam de 1 a 3, sendo que dentro de cada há diferentes tratamentos dos dados.

Na etapa 1, chamada de análise primária, é onde é feita a transformação dos dados brutos em bases de qualidade. Para isso, a qualidade e a distribuição dos dados brutos foram previamente verificadas, de modo que o tamanho de todos os dados brutos gerados pelo sequenciamento (*reads*) foi checado por meio do *software* FastQC v 0.11.9 (ANDREWS, 2010), com um corte de valor de qualidade para cada *basecall* que fosse maior que 30 ( $QV > 30$ ), isto é, para cada 1000 bases, em média, 1 poderá estar errada devido a erros de sequenciamento. O QV pode ser interpretado, portanto, como uma estimativa da acurácia da qualidade e é calculado como segue:

$$QV = -10 \log_{10}(Pe) \quad (2)$$

onde:

$QV$  é o valor da qualidade

$Pe$  é a probabilidade de erro

Em seguida, o pacote *process\_radtags* foi utilizado para a demultiplexação dos *reads*. Esta etapa é importante, pois é nela em que há a identificação dos *barcodes*, sequências indicadoras, que foram agregados a cada sequência e que busca pelos sítios das enzimas de restrição utilizadas (PstI e MspI) com a opção *truncate* para 160pb, segundo a distribuição identificada no arquivo FastQC derivado do sequenciamento pela plataforma IonTorrent.

É importante ressaltar que o *pipeline* STACKS foi originalmente elaborado para trabalho com *reads* provindos de tecnologias genômicas (plataformas) da empresa Illumina, devido ao tamanho fixo dos *reads*. No entanto, é possível utilizá-lo com outras plataformas, como foi o caso deste estudo, onde foi utilizada a plataforma Ion Torrent. Nesta plataforma, os *reads* gerados no sequenciamento são de tamanhos variados e, por isso, devem ser padronizados para um tamanho único.

Para a identificação dos SNPs, o processo *denovo\_map.pl* foi aplicado utilizando uma fração das amostras com o maior número de *reads* para a montagem do catálogo. As amostras com baixa cobertura de *reads* (menos de 100 mil *reads*) foram filtradas e, devido ao baixo número de loci identificados utilizando este processo, uma segunda foi feita utilizando, desta vez, o processo *ref\_map.pl*.

Na abordagem de identificação com referência, o número de loci identificados aumentou. Como não há genoma para a espécie, foram utilizadas as análises de genoma cloroplastidial de *M. urundeuva* (ROSSINI *et al.*, 2021) como referência e sua análise filogenética com genoma completo, o que identificou um clado com alto suporte estatístico formado entre os gêneros *Rhus*, *Pistacia* e *Myracrodruon*. Destes, o único gênero com genoma completo publicado é de *Pistacia vera* (MOTALEBPOUR *et al.*, 2012). A abordagem de identificação com referência em *Pistacia vera* (pistache) foi adotada, portanto, por causa do aumento do número de *loci* identificados.

Então, primeiro foram alinhados todos os *reads* obtidos neste experimento além de *reads* de *shotgun* de *Myracrodruon* de um trabalho prévio para a obtenção de loci microssatélites (SOUZA *et al.*, 2018), utilizando o programa BWA (LI; DURBIN, 2009). Para isso, primeiro montamos o index (*bwa index*) e depois o alinhamento com a opção *bwa mem*. A extração dos *reads* de *Myracrodruon* alinhados com o genoma de *Pistacia* foi realizado utilizando *Bedtools* (QUINLAN; HALL, 2010). Assim, foram utilizados os *contigs* montados de *Myracrodruon* como

referência para a busca e identificação dos SNPs. Para a filtragem dos SNPs, foram utilizados os seguintes parâmetros no processo *populations*: frequência alélica mínima de 0,05, cobertura mínima de 10X e presente em ao menos 80% dos indivíduos. Os arquivos foram exportados nos formatos GenePop e Structure.

Os valores de heterozigosidade observada ( $H_o$ ), heterozigosidade esperada ( $H_e$ ), coeficiente de endogamia ( $F_{is}$ ) e a diversidade nucleotídica ( $\pi$ ) foram calculados pelo pacote 'populations' implementado no *software* STACKS.

## 2.5 Estruturação populacional

Uma vez que a espécie se encontra ameaçada de extinção e sua presença está limitada a pequenos fragmentos florestais ou áreas de conservação, é esperado que os indivíduos sejam potencialmente aparentados dentro de cada população. Para confirmar ou descartar essa hipótese, foi utilizada, inicialmente, a Análise de Coordenadas Principais (PCoA) como um método multivariado de clusterização de indivíduos e identificação de alelos privados para cada população por meio do *software* GenAlex (PEAKALL; SMOUSE, 2012). A análise UPGMA de distância de Nei entre as amostras foi conduzida no *software* 'populations' v 1.2.31 (LANGELLA, 1999). Além disso, foi utilizada a Análise Discriminante de Componentes Principais (DAPC), bem como de clusterização (*assignment test*) implementada no pacote 'adegenet' v 2.1.3 (JOMBART, 2008).

A análise de variância molecular, (AMOVA) foi conduzida no *software* R pelo pacote 'pegas' v 0.14 (PARADIS, 2010). Também foi utilizado o teste de número de migrantes baseado em alelos privados bem como o teste de equilíbrio de Hardy-Weinberg, ambos no *software* GenePop v 4.7.5 (ROUSSET, 2008). O índice de fixação ( $F_{st}$ ) foi calculado no *software* Arlequin v 3.5 (EXCOFFIER; LISCHER, 2010) e o coeficiente de diferenciação genética relativa entre as populações ( $G_{st}$ ) foi calculado no *software* R pelo pacote 'mmod' v 1.3.3 (WINTER, 2012).

Uma análise de clusterização bayesiana foi realizada com o *software* Structure (PRITCHARD *et al.*, 2000) assumindo o modelo *admixture* e frequência de alelos correlacionadas entre as populações. Foram conduzidas 10 corridas independentes para valor de  $K$  testado ( $1 < K < 5$ ), utilizando 100,000 de 'burn-in' e

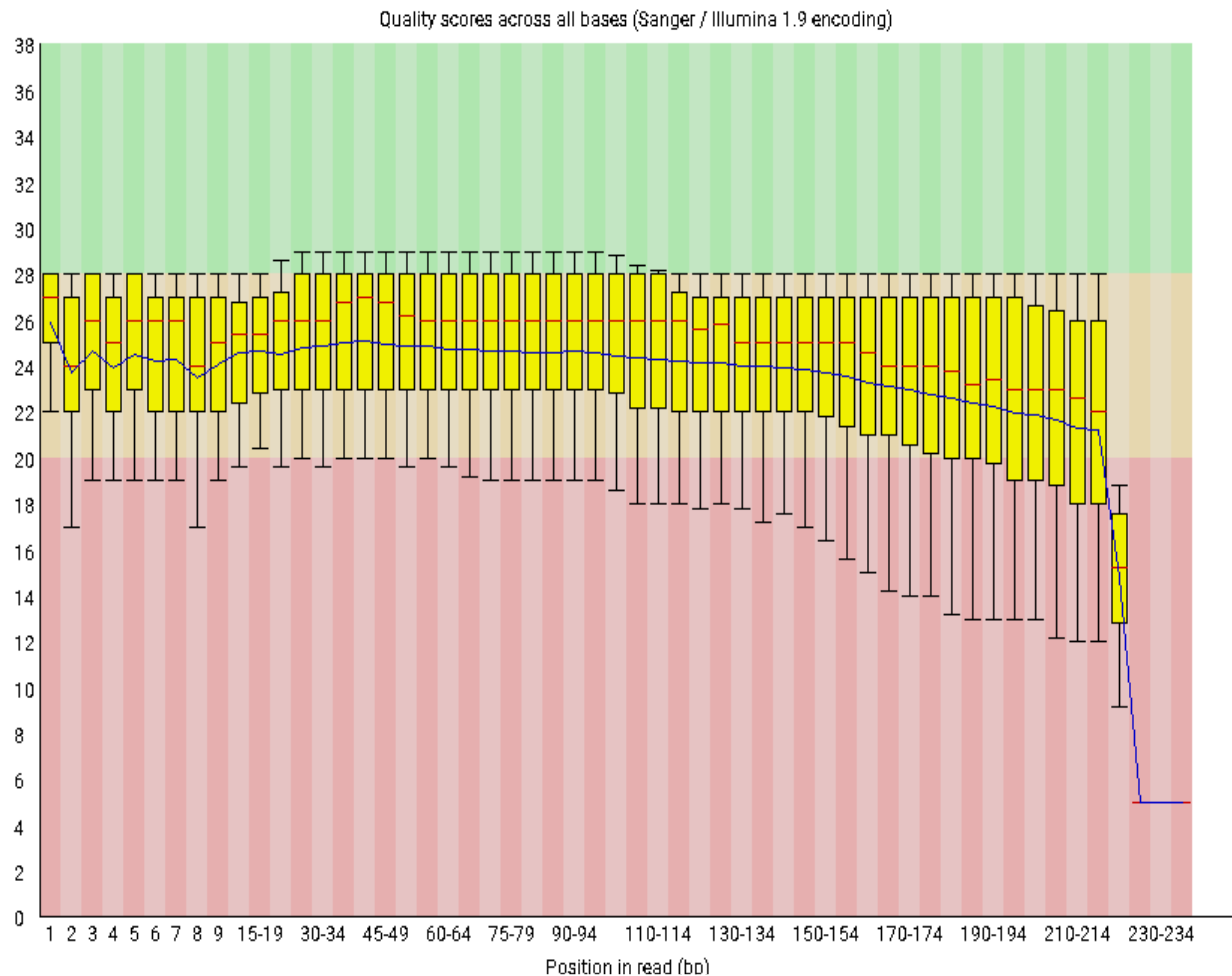
1,000,000 de gerações. O valor ótimo de  $K$  foi selecionado segundo o método de Evanno (2005) implementado no *structure Harvester* (EARL; VONHOLDT, 2012).

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 3.1 Qualidade dos dados brutos provenientes do sequenciamento

A qualidade dos reads gerados no sequenciamento em aparelho Ion Proton (Plataforma Ion Torrent) foi razoável, com predominância da maior parte dos escores das sequências (Q) variando entre 20 e 28 ( $20 \leq Q < 28$ ) (Figura 10).

Figura 10. Representação da variação de qualidade de todos os pares de bases obtidos no sequenciamento de *Myracrodruon urundeuva*. Eixo x: posição ocupada pelos pares de base. Eixo y: escore de qualidade Q. As diferentes cores do fundo do gráfico representam a classificação da qualidade (verde: ótimo, laranja: média e vermelho: ruim). Box amarelo: Intervalo interquartil (25-75%). Linha azul: média. Traços vermelhos: mediana.



Fonte: Própria autora

### 3.2 SNPs e processamento dos reads

O número total de *reads* obtidos após a demultiplexação e filtragem dos dados ( $QV > 30$ , identificação dos sítios das enzimas de restrição) incluindo as 51 amostras foi de 41,414,182. Para todas as análises posteriores, foram removidas 26 amostras devido ao baixo número de *reads* (menor que 500,000) que geravam menos de 200 loci quando agrupadas as outras amostras. Na primeira análise utilizando a abordagem *denovo* resultou em um baixo número de loci identificados (99 SNPs). Deste modo, foi aplicada a abordagem de referência e o número de *loci* identificados foi de 1118.

### 3.3 Diversidade genética

Os parâmetros de heterozigosidade e diversidade nucleotídica ( $\pi$ ) não foram diferentes entre as populações, notando-se que a população de Aramina/SP teve valores ligeiramente maiores para ambos os parâmetros em comparação com a população de Selvíria/MS (Tabela 1). No entanto, a diferença no número de alelos privados ( $A_p$ ) foi expressiva, conferindo à população de Aramina o maior número deles (Tabela 1). De modo geral, tem-se que a população de Aramina é mais diversa geneticamente e contém muitos alelos encontrados somente nesta população.



Tabela 1. Parâmetros genéticos de duas populações de *Myracrodruon urundeuva* Allemão a partir da análise de marcadores no DNA SNP (*Single Nucleotide Polymorphism*) de indivíduos arbóreos adultos femininos fornecedores de sementes (matrizes). Ara: população de Aramina, SP; Sel: população de Selvíria, MS; N: número de indivíduos amostrados;  $H_{\text{obs}}$ : heterozigosidade observada;  $H_{\text{exp}}$ : heterozigosidade esperada;  $\pi$ : diversidade nucleotídica;  $A_p$ : alelos privados;  $F_{\text{is}}$ : coeficiente de endogamia.

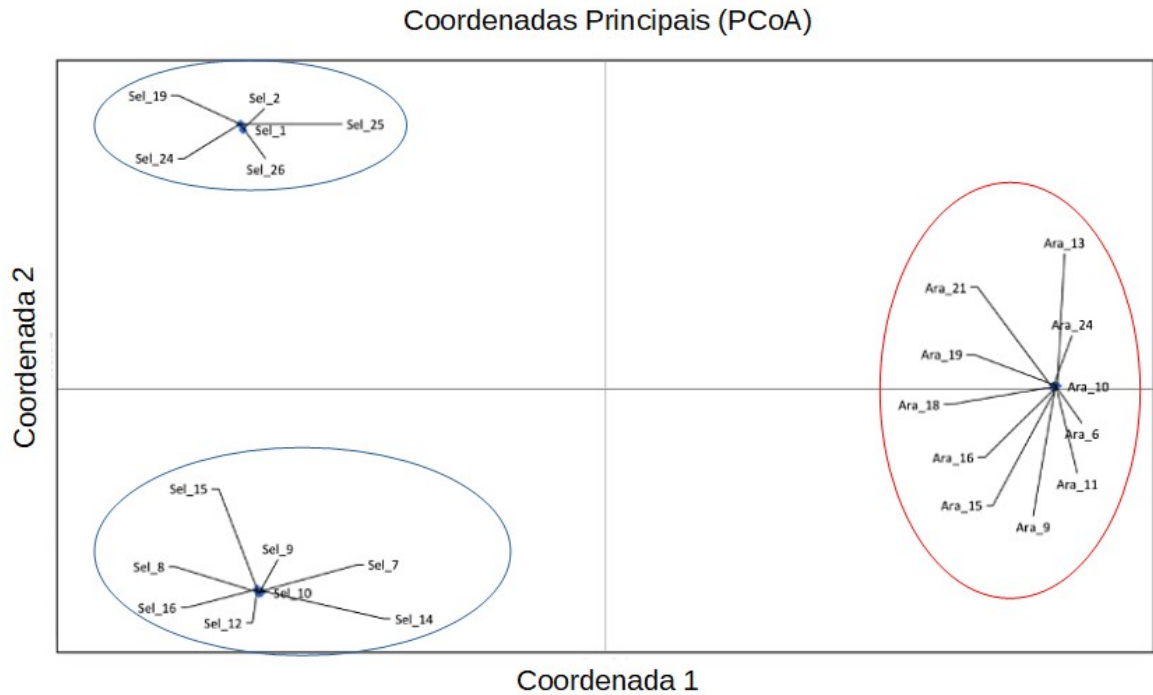
	Ara	Sel
<b>N</b>	25	26
<b>Het<sub>obs</sub></b>	0,2857	0,2669
<b>Hom<sub>obs</sub></b>	0,7143	0,7331
<b>Het<sub>exp</sub></b>	0,2904	0,2727
<b>Hom<sub>exp</sub></b>	0,7096	0,7273
<b><math>\pi</math></b>	0,3052	0,2832
<b>A<sub>p</sub></b>	577	196
<b>F<sub>is</sub></b>	0,0908	0,0712

Fonte: Própria autora

### 3.4 Estruturação populacional

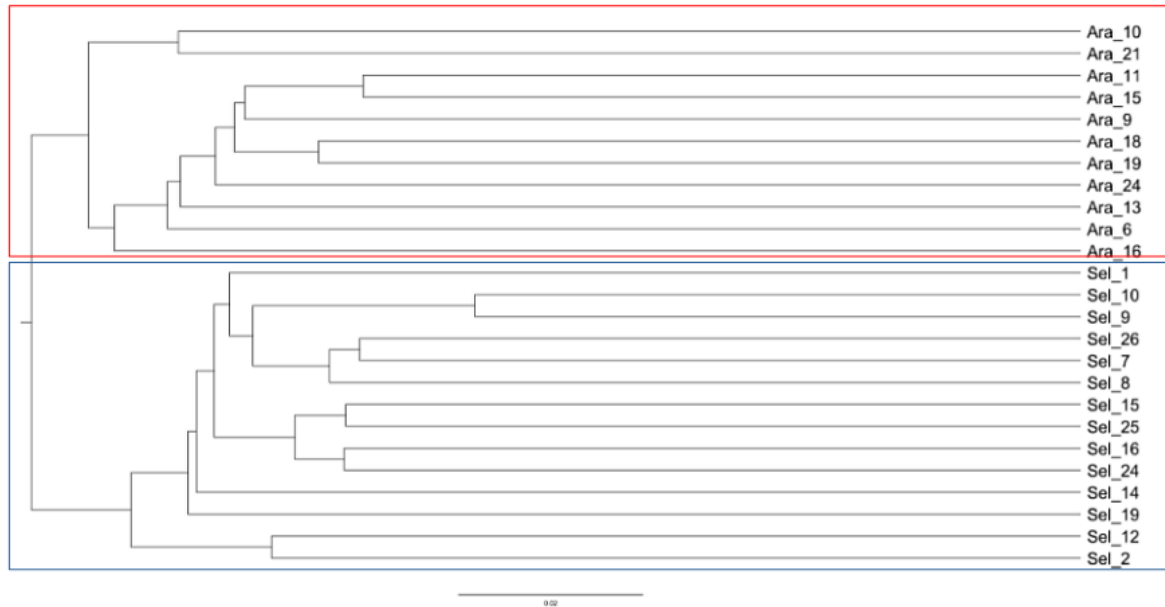
É possível distinguir a formação de 3 grupos baseada na distribuição da variação nas populações por meio da análise multivariada de componentes principais (PCoA) (Figura 11). Contrariamente, a ordenação das matrizes pelas distâncias genéticas de Nei pela ligação média entre grupos (UPGMA) indica a formação de dois grupos bem delimitados, equivalendo cada um a cada população em questão (Figura 12). Além disso, a DAPC demonstrou também a presença de apenas duas populações sem subestruturação (Figura 13).

Figura 11. Análise de Coordenadas Principais para duas populações de *Myracrodruon urundeuva* Allemão a partir da análise de marcadores no DNA SNP (*Single Nucleotide Polymorphism*) de indivíduos arbóreos adultos femininos fornecedores de sementes (matrizes). Em vermelho: indivíduos da população de Aramina, SP (N=25). Em azul: indivíduos da população de Selvíria, MS (N=26).



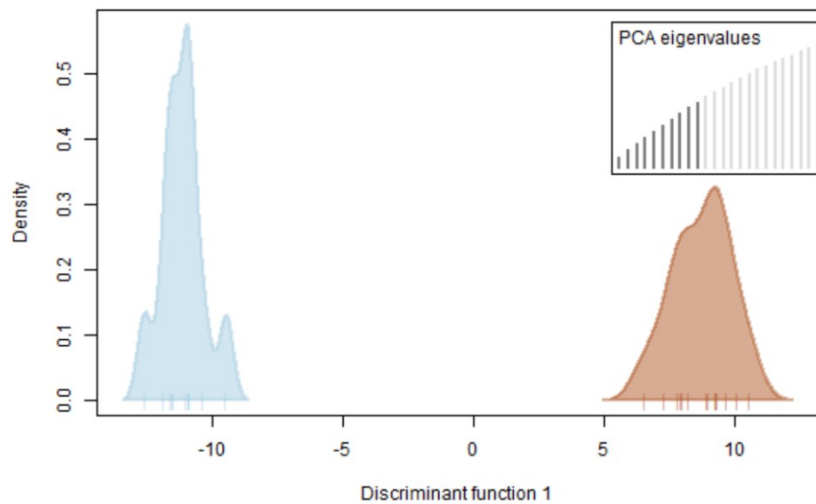
Fonte: Própria autora

Figura 12. Dendrograma UPGMA baseado nas distâncias de Nei para duas populações de *Myracrodruon urundeuva* Allemão a partir da análise de marcadores no DNA SNP (*Single Nucleotide Polymorphism*) de indivíduos arbóreos adultos femininos fornecedores de sementes (matrizes). Em vermelho: indivíduos da população de Aramina, SP (N=25). Em azul: indivíduos da população de Selvíria, MS (N=26).



Fonte: Própria autora

Figura 13. Análise Discriminante de Componentes Principais (DAPC) para duas populações de *Myracrodruon urundeuva* Allemão a partir da análise de marcadores no DNA SNP (*Single Nucleotide Polymorphism*) de indivíduos arbóreos adultos femininos fornecedores de sementes (matrizes). POP 1 ARA: N = 25; POP 2 SEL: N = 26.



Fonte: Própria autora

### 3.5 Análise de Variância Molecular (AMOVA)

A maior parte da variação genética está atualmente contida dentro das populações (93,4%) e o restante, entre elas (6,6%; Tabela 2). Ainda assim, é possível afirmar que existe diferença significativa entre as populações ( $F_{st} = 0,0634$ ,  $p\text{-valor} = 0$ ;  $G_{st} = 0,091$ ). Os valores de  $F_{is}$  para cada população foram de 0,09 para Aramina e 0,07 para Selvíria, indicando que as populações são correlacionadas.

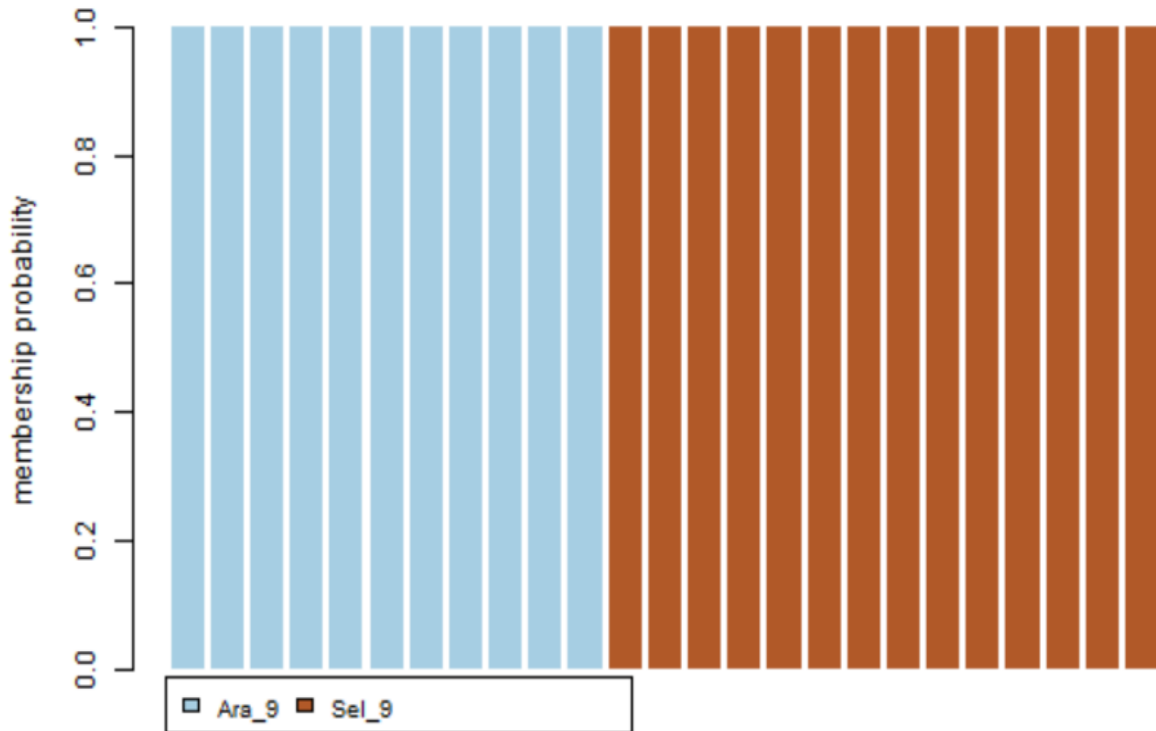
Tabela 2. Análise de variância molecular (AMOVA) para duas populações de *Myracrodruon urundeuva* Allemão (Ara: 25 indivíduos; Sel: 26 indivíduos) com dados de marcadores SNP (*Single Nucleotide Polymorphism*) no DNA genômico de indivíduos arbóreos adultos femininos. GL: graus de liberdade. SQ: soma de quadrados.  $\sigma^2$ : componentes de variância. Var: variação total.  $\phi$ : índice de fixação

	GL	SQ	$\sigma^2$	Var (%)	$\phi$	p-valor
Entre as populações	1	632,44	16,12	6,56	0,06	> 0,01
Entre as matrizes dentro das populações	23	5411,22	5,66	2,30	0,02	> 0,39
Entre as matrizes	25	5598,88	223,95	91,14	0,08	< 0,1
Total	49	11642,54	245,73	100		

Fonte: Própria autora

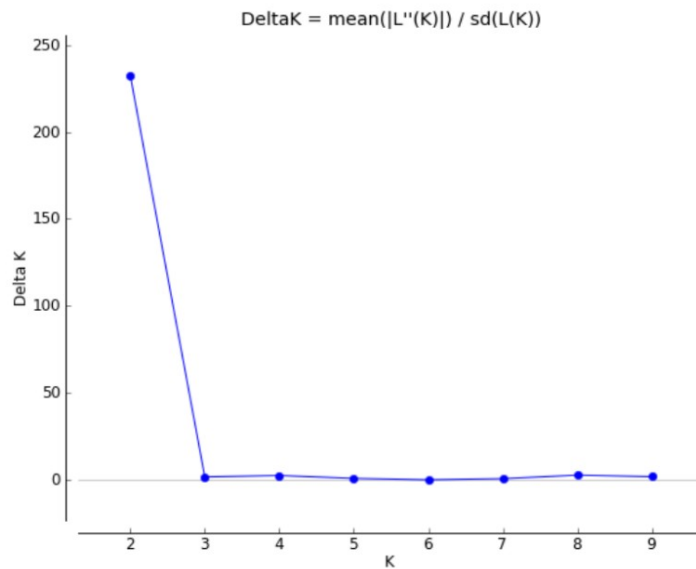
Considerando as análises de clusterização sem consideração de população *a priori*, ambas as análises de probabilidade de identidade entre os indivíduos em ambas as populações demonstraram a presença de duas populações (Figuras 14, 15 e 16). Desse modo, a partir dos dados, é possível inferir que as populações são significativamente diferentes entre si, existindo um grande número de alelos privados em cada população. Não há uma diferença significativa entre as heterozigosidades e diversidades nucleotídicas (Tabela 1).

Figura 14. *Assignment test* dos indivíduos para duas populações de *Myracrodruon urundeuva* Allemão a partir da análise de marcadores no DNA SNP (*Single Nucleotide Polymorphism*) de indivíduos arbóreos adultos femininos fornecedores de sementes (matrizes). Em azul, população de Aramina e, em marrom, Selvíria. Cada barra representa a probabilidade de cada indivíduo analisado em pertencer a uma população. Cores iguais para cada indivíduo representam que eles pertencem à mesma população. POP 1 ARA: N = 25; POP 2 SEL: N = 26



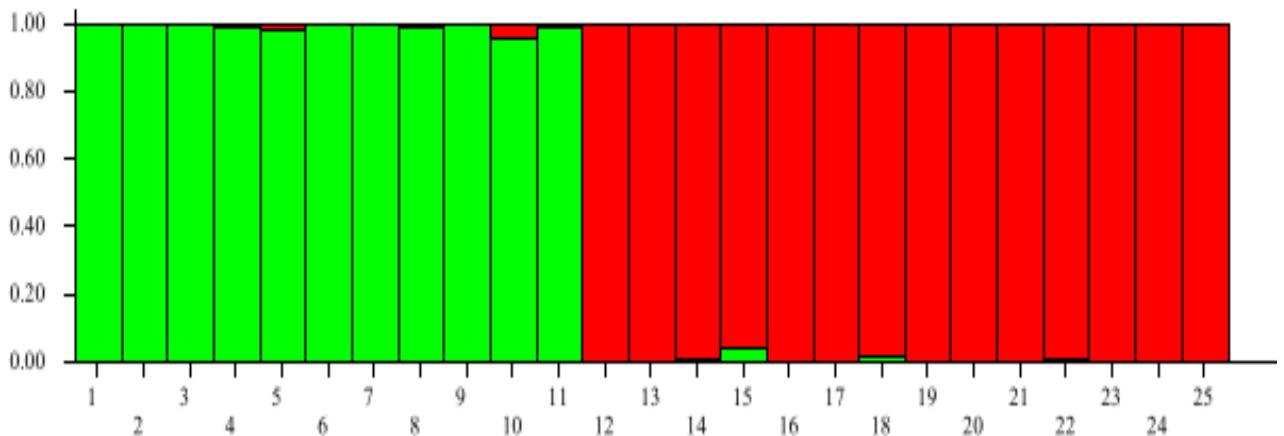
Fonte: Própria autora

Figura 15. Correção de Evanno (2005) para a identificação do número de *clusters* (populações) presentes na análise. O pico em  $K=2$  sugere que existam apenas duas populações na amostragem. POP 1 ARA:  $N = 25$ ; POP 2 SEL:  $N = 26$ .



Fonte: Própria autora

Figura 16. Histograma para  $K=2$ , onde somente os indivíduos representativos foram considerados. Cada indivíduo é representado por uma barra vertical, com comprimentos proporcionais aos *memberships* estimados. Ara: verde; Sel: vermelho



Fonte: Própria autora

O presente estudo descreveu o primeiro conjunto de marcadores SNPs para a espécie arbórea tropical *Myracrodruon urundeuva*, inaugurando uma nova etapa de investigação da variabilidade genética da espécie com base em marcadores genético-moleculares. Além disso, a hipótese de que o tipo de ação antrópica influencia na diversidade genética não foi confirmada neste estudo, observando-se que um aumento no número de indivíduos amostrados em cada população bem como do número de populações amostradas em si, pode gerar outras conclusões mais robustas sobre a conservação da espécie. De qualquer forma, a relevância de uma pesquisa de genética de populações sob a ótica genômica de uma espécie não-modelo como *M. urundeuva* enriquece o campo da disciplina de genômica da conservação, embasando possíveis estratégias de preservação da história evolutiva da espécie e do seu potencial adaptativo por meio do entendimento de seus níveis de diversidade genética.

A dissimilaridade alélica entre as populações, medida pela heterozigosidade, desvia pouco do esperado no equilíbrio de Hardy-Weinberg (Tabela 1). Isso significa que as frequências gênicas e genotípicas constatadas atualmente em ambas as populações teriam a tendência de permanecerem constantes por gerações se a ausência de forças seletivas influenciando as populações fosse uma premissa verdadeira. Ainda, dentro das populações, se retirássemos duas sequências ao acaso no espaço amostral completo deste estudo, o número médio de diferenças entre elas não seria diferente ( $\pi_{Ara} = 0,3052$ ;  $\pi_{Sel} = 0,2832$ ). No entanto, mesmo sendo notória a existência de diferentes tipos de perturbação em cada ambiente analisado, neste momento e neste nível de análise, ainda não é possível deduzir o grau de influência específico de cada tipo de perturbação na diversidade genética da espécie. Tudo parece indicar que não se trata do tipo de atividade (agronômica ou pecuário-florestal) que determina as frequências gênicas das populações em questão, mas a perturbação em si que as atividades causam nos ambientes naturais. Isso pode significar uma tendência de homogeneização da diversidade de cada população visto que as heterozigosidades observadas não ultrapassaram os valores de 0,285. Ainda mais, apesar da homogeneidade genética dentro de cada população, a troca de alelos entre as populações por meio de cruzamentos entre as populações seria uma estratégia para conservação em longo prazo dado ainda a existência de uma grande número de alelos privados em cada população.



As diferenças estatísticas significativas encontradas entre ambas as populações com base nas análises de variância molecular podem ser devido ao grande número de alelos privados identificados em ARA (577), quase o triplo encontrado em SEL (196). No entanto, pelo fato de a quantidade de alelos privados contida em ambas as populações ser alta, reitera-se a importância da elaboração de planos de conservação e manejo regionais que levem em consideração a localização individual das matrizes e meios de classificação dos tipos de intensidade das perturbações potenciais nos ambientes para posteriores análises mais refinadas.

Sob a ótica da análise com marcadores SNPs, a diversidade genética seria enxergada na variação de nucleotídeos em alelos comuns presentes em cada população que não teriam chances de reduzir perceptivelmente a fertilidade quando encontrados em homozigose. Como os valores do coeficiente de endogamia foram baixos em cada população ( $A_{ra} = 0,09$ ;  $S_{el} = 0,07$ ), pode-se presumir que os efeitos deletérios dos alelos raros em cada ambiente ainda estejam ocultos e que estejam ainda mais diluídos na população, sendo resultado de um possível contrabalanço entre os efeitos dos fatores relacionados à deriva genética em cada ambiente e o fluxo gênico. Com base no único estudo genético-molecular considerando as mesmas populações deste estudo com 978 progênies de geração 1 conservadas *ex situ* no BAG-A (descrição detalhada no Estudo 3 deste trabalho), Viégas *et al.* (2011) também constataram alta diversidade genética conservada *ex situ* baseada em análises utilizando marcadores genético-moleculares microssatélites. A sugestão dos autores, dada quase 10 anos atrás com base em outros marcadores genéticos, vai de encontro ao exposto aqui, aumentando o tamanho efetivo populacional conservado, visto que também encontraram alta quantidade de alelos raros ( $A_{ra} = 60$ ;  $S_{el} = 73$ ) e privados ( $A_p$ ) em ambas as populações (Tabela 3).

Tabela 3. Diferenças entre os valores dos parâmetros genéticos de duas populações de *Myracrodruon urundeuva* (Ara: Aramina, SP; Sel: Selvíria, MS) em duas gerações (matrizes e progênies de geração 1) obtidos por sequenciamento de nova geração e genotipagem por microssatélites, respectivamente.

	SSR (2011)		SNP (2020)	
	Ara	Sel	Ara	Sel
<b>Geração</b>	Progênies Geração 1		Matrizes	
<b>N</b>	492	486	25	26
<b>H<sub>o</sub></b>	0,535	0,669	0,285	0,266
<b>A<sub>p</sub></b>	12	23	577	196

Fonte: Própria autora

Apesar de a distribuição e a ordenação dos dados nas populações indicarem a formação de duas populações bem distintas uma da outra, é possível inferir sobre uma possível tendência em relação à subestruturação de SEL no futuro, indicando a possibilidade de a trajetória da população SEL resultar em agrupamentos gênicos específicos (*pool* gênicos) com poucos representantes que, se não forem fixados ao longo das gerações, podem ser perdidos.

A forma como a biologia é vista e praticada atualmente não se desvencilha do que pode ser considerado como um dos feitos que gerou profundas mudanças na biologia moderna: o sequenciamento do genoma humano nos anos 2000 por meio de sequenciamento em larga escala (*high throughput*). Desde então, plataformas genômicas e proteômicas vêm sendo cada vez mais utilizadas, desenvolvidas e aperfeiçoadas para geração de dados robustos aliadas a técnicas de análise embasadas na ciência da computação, matemática e estatística para o entendimento da complexidade biológica e comparação entre dados para a tentativa de entendimento da “lógica da vida”. Assim, na história do pensamento biológico parece predominar a utilização de dados provindos de organismos-modelo, atentando-se aos estudos pioneiros realizados nos anos 1800 pelo monge Gregor Mendel sobre os padrões de hereditariedade com *Pisum sativum* (ervilha). Nos tempos mais atuais, observam-se organismos-modelo que fazem parte de

importantes investigações em diversas áreas da biologia, como por exemplo, em estudos com *Arabidopsis thaliana*, *Drosophila melanogaster* (mosca da fruta), *Danio rerio* (zebrafish) e *Saccharomyces cerevisiae* (levedura da cerveja).

Neste estudo, o alinhamento das sequências de *Myracroduon urundeuva* contra sequências de *Pistacia vera* (pistache), árvore de importância comercial nativa do sudoeste asiático e cujo genoma já foi sequenciado - 600 Mb (MOTALEBIPOUR *et al.*, 2016), foi mais eficaz por ampliar as chances de se encontrar polimorfismos em espécies aparentadas (ambas são árvores pertencentes à família botânica Anacardiaceae e, portanto, trajetórias evolutivas similares) do que se as análises de alinhamento *de novo* tivessem prosseguido neste estudo. O caráter “informacional”, portanto, deste e eventuais demais estudos relacionados com espécies arbóreas nativas, são relevantes para a Biologia de Sistemas, termo proposto por Hood (2003) e que atualmente contém disciplinas específicas, como a genômica da conservação. Essa nova perspectiva da biologia de sistemas se baseia na essência da biologia *per se*, que é a única ciência da vida que tem como seu cerne um código específico originado pela combinação atualmente aceita de 4 elementos (bases nucleotídicas A-T-C-G; novas abordagens sobre propostas de DNA/RNA com 8 nucleotídeos - A-T-C-G, Z-P-S-B - podem ser consultadas em Hoshika *et al.* (2019)), e pode auxiliar em ações preditivas e de planejamento de políticas e ações ambientais por considerar as interrelações dos elementos de um sistema, em vez de considerá-los separadamente.

## 4 CONCLUSÃO

- A abordagem *de novo* revelou baixo número de loci SNPs (99), ao passo que a abordagem *de alinhamento* com a espécie *Pistacia vera* (pistache) como referência revelou alto número de loci SNPs (1.118).
- O número de alelos privados é maior na população de Aramina, SP (577) em comparação com a população de Selvíria, MS (196), ressaltando a importância da conservação dessas populações.
- O tipo de atividade antrópica não influencia na diversidade genética, baseada na análise de SNPs, visto que não há diferença significativa entre as duas populações estudadas.
- A maior parte da variabilidade genética está dentro de populações de Aramina e Selvíria. No entanto, em cada população, a distribuição das frequências dos alelos comuns, raros e privados permite a adaptação dos indivíduos destas populações a condições ambientais diferentes.

## REFERÊNCIAS

- ANDREWS, S. FastQC: a quality control tool for high throughput sequence data. 2010. Disponível em: <http://www.bioinformatics.babraham.ac.uk/projects/fastqc>. Acesso em: 18 jan. 2021.
- ANDREWS, K. R., GOOD, J. M., MILLER, M. R., LUIKART, G.; HOHENLOHE, P. A. Harnessing the power of RADseq for ecological and evolutionary genomics. **Nature Reviews Genetics**, Londres, v.17, n. 2, pp. 81–92. 2016. <https://doi.org/10.1038/nrg.2015.28>.
- ANTUNES, R. M.; FRANCO, R. A. M.; OLIVEIRA, T. O. P. Evolução temporal da Silvicultura no uso e ocupação do solo no município de Três Lagoas/MS.In: SIMPÓSIO DE GEOTECNOLOGIAS NO PANTANAL, 7., 2018, Jardim. **Anais [...]** Jardim: Embrapa, 2018. p. 903-912. Disponível em: <https://www.geopantanal.cnptia.embrapa.br/Anais-Geopantanal/pdfs/p138.pdf>. Acesso em: 10 fev. 2021.
- ARAÚJO, M. B. Biodiversity hotspots and zones of ecological transition. **Conservation Biology**, Boston, v. 16, p. 1662-1663, 2002.
- ARAÚJO, M.B.; WILLIAMS, P. The Bias of Complementarity Hotspots toward Marginal Populations. **Conservation Biology**. Boston, v. 15, n. 6, p. 1710-1720, 2001.
- BAIRD, N. A.; ETTER, P.D.; ATWOOD, T.S.; CURREY, M.C.; SHIVER, A.L.; LEWIS, Z.A.; CRESKO, W.A.; JOHNSON, E.A. Rapid SNP Discovery and Genetic Mapping Using Sequenced RAD Markers. **PLoS ONE**. São Francisco, 2008. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0003376>
- BALERONI, C. R. S.; ALVES, P. F.; SANTOS, E. B. R.; CAMBUIM, J.; ANDRADE, J. A. C.; MORAES, M. L. T. Variação genética em populações naturais de aroeira em dois sistemas de plantio. **Revista do Instituto Florestal**, São Paulo, v.15, n.2, p.125-136, 2003.
- BALLESTEROS-MEIJA, L. LIMA, J. S.; COLLEVATTI, R. G. Spatially-explicit analyses reveal the distribution of genetic diversity and plant conservation status in Cerrado biome. **Biodiversity and Conservation**, Londres, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1007/S10531-018-1588-9>

BANDA-R, K.; DELGADO-SALINAS, A.; DEXTER, K.G.; LINARES-PALOMINO, R.; OLIVEIRA-FILHO, A.; PRADO, D.; PULLAN, M.; QUINTANA, C.; RIINA, R.; RODRÍGUEZ, G. M.; WEINTRITT, J.; ACEVEDO-RODRÍGUEZ, P.; ADARVE, J.; ÁLVAREZ, E.; ARANGUREN, A.; ARTEAGA, J. C.; AYMARD, G.; CASTAÑO, A.; CEBALLOS-MAGO, N.; COGOLLO, A.; CUADROS, H.; DELGADO, F.; DEVIA, W.; DUEÑAS, H.; FAJARDO, L.; FERNÁNDEZ, A.; FERNÁNDEZ, M. A.; FRANKLIN, J.; FREID, E. H.; GALETTI, L. A.; GONTO, R.; GONZÁLEZ, R.; GRAVESON, R.; HELMER, E. H.; IDÁRRAGA, A.; LÓPEZ, R.; MARCANO-VEGA, H.; MARTÍNEZ, O. G.; MATURO, H. M.; MCDONALD, M.; MCLAREN, K.; MELO, O.; MIJARES, F.; MOGNI, V.; MOLINA, D.; MORENO, N. P.; NASSAR, J. M.; NEVES, D. M.; OAKLEY, L. J.; OATHAM, M.; OLVERA-LUNA, A. R.; PEZZINI, F. F.; DOMINGUEZ, O. J. R.; RÍOS, M. E.; RIVIERA, O.; RODRÍGUEZ, N.; ROJAS, A.; SÄRKINEN; SÁNCHEZ, R.; SMITH, M.; VARGAS, C.; VILLANEUVA, B.; PENNINGTON, R. T. Plant diversity patterns in neotropical dry forests and their conservation implications. **Science**, Washington, DC, EUA, v. 353, pp. 1383–1387. 2016. DOI: 10.1126/science.aaf5080

BONASIO, R.; ZHANG, G.; CHAOYANG, Y.; MUTTI, N.S.; FANG, X.; QIN, N.; DONAHUE, G.; YANG, P.; LI, Q.; LI, C.; ZHANG, P.; HUANG, Z.; BERGER, S.L.; REINBERG, D.; WANG, J.; LIEBIG, J. Genomic Comparison of the Ants *Camponotus floridanus* and *Harpegnathos saltator*. **Science**. Washington, v. 329, n. 5995, p. 1068-1071. 2010. DOI: 10.1126/science.1192428.

CAETANO, S.; SILVEIRA, P.; SPICHIGER, R.; NACIRI-GRAVEN, Y. Identification of microsatellite markers in a Neotropical Seasonally Dry Forest tree, *Astronium urundeuva* (Anacardiaceae). **Molecular Ecology Notes**, Oxford, v. 5, p. 21-23, 2005.

CÂMARA, G.; SOTERRONI, A. RAMOS, F.; CARVALHO, A.; ANDRADE, P.; SOUZA, R. C.; MOSNIER, A.; MANT, R.; BUURMAN, M.; PENA, M. HAVLIK, P.; PIRKER, J.; KRAXNER, F.; OBERSTEINER, M.; KAPOS, V.; AFFONSO, A.; ESPÍNDOLA, G.; BOCQUEHO, G. **Modelling Land Use Change in Brazil: 2000–2050**, São José dos Campos, Brasília, Laxenburg, Cambridge. INPE, IPEA, IIASA, UNEP-WCMC. Novembro, 2015. Disponível em: <https://www.unep-wcmc.org/resources-and-data/modelling-land-use-changes-in-brazil-2000-2050>. Acesso em: 7 abr. 2021.

CANUTO, D. S. O.; SILVA, A. M.; FREITAS, M. L. M.; SEBBENN, A. M.; MORAES, M. L. T. Genetic variability in *Myracrodruon urundeuva* (Allemão) Engl. progeny tests. **Open Journal of Forestry**, Wuhan, v. 7, p. 1–10. 2017.

CASTUERA-OLIVEIRA, L.; OLIVEIRA-FILHO, A.T.; EISENLOHR, P.V. Emerging hotspots of tree richness in Brazil. **Acta Botanica Brasilica**, Porto Alegre, v. 34, n. 1, p. 117-134. 2020.

CAVA, M. B.; PILON, N. A. L.; RIBEIRO, M. C.; DURIGAN, G. ABANDONED pastures cannot spontaneously recover the attributes of old-growth savannas. **The Journal of Applied Ecology**, Oxford, v. 55, p. 1164-1172, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1111/1365-2664.13046>

CENTRO NACIONAL DE CONSERVAÇÃO DA FLORA. **Avaliação do risco de extinção de árvores nativas do Brasil (2018 - junho 2020)**. Disponível em: [https://ckan.jbrj.gov.br/pt\\_BR/dataset/avaliacao-2018-junho2020](https://ckan.jbrj.gov.br/pt_BR/dataset/avaliacao-2018-junho2020). Acesso em: 4 ago. 2021.

DARGEL, A. P. T. P. **Entre buritis e veredas**: o desvendar da toponímia do bolsão sul-mato-grossense. 2003. 281 f. Dissertação (Mestrado em Letas) - Universidade Federal do Mato Grosso do Sul, Três Lagoas, 2003.

DOYLE J.J.; DOYLE J. L. Isolation of plant DNA from fresh tissue. **Focus**, Washington, v. 12, pp. 13–15. 1990.

Earl, D. A., Vonholdt, B. M. STRUCTURE HARVESTER: a website and program for visualizing STRUCTURE output and implementing the Evanno method. **Conservation Genetic Resources**. Berlin, Alemanha, v.4, n.2, pp. 359–61.2012

EXCOFFIER, L.; LISCHER, H. E. L. Arlequin suite ver 3.5: A new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. **Molecular Ecology Resources**. Oxford, v.10, p. 564-567. 2010.

EVANNO, G.; REGNAUT, S.; GOUDET, J. Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: a simulation study. **Molecular Ecology**. Oxford, v.14, n.8, p. 2611–20, 2005.

FORZZA, R.C.; BAUMGRATZ, J.F.A.; BICUDO, C.E.M.; CANHOS, D.A.L.; CARVALHO JR., A.A.; COELHO, M.A.N.; COSTA, A.F.; COSTA, D.P.; HOPKINS, M.G.; LEITMAN, P.M.; LOHMANN, L.G.; LUGHADHA, E.N.; MAIA, L.C.; MARTINELLI, G.; MENEZES, M.; MORIM, M.P.; PEIXOTO, A.L.; PIRANI, J.R.; PRADO, J.; QUEIROZ, L.P.; SOUZA, S.; SOUZA, V.C.; STEHMANN, J.R.; SYLVESTRE, L.S.; WALTER, B.M.T.; ZAPPI, D.C. New Brazilian floristic list highlights conservation challenges. **BioScience**, Washignton, v. 62, n.1, p. 39-45, 2012.

FREITAS, M. L. M.; AUKAR, A. P. A.; SEBBENN, A. M.; MORAES, M. L. T.; LEMOS, E. G. M. Variabilidade genética intrapopulacional em *Myracrodruon urundeuva* Fr. All. por marcador AFLP. **Scientia Forestalis**, Piracicaba, v. 2, n. 68, p. 21-28, 2005.

FREITAS, M. L. M.; AUKAR, A. P. A.; SEBBENN, A. M.; MORAES, M. L. T.; LEMOS, E. G. M. Variação genética em progênies de *Myracrodruon urundeuva* F.F. & M.F. Allemão em três sistemas de cultivo. **Revista Árvore**, Viçosa, MG, v. 30, n. 3, p. 319-329, 2006a.

FULEY, P. A. The nature and diversity of neotropical savanna vegetation with particular reference to the Brazilian cerrados. **Global Ecology and Biogeography**. Oxford, v. 8, n. 3-4, p. 223-241, 2002.

GAINO, A. P. S. C.; MORAES, M. L. T.; MOREIRA, J. P.; CARDIN, L.T.; MORAES, M. A.; SILVA, A.M.; FREITAS, M.L.M.; SEBBENN, A.M. Mating system in *Myracrodruon urundeuva* (Anarcadiaceae): implications for conservation genetics. **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, São Paulo, v. 34, n.4, p.545-551. 2011. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-84042011000400008>

Gaston, K.; Rodrigues, A. S. L.; Rensburg, B. J.; Koleff, P. & Chown, S. L. Complementary representation and zones of ecological transition. **Ecology Letters**, Oxford, v. 4, p. 4-9. 2001.

GBIF: **The Global Biodiversity Information Facility** (2021). Disponível em: <https://www.gbif.org/what-is-gbif> . Acesso em: 4 de agosto de 2021.

HOOD, L. Systems biology: integrating technology, biology, and computation. **Mechanisms of Ageing and Development**. Limerick, v. 124, p. 9-16. 2003.

HOSHIKA, S.; LEAL, N. A.; KIM, M. J.; KIM, M. S.; KARALKAR, N. B.; KIM, H. J.; BATES, A. M.; WATKINS-JR., N. E.; SANTALUCIA, H. A.; MEYER, A. J.; GASGUPTA, S.; PICCIRILLI, J. A.; ELLINGTON, A., D.; SANTALUCIA-JR., J.; GEORGIADIS, M. M.; BENNER, S. A. Hachimoji DNA and RNA: A genetic system with eight building blocks. **Science**, Washington, DC, EUA, v. 363, n. 6429, pp. 884-887. 2019. <https://doi.org/10.1126/science.aat0971>

INDÚSTRIA BRASILEIRA DE ÁRVORES. Relatório (IBÁ). Relatório anual 2020. **Indústria Brasileira de Árvores (IBÁ)**, São Paulo, Brasília, Brasil. pp. 60. 2020.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). Censo Brasileiro de 2010, **IBGE**, Rio de Janeiro, Brasil. 2021.

INSTITUTO FLORESTAL DE SÃO PAULO. Inventário Florestal do Estado de São Paulo - Mapeamento da Cobertura Vegetal Nativa. **Instituto Florestal de São Paulo**. São Paulo, São Paulo, Brasil. 2020. Disponível em: <https://www.infraestruturameioambiente.sp.gov.br/2020/08/novo-inventario-florestal-do-esp-aponta-crescimento-de-214-mil-hectares-de-vegetacao-nativa-no-territorio-paulista/>. Acesso em: 4 ago. 2021.

JOMBART, T. “*adegenet*: a R package for the multivariate analysis of genetic markers” **Bioinformatics**, Oxford, v. 24, p. 1403-1405. 2008. DOI: 10.1093/bioinformatics/btn129.

KELLER, A.; BALLARIN, A. W., FREITAS, M. L. M.; ZANATTO, A. C. S.; LONGUI, E. L. Propriedades físico-mecânicas da madeira de *Myracrodruon urundeuva* em plantio homogêneo. **Revista do Instituto Florestal**. São Paulo, Brasil, v. 29, n. 2 p. 239-251. 2017. DOI: <http://dx.doi.org/10.24278/2178-5031.201729208>. ISSN impresso 0103-2674/on-line 2178-5031.

KLINK, C. A.; MACHADO, R. B. Conservation of the brazilian cerrado. **Conservation Biology**, Boston, v. 19, p. 707-713, 2005. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1523-1739.2005.00702.x>



KUHLMANN, M.; RIBEIRO, J. F. Evolution of seed dispersal in the Cerrado biome: ecological and phylogenetic considerations. **Acta Botanica Brasilica**, Porto Alegre, v. 30, n. 2. 2016. DOI: <https://doi.org/10.1590/0102-33062015abb0331>

LACERDA, C. M. B.; KAGEYAMA, P. Y.; FERRAZ, E. M. Diversidade isoenzimática em *Myracrodruon urundeuva* em duas situações antrópicas no semi-árido. **Scientia Forestalis**, Piracicaba, v.1, n. 55, p. 89-95, 1999.

LANGELLA, O. Populations: a population genetic software. CNRS UPR9034. 1999. Disponível em: <http://bioinformatics.org/~tryphon/populations/>. Acesso em: 4 de agosto de 2021.

LI, H., DURBIN, R. Fast and accurate short read alignment with Burrows–Wheeler transform, **Bioinformatics**, Oxford, v. 25, n. 14, p. 1754–1760, 2009. DOI: <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btp324>

LORENZI, H. **Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil**. Editora Plantarum Ltda. Nova Odessa, São Paulo. v. 1, 385 p. 1992.

LORENZI, H. **Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil**. Editora Plantarum Ltda. Nova Odessa, São Paulo. v. 2, 368 p. 2002.

LUIKART, G.; ENGLAND, P.R.; TALLMON, D.; JORDAN, S.; TABERLET, P. The power and promise of population genomics: from genotyping to genome typing. **Nature Reviews Genetics**. Londres, Inglaterra. 2003.

MABLE, B. K. Conservation of adaptive potential and functional diversity: integrating old and new approaches. **Conservation Genetics**. Berlin, Alemanha. v. 20, pp. 89-100. 2019. <https://doi.org/10.1007/s10592-018-1129-9>

MARGULES, C. R.; PRESSEY, R. L. Systematic conservation planning. **Nature**. Londres, Inglaterra, v. 405, pp. 243-253. 2000.

MARTINS, K.; SANTOS, W.S.D.; QUADROS, T.M.C.; AGUIAR, A.V.; MACHADO, J.A.R.; SEBBENN, A.M.; FREITAS, M.L.M. Genetic variation and effective population size of a *Myracrodruon urundeuva* (Engler) Fr. Allem. provenance and progeny test. **Journal of Forest Research**, Tóquio, v. 23, n.4, pp. 228-236. 2018. DOI: 10.1080/13416979.2018.1483130.

MITTERMEIER, R. A.; FONSECA, G. A. B.; RYLANDS, A.; BRANDON, K. A brief history of biodiversity conservation in Brazil. **Conservation Biology**. Boston, Massachussets, EUA. v. 19, n. 3, pp. 601-607, 2005.

MORAES, M. L. T.; KAGEYAMA, P. Y.; SEBBENN, A. M. Diversidade e estrutura genética espacial em duas populações de *Myracrodruon urundeuva* Fr. All. sob diferentes condições antrópicas. **Revista Árvore**, Viçosa, MG, v. 2, n. 29, p. 281-289, 2005.

MORIN, P. LUIKART, G.; WAYNE, R. K.; ALLENDORF, F. W.; AQUADRO, C. F.; AXELSSON, T.; BEAUMONT, M.; CHAMBERS, K.; DURSTEWITZ, G.; MITCHELL-OLDS, T.; PALSBOELL, P.J.; POINAR, H.; PRZEWORSKI, M.; TAYLOR, B.; WAKELEY, J. SNPs in ecology, evolution and conservation. **Trends in Ecology and Evolution**. Amsterdam, Holanda. v. 19, n.4, 2004.

MOTALEBPOUR, E. Z.; KAFKAS, S.; KODAEIAMINJAN, M.; ÇOBAN, N.; GÖZEL, H. Genome survey of pistachio (*Pistacia vera* L.) by next generation sequencing: Development of novel SSR markers and genetic diversity in Pistacia species. **BMC Genomics**, Londres, v. 17, n. 998, 2016. <https://dx.doi.org/10.1186%2Fs12864-016-3359-x>

MYERS, N., MITTERMEIER, R., MITTERMEIER, C. *et al.* Biodiversity hotspots for conservation priorities. **Nature**. Londres, v. 403, pp. 853–858, 2000. <https://doi.org/10.1038/35002501>

NEI, M.; SUZUKI, Y.; NOZAWA, M. Theory of Molecular Evolution in the Genomic Era. **Annual Review of Genomics and Human Genetics**. Palo Alto, California, EUA. 2010. 11:265–89. doi: 10.1146/annurev-genom-082908-150129

NUNES, Y. R. F.; FAGUNDES, M.; ALMEIDA, H. S. VELOSO, M. D. M. Aspectos ecológicos da aroeira (*Myracrodruon urundeuva* Allemão - Anacardiaceae): fenologia e germinação de sementes. **Revista Árvore**, Viçosa, v. 32, n. 2, p. 233-243, 2008.

OLIVEIRA-FILHO, A. T. Classificação das fitofisionomias da América do Sul cisandina tropical e subtropical: proposta de um novo sistema - prático e flexível - ou uma injeção a mais de caos? **Rodriguésia**, Rio de Janeiro, v. 60, pp. 237-258. 2009.

OLIVEIRA-FILHO, A. T. **NeoTropTree**: tree flora of the Neotropical region: a database involving biogeography, diversity and conservation. Belo Horizonte, Universidade Federal de Minas Gerais. 2017. Disponível em: <http://www.neotropree.info>. Acesso em: 8 jul. 2021.

PARADIS, E. “pegas: an R package for population genetics with an integrated–modular approach.” **Bioinformatics**, Oxford, v. 26, p. 419-420, 2010.

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

POLAND, J.A., BROWN, P.J.; SORRELLS, M.E.; JANNINK, J.-L. Development of high-density genetic maps for barley and wheat using a novel two-enzyme genotyping-by-sequencing approach. **PLoS ONE**, São Francisco, v. 7, p. e32253. 2012. DOI:10.1371/journal.pone.0032253.

PRADO, D. *Astronium urundeuva*. The IUCN Red List of Threatened Species 1998: e.T32020A9674552. DOI: <https://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.1998.RLTS.T32020A9674552.en>. 1998. Acesso em: 4 ago. 2021.

PRITCHARD, J. K.; STEPHENS, M.; DONNELLY, P. Inference of population structure using multilocus genotype data. **Genetics**, Austin, v. 155, n.2, p. 945–59, 2000.

PROJECT MAPBIOMAS – Collection v. 4.1 of Brazilian Land Cover & Use Map Series, Disponível em:

<https://s3.amazonaws.com/alerta.mapbiomas.org/relatorios/MBI-deforestation-report-2019-en-final5.pdf>. Acesso em :14 de julho de 2021.

QUINLAN, A. R.; HALL, I. M. BEDTools: a flexible suite of utilities for comparing genomic features, **Bioinformatics**, Oxford, v. 26, n.6, p. 841-842, 2010. DOI: <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btq033>

RATTER, J. A.; BRIDGEWATER, S.; RIBEIRO, F. Biodiversity patterns of the woody vegetation of the Brazilian Cerrado. *In*: PENNINGTON; R.T.; LEWIS, G.P.; RATTER, J.A. (ed.) **Neotropical savannas and seasonally dry forests: plant diversity, biogeography and conservation**. Londres: [s. n.], 2006. p.31-66.

REIS, A. M. M.; GRATTAPAGLIA, D. RAPD variation in a germplasm collection of *Myracrodruon urundeuva* (Anacardiaceae), an endangered tropical tree: Recommendations for conservation. **Genetic Resources and Crop Evolution**, Dordrecht, Holanda, NL, v. 51, p. 529–538, 2004.

RIZZINI, C. T. **Tratado de Fitogeografia do Brasil: aspectos sociológicos e florísticos**. HUCITEC/ USP, São Paulo, 1979.

ROSSINI, B. C.; MORAES, M. L. T.; MARINO, C. L. Complete chloroplast genome of *Myracrodruon urundeuva* and its phylogenetics relationships in Anacardiaceae family. **Physiology and molecular biology of plants: an international journal of functional plant biology**. Nova Deli, India. 2021. doi: 10.1007/s12298-021-00989-1

ROUSSET, F. Genepop'007: a complete reimplementaion of the Genepop software for Windows and Linux. **Molecular Ecology Resources**. Oxford, Inglaterra, v. 8, pp. 103-106. 2008.

SANTIN, D. A.; LEITÃO-FILHO, H. F. Restabelecimento e revisão taxonômica do gênero *Myracrodruon* Freire-Allemão (Anacardiaceae). **Revista Brasileira de Botânica**. São Paulo, São Paulo. v. 14, pp. 133-145. 1991.

SANO, E. E., ROSA, R., BRITO, J. L. S.; FERREIRA, L. G. Land cover mapping of the tropical savanna region in Brazil. **Environmental Monitoring Assessment**, Dordrecht, v.166, p.113-124, 2010.

SILVA-LUZ, C. L.; PIRANI, J. R.; PELL, S. K.; MITCHELL, J. D. Anacardiaceae in **Flora do Brasil 2020**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <http://reflora.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB4394>. Acesso em: 4 ago. 2021.

SLIK, J.W.F., FRANKLIN, J.; ARROYO-RODRÍGUEZ, V.; FIELD, R.; AGUILAR, S.; AGUIRRE, N.; AHUMADA, J.; AIBA, S.I.; ALVES, L.F. Phylogenetic classification of the world's tropical forests. **PNAS**, Washignton, v. 115, p. 1837-1842, 2018.

SOUZA, D. C. L.; ROSSINI, B. C.; SOUZA, F. B.; SEBBENN, A.M.; MARINO, C.L.; MORAES, M. L.T. Development of microsatellite markers for *Myracrodruon urundeuva* (F.F. & M.F. Allemão), a highly endangered species from tropical forest based on next-generation sequencing. **Molecular Biology Reports**. Dordrecht, Holanda, v. 45, pp. 71-75. 2018. <https://doi.org/10.1007/s11033-017-4142-z>

SPICHIGER, R.; CALENGE, C; BISE, B. Geographical zonation in the Neotropics of tree species characteristic of the Paraguay-Paraná Basin. **Journal of Biogeography**, Oxford, Inglaterra. v. 131, pp. 1489-1501, 2004.

STRASSBURG, B. B., LATAWIEC, A., AND BALMFORD, A. Brazil: urgent action on Cerrado extinctions. **Nature**. Londres, v. 540, n. 7632, p.199. 2016  
DOI:10.1038/540199a

STRASSBURG, B.B.N.; BROOKS, T; FELTRAN-BARBIERI, R.; IRIBARREM, A.; CROUZEILLES, R.; LOYOLA, R.; LATAWIEC, A.E.; OLIVEIRA-FILHO, F.J.B.; SCARAMUZZA, C.A.M.; SCARANO, F. R.; SOARES-FILHO, B.; BALMFORD, A. Moment of truth for the Cerrado hotspot. **Nature Ecology and Evolution**. Londres, v. 1, n. 4, p. 1-3. 2017.

TUNG, E. S. C.; FREITAS, M. L. M; FLORSHEIM, S. M. B.; LIMA, I. L.; LONGUI, E. L.; SANTOS, F. W.; MORAES, M. L. T.; SEBBENN, A. M. Variação genética para caracteres silviculturais e anatômicos de madeira em progênies de *Myracrodruon urundeuva* (Engler) Fr. Allem. **Scientia Forestalis**, Piracicaba, v. 38, n. 87, p. 499-508, 2010.

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

VICTOR, M. A. M.; CAVALLI, A. C.; GUILLAUMON, J. R.; SERRA FILHO, R. **Cem anos de devastação: revisitada 30 anos depois**. Ministério do Meio Ambiente. Secretaria de Biodiversidade e Florestas – Brasília: Ministério do Meio Ambiente, 2005. 72 p, 23 cm.

WINTER, D. J. MMOD: an R library for the calculation of population differentiation statistics. **Molecular Ecology Resources**, Oxford, v. 12, n. 6, p. 1158-1160. 2012.  
DOI: 10.1111/j.1755-0998.2012.03174.x

ZIYA MOTALEBIPOUR E, KAFKAS S, KHODAEIAMINJAN M, ÇOBAN N, GÖZEL H. Genome survey of pistachio (*Pistacia vera* L.) by next generation sequencing: Development of novel SSR markers and genetic diversity in *Pistacia* species. **BMC Genomics**, Londres, v.17, n.1, p. 998. 2016. DOI:10.1186/s12864-016-3359-x

## **CAPÍTULO 2. RELAÇÕES ENTRE VALORES GENÉTICOS, CARACTERÍSTICAS FENOTÍPICAS E ATRIBUTOS DO SOLO DO ENTORNO DE MATRIZES DE *Myracrodruon urundeuva* Allemão EM DIFERENTES PAISAGENS ANTROPIZADAS**

### **1. Introdução**

No Neotrópico, o Cerrado brasileiro é considerado um *hotspot*, área de alta biodiversidade e alta taxa de perda de habitat (MEYRS *et al.*, 2000; ANACHE *et al.*, 2019), sendo a maior e mais diversa savana tropical do mundo (MITTERMEIER *et al.*, 2005) e o segundo maior bioma em extensão territorial original no país (~ 2 milhões de km<sup>2</sup>, 25% de sua área total). Ele contém 11.392 espécies em sua flora (FORZZA *et al.*, 2012) e 4.800 espécies endêmicas considerando plantas e vertebrados (STRASSBURG *et al.*, 2017; CASTUERA-OLIVEIRA, 2020) que estão inseridas, por sua vez, em importantes bacias hidrográficas da América do Sul (Amazônica, Tocantins-Araguaia, Paraná-Prata e São Francisco).

A vegetação do Cerrado é tipicamente composta por fitofisionomias que variam desde vegetação xeromórfica (gramíneas em afloramentos rochosos) até formações florestais (Cerradão, matas de galeria ao longo de cursos d'água e florestas estacionais em áreas de solos com maior fertilidade) (KLINK E MACHADO, 2005; RATTER *et al.*, 2006), sendo suas florestas amplamente chamadas de florestas secas, segundo classificação filogenética recente que prevê 12 grupos florísticos distribuídos ao longo de todo o Neotrópico e possui de 20 a 70% de espécies endêmicas em cada grupo (BANDA-R *et al.*, 2016; SLIK *et al.*, 2018).

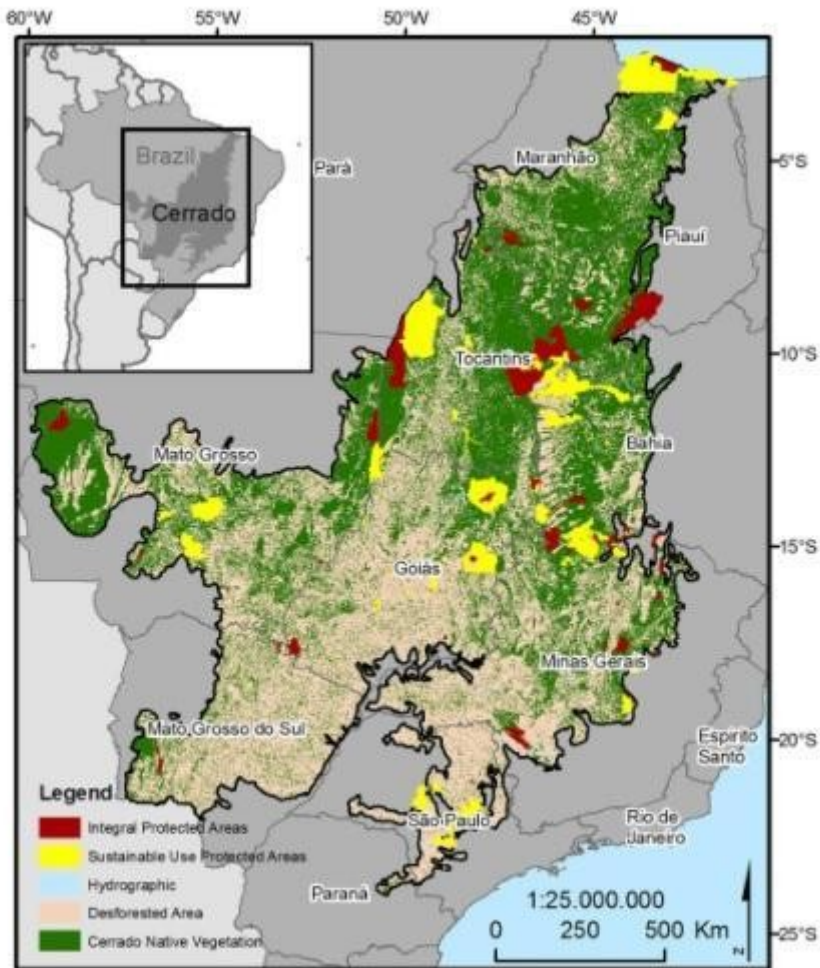
Historicamente, o Cerrado consolidou suas espécies no formato de vegetação no continente sul-americano no entre 25-2 milhões de anos atrás, tendo significativa diversificação de suas linhagens há menos de 10 milhões de anos (GOTTSBERGER; SILBERBAUER-GOTTSBERGER, 2006; BATALHA *et al.*, 2011). É provável que todos esses acontecimentos tenham sido bem-sucedidos devido aos *pools* genéticos muito antes já estabelecidos (base genética). Por isso, dentre todos os biomas sul-americanos, o Cerrado pode ser considerado um dos mais antigos e com comunidades taxonômica e geneticamente ricas e bem adaptadas às condições ambientais com grandes períodos de seca e passagem de fogo. As espécies destes

ambientes possuem características resultantes de suas estratégias adaptativas que conferem permanência e sucesso reprodutivo.

As fitofisionomias do Cerrado brasileiro podem estar contíguas a outros biomas, tais como Mata Atlântica, Pantanal e Caatinga (FURLEY, 2002; OLIVEIRA-FILHO, 2009; 2017), onde verificam-se zonas de transição, consideradas tão importantes quanto as áreas core por serem reservatórios de grande biodiversidade que abrigam representantes de seus biomas limítrofes. Ações de conservação do bioma e suas áreas de transição representam a tentativa de preservação da variação adaptativa da espécie (ARAÚJO; WILLIAMS, 2001; GASTON, 2001; ARAÚJO, 2002). Contrariamente, o uso indisciplinado da terra pode causar perdas permanentes dos componentes da biodiversidade pela perda de habitats.

Aproximadamente metade da área original do Cerrado foi convertida em áreas de agricultura e pecuária nos últimos 35 anos (SANO *et al.*, 2010; CÂMARA *et al.*, 2015; FRANÇOSO *et al.*, 2015; STRASSBURG *et al.*, 2016 - área nativa atual: ~1 milhão de km<sup>2</sup>) e estratégias para conservação e restauração deste bioma têm sido insuficientes e ineficientes (Figura 1). Os últimos dados consolidados sobre o desmatamento baseados no sistema de monitoramento DETER/INPE, do ano de 2013, permitem inferir que, considerando áreas desmatadas e regeneradas, há déficit de mais de 600 mil ha de cobertura vegetal para o bioma como um todo (PROJECT MAPBIOMAS v. 4.1). Considerando apenas o período 2019-2020, a área desmatada de Cerrado no Brasil foi estimada em 7.340 km<sup>2</sup>, segundo dados coletados entre agosto de 2019 e julho de 2020 no âmbito do projeto PRODES Cerrado do INPE (Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais). Isso equivale a um aumento de 13% entre um ano e outro (INPE, 2020).

Figura 17. Delimitação da área original do Cerrado no Brasil (linha preta), contendo a porção nativa ainda existente (verde), suas unidades de proteção integral (vermelho) e de uso sustentável (amarelo) e de uso sustentável (amarelo) e porção desmatada (bege).



Fonte: França *et al.* (2015)

Após 25 anos de abandono, áreas de Cerrado que tiveram perdas significativas de sua cobertura vegetal nativa em prol de atividades extensivas de agropecuária perderam definitivamente importantes componentes de sua biodiversidade, tais como gramíneas, herbáceas e arbustos, uma vez que eles não se regeneram e nem são restaurados facilmente (CAVA *et al.*, 2018). Isso é particularmente preocupante, uma vez que esses componentes são habitat e fonte alimentar de lagartos, pássaros, cervídeos e canídeos nativos, que são importantes dispersores de sementes de árvores e arbustos (KULHMANN; RIBEIRO, 2016; CAVA *et al.*, 2018). Portanto, é possível inferir que os processos ecológicos e,

consequentemente, os serviços ecossistêmicos que este bioma provê estão altamente passíveis de mudanças cujas consequências, apesar de ainda não totalmente conhecidas, podem demandar ações diferentes das que são atualmente praticadas.

A influência dos componentes ambientais é há muito tempo estudada dentro do campo da genética quantitativa, visto que cada vez mais se tornou necessário o entendimento dos mecanismos de herança poligênica. Os estudos pioneiros de Feldman e Cavallari-Sforza na década de 70 traziam que o fenótipo de um indivíduo de uma prole seria o resultado de uma combinação linear das médias dos fenótipos dos pais e os fenótipos parentais resultados sucessivos das interações com seus respectivos ambientes (FELDMAN; CAVALLI-SFORZA, 1976; CAVALLI-SFORZA; FELDMAN, 1978). Com o passar do tempo, a premissa de que Fenótipo = Genótipo + Ambiente + Genótipo x Ambiente [ $F = G + A + (G \times A) + e$ ] se consolidou na genética (MACKAY, 2014; GRINBERG *et al.*, 2020; OYSERMAN *et al.*, 2021), fazendo-se valer hoje em dia de diversas ferramentas para estimativas de valores genotípicos e ambientais. Atualmente é possível inferir sobre os valores genéticos fazendo-se estimativas dos valores genotípicos (BLUPs) por meio de modelos lineares mistos a partir de fenótipos mensurados em campo e também por meio de Estudos de Associação Genômica Ampla (GWAS) testando-se um número grande de marcadores moleculares e diversas características ao mesmo tempo (MEUWISSEN *et al.*, 2001).

## 1.2 Objetivos

Partindo-se do pressuposto de que as mudanças nas condições ambientais podem influenciar na expressão das características poligênicas ao longo do tempo, verificou-se se o tipo de contexto ambiental derivado de diferentes atividades agrônomicas influencia o crescimento de árvores isoladas de *Myracrodruon urundeuva* (aroeira), uma espécie arbórea ameaçada de extinção devido ao valor econômico de sua madeira.



### 1.3 Hipóteses

Espera-se encontrar altas correlações entre os valores fenotípicos, genotípicos e de elementos químicos do solo, em especial N, P, K e  $Mg^{2+}$ , uma vez que estes são essenciais para o estabelecimento, crescimento e reprodução dos indivíduos. Para isso, foram avaliados o fenótipo contemporâneo, os valores genéticos e a composição química do solo do entorno de indivíduos remanescentes em áreas de ecótono com diferentes manejos do solo para culturas de cana-de-açúcar/soja (POP-ARA) e de gado/eucalipto (POP-SEL).

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1 Análises genéticas

As 25 árvores matrizes de cada população (Aramina, SP: POP-ARA e Selvíria, MS: POP-SEL - total: 51 indivíduos) foram analisadas baseadas em dados genéticos, fenotípicos e do solo de seu entorno. Os valores genéticos foram estimados a partir da análise de suas progênes, utilizando modelos lineares mistos. As características de heranças poligênicas relacionadas ao crescimento foram inferidas por meio da mensuração de: *i*) altura total (ALT), em metros, medida com hipsômetro digital; *ii*) diâmetro do tronco a altura do peito (DAP), em centímetros, onde tomou-se a medida de sua circunferência (CAP) a 1,30 m da base, com fita métrica, e obteve-se os valores de seus diâmetros (DAP) a partir da relação:

$$DAP = \frac{CAP}{\pi}$$

*iii*) diâmetro médio da copa (DMC), em metros, estimado por medidas na projeção da copa: L1 e L2 formando um ângulo de 90° entre as avaliações, com auxílio de trena. Com isso, o DMC foi estimado por meio da expressão:

$$DMC = \frac{L1 + L2}{2}$$

e *iv*) espessura da casca (ECA), em milímetros, com auxílio de um vazador graduado.

### 2.2 Determinação dos atributos químicos do solo

A influência ambiental foi inferida por meio da análise química do solo no qual as matrizes estão inseridas, conduzida no Laboratório de Fertilidade de Solo da Universidade Estadual Paulista (UNESP), *campus* de Ilha Solteira. Em cada área de estudo, próximos a cada matriz, foram atribuídos 25 pontos para a coleta de solo, na

profundidade 0 – 0,20 m. As amostras foram secas ao ar, homogeneizadas e peneiradas com uma malha de 2 mm. Foram analisados os seguintes atributos químicos do solo: cálcio ( $\text{Ca}^{2+}$ ); magnésio ( $\text{Mg}^{2+}$ ); potássio ( $\text{K}^+$ ); fósforo (P); alumínio ( $\text{Al}^{3+}$ ); matéria orgânica do solo (MOS); pH ( $\text{CaCl}_2$ ); capacidade de troca de cátions (CTC); saturação por bases (V%); saturação por alumínio (m%); e enxofre ( $\text{S.SO}_4$ ). As concentrações de  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{K}^+$  e P disponíveis foram medidas utilizando-se o método de resina de troca de íons (Raij, 2001).

### 2.3 Análise estatística

Inicialmente, os dados foram analisados por meio da estatística descritiva (média, desvio padrão, mínimo, máximo, curtose, assimetria e coeficiente de variação) e, em seguida, foi aplicado o teste de Shapiro-Wilk a 5% de probabilidade para verificar se os dados suportam uma distribuição normal. Posteriormente, com o intuito de identificar e quantificar as associações entre o grupo de variáveis genéticas/crescimento com os atributos químicos do solo, aplicou-se a análise de correlação canônica (ACC), a qual utiliza dois grupos distintos de variáveis e os agrupa em duas matrizes. Neste estudo, as variáveis genéticas e de crescimento (grupo 1) determinadas por matriz são: valor genético para a altura ( $\text{VG}_{\text{ALT}}$ ); valor genético para o DAP ( $\text{VG}_{\text{DAP}}$ ); valor genético para DMC ( $\text{VG}_{\text{DMC}}$ ); ALT (m); DAP (cm); DMC (m) e ECA (cm). Enquanto que os atributos químicos do solo (grupo 2) são:  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{K}^+$ , P,  $\text{Al}^{3+}$ , MOS, pH, CTC, V%, m% e  $\text{S.SO}_4$ .

A análise de componentes principais (ACP) foi utilizada para condensar informações relevantes em um conjunto menor de variáveis ortogonais, referidas como autovalores (JOHNSON E WICHERN 2002), sendo considerados nesta análise os autovalores superiores à unidade (KAISER, 1958). Adicionalmente, foi utilizado um método de agrupamento para discriminar as árvores matrizes pertencentes às duas populações estudadas que apresentava maior semelhança, e a matriz de distância Mahalanobis generalizada foi aplicada para agrupá-los. Todas as análises foram realizadas utilizando o *software* R (R Development Core Team, 2020).

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 3.1 Similaridade entre pares de variáveis: correlação de Pearson

Com relação aos caracteres fenotípicos (ALT, DAP, DMC e ECA) em ambas as populações, foram observadas correlações positivas significativas ( $p < 0,05$ ) entre eles, em especial entre os pares ALT x DMC e ALT x DAP (Figuras 18A e 18B). Apesar de significativas e positivas em ambas as populações, as maiores correlações entre caracteres fenotípicos ocorreram para a população de Selvíria, MS (Figura 18B). Além disso, as correlações entre os pares DAP x DMC e DAP x ECA foram acentuadas na população de Selvíria, MS em comparação com a população de Aramina, SP (Figura 18B). Pode-se inferir que DAPs maiores podem ser consequência direta do aumento da copa (DMC) e de um possível aumento na ECA. Pelo fato de ambas as populações estarem em áreas de ecótono (Ara: Cerradão - Floresta Estacional Semidecídua; Sel: Cerradão - Cerrado *sensu stricto*), esperava-se que as áreas com maior probabilidade histórico-geográfica de passagem do fogo (Sel) teriam maiores valores de ALT, DAP e ECA. Isso poderia ser resultado da plasticidade fenotípica dos indivíduos derivadas de estratégias microevolutivas de proteção das gemas apicais (crescimento em altura) e do câmbio vascular (crescimento em espessura) contra o fogo (Hoffmann *et al.*, 2009; Lawes *et al.*, 2011; Oberhuber *et al.*, 2020). No contexto atual, onde o fogo é evitado e controlado devido às culturas existentes no entorno, a deriva genética passaria a conter não somente o componente histórico-evolutivo, mas também o humano (componentes estocásticos), em especial com significativas mudanças no uso do solo que podem alterar a disponibilidade de nutrientes aos indivíduos. A partir disso, o trajeto da história mostrará se os indivíduos destas populações persistirão ao longo do tempo e originarão uma nova geração que terá sucesso em se estabelecer e se reproduzir nas condições ambientais futuras.

Para a população de Selvíria, esperava-se que o par ALT x  $VG_{ALT}$  fosse altamente correlacionado, visto que são variáveis derivadas da mesma característica, porém isto não se confirmou (Figura 18B). Pode-se sugerir, então, que a regulação gênica da expressão do fenótipo altura neste nível de análise não

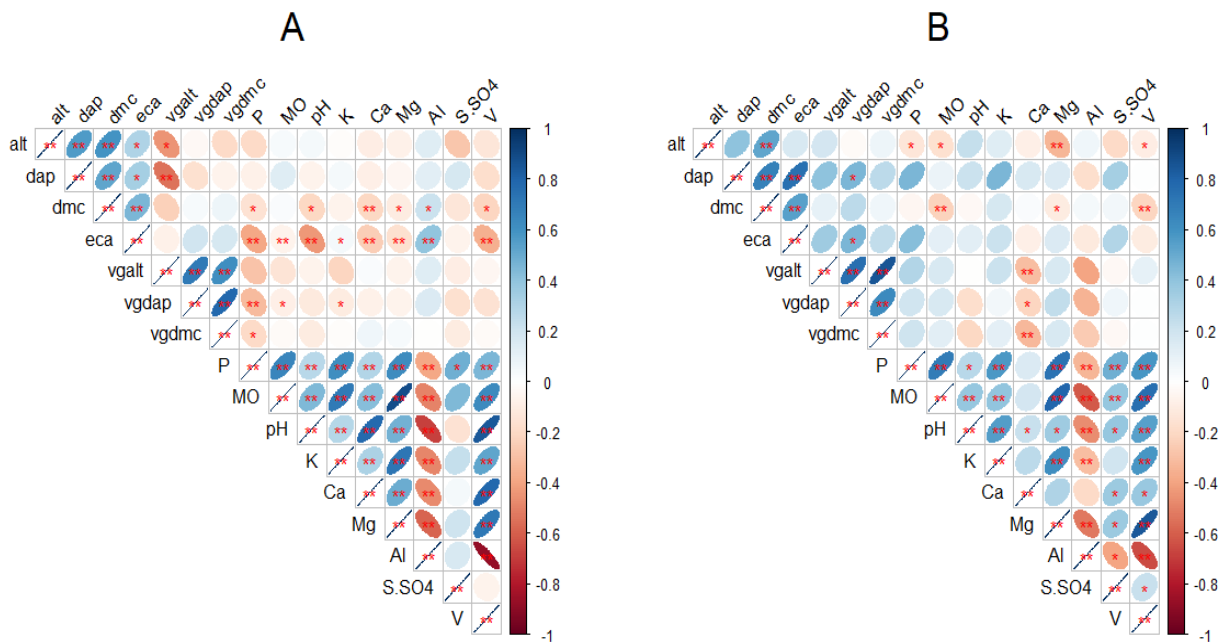
tenha um componente genético predominante, indicando que as condições altas de luminosidade e a presença de elementos biodisponíveis no solo (fatores ambientais) possam favorecer o crescimento em altura. As correlações entre os pares destas variáveis em ambas as populações ou não foram significativas (Selvária) ou foram moderadamente negativas (Aramina). Para a população de Aramina, as variáveis ALT e DAP não mostraram correlação significativa com nenhum dos atributos químicos do solo ( $p > 0,05$ ). Por outro lado, a variável ECA apresentou correlação negativa significativa ( $p < 0,05$ ) com praticamente todas as variáveis químicas do solo, sobretudo o teor de P, V% e pH. Um par relevante foi ECA x Al foi o único par significativo ( $p < 0,05$ ) e positivo entre uma característica fenotípica e um atributo do solo, observado na população de Aramina.

Como esperado, a correlação entre os valores genéticos foi positiva e forte somente entre os pares  $VG_{DAP} \times VG_{DMC}$ ,  $VG_{ALT} \times VG_{DAP}$  e  $VG_{ALT} \times VG_{DMC}$  para ambas as populações. As correlações entre os valores genéticos com os caracteres fenotípicos e com os atributos do solo não foram significativas ou foram negativas (Figuras 18A e 18B). Como os valores genéticos estimados das matrizes são oriundos dos mesmos caracteres mensurados em suas progênes instaladas em um banco de germoplasma em Selvária, MS, pode-se sugerir que as análises com os modelos mistos utilizados podem mascarar a real influência do ambiente na expressão fenotípica dos caracteres e, posteriormente, seus valores genéticos estimados. Apesar destes modelos fornecerem estimativas dos parâmetros relacionados à influência ambiental, não é possível inferir o grau de influência do ambiente para estimativa dos valores das variáveis analisadas.

As representações das correlações dos atributos do solo com as demais variáveis consideradas possibilitam a interpretação sob três óticas: *i*) conjunto dos atributos P,  $K^+$ , MOS,  $Mg^{2+}$ ,  $Ca^{2+}$ , pH; *ii*)  $Al^{3+}$  e *iii*) V%. Para ambas as populações, os macronutrientes P e  $K^+$ , em especial, são correlacionados positiva e fortemente com o  $Mg^{2+}$ , o que evidencia a importância deste último nas reações de fotossíntese, essenciais para a manutenção da vida da planta. Os processos de florescimento e de regulação hídrica no interior celular são primariamente dependentes da disponibilidade de P e  $K^+$  para a planta. Para tal, os produtos derivados da fotossíntese são cruciais para produção de energia e alocação desses nutrientes. Ainda sobre o  $K^+$ , sua correlação com o  $Mg^{2+}$  foi ligeiramente mais forte para a população de Aramina, podendo-se inferir que haja probabilidade maior de

otimização mais acurada dos processos de regulação água-planta, em especial por causa da importância do  $K^+$  na ativação enzimática. O alumínio se correlaciona negativamente com todos os atributos do solo em ambas as populações, o que demonstra ser possível que nutrientes importantes, como o P, por exemplo, se tornem indisponíveis para a planta, precipitando na forma de fosfato de alumínio. Como esperado, o atributo V% se correlaciona positivamente com os nutrientes do solo e negativamente com o  $Al^{3+}$ , mostrando que a saturação por bases no solo favorece a alocação desses nutrientes na planta, contrapondo ao efeito da toxicidade do alumínio.

Figura 18. Correlograma (correlação de Pearson) entre as variáveis relacionadas aos valores genéticos e fenotípicos das matrizes bem como os atributos do solo de seu entorno na POP-ARA (A) e POP-SEL (B). Quanto mais fechada a elipse, maior a correlação entre as variáveis. Elipses com “\*\*” indicam correlações significativas em nível de 5% de probabilidade.

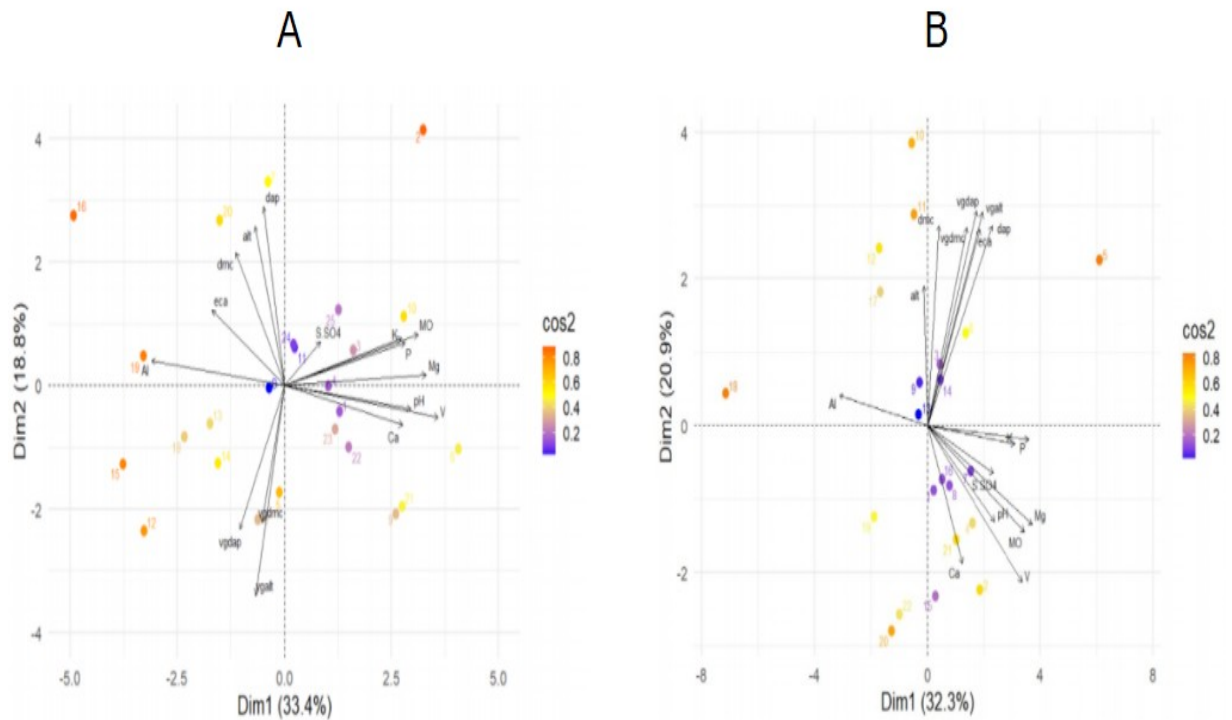


### 3.2 Estrutura interna dos dados e variância: análises de componentes principais (PCA)

A estrutura da variância das combinações não lineares das variáveis consideradas, por população, pode ser explicada em 2 componentes principais (Dim 1 e Dim 2), totalizando 52,2% em Aramina e 52,4% em Selvíria (Figuras 19A e 19B). Isso significa que todos os dados coletados para inferência do crescimento das árvores, qualidade do solo do entorno e dos genótipos considerados neste estudo explicam, aproximadamente, 50% de toda a variação possível existente, observando-se o universo amostral considerado. Mais especificamente, na população de Aramina, Dim 1 explicou 33,4% e Dim 2, 18,8% (Figura 19A); na população de Selvíria foram 31,2% e 21,2% (Figura 19B), respectivamente.

As variáveis fenotípicas de crescimento das árvores matrizes foram pouco correlacionadas com macronutrientes de seus solos do entorno, em especial na população de Aramina (Figura 19A). Com relação aos valores genéticos estimados, a tendência de não correlação com as demais variáveis é observada na população de Aramina, ao passo que, para a população de Selvíria, nota-se a tendência das variáveis serem fraca a moderadamente correlacionadas com os valores genéticos das árvores matrizes (Figura 19B). Sob a ótica das matrizes e observando-se a componente 1, que representa a dimensão que mais explica a variabilidade dos dados, para a população de Aramina as árvores 16, 19, 15 e 12 apresentaram maiores valores de alumínio em seu solo de entorno e baixos valores de pH, V% e  $\text{Ca}^{2+}$ . Ao se observar a componente 2, segunda maior explicação, tem-se que as árvores 2, 20 e 7 têm maiores valores para as variáveis fenotípicas e as árvores 7 e 5 com os menores valores para essas variáveis. Desse modo, pode-se inferir que a PC1 para a população de Aramina é controlada pelas variáveis químicas do solo (P, MO,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Al}^{3+}$ , pH, V%) e ECA, enquanto a dimensão 2 corresponde às características de genótipo e fenótipo das árvores matrizes. De modo semelhante, a maior variabilidade dos dados para a população de Selvíria (PC1) pode ser descrita pelos atributos químicos do solo (P, MO,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Al}^{3+}$ , S.SO<sub>4</sub>, pH, V%), ECA e DAP e a PC2 pode ser entendida como o teor de  $\text{Ca}^{2+}$ , ALT, DAP, DMC,  $\text{VG}_{\text{ALT}}$ ,  $\text{VG}_{\text{DAP}}$  e  $\text{VG}_{\text{DMC}}$ .

Figura 19. Gráfico *biplot* com caracteres de crescimento, valores genéticos e atributos químicos do solo na POP-ARA (A) e POP-SEL (B). P: fósforo disponível; MO: matéria orgânica; K<sup>+</sup>: potássio; Mg<sup>2+</sup>: magnésio; Ca<sup>2+</sup>: cálcio; Al<sup>3+</sup>: alumínio; S.SO<sub>4</sub>: sulfato; V%: saturação por bases; ALT: altura; DAP: diâmetro do tronco à altura do peito.



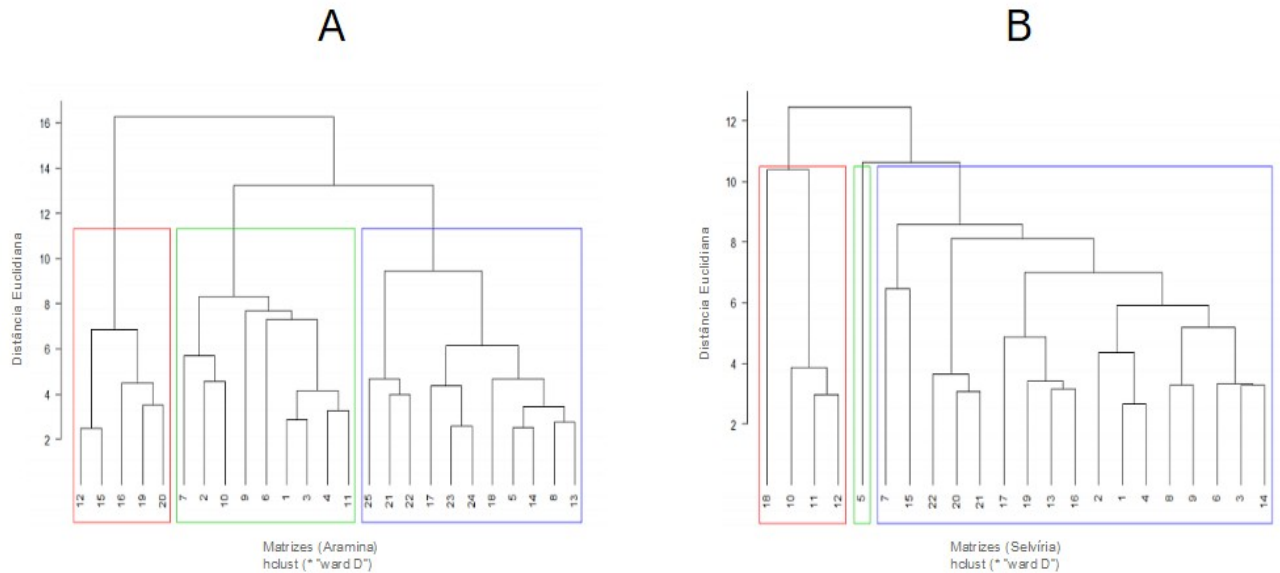
Fonte: Próprio autor.

### 3.3. Caracteres silviculturais e atributos do solo no entorno das árvores matrizes nas duas populações isoladas de *Myracrodruon urundeuva*

Após a organização de todos os dados coletados, o conjunto considerado para prosseguir com as análises, por população, foi aquele que continha elementos com sentido biológico. Assim, todos os valores 0 (zero), por exemplo, não entraram na análise, perfazendo 47 árvores (Ara= 25; Sel= 22). De um modo geral, ambas as populações podem ser analisadas sob a ótica da formação de 3 grupos cada, onde observa-se uma tendência de aproximadamente 25% das árvores corresponderem a um grupo (1), e, o restante, a outro grupo (2).



Figura 20. Dendrograma de análise hierárquica de agrupamento mostrando a formação de três grupos tanto para as matrizes da POP-ARA (A) quanto para as da POP-SEL (B), segundo os atributos químicos do solo, fenótipo e genótipo individuais. Ara: N=25; Sel: N=22



Fonte: Próprio autor.

Pode-se, portanto, estabelecer a anotação os agrupamentos gerados para a POP-ARA como segue:

$A' \subset A \supset A''$  (interpretação:  $A'$  está contido em  $A$  que, por sua vez, contém  $A''$ )

onde:

$A: \{1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25\}$ ; conjunto global, com todas as árvores matrizes da POP-ARA

$A': \{12, 15, 19, 20, 16\}$ ; subconjunto 1 da POP-ARA

$A'$ : {6, 21, 22, 25, 7, 2, 10, 9, 11, 4, 3, 1, 17, 23, 24, 8, 5, 18, 14, 13};  
subconjunto 2 da POP-ARA

Da mesma forma, para a POP-SEL, a anotação pode ser dada da seguinte forma:

$S' \subset S \supset S''$  (interpretação:  $S'$  está contido em  $S$  que, por sua vez, contém  $S''$ )

onde:

$S$ : {1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 18, 19, 20, 21, 22};  
conjunto global com todas as árvores matrizes da POP-SEL

$S'$ : {18, 3, 10, 11, 12, 17}; subconjunto 1 da POP-SEL

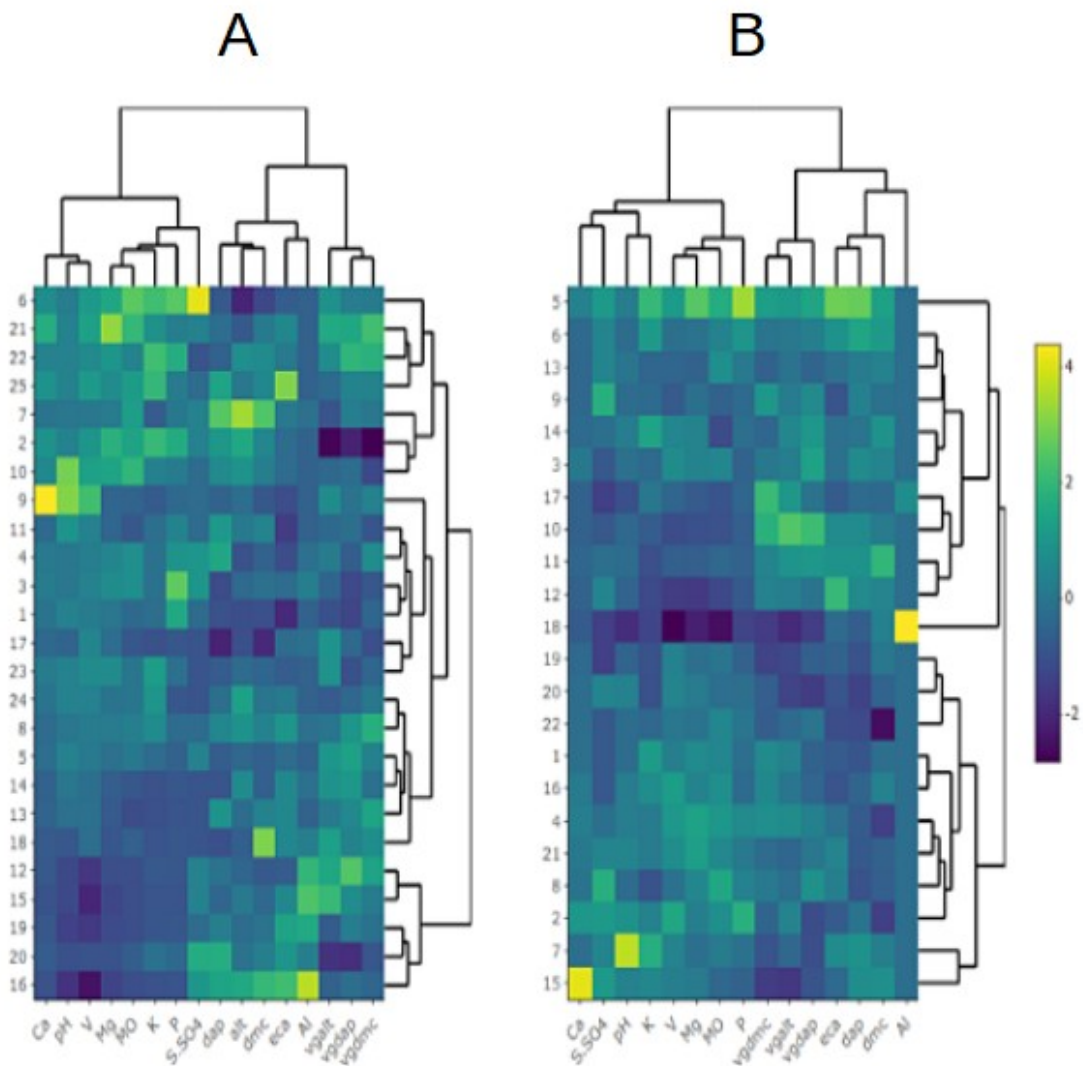
$S''$ : {5, 1, 2, 4, 6, 7, 8, 9, 13, 14, 15, 16, 19, 20, 21, 22}; subconjunto 2 da POP-SEL

A organização dentro de cada subconjunto, no entanto, difere entre as populações. Ao analisar o agrupamento que contém 25% das árvores (subconjunto 1') de cada população, ressalta-se que, para a POP-ARA,  $A'$  é formado pelo agrupamento uniforme de 5 árvores (Figura 20A). Elas estão inseridas em uma propriedade rural particular, onde resquícios de um fragmento florestal é encontrado em seu interior, formando um pequeno bosque com predomínio de indivíduos isolados pertencentes a espécies típicas de Cerradão das famílias botânicas Rutaceae: *Zanthoxylum* sp. L. (mamica-de-porca); Fabaceae: *Diptychandra* sp. Tul (balsaminho) e *Hymenaea stignocarpa* Mart. ex Hayne (jatobá-do-cerrado) e Caryocaraceae: *Caryocar brasiliense* L. (pequi). Para a POP-SEL,  $S'$  possui uma árvore que se desmembra do subconjunto em questão (Figura 20B). Assim, as demais 5 árvores de  $S'$  parecem possuir variações semelhantes nas características

consideradas. Estas, por sua vez, são maiores na árvore 5, mantendo-a separada dos demais elementos do subconjunto S'.

A tendência observada nos resultados da PCA (Figuras 19A e 19B) foi confirmada pela construção do gráfico do mapa de calor utilizando a análise de cluster multivariado e a distância Euclidiana como método da distância métrica entre os grupos (Figura 21). Apesar da aparente semelhança entre POP-ARA e POP-SEL, observa-se que as principais propriedades relacionadas à diferenciação entre os grupos são relacionadas às condições de acidez no solo em função do  $Al^{3+}$ , pH e V %. Essas variáveis estão intimamente ligadas a disponibilidade de nutrientes ao solo e conseqüentemente às plantas. Pelo fato de as áreas de Selvíria, MS serem localizadas em áreas de transição de formações de Cerrado e o histórico de uso da terra ter passado de pecuária para a eucaliptocultura, seus atributos do solo se assemelham mais ao que se observa em áreas *core* de Cerrado (Figura 21B). Em contrapartida, as áreas de Aramina, SP (Figura 21A) têm a tendência a apresentar solos com características corrigidas, alterando os atributos de solo relacionados à toxicidade devido às culturas agrônômicas que se desenvolveram ao longo dos anos (soja, cana-de açúcar e batata) e às características naturais do solo em que formações vegetais de transição entre Cerradão e Floresta Estacional Semidecidual predominam no ambiente. Pode-se observar que as árvores matrizes da POP-ARA têm maior variabilidade em função das diferenças entre as propriedades químicas do solo em conjunto aos caracteres de composição e genótipo das mesmas.

Figura 21. Gráficos *heatmap* dos atributos do solo, valores genéticos e fenotípicos de crescimento em matrizes de duas populações de *Myracrodruon urundeuva*: A: POP-ARA e B: POP-SEL. Os dendrogramas à direita de cada *heatmap* representam os agrupamentos das diferentes matrizes (1 a 25). As variações são baseadas nas seguintes variáveis: atributos do solo no entorno de cada matriz: 1) MO: matéria orgânica, 2) P (fósforo), 3) K (potássio), 4) Ca (cálcio), 5) S.SO4 (enxofre), 6) Mg (magnésio), 7) pH (potencial hidrogeniônico), 8) V (porcentagem de saturação por bases), 9) Al (alumínio); valores genéticos com base em caracteres de crescimento: 10) vgalt (altura), 11) vgdap (diâmetro do tronco à altura do peito), 12) vgdmc (diâmetro médio da copa); valores fenotípicos de crescimento: 13) alt (altura, em metros), 14) dap (diâmetro do tronco à altura do peito, em centímetros), 15) dmc (diâmetro médio da copa, em metros) e 16) eca (espessura da casca, em milímetros).



Fonte: Próprio autor.

#### 4 CONCLUSÕES

- De todas as variáveis mensuradas correspondentes ao fenótipo, genótipo e composição química do solo no entorno das árvores matrizes avaliadas em ambas as populações, os atributos do solo apresentam maior variabilidade.
- Os caracteres de crescimento (altura, diâmetro do tronco à altura do peito e diâmetro da copa) das matrizes se correlacionam parcialmente com os valores genéticos de suas progênies de geração 1.
- Considerando ambas as populações, os valores genéticos das progênies geração 1 não se relacionam com os caracteres fenotípicos, que por sua vez, tampouco se relacionam com os atributos do solo (correlações não significativas ou negativas), em especial N, P, K e  $Mg^{2+}$ .
- É possível separar as matrizes em dois grupos, sendo um com 25% das árvores e outro, com 75% delas, podendo-se inferir que as condições atuais de ambiente, genótipo e fenótipo atuam de forma desuniforme na espécie, mas com tendências similares nas populações.

## REFERÊNCIAS

ARAÚJO, M. B.; WILLIAMS, P. The Bias of Complementarity Hotspots toward Marginal Populations. **Conservation Biology**. Boston, v. 15, n. 6, p. 1710-1720, 2001.

Araújo, M. B. Biodiversity hotspots and zones of ecological transition. **Conservation Biology**, Boston, v.16, pp. 1662-1663. 2002.

Anache, J. A. A.; Flanagan, D. C.; Srivastava, A., Wendland; E. C. Land use and climate change impacts on runoff and soil erosion at the hillslope scale in the Brazilian Cerrado. **Science of The Total Environment**. Amsterdam, v. 622–623, p., 140-151, 2018, ISSN 0048-9697, DOI: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.11.257>.

Anache, J. A. A.; Wendland, E.; Rosalem, L. M. P.; Youlton, C.; Oliveira, P. T. S. Hydrological trade-offs due to different land covers and land uses in the Brazilian Cerrado. **Hydrology and Earth System Sciences** Monique, v. 23, p. 1263–1279. 2019. DOI: <https://doi.org/10.5194/hess-23-1263-2019>.

BANDA-R, K.; DELGADO-SALINAS, A.; DEXTER, K.G.; LINARES-PALOMINO, R.; OLIVEIRA-FILHO, A.; PRADO, D.; PULLAN, M.; QUINTANA, C.; RIINA, R.; RODRÍGUEZ, G. M.; WEINTRITT, J.; ACEVEDO-RODRÍGUEZ, P.; ADARVE, J.; ÁLVAREZ, E.; ARANGUREN, A.; ARTEAGA, J. C.; AYMARD, G.; CASTAÑO, A.; CEBALLOS-MAGO, N.; COGOLLO, A.; CUADROS, H.; DELGADO, F.; DEVIA, W.; DUEÑAS, H.; FAJARDO, L.; FERNÁNDEZ, A.; FERNÁNDEZ, M. A.; FRANKLIN, J.; FREID, E. H.; GALETTI, L. A.; GONTO, R.; GONZÁLEZ, R.; GRAVESON, R.; HELMER, E. H.; IDÁRRAGA, A.; LÓPEZ, R.; MARCANO-VEGA, H.; MARTÍNEZ, O. G.; MATURO, H. M.; MCDONALD, M.; MCLAREN, K.; MELO, O.; MIJARES, F.; MOGNI, V.; MOLINA, D.; MORENO, N. P.; NASSAR, J. M.; NEVES, D. M.; OAKLEY, L. J.; OATHAM, M.; OLVERA-LUNA, A. R.; PEZZINI, F. F.; DOMINGUEZ, O. J. R.; RÍOS, M. E.; RIVIERA, O.; RODRÍGUEZ, N.; ROJAS, A.; SÄRKINEN; SÁNCHEZ, R.; SMITH, M.; VARGAS, C.; VILLANEUVA, B.; PENNINGTON, R. T. Plant diversity patterns in neotropical dry forests and their conservation implications. **Science**, Washington, v. 353, p. 1383–1387. 2016. DOI: 10.1126/science.aaf5080

CÂMARA, G.; SOTERRONI, A. RAMOS, F.; CARVALHO, A.; ANDRADE, P.; SOUZA, R. C.; MOSNIER, A.; MANT, R.; BUURMAN, M.; PENA, M. HAVLIK, P.; PIRKER, J.; KRAXNER, F.; OBERSTEINER, M.; KAPOS, V.; AFFONSO, A.; ESPÍNDOLA, G.; BOCQUEHO, G. **Modelling Land Use Change in Brazil: 2000–2050** (INPE, IPEA, IIASA, UNEP-WCMC, 2015). Disponível em: <https://www.unep-wcmc.org/resources-and-data/modelling-land-use-changes-in-brazil-2000-2050> (Último acesso em 4 de agosto de 2021).

CASTUERA-OLIVEIRA, L.; OLIVEIRA-FILHO, A.T.; EISENLOHR, P.V. Emerging hotspots of tree richness in Brazil. **Acta Botanica Brasilica**, Porto Alegre, v. 34, n. 1, p. 117-134, 2020.

CAVA, M. B.; PILON, N. A. L.; RIBEIRO, M. C.; DURIGAN, G. Abandoned pastures cannot spontaneously recover the attributes of old-growth savannas. **The Journal of**

**Applied Ecology.** Oxford, v. 55, p. 1164-1172, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1111/1365-2664.13046>

FELDMAN, M. W.; CAVALLI-SFORZA, L.L. Cultural and biological evolutionary processes, selection for a trait under complex transmission. **Theoretical Population Biology**, Nova York, v. 9, n. 2, p. 238-259, 1976. ISSN 0040-5809, [https://doi.org/10.1016/0040-5809\(76\)90047-2](https://doi.org/10.1016/0040-5809(76)90047-2).

Cavalli-Sforza, L.L.; Feldman, M. W. The Evolution of Continuous Variation. III. Joint Transmission of Genotype, Phenotype and Environment. **Genetics**. Austin, Texas. v. 90(2), pp. 391-425.1978.

Forzza, R.C.; Baumgratz, J.F.A.; Bicudo, C.E.M.; Canhos, D.A.L.; Carvalho Jr., A.A.; Coelho, M.A.N.; Costa, A.F.; Costa, D.P.; Hopkins, M.G.; Leitman, P.M.; Lohmann, L.G.; Lughadha, E.N.; Maia, L.C.; Martinelli, G.; Menezes, M.; Morim, M.P.; Peixoto, A.L.; Pirani, J.R.; Prado, J.; Queiroz, L.P.; Souza, S.; Souza, V.C.; Stehmann, J.R.; Sylvestre, L.S.; Walter, B.M.T.; Zappi, D.C. New Brazilian floristic list highlights conservation challenges. **BioScience**, Washington, EUA, v. 62, n.1, p.p 39-45. 2012.

FRANÇOSO, R. D.; BRANDÃO, R.; NOGUEIRA, C. C.; SALMONA, Y. B.; MACHADO, R. B.; COLLI, G. R. Habitat loss and the effectiveness of protected areas in the Cerrado Biodiversity Hotspot. **Natureza & Conservação**, Curitiba, v. 13, n. 1, p. 35-40, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ncon.2015.04.001>

FULEY, P. A. The nature and diversity of neotropical savanna vegetation with particular reference to the Brazilian cerrados. **Global Ecology and Biogeography**. Oxford, v. 8, n. 3-4, p. 223-241, 2002.

GASTON, K.; RODRIGUES, A. S. L.; RENSBURG, B. J.; KOLEFF, P.; CHOWN, S. L. Complementary representation and zones of ecological transition. **Ecology Letters**, Oxford, Inglaterra, v. 4, p. 4-9, 2001.

GOTTSBERGER, G.; SILBERBAUER-GOTTSBERGER, I. Life in the Cerrado: a South American Tropical Seasonal Vegetation, Vol. II. **Pollination and seed dispersal**. Reta Verlag, Ulm. 2006.

GRINBERG, N. F.; ORHOBOR; O. I.; KING, R. D. An evaluation of machine-learning for predicting phenotype: studies in yeast, rice, and wheat. **Machine Learning**. Boston, Massachusetts. v.109, p. 251–277, 2020.

KLINK, C. A.; MACHADO, R. B. Conservation of the brazilian cerrado. **Conservation Biology**, Boston, v. 19, p. 707-713, 2005. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1523-1739.2005.00702.x>

KUHLMANN, M.; RIBEIRO, J. F. Evolution of seed dispersal in the Cerrado biome: ecological and phylogenetic considerations. **Acta Botanica Brasilica**, Porto Alegre, v. 30, n. 2, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1590/0102-33062015abb0331>

MACKAY, T. F. C. Epistasis and quantitative traits: using model organisms to study gene–gene interactions. **Nature Reviews Genetics**, Londres, v. 15, p. 22–33, 2014.

MEUWISSEN T. H.; HAYES B. J.; GODDARD, M. E. Prediction of total genetic value using genome-wide dense marker maps. **Genetics**, Londres, Inglaterra, v. 157, p. 1819–1829, 2001.

MITTERMEIER, R. A.; FONSECA, G. A. B.; RYLANDS, A.; BRANDON, K. A brief history of biodiversity conservation in Brazil. **Conservation Biology**, Boston, v.19, n. 3, p. 601-607, 2005.

MYERS, N., MITTERMEIER, R., MITTERMEIER, C. *et al.* Biodiversity hotspots for conservation priorities. **Nature**, Londres, v. 403, p. 853–858, 2000. DOI: <https://doi.org/10.1038/35002501>

OLIVEIRA-FILHO, A. T. Classificação das fitofisionomias da América do Sul cisandina tropical e subtropical: proposta de um novo sistema - prático e flexível - ou uma injeção a mais de caos? **Rodriguésia**. Rio de Janeiro, v. 60, p. 237-258, 2009.

OLIVEIRA-FILHO, A. T. NeoTropTree: tree flora of the Neotropical region: a database involving biogeography, diversity and conservation. Belo Horizonte, Universidade Federal de Minas Gerais. 2017. DOI: <http://www.neotropree.info>

OYSERMAN, B. O.; CORDOVEZ, V., FLORES, S. S.; LEITE, M. F. A.; NIJVEEN, H.; MEDEMA, M. H.; RAAIJMAKERS, J. M. Extracting the GEMs: Genotype, Environment, and Microbiome Interactions Shaping Host Phenotypes. **Frontiers in Microbiology**, v. 11, p. 574053. 2018. DOI: 10.3389/fmicb.2020.574053

PEZZINI, F. F.; DOMINGUEZ, O. J. R.; RÍOS, M. E.; RIVERA, O.; RODRÍGUEZ, N.; ROJAS; A.; SÄRKINEN, T.; SÁNCHEZ, R.; SMITH, M.; VARGAS, C.; VILLANUEVA, B.; PENNINGTON, R. T. Plant diversity patterns in neotropical dry forests and their conservation implications. **Science**, Washington, v. 353, p. 1383-1387. 2016. DOI: 10.1126/science.aaf5080.

PROJECT MAPBIOMAS: Collection v. 4.1 of Brazilian Land Cover & Use Map Series, accessed on July 14th, 2020 through the link: <https://s3.amazonaws.com/alerta.mapbiomas.org/relatrios/MBI-deforestation-report-2019-en-final5.pdf>

RATTER, J. A.; BRIDGEWATER, S.; RIBEIRO, F. Biodiversity patterns of the woody vegetation of the Brazilian Cerrado. *In*: PENNINGTON; R.T.; LEWIS, G.P.; RATTER, J.A. (ed.) **Neotropical savannas and seasonally dry forests**: plant diversity, biogeography and conservation. Londres, p.31-66, 2006.

SANO, E. E.; ROSA, R.; BRITO, J. L. S.; FERREIRA, L. G. Land cover mapping of the tropical savanna region in Brazil. **Environmental Monitoring Assessment**, Dordrecht, v.166, p. 113-124, 2010.

SLIK, J.W.F., FRANKLIN, J.; ARROYO-RODRÍGUEZ, V.; FIELD, R.; AGUILAR, S.; AGUIRRE, N.; AHUMADA, J.; AIBA, S.I.; ALVES, L.F. *et al.* Phylogenetic classification of the world's tropical forests. **PNAS**, Washignton, v.115, p. 1837-1842, 2018.



STRASSBURG, B. B., LATAWIEC, A., BALMFORD, A. Brazil: urgent action on Cerrado extinctions. **Nature**. Londres, Inglaterra. v. 540, n.7632, p. 199, 2016. DOI:10.1038/540199a

STRASSBURG, B.; BROOKS, T.; FELTRAN-BARBIERI, R.; IRIBARREM, A.; CROUZEILLES, R.; LOYOLA, R.; LATAWIEC, A. E.; OLIVEIRA FILHO, F. J. B.; SCARAMUZZA, C. A. M.; SCARANO, F. R.; SOARES-FILHO, B.; BALMFORD, A. Moment of truth for the Cerrado hotspot. **Nature Ecology and Evolution**, Londres, 2017.

### **CAPÍTULO 3. MEDIDA COMPOSTA: UMA FERRAMENTA BIOMÉTRICA ALTERNATIVA PARA INFERÊNCIAS SOBRE ADAPTAÇÃO DE ESPÉCIES ARBÓREAS**

#### **1 INTRODUÇÃO**

O melhoramento genético florestal é considerado uma ciência nova no Brasil, tendo seu desenvolvimento se intensificado no país a partir de 1967 com o Decreto-Lei nº 289 de incentivos fiscais ao reflorestamento e a criação do Instituto Brasileiro de Desenvolvimento Florestal (RESENDE, 1999; GOLLE *et al.*, 2009). Desde então, diversos especialistas de vários países estiveram no Brasil para orientar as empresas e órgãos públicos sobre as espécies mais promissoras para o comércio. O eucalipto já era utilizado pela iniciativa privada naquela época, da mesma forma que vinha sendo melhorado em testes implantados por Navarro de Andrade em Rio Claro, SP, o que favoreceu grandes avanços nos setores de melhoramento genético e silvicultura do gênero a partir dos anos 70. Por um outro lado, a falta de demanda por madeira de espécies nativas devido à escassez de informações sobre a silvicultura destas espécies e aos grandes incentivos fiscais para reflorestamento, utilizando o eucalipto retardaram o início e o progresso de programas de melhoramento das espécies nativas, ficando estes restritos a áreas experimentais de órgãos de ensino e pesquisa.

Segundo Clement (2001), as etapas do melhoramento genético de espécies nativas são similares ao melhoramento de espécies exóticas, tendo-se maior zelo com a etapa inicial, a de coleta de sementes, pois *i*) matrizes que não possuam características minimamente aceitáveis para determinados caracteres que se deseja melhorar geralmente não são boas fontes de sementes por assumir-se que haja alguma probabilidade de estes fenótipos serem expressos em suas progênes e *ii*) pela provável inexistência de bancos de germoplasma para o acesso ao material genético da espécie desejada. De fato, as coleções de espécies arbóreas nativas existentes são escassas, considerando-se a grandeza territorial e a biodiversidade brasileira. Estas coleções são essenciais para manutenção da variabilidade genética das populações naturais, uma vez que o processo de erosão genética vem ocorrendo de maneira rápida devido à intervenção humana em áreas naturais e às

mudanças climáticas. Uma vez implantada, uma coleção de germoplasma pode ser caracterizada escolhendo-se características a serem conservadas ou melhoradas e nas quais possam ser feitas inferências sobre a variabilidade genética entre e dentro das populações.

A maioria dos caracteres não é controlada pela ação de um único gene e esta pode ser influenciada pelas condições ambientais de seu contexto (HILL, 2010). Dessa forma, a genética quantitativa se desenvolveu e se consolidou como ciência baseada em modelos estatísticos que particionam a variação e que permitem quantificar a semelhança entre parentes (HILL, 2010, 2012). Diversos métodos existem atualmente para se estudar os caracteres quantitativos em nível molecular, que permitem detecção de polimorfismos, tais como os marcadores do tipo microssatélite e os SNPs (*Single Nucleotide Polimorphism*). No entanto, essas técnicas ainda são bastante onerosas, retardando o andamento das pesquisas. Assim, a caracterização da variabilidade genética por meio de parâmetros genéticos obtidos de caracteres morfológicos ainda se faz necessária e conveniente.

Como diversos caracteres de crescimento são desejáveis para a avaliação de uma coleção ativa e para a seleção das melhores progênies e/ou famílias para um possível programa de melhoramento da espécie, o índice de seleção Z torna-se uma opção viável, devido à facilidade de sua análise e interpretação. Este índice é elaborado a partir do somatório dos valores padronizados das variáveis avaliadas, de modo que todas elas se tornam diretamente comparáveis por terem sido determinadas pelo mesmo estimador.

A padronização é um recurso estatístico utilizado para determinar a média de um conjunto de variáveis de diferentes naturezas. Para tanto, subtrai-se o valor de uma variável de sua média e divide-se a diferença pelo desvio padrão da variável. O estimador para o cálculo do valor padronizado é representado genericamente pela expressão algébrica (1):

$$Z = \frac{x - \mu}{\sigma} \quad (1)$$

em que:

Z é o valor da variável padronizada;

x é o valor da variável com média  $\mu$  e desvio padrão  $\sigma$ .

Dessa forma, a avaliação de diferentes caracteres desejáveis pode ser uniformizada por meio da criação do índice Z, índice de seleção que considera todas as variáveis padronizadas conjuntamente e pode ser utilizado como um novo caráter da população da espécie de interesse (MENDES, 2009; REIS, 2011). A elaboração deste índice não depende de cálculos de covariâncias genética e fenotípica, sendo possível representar graficamente os fenótipos favoráveis e desfavoráveis em cada progênie (REIS *et al.*, 2015; RESENDE *et al.*, 2016).

Apesar de suas vantagens e facilidades, o índice Z ainda é pouco utilizado no Brasil. Exemplos na área agrônômica estão relatados em estudos com *Phaseolus vulgaris* L., que buscou validar seu uso para estimar o progresso genético após ciclos de seleção recorrente (MENDES *et al.*, 2009) e com *Sorghum bicolor* (L.) Moench que comparou o ganho genético em progênies por meio de diversos índices de seleção simultânea, incluindo o índice Z (FRANÇA *et al.*, 2016). Na área florestal, as poucas experiências com seu uso estão concentradas para o gênero *Eucalyptus* (REIS *et al.*, 2011; REIS *et al.*, 2015), não existindo ainda informações sobre o uso do índice de seleção Z para espécies arbóreas nativas.

Dentro deste contexto, o Banco Ativo de Germoplasma de *M. urundeuva* (BAG-A), localizado em Selvíria/MS, é a única coleção da espécie com 19 testes de progênies oriundas de diferentes biomas brasileiros instalados em diferentes sistemas de plantio, sendo que o mais antigo tem 34 anos. Estudos da variabilidade genética têm sido desenvolvidos desde então com base na metodologia de modelos lineares mistos em que se estimam os componentes de variância pelo procedimento de Máxima Verossimilhança Restrita (REML – *Restricted Maximum Likelihood*) para a obtenção dos preditores dos valores genéticos (BLUP – *Best Linear Unbiased Prediction*) dos indivíduos. A determinação da proporção da variação genética que responda às condições ambientais ou que pode ser explorada para o melhoramento genético é de extrema importância, dado que estimativas de parâmetros genéticos, tais como os coeficientes de variação genética e herdabilidade, permitem que se conheça o potencial evolutivo-adaptativo e o uso de estratégias de seleção para o melhoramento genético da população. Determinar a proporção da variabilidade genética que responda às condições ambientais ou que pode ser explorada para o melhoramento genético é de extrema importância, dado que estimativas de parâmetros genéticos, tais como os coeficientes de variação genética e

herdabilidade, permitem que se conheça o potencial evolutivo-adaptativo e se determine as estratégias de seleção para o melhoramento genético da população.

## 1.2 Objetivos

Este estudo teve o objetivo de verificar se a utilização da abordagem MC (medida composta), padronização de variáveis/caracteres desejados, é viável para a análise da variabilidade genética. Para tanto, buscou-se comparar os parâmetros e valores genéticos obtidos a partir dos caracteres relacionados ao crescimento não padronizados com a medida composta padronizada (MCP) de duas populações de *M. urundeuva*, de modo a identificar possíveis padrões de crescimento e inferir sobre possíveis estratégias adaptativas utilizadas nas diferentes populações.

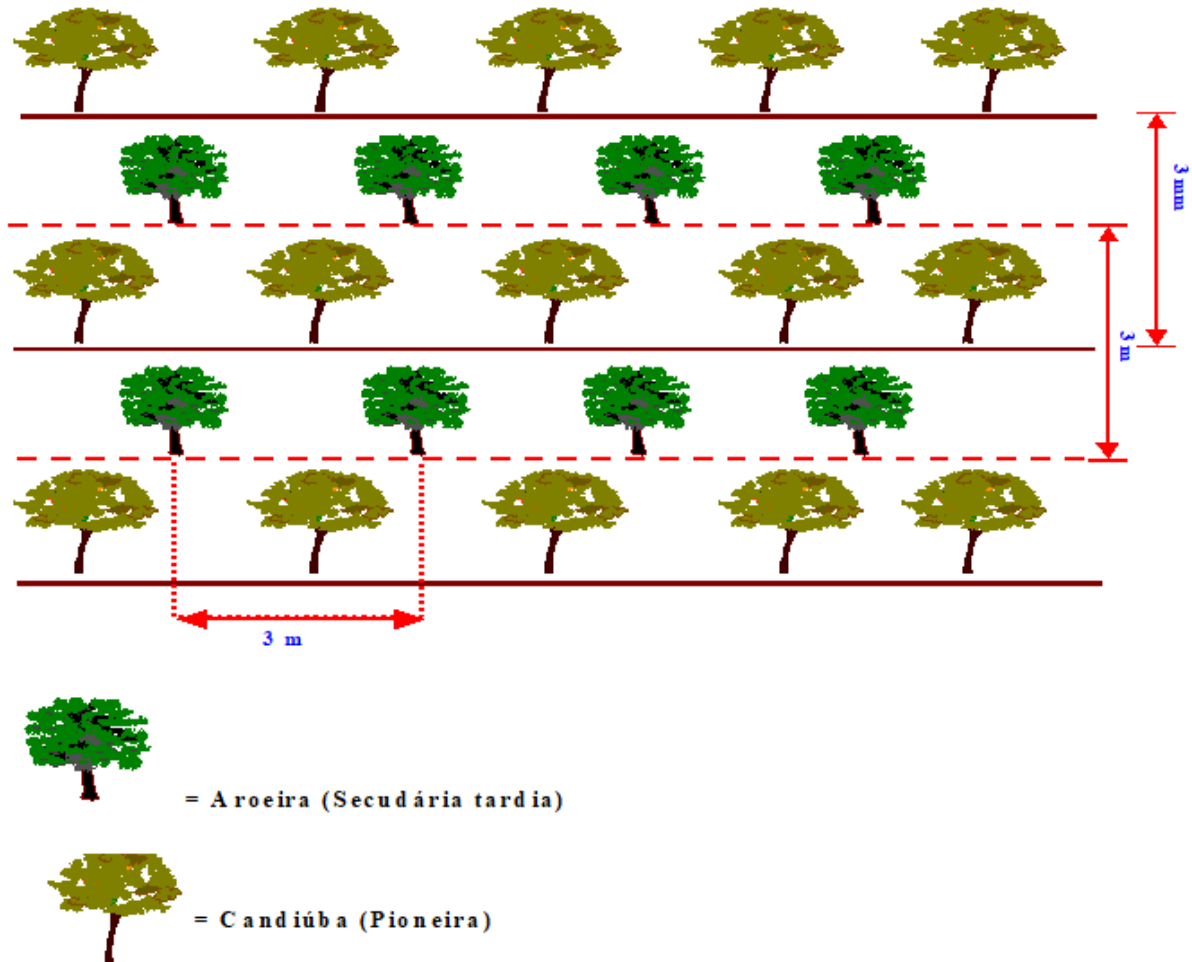
## 2 MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1 Histórico da coleta de sementes e descrição da área de estudo

Em setembro de 1991 foram coletadas sementes em duas populações de *Myracrodruon urundeuva*: Aramina, SP (POP-ARA) e Selvíria, MS (POP-SEL). Em cada população a coleta de sementes foi realizada em 25 árvores matrizes de polinização livre. O estudo foi desenvolvido no município de Selvíria, MS, na Fazenda de Ensino, Pesquisa e Extensão (FEPE), área pertencente à Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – *campus* de Ilha Solteira, cujas coordenadas geográficas aproximadas são 20° 22' de latitude sul e 51° 22' de longitude oeste (ALVES E SOUZA, 2008) (Figura 1). O clima da região, segundo a classificação de Köppen, é do tipo Aw (Clima Tropical Úmido), caracterizado por inverno seco e verão chuvoso, precipitação média anual de aproximadamente 1.300 mm, temperatura média anual de 24 °C e umidade relativa média anual de 65% (HERNANDEZ *et al.*, 1995; SANTOS; HERNANDEZ, 2012). O solo é classificado como Latossolo Vermelho Distrófico de textura franco-argilo arenosa (DEMATTE, 1980; ALVES; SOUZA, 2008; SANTOS *et al.*, 2018).

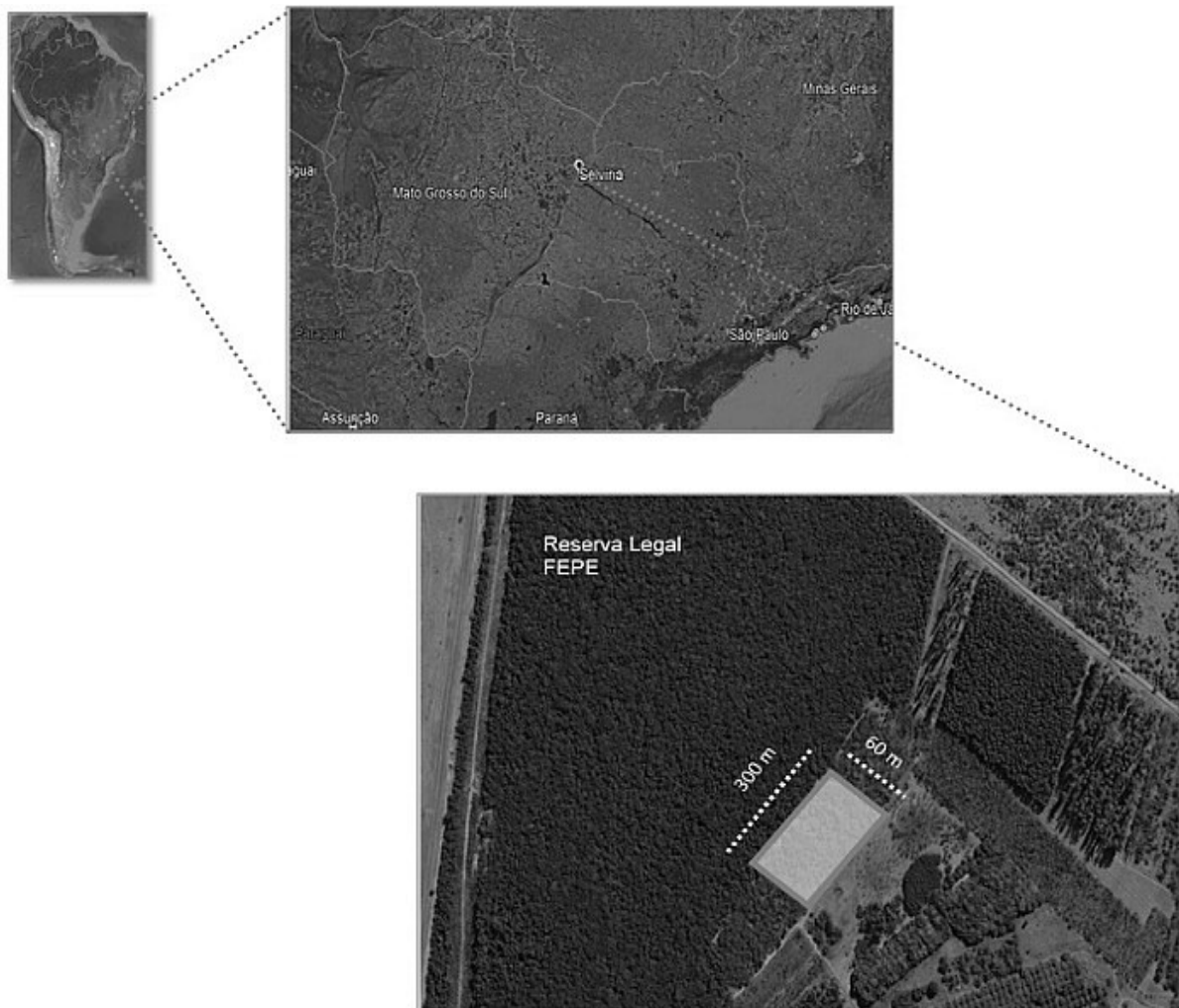
Antes da instalação do teste deste estudo, a área foi utilizada para um experimento com *Eucalyptus grandis* entre os anos de 1989 e 1990, cuja mortalidade foi de 100% ao final do primeiro ano devido ao ataque de cupins. As matrizes são plantas isoladas que estão inseridas em áreas de cultivo de cana-de-açúcar (Aramina, SP) e de atividade pecuária (Selvíria, MS). A partir das sementes, foram produzidas mudas no viveiro da FEPE, que foram plantadas em fevereiro de 1992 na forma de testes de progênies e procedências (populações). Na mesma época da instalação das populações de *M. urundeuva* foi instalada uma população de candiúba (*Trema micranta* L.), de forma sobreposta, com a finalidade de promover o sombreamento às plantas de *M. urundeuva*, visando a formação de um fuste de melhor qualidade nesta espécie (Figura 2).

Figura 22. Croqui do plantio das progênies de *Myracrodruon urundeuva* (aroeira) obtidas de duas populações (Aramina, SP e Selvíria, MS) sobreposta com indivíduos de *Trema micrantha* (candiúba) realizado em fevereiro de 1992.



Fonte: Moraes *et al.* (2006).

Figura 23. Localização do BAG-A, banco ativo de germoplasma de *Myracrodruon urundeuva* na FEPE UNESP campus de Ilha Solteira.



Fonte: Google Earth adaptada pela própria autora.

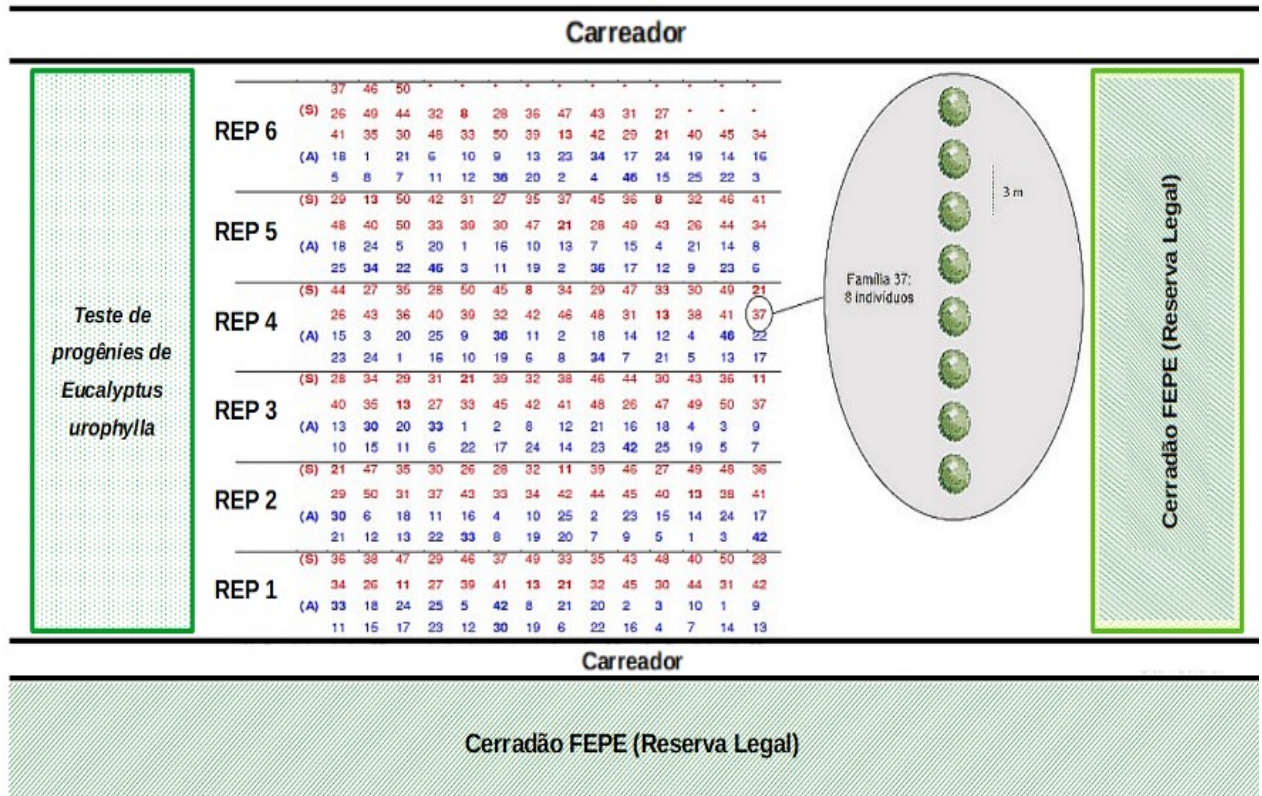
## 2.2 Delineamento experimental

O delineamento experimental utilizado foi o de blocos casualizados, com testemunhas adicionais, em cada uma das procedências (populações), constando de: 28 tratamentos (25 progênies mais três progênies da outra procedência), seis repetições e parcelas lineares de oito plantas, no espaçamento de 3 x 3 metros. As progênies da POP-ARA foram identificadas de 1 a 25 e as da POP-SEL de 26 a 50 (Figura 23). Para efeito da estimativa dos parâmetros genéticos foi considerada apenas as progênies da procedência em análise. Originalmente, o experimento



possuía 2.400 indivíduos adultos de *M. urundeuva* (1.200 de cada procedência) e foram avaliados aos 28 anos de idade.

Figura 24. Croqui do teste de progênes e procedências de *Myracrodruon urundeuva*: POP-ARA e POP-SEL em Selvíria, MS. No destaque, a progênie 37 exemplifica a disposição e número de indivíduos (8) que a compõem. O mesmo se aplica para as demais progênes (1 a 50).



Fonte: Alexandre Marques da Silva, adaptado pela própria autora.

### 2.3 Amostragem e padronização dos dados

Dados de importância silvicultural foram coletados a partir de caracteres que permitem inferências sobre o crescimento das progênes no experimento. Os caracteres mensurados em cada indivíduo foram: *i*) altura total (ALT), em metros, medida com hipsômetro digital; *iii*) diâmetro do tronco a altura do peito (DAP), em centímetros, onde tomou-se a medida de sua circunferência (CAP) a 1,30 m da base, com fita métrica, e obteve-se os valores de seus diâmetros (DAP) a partir da relação (2):

$$DAP = \frac{CAP}{\pi} \quad (2)$$

e iv) diâmetro médio da copa (DMC), em metros, estimado por medidas da copa na projeção da linha (L1) e na entrelinha (L2), com auxílio de trena. Com isso, o DMC foi calculado por meio da expressão (3):

$$DMC = \frac{L1+L2}{2} \quad (3)$$

A padronização dos dados de todos os caracteres avaliados foi feita por meio do estimador (4):

$$Z_{ij} = \frac{X_{ij} - \mu \cdot j}{\sigma \cdot j} \quad (4)$$

em que:

$Z_{ij}$  é o valor da variável padronizada do indivíduo  $i$  na repetição  $j$ ;

$X_{ij}$  é o valor do caráter em questão do indivíduo  $i$  na repetição  $j$ ;

$\mu \cdot j$  é a média de todos os indivíduos na repetição  $j$ ;

$\sigma \cdot j$  é o valor do desvio-padrão da média do caráter na repetição  $j$ .

O modelo genético-estatístico usado para estimação dos componentes de variância e parâmetros genéticos bem como para a predição e ordenamento dos valores genotípicos individuais em cada população pode ser descrito segundo a equação (5):

$$y = Xr + Za + W\phi + \varepsilon \quad (5)$$

em que:

$r$  é o vetor de efeitos de repetição (fixo) somados à média geral;

$a$  é o vetor dos efeitos genéticos aditivos individuais (aleatório);

$W\phi$  é o vetor dos efeitos de parcela;

$\varepsilon$  é o vetor de resíduos (aleatório).

As matrizes de incidência para os efeitos mencionados correspondem, respectivamente, a  $X$ ,  $Z$  e  $W$ . Os componentes de variância, parâmetros genéticos, predição e ordenamento dos valores genotípicos por indivíduo também foram estimados em uma análise conjunta, cujo modelo possui o efeito de população. Este último pode ser descrito conforme (6):

$$y = Xr + Za + W\phi + Ts + \varepsilon \quad (6)$$

em que:

$s$  é o vetor do efeito de população

$T$  é a matriz de incidência para este efeito

Foram estimados parâmetros de interesse populacional, tais como

Os cálculos utilizando estes modelos foram feitos pelo *software* Selegen REML/BLUP (RESENDE, 2016).

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 3.1 Análise de deviance

Após 28 anos da instalação do experimento, os efeitos de genótipos não foram significativos para nenhum dos caracteres avaliados e para nenhuma das populações estudadas, nem ao se analisar cada população separadamente, nem em uma análise conjunta, a notar-se os valores de qui-quadrado da *deviance* para este fator pelo teste de LRT (Tabela 1). Isso significa que o material hereditário das matrizes das quais as sementes foram coletadas e suas respectivas procedências não são os fatores principais que explicam a variação fenotípica observada nas progênies dos testes estudados. Em outras palavras, há pouca variabilidade genética entre as progênies.

Para a conservação *ex situ* de uma espécie na forma de bancos de germoplasma é crucial que se garanta a coleta de sementes de um número de árvores matrizes que represente a população a ser conservada no BAG (SEBBENN, 2002; 2003). No caso deste estudo, é provável que a não significância dos efeitos de genótipos tenha sido resultado de estimativa não suficiente dos parâmetros componentes dos modelos utilizados na análise, isto é, a *deviance* entre o modelo completo (com a maximização da função de verossimilhança) e o modelo atual (com os dados coletados e, conseqüentemente, com os parâmetros observados) não permite grandes níveis de certeza no modelo atual pela insuficiência amostral em nível de matrizes. Se o número de árvores matrizes das quais as progênies foram coletadas tivesse sido maior, a probabilidade de construção de modelos com parâmetros mais robustos teria sido mais alta e, conseqüentemente, haveria uma representação mais próxima da realidade. Sendo assim, a representatividade da população parece ser um fator crucial para a conservação em BAGs. Em último grau, para este estudo, essa conclusão se torna preocupante, se for considerado as matrizes coletadas são os últimos indivíduos restantes em suas respectivas populações naturais.

Outro aspecto importante a se notar é que os resultados das análises de *deviance* permitem sugerir que o fator ambiental de parcelas, apesar de correlação

baixa, seja o principal responsável pela variação fenotípica acessada no BAG-A, dadas significâncias encontradas para o efeito de parcelas para todos os caracteres (Tabela 1). Conclusões similares foram encontradas em outros experimentos instalados no mesmo local, de populações de origens e idades distintas, avaliando os mesmos caracteres deste estudo (BALERONI *et al.*, 2003; TUNG *et al.*, 2010; SOUZA, 2017). Neste estudo, a quantidade de variabilidade genética dos dados coletados é pouco explicada pelo modelo utilizado para a análise conjunta, considerando cada caráter, uma vez que o parâmetro  $c^2_{proc}$ , coeficiente de determinação para o efeito de população, foi considerado baixo para todos os caracteres (entre 0,000035 e 0,011944). Em outras palavras, o fato de as populações serem geograficamente distintas não é o motivo que explica qualquer variação genética e fenotípica observadas.

Tabela 1. Teste da Razão de Verossimilhança (LRT) para os caracteres altura (ALT), diâmetro à altura do peito (DAP), diâmetro médio da copa (DMC) e somatório dos valores padronizados de cada referido caráter (Z) na POP-ARA e POP-SEL nas análises individuais e conjuntas, em Selvíria-MS, aos 28 anos.

<b>Efeito / Caráter</b>	<b>ALT (m)</b>	<b>DAP (cm)</b>	<b>DMC (m)</b>	<b>Z</b>
<b>Genótipos LRT (<math>\chi^2</math>)</b>	-	-	-	-
POP-ARA	0,02 <sup>ns</sup>	0,42 <sup>ns</sup>	0,37 <sup>ns</sup>	0,01 <sup>ns</sup>
POP-SEL	2,31 <sup>ns</sup>	3,25 <sup>ns</sup>	2,92 <sup>ns</sup>	2,04 <sup>ns</sup>
Análise Conjunta	1,25 <sup>ns</sup>	2,24 <sup>ns</sup>	1,97 <sup>ns</sup>	0,76 <sup>ns</sup>
<b>Parcelas LRT (<math>\chi^2</math>)</b>	-	-	-	-
POP-ARA	236,54*	152,28*	150,11*	107,01*
POP-SEL	186,82*	93,91*	113,54*	84,51*
Análise Conjunta	436,09*	264,13*	285,77*	188,33*
<b>Procedências LRT (<math>\chi^2</math>)</b>	0,03 <sup>ns</sup>	1,90 <sup>ns</sup>	0,00 <sup>ns</sup>	0,00 <sup>ns</sup>

Nota: \*Significativo a 1% de probabilidade pelo teste do  $\chi^2$  (1% = 6,63%); ns = não significativo.  
Fonte: próprio autor.

### 3.2 Estimativas dos parâmetros populacionais genético-estatísticos

A precisão experimental dos testes pode ser verificada pelos valores de  $CV_e$ , que varia entre 15,38% e 20,47%, para os todos os caracteres avaliados nas progênies da POP-SEL; 17,43% e 21,93%, para a POP-ARA e 16,33% e 21,68% ao se considerar ambas as populações (Tabela 2). Segundo Pimentel-Gomes (1985) estes valores são considerados médios, indicando média precisão experimental ao se considerar o resultado destas análises. No entanto, como o efeito de progênies é aleatório o  $CV_e$  não é tão importante, pois não será realizado nenhum teste de comparação de médias entre as progênies.

Na análise por população, as estimativas do  $CV_{gi}$  foram maiores para todos os caracteres das progênies de Selvíria/MS em comparação com as de Aramina/SP. A mesma tendência foi observada para as estimativas do  $CV_{gp}$  (Tabela 2). Isso denota maior variabilidade genética da população local em detrimento da população estrangeira. Estudos com as progênies de Selvíria/MS realizados no mesmo BAG-A em experimentos puros e consorciados, em diferentes idades, avaliando os caracteres ALT, DAP e DMC, revelam aumento do  $CV_{gi}$  ao longo do tempo (BALERONI *et al.*, 2003 aos 9 e 10 anos; TUNG *et al.*, 2010 aos 20 anos; SOUZA, 2017 aos 28 anos). Neste estudo, aos 26 anos, as estimativas de  $CV_{gi}$  foram maiores que todos os estudos referidos anteriormente. De forma análoga, este coeficiente teve a tendência de aumentar conforme a idade em testes de progênies da mesma espécie, mas de procedência diferente das analisadas, a exemplo da localidade de Paulo de Faria/SP (FREITAS *et al.*, 2006a). De fato, uma alta diversidade genética foi constatada para as progênies das populações deste estudo por Viégas *et al.* (2011) ao estudá-las por meio de *loci* microssatélites. Isso quer dizer que a variabilidade genética detectada em nível de DNA pode ser mais eficaz do que a constatada pelos modelos lineares mistos, baseados nos fenótipos exibidos. No entanto, esta ferramenta última ainda é crucial para o monitoramento das populações, uma vez que os custos das análises, utilizando marcadores genéticos moleculares ainda é onerosa. Vale ressaltar que a acurácia foi média-baixa para todos os caracteres da POP-ARA e média-alta para os da POP-SEL, indicando baixa precisão no acesso do verdadeiro valor genético das progênies.

Na análise conjunta, as estimativas tanto do parâmetro  $CV_{gi}$  quanto de  $CV_{gp}$  foram intermediárias às das análises individuais por população (Tabela 2). Apesar de o  $c^2_{proc}$  ter sido baixo para todos os caracteres, sob a influência ambiental atual do experimento, há maior proporção da variabilidade genética expressa em todos os caracteres nas progênies oriundas de Selvíria/MS (genótipos locais), dados valores mais altos de  $CV_{gi}$  para todos os caracteres desta população quando comparada com os POP-ARA (Tabela 6). O  $CV_{gi}$  é considerado alto quando ultrapassa 7% (SEBBENN *et al.*, 1998), tendo-se, assim, somente o caráter DAP com valores considerados altos para a POP-ARA (8,55%).

Para o novo caráter, somatório das variáveis (Z), o  $CV_{gi}$  decresce em relação aos caracteres isolados, tendo o menor valor entre os quatro nas duas populações analisadas (Tabela 2). Ainda assim, a POP-SEL é classificada como tendo alto  $CV_{gi}$  (9,26%). O decréscimo da estimativa deste parâmetro ao se combinar todos os caracteres pode ser devido aos valores do desvio-padrão das observações para cada caráter, uma vez que o valor da estimativa Z resulta, por repetição, do coeficiente dos valores individuais e médias observadas pelo desvio-padrão.

Os valores de  $CV_{gi}$  foram inferiores ao  $CV_e$ , considerando todos os caracteres, todas as progênies e ambas as origens. Para análise por população, isso implica em CVr, isto é, razão entre o coeficiente de variação genotípica entre as progênies e o coeficiente de variação experimental, considerados baixos (Tabela 2). O CVr das progênies locais variou entre 0,30 e 0,35, enquanto o das progênies alóctones foi menor e teve maior variação (0,07 a 0,19). Quanto mais próximo de 1, maior o controle genético para expressão do caráter (VENCOVSKY E BARRIGA, 1992). O caráter Z possui os menores valores de CVr, considerando ambas populações, sugerindo que a padronização pode ocultar resultados maiores de CVr, tal como foi para DAP e DMC em ambas as populações (Tabela 2).

Os baixos valores de CVr validam as estimativas do parâmetro  $h_a^2$ , que representa a proporção da variância genética aditiva que é herdada na próxima geração. Estas foram consideradas de baixa magnitude para todos os caracteres de ambas as populações (RESENDE, 1998), variando entre 0 e 0,06 para a POP-ARA e de 0,10 a 0,16 para a POP-SEL. Souza (2017), estudando progênies também oriundas de Selvíria/MS de 28 anos de idade, relata estimativas de  $h_a^2$ , variando entre 0,10 e 0,17, considerando os mesmos caracteres deste estudo. Baleroni *et al.*

(2003), estudando o mesmo experimento do presente estudo aos 9 e 10 anos, registraram estimativas de  $h^2$  quase duas vezes maiores para os caracteres ALT e DAP na comparação de um ano para outro ( $h_a^2$  ALT: 0,08 e 0,16 e  $h_a^2$  DAP: 0,07 e 0,11 aos 9 e 10 anos de idade, respectivamente). Os autores do referido estudo, porém, encontraram uma proporção inversa da estimativa para o caráter DMC a se considerar a idade: 0,15 e 0,07 aos 9 e 10 anos, respectivamente.

É interessante ressaltar que, para o caráter Z, este parâmetro ( $h_a^2$ ) teve maior estimativa em comparação aos caracteres isolados na POP-ARA ao passo que o mesmo teve a menor estimativa entre todos os caracteres na POP-SEL, possuindo, portanto, estimativas intermediárias às duas populações, considerando cada caráter separadamente. Em outras palavras, os caracteres avaliados parecem ser fracamente herdáveis pelas progênes da população local, sendo que este parâmetro varia de maneira uniforme, porém apresenta magnitude ligeiramente maior em comparação com a população alóctone. Esta, por sua vez, apresenta maior variação da estimativa para todos os caracteres. O caráter Z apresenta as menores estimativas de  $h_a^2$ , com a população local tendo maior valor e também a maior variação da estimativa do referido parâmetro.

O coeficiente dos efeitos ambientais entre parcelas foi superior a 10%, considerando todos os caracteres, progênes e procedências, indicando a existência de influência do ambiente de uma parcela na outra (RESENDE, 2002) e corroborando os resultados das análises de *deviance* deste estudo que permitem afirmar que há efeito significativo do fator parcelas.

### 3.3 Uso do índice Z na conservação genética *ex situ*

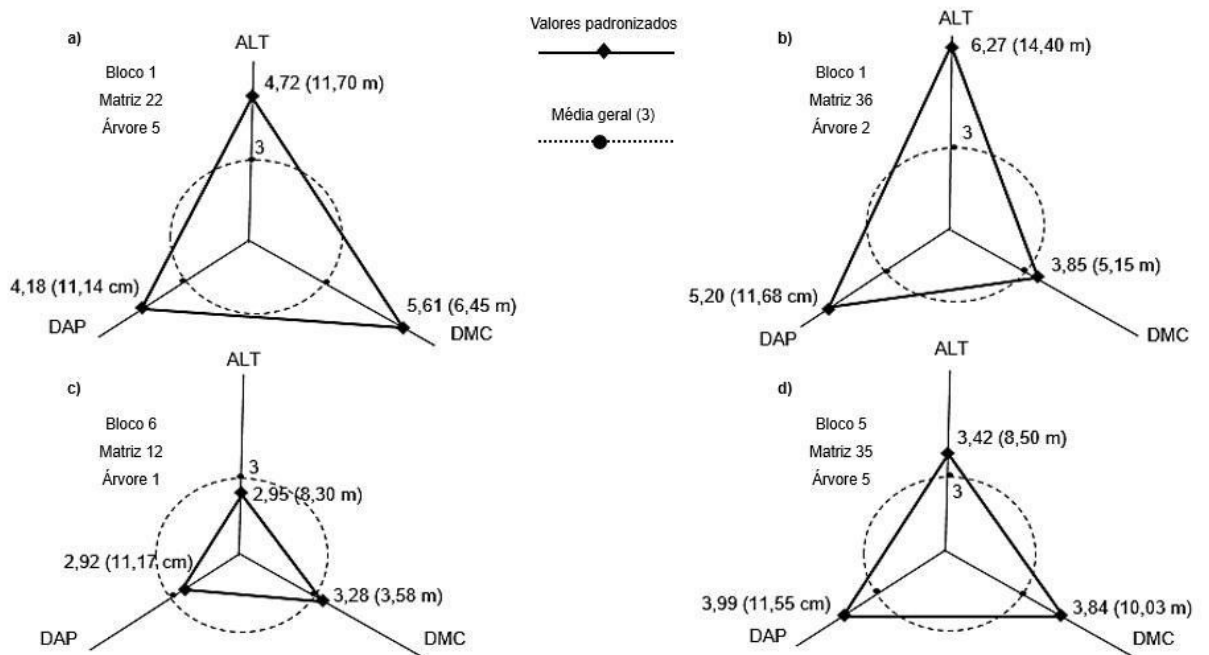
A medida composta padronizada (MCP) permite verificar quais caracteres têm maior influência na composição da medida, uma vez que é possível decompô-la tomando-se os valores de MCP por caráter e representá-los graficamente. Dessa maneira, a classificação dos indivíduos por meio da obtenção dos BLUPs permite conhecer melhor o teste estudado e, se for desejável, fazer a seleção de acordo com o objetivo estipulado. Como o efeito de procedências não foi significativo na análise



de *deviance* pelo teste LRT (Tabela 1), os valores dos BLUPs por indivíduo foram obtidos por meio de análises individuais por população.

Na Figura 25 estão representados os melhores (Figura 25a e Figura 25b) e os piores indivíduos (Figura 25c e Figura 25d) dos 10% primeiros de cada população estudada. Dessa forma, o melhor indivíduo é o que ocupa a 1ª posição e, o pior, a 120ª posição.

Figura 25. Melhores (1ª posição) e piores (120ª posição) indivíduos de *Myracrodruon urundeuva* dos 10% primeiros colocados no ranqueamento de acordo com os valores genéticos na POP-ARA (a e c) e POP-SEL (b e d) para o caráter Z, somatório dos valores padronizados para a altura (ALT), diâmetro do tronco à altura do peito (DAP) e diâmetro médio da copa (DMC), em Selvíria-MS, aos 28 anos.



Fonte: Própria autora.

É notável que, em um ambiente comum, cada população parece exibir comportamentos distintos, dado o melhor e o pior indivíduo dos 10% primeiros da população alóctone (POP-ARA) parecem responder ao ambiente estrangeiro aumentando o tamanho de sua copa (Figura 24a e Figura 24c). Isso implica no aumento da expansão e volume do dossel, que, por sua vez, reflete no aumento da

área foliar das progênies. Logo, é possível inferir que, aos 28 anos de idade, as progênies alóctones de *M. urundeuva* investem em aumento da captação de fótons solares e da taxa fotossintética. Dessa maneira, garante-se a síntese de carboidratos que serão fontes de energia para as reações bioquímicas que permitirão a persistência e crescimento dos indivíduos (TAIZ; ZEIGER, 2013; PRETZSCH, 2014).

Por outro lado, a expressão fisiológica ao ambiente pelas progênies locais (POP-SEL) parece resultar em uma estratégia distinta à da POP-ARA, de modo a parecer haver um aumento do DAP em detrimento dos demais caracteres avaliados (Figura 24b e Figura 24d). O aumento do DAP é decorrente do aumento da atividade das células do câmbio vascular que origina os vasos condutores nas espécies arbóreas (xilema e floema). O xilema, ou alburno, conduz a água e os nutrientes necessários à fotossíntese, de modo que os carboidratos resultantes deste processo podem ser utilizados para o metabolismo do câmbio vascular (CASTRO; SILVA *et al.*, 1994; TAIZ; ZEIGER, 2013).

Assim, é possível deduzir que as estratégias fisiológicas distintas podem ser reflexo do “estágio de adaptação” que cada população apresenta. De um lado, as progênies da POP-ARA parecem investir na síntese de fotoassimilados e na maior probabilidade de produção de flores e sementes. Em um outro lado, as progênies da POP-SEL parecem demandar maior crescimento secundário, o que pode favorecer sua permanência no ambiente por terem vantagens na competição intra e interespecífica no experimento estudado.

#### 4 CONCLUSÕES

- A herdabilidade da Medida Composta Padronizada (MCP) é menor em comparação com os demais caracteres isolados.
- A MCP permite fazer inferências sobre o comportamento das progênie por tornar caracteres de naturezas distintas comparáveis entre si.
- Em termos de conservação *ex situ*, a MCP pode ser um instrumento alternativo para inferência sobre a trajetória funcional e evolutiva de populações conversadas ao longo tempo.
- As populações de *Myracrodruon urundeuva*: POP-ARA e POP-SEL não apresentam variação entre procedências (populações) para os caracteres quantitativos e para a medida composta padronizada, sendo a maior parte da variação contida dentro das populações.
- A utilização destas populações de *M. urundeuva* em programas de conservação e de pré-melhoramento genético indica a necessidade de coleta de sementes em um número maior de árvores matrizes de polinização aberta nas populações.

## REFERÊNCIAS

- ALVES, M. C.; SOUZA, Z. M. Recuperação de área degradada por construção de hidroelétrica com adubação verde e corretivo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, MG, v. 32, n. 6, p. 2505-2516, 2008.
- BALERONI, C. R. S.; ALVES, P. F.; SANTOS, E. B. R.; CAMBUIM, J.; ANDRADE, J. A. C.; MORAES, M. L. T. Variação genética em populações naturais de aroeira em dois sistemas de plantio. **Revista do Instituto Florestal**, São Paulo, v. 15, n. 2, p.125-136, 2003.
- CASTRO-SILVA, A. **Noções Básicas de Anatomia da Madeira**. Manaus: UTAM, 1994. 28p.
- CLEMENT, C. R. Melhoramento de espécies nativas. *In*: NASS, L.L.; VALOIS, A.C.C.; MELO, I.S.; VALADARES-INGLIS, M.C. (ed.). **Recursos genéticos e melhoramento de plantas**. Fundação de Apoio à Pesquisa Agropecuária de Mato Grosso - Fundação MT, Rondonópolis, 2001. p. 423-441.
- DEMATTE, J. L. I. **Levantamento detalhado dos solos do Campus Experimental de Ilha Solteira (SP)**. Piracicaba-SP, 131p. 1980.
- FRANÇA, A. E. D; PARRELLA, R. A. C.; SOUZA, V. F; BASTOS, G. Q., NUNES, J. A. R., SCHAFFERT, R. E. Seleção simultânea em progênies de sorgo-sacarino por meio de índices de seleção. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v. 51, n. 10, p. 1737-1743, 2016.
- FREITAS, M.L.M.; AUKAR, A.P.A.; SEBBENN, A.M.; MORAES, M.L.T.; LEMOS, E.G.M. Variação genética em progênies de *Myracrodruon urundeuva* F.F. & M.F. Allemão em três sistemas de cultivo. **Revista Árvore**, Viçosa, MG, v.30, n.3, p.319-329. 2006a.
- GOLLE, D. P.; REINIGER, L. R. S.; CURTI, A. R.; BEVILACQUA, C. B. Forestry improvement: emphasis on biotechnology application. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 5, p. 1606-1613.
- HERNANDEZ, F. B. T., LEMOS FILHO, M. A. F., BUZETTI, S. **Software HIDRISA e o balanço hídrico de Ilha Solteira**. Ilha Solteira, FEIS/UNESP, 45p. 1995 (Série Irrigação, 1).
- HILL, W. G. Understanding and using quantitative genetic variation. **Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences** Londres, v. 365, p. 73–85, 2010.
- HILL, W. G. Quantitative genetics in the genomics era. **Current Genomics**, Sharjah, Emirados Árabes Unidos, v. 13, pp. 196–20, 2012.
- MENDES, F. F.; RAMALHO, M.; ABREU, F. B. Índice de seleção para escolha de populações segregantes do feijoeiro-comum. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v. 44, p. 1312-1318, 2009.

MORAES, M.L.T.; MORI, E.S.; RODRIGUES, C.J. Delineamento de pomar multiespécies. *In*: HIGA, A.R.; SILVA, L.D. **Pomar de sementes de espécies florestais nativas**. Curitiba: FUPEF, 2006. p. 183-202.

NASS, L. L. Pré-melhoramento vegetal. *In*: LOPES, M.A.; FÁVERO, A.P.; FERREIRA, M.A.J.F.; FALEIRO, F. G.; FOLLE, S.M.; GUIMARÃES, E.P. Pré-melhoramento de plantas: estado da arte e experiências de sucesso. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, 2011. p. 23-38.

PIMENTEL-GOMES, F. **Curso de estatística experimental**. São Paulo: Nobel, 1985. 467 p.

PRETZSCH, H. Canopy space filling and tree crown morphology in mixed-species stands compared with monocultures. **Forest Ecology and Management**, Amsterdam, v. 327, p. 251–264, 2014.

REIS, C. G.; GONÇALVES, F. M. A.; RAMALHO, M. A. P.; ROSADO, A. M. Seleção de progênies de eucalipto pelo índice Z por MQM e BLUP. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v. 46, n. 5, p. 517-523, 2009.

REIS, C. G.; GONÇALVES, F. M. A.; RAMALHO, M. A. P.; ROSADO, A. M. Estratégias de seleção simultânea de vários caracteres no melhoramento do *Eucalyptus*. **Ciência Florestal**, Santa Maria, v. 25, n. 2, p. 457-467, 2015.

RESENDE, M. D. V. Melhoramento de essências florestais. *In*: BORÉM, A. (ed.). **Melhoramento de espécies cultivadas**. Viçosa: UFV, 1999. p. 589-647,

RESENDE, M. D. V.; DUARTE, J. B. Precisão e controle de qualidade em experimentos de avaliação de cultivares. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v. 37, p.182-194, 2007.

RESENDE, M. D. V. Software Selegen-REML/BLUP: a useful tool for plant breeding. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, Ribeirão Preto, v. 16, p. 330-339, 2016.

SANTOS, H.; G; ALMEIDA, J, A; FILHO, J, C, A; OLIVEIRA, J, B; CUNHA; T, J, F. **Sistema brasileiro de classificação de solos**. Brasília, DF: Embrapa, 2018. 357 p.

SANTOS, G.O.; HERNANDEZ, F.B.T. Uso do solo e monitoramento dos recursos hídricos no córrego do Ipê, Ilha Solteira, SP. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 17, n. 1, p. 60-68, 2012.

SEBBENN, A. M.; SIQUEIRA, A. C. M. F.; KAGEYAMA, P. Y.; MACHADO, J. A. R. Parâmetros genéticos na conservação da cabreúva – *Myroxylon peruiferum* L.F. Allemão. **Scientia Forestalis**, Piracicaba, n. 53, p. 31-38, 1998.

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

SOUZA, D. C. L. Sistema de reprodução e distribuição da variabilidade genética de *Myracrodruon urundeuva* (F. F. & M. F. Allemão) em diferentes biomas. **Tese de Doutorado em Ciência Florestal**, Botucatu, 2017, 100 p.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 5. ed. Porto Alegre: Artemed, 2013. 954p.

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

VENCOVSKY. R.; BARRIGA, P. **Genética biométrica no fitomelhoramento**. Ribeirão Preto: Sociedade Brasileira de Genética, 1992. 496 p.

**Tabela 6.** Parâmetros genéticos para altura (ALT), diâmetro à altura do peito (DAP), diâmetro médio de copa (DMC) e somatório dos valores padronizados dos referidos caracteres (Z) de duas populações de *Myracrodruon urundeuva* em Selvíria-MS, aos 28 anos.

POP / Caráter	Variâncias					Coeficientes								
POP-ARA	$\sigma_a^2$	$\sigma_c^2$	$\hat{\sigma}_{pro}^2$	$\sigma_e^2$	$\sigma_f^2$	$h_a^2$	$h_m^2$	$C_p^2$	$\hat{C}_{pro}^2$	$r_{a^2}$	$CV_{gi}$	$CV_{gp}$		
					4,013									
ALT (m)	0,0565	1,5726	-	2,3841	3	0,01±0,02	0,43	0,39	-	0,2079	3,52	1,76	20,30	0,09
DAP (cm)	0,0331	1,6958	-	3,6551	6	0,06±0,04	0,19	0,2984	-	0,4307	8,55	4,27	21,93	0,19
DMC (m)	0,0783	0,4364	-	0,9168	6	0,05±0,04	0,17	0,3048	-	0,4168	6,73	3,36	17,96	0,19
Z	0,0473	1,7164	-	5,9279	7	0,01±0,012	0,03	0,2231	-	0,1675	2,42	1,21	17,43	0,07
POP-SEL	$\sigma_a^2$	$\sigma_c^2$		$\sigma_e^2$	$\sigma_f^2$	$h_a^2$	$h_m^2$	$C_p^2$	$\hat{C}_{pro}^2$	$r_{a^2}$	$CV_{gi}$	$CV_{gp}$		
					4,427									
ALT (m)	0,7122	1,4448	-	2,2707	8	0,16±0,07	0,37	0,33	-	0,6107	12,89	6,45	20,47	0,31
DAP (cm)	0,8262	1,1806	-	3,3456	5	0,15±0,07	0,42	0,22	-	0,6519	14,36	7,18	20,46	0,35
DMC (m)	0,2521	0,4024	-	0,9837	7	0,15±0,07	0,41	0,25	-	0,6386	12,17	6,08	17,96	0,34
Z	0,6947	1,2759	-	4,6112	8	0,11±0,05	0,35	0,19	-	0,5934	9,26	4,63	15,38	0,30
ARA- SEL	$\sigma_a^2$	$\sigma_c^2$	$\hat{\sigma}_{pro}^2$	$\sigma_e^2$	$\sigma_f^2$	$h_a^2$	$h_m^2$	$C_p^2$	$\hat{C}_{pro}^2$	$r_{a^2}$	$CV_{gi}$	$CV_{gp}$		
ALT (m)	0,3509	1,5343	0,005	2,3493	4,239	0,08±0,03	-	0,3619	0,001	-	8,91	4,46	20,53	-

			0		7				1					
DAP			0,067		5,645				0,011					
(cm)	0,5214	1,5130	4	3,5433	2	0,09±0,04	-	0,2680	9	-	11,06	5,53	21,68	-
DMC			0,000		1,547				0,000					
(m)	0,1379	0,4406	1	0,9688	5	0,09±0,04	-	0,2847	0	-	8,97	4,48	18,30	-
			0,000		7,093				0,000					
Z	0,3039	1,4666	2	5,3227	6	0,04±0,02	-	0,2067	0	-	6,13	3,06	16,33	-

**Variâncias:**  $\sigma_a^2$  genética aditiva;  $\sigma_c^2$  ambiental entre parcelas;  $\sigma_e^2$  residual (ambiental + não aditiva);  $\sigma_f^2$  fenotípica individual;  $\hat{\sigma}_{pro}^2$  procedências; **Coefficientes:**  $h_a^2$  herdabilidade individual dos efeitos aditivos;  $C_p^2$  determinação dos efeitos de parcelas;  $\hat{C}_{pro}^2$ : determinação dos efeitos de procedência;  $h_m^2$  herdabilidade da média de progênies;  $h_{ad}^2$  herdabilidade aditiva dentro de parcela;  $CV_{gi}$  variação genética aditiva individual;  $CV_{gp}$  variação genotípica entre progênies; variação experimental; variação relativa; **Acurácia:**  $r_a$



## 5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A partir dos acordos mundiais feitos dentro do âmbito ambiental, ficou evidente para todos os países, em especial para os 193 signatários das metas de Aichi em 2011, a importância de cada um traçar planos e estratégias para conservação e uso de sua biodiversidade em nível local. Esperava-se que todos os países pudessem ter atendido às suas próprias metas até 2020, porém estas ainda não foram alcançadas, conforme é descrito no 5º Relatório do Panorama Global da Biodiversidade (Global Biodiversity Outlook 5), publicado em setembro de 2020 pelo Secretariado da Convenção Sobre Diversidade Biológica da ONU. Como um ponto de partida em direção a um entendimento mais pontual de todo o contexto no Brasil, este trabalho contribuiu diretamente ao Objetivo Estratégico C das Metas de Aichi (status da biodiversidade) provendo dados e informações que podem servir para refinar a construção de um dos indicadores apontados como estratégia do governo brasileiro (EPANB) para atendimento às metas: “PB 021 Recursos Genéticos da Fauna, Flora e Microrganismos Conservados”. Assim, dados mais acurados foram gerados, utilizando novas tecnologias para o sequenciamento genético e de técnicas de análises baseadas em bioinformática e estatística. Ao longo de 4 anos, alguns aspectos dos recursos genéticos de uma espécie arbórea nativa da América do Sul foram investigados em banco de germoplasma e também em árvores isoladas nas diferentes paisagens. Assim, entregam-se as principais conclusões:

- Alta variabilidade e diversidade genética nas populações estudadas de *Myracrodruon urundeuva*, com atenção especial à população da região nordeste do estado de São Paulo POP-ARA (Aramina-SP) que contém elevado número de alelos raros.
- O tipo de atividade antrópica não se revelou estar associado à perda de diversidade neste nível de análise, mas a intensidade do distúrbio e o grau de resiliência dos ambientes e das populações podem ser mais relevantes como fatores de possíveis perdas de diversidade relacionadas as espécies e da variabilidade genética nas populações de *M. urundeuva*.

- Os componentes químicos do solo podem ter influência mais expressiva na permanência das populações nos ambientes, em comparação com as características expressas e valores genéticos.
- As condições do solo parecem determinar uma tendência a um agrupamento 25-75, onde  $\frac{1}{3}$  das árvores teriam estratégias de sobrevivência diferentes das demais.
- Ao utilizar medidas compostas padronizadas dos fenótipos, é possível inferir sobre tendências de ordem evolutivo-ecológica para os genótipos conservados *ex situ*.
- Não é sugerido utilizar as medidas compostas padronizadas para estimativa de parâmetros relacionados à herdabilidade em relação as populações de *M. urundeuva*, uma vez que a composição de todos os caracteres em um pode mascarar possíveis variações não detectáveis nos modelos genético-estatísticos.

Oriundas deste trabalho, permanecem questões a serem investigadas com maior detalhamento sobre tendências genético-evolutivas relacionadas a A) subestruturação populacional, B) perda de alelos raros e C) influência do tipo de distúrbio na variabilidade e diversidade genética das populações de *M. urundeuva*. Para tanto, sugere-se que 1) o número de populações e indivíduos dentro das populações amostradas seja aumentado, 2) planos estratégicos para a conservação, manutenção da variação e, posterior aumento na frequência de alelos raros nas populações, 3) que parâmetros-chave na determinação e diferenciação das atividades antrópicas passíveis de desmatamento sejam definidos, 4) que medidas quantificáveis indicando o grau de perturbação e, principalmente, tendência ao retorno às condições de auto reorganização do sistema sejam elaborados e 5) correlacionados com a enorme massa de dados produzidos pelas universidades e órgãos de pesquisa, contemplando todo o território brasileiro e permitindo inferências mais acuradas sobre a situação geral.

## APÊNDICES

**Apêndice 1A - Concentração de DNA genômico de folhas de indivíduos de duas populações *in situ* de *Myracrodruon urundeuva*. A quantificação foi feita por dois métodos distintos: espectrofotometria (NanDrop Thermo Fisher Scientific) e fluorometria (QuBit Thermo Fisher Scientific).**

Pop	N	Espectro <sup>1</sup>	A260	A280	260/280	260/230	Fluoro
Ara	1	368.86	7.377	4.897	1.51	0.78	6.4
Ara	2	376.06	7.521	4.897	1.54	0.85	22.2
Ara	3.3	234.11	4.682	3.231	1.45	0.78	28.4
Ara	4	316.18	6.324	4.395	1.44	0.68	36.0
Ara	5	521.23	10.425	6.961	1.50	1.03	77.0
Ara	6	340.67	6.813	4.677	1.46	0.96	22.8
Ara	6	717.02	14.340	9.798	1.46	0.76	15.9
Ara	8	547.25	10.945	6.946	1.58	1.10	14.6
Ara	9	183.60	3.672	2.179	1.69	1.14	13.9
Ara	10	217.74	4.355	2.809	1.55	1.00	12.2
Ara	10.1	304.80	6.096	4.003	1.52	0.97	13.6
Ara	11	405.88	8.118	4.991	1.63	1.17	12.0
Ara	11.1	303.19	6.064	3.706	1.64	1.14	23.6
Ara	12	444.28	8.886	6.055	1.47	0.89	21.0
Ara	13	230.30	4.606	3.026	1.52	0.88	9.58
Ara	14	984.92	19.698	11.169	1.76	1.11	12.3
Ara	15	855.11	17.102	9.733	1.76	1.02	35.6
Ara	15.1	262.37	5.247	3.099	1.69	1.51	17.6
Ara	16	713.38	14.268	8.762	1.63	0.89	15.4
Ara	17	952.99	19.060	12.127	1.57	0.87	14.5
Ara	18	386.64	7.733	4.546	1.70	1.32	17.5
Ara	19	481.12	9.622	5.599	1.72	1.34	22.4

Ara	19	474.38	9.488	5.460	1.74	1.34	13.4
Ara	19.1	537.59	10.752	6.362	1.69	1.32	13.8
Ara	20	391.36	7.827	5.464	1.43	0.78	13.2
Ara	21	186.39	3.728	2.451	1.52	0.94	12.6
Ara	22	508.20	10.164	6.505	1.56	1.00	16.6
Ara	23	774.66	15.493	9.630	1.61	0.76	12.2
Ara	24	840.45	16.809	10.588	1.59	0.79	13.2
Ara	24.1	445.20	8.904	5.649	1.58	1.20	23.6
Ara	25	873.11	17.462	10.266	1.70	0.93	20.2
<hr/>							
Sel	1	915.4	18309	10854	169	139	12.6
Sel	2	1526.3	30525	16050	190	177	37.0
Sel	3	888.2	17765	9494	187	147	19.1
Sel	4	529.4	10589	5822	182	118	9.52
Sel	5	1090.3	21807	11174	195	196	13.6
Sel	6	651.8	13036	7086	184	131	7.56
Sel	7	568.4	11367	6219	183	124	18.0
Sel	8	627.9	12558	6753	186	136	10.5
Sel	9	1280.5	25610	13209	194	170	20.6
Sel	10	585.0	11700	6510	180	127	18.5
Sel	11	630.9	12619	6676	189	148	6.42
Sel	12	1341.9	26837	14085	191	153	9.9
Sel	13	1061.1	21223	11279	188	152	2.96
Sel	14	1592.5	31851	16257	196	185	25.6
Sel	15	796.8	15936	8595	185	143	22.8
Sel	16	866.5	17331	9268	187	141	10.1
Sel	17	700.9	14018	7496	187	140	13.6
Sel	18	1727.6	34553	17974	192	163	30.6
Sel	19b	1609.5	-	-	-	-	27.6

Sel	20	1174.1	23482	12276	191	168	15.1
Sel	21	1351.3	27027	14176	191	162	17.1
Sel	22	912.2	18244	9519	192	168	21.6
Sel	23	1405.0	28101	14308	196	185	20.2
Sel	24	1058.6	21173	11009	192	166	31.6
Sel	25b	-	-	-	-	-	26.6
Sel	26	253.9	5078	2781	183	101	23.4

**Apêndice 2A - Número de *reads* para cada amostra após filtragem dos dados pelo *pipeline* STACKS.**

Filename	Total	NoRadTag	LowQuality	Retained
Ara_4	9230	6	7574	1650
Ara_5	13054	14	9919	3121
Ara_1	76305	191	54926	21188
Ara_2	103682	237	78033	25412
Ara_22	130475	194	96183	34098
Ara_17	171851	174	135450	36227
Ara_15	145299	86	105402	39811
Ara_7	216594	338	159248	57008
Ara_24	250797	505	181607	68685
Ara_25	241686	577	170475	70634
Ara_14	336628	345	228107	108176
Ara_20	367872	533	251805	115534
Ara_8	379475	925	259074	119476
Ara_6.1	501816	605	354432	146779
Sel_11	361355	1091	195256	165008
Sel_23	429830	593	234599	194638
Sel_20	447084	1785	246778	198521
Sel_18	481194	859	247755	232580
Sel_21	517244	1386	269240	246618
Sel_13	566743	963	313659	252121
Ara_12	877994	3296	608312	266386
Sel_4	696046	1434	360991	333621
Sel_6	736488	11760	370603	354125
Ara_23	1105845	2940	706073	396832
Ara_3	855677	1356	450712	403609
Sel_17	833547	3508	419025	411014
Sel_5	852499	1890	433784	416825
Sel_22	916351	2841	464811	448699
Sel_3	973921	1960	489187	482774
Sel_8	1029123	1811	525678	501634
Sel_25	1006565	5847	488805	511913
Sel_12	1100067	2273	574452	523342
Sel_16	1166005	8418	613148	544439
Sel_2	1221570	2243	615779	603548
Sel_1	1276622	5061	652143	619418
Sel_24	1265795	5166	635893	624736
Sel_7	1477348	8416	701498	767434
Sel_10	1572106	3326	732341	836439
Sel_19	1791041	3002	854809	933230
Ara_18	1903284	3849	946022	953413
Sel_26	1905888	5232	934665	965991
Sel_14	1917961	11933	934639	971389
Ara_24.1	2087666	4248	1049806	1033612

Ara_19	2633923	8773	1463563	1161587
Sel_15	2333650	34039	1130450	1169161
Ara_9	2377953	10585	1140685	1226683
Ara_19.1	2661000	4042	1401189	1255769
Ara_21	2446292	6501	1119025	1320766
Ara_11.1	2988042	4908	1450058	1533076
Ara_6	3247709	8146	1586764	1652799
Ara_11	3290973	35542	1563240	1692191
Ara_13	4779169	25560	2995564	1758045
Ara_16	4129839	11376	2234794	1883669
Ara_10.1	5176511	6491	2783274	2386746
Sel_9	12412749	25483	6189298	6197968

### Apêndice 3A - Atributos do Solo

n	arv	pop	alt	dap	dmc	eca	vgalt	vgdap	vgdmc	P	MO	pH	K	Ca	Mg	Al	S-SO4	V
1	1	ara	19,7	33,4	12,9	0,7	-0,1248	0,2281	-0,0734	34	31	5,3	2,5	34	16	0	2	58
2	2	ara	31,0	50,6	17,9	1,1	-0,3694	0,4431	-0,4321	35	53	5,3	6,8	61	33	0	3	71
3	3	ara	22,9	31,9	15,9	1,1	-0,0483	0,2027	-0,1361	48	45	5,1	2,7	41	22	2	4	61
4	4	ara	20,1	54,8	14,5	0,9	0,0520	0,0697	0,1011	26	45	5,1	2,7	39	20	1	4	59
5	5	ara	22,6	35,9	14,3	1,1	0,1669	0,4585	0,0456	8	37	5,3	2,3	28	14	0	3	57
6	6	ara	15,4	35,0	12,3	1,0	0,1389	0,1662	0,0225	47	68	5,2	7,1	57	30	0	9	73
7	7	ara	39,1	63,7	24,3	1,2	-0,1124	0,1764	0,0011	16	51	5,1	1,5	34	17	1	3	56
8	8	ara	28,1	46,2	17,6	1,4	0,0226	0,3593	0,2582	11	39	5,1	4,1	26	17	1	2	58
9	9	ara	23,4	37,2	13,6	0,9	0,1190	0,0929	0,0502	10	29	6,8	1,4	173	11	0	2	92
10	10	ara	28,3	47,1	17,2	1,1	-0,0358	0,0522	-0,1906	17	60	6,7	3,5	53	29	0	2	77
11	11	ara	25,0	51,0	17,8	0,8	-0,0317	0,0607	-0,1411	20	25	5,6	2,5	25	11	0	2	61



<b>12</b>	12	ara	22,4	41,4	13,8	1,0	0,2402	0,7560	0,2025	4	22	4,4	1,3	9	5	6	3	27
<b>13</b>	13	ara	23,3	49,9	17,7	1,3	0,0413	0,2668	0,2065	3	21	5	0,9	19	8	0	1	53
<b>14</b>	14	ara	27,2	34,1	14,3	1,3	0,1472	0,3787	-0,0235	4	25	5,1	1	17	9	1	1	52
<b>15</b>	15	ara	25,0	38,2	15,1	1,3	0,3200	0,2929	0,0203	3	22	4,4	1,1	5	3	7	3	21
<b>16</b>	16	ara	31,0	54,1	22,9	1,7	-0,0578	0,0566	-0,0756	3	22	4,1	1	4	2	10	4	14
<b>17</b>	17	ara	19,8	23,9	10,0	1,1	0,1552	0,0202	-0,1674	4	25	4,8	1	23	13	1	1	63
<b>18</b>	18	ara	21,6	33,0	26,2	1,3	0,2059	0,2183	0,1043	4	28	4,6	1,1	11	7	2	1	51
<b>19</b>	19	ara	23,2	44,3	16,1	1,5	-0,0842	0,1785	-0,0218	4	22	4,3	1,2	8	4	5	2	28
								-										
<b>20</b>	20	ara	24,1	56,2	17,2	1,4	-0,2302	0,3684	-0,1382	10	27	4,5	2,7	13	6	2	5	39
<b>21</b>	21	ara	20,9	39,9	16,8	1,3	0,2450	0,4970	0,3332	18	61	5,3	4,4	88	47	0	3	77
<b>22</b>	22	ara	27,7	36,9	18,4	1,2	0,1239	0,6095	0,2694	36	41	5,3	7,1	47	25	0	1	65
								-										
<b>23</b>	23	ara	23,1	35,7	14,9	1,0	0,1534	0,1528	-0,0701	13	36	5,3	5,1	40	22	0	1	66
<b>24</b>	24	ara	30,0	40,4	16,3	1,2	-0,0806	0,0057	0,0078	4	36	5,3	4,7	34	15	0	1	61
<b>25</b>	25	ara	24,7	53,9	18,1	1,9	-0,0221	0,2165	0,0562	17	50	5,3	6,7	61	22	0	2	73
								-										
<b>26</b>	1	sel	14,5	26,3	10,4	1,0	0,0593	0,2675	0,1071	11	50	5,5	6,7	45	27	0	2	76

<b>27</b>	2	sel	19,8	41,4	5,0	1,0	0,0672	-	0,4226	-0,0847	28	53	6,4	5	130	24	0	5	92
<b>28</b>	3	sel	20,6	53,2	13,2	1,3	0,0318	0,2759	0,0141		8	50	5,6	3,3	64	25	0	2	81
<b>29</b>	4	sel	12,5	29,0	5,0	1,3	0,1096	-	0,0147	0,1341	18	56	5,9	4,5	75	33	0	3	86
<b>30</b>	5	sel	17,0	90,4	17,0	2,8	0,1842	0,3026	0,2091		42	64	5,9	8,7	83	43	0	5	87
<b>31</b>	6	sel	17,6	67,5	16,0	1,8	0,0021	-	0,0292	-0,0027	21	49	5,5	6,6	32	21	0	4	70
<b>32</b>	7	sel	0,0	0,0	0,0	0,0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<b>33</b>	8	sel	25,8	57,3	12,4	1,7	-0,0867	-	0,4126	-0,1672	12	46	8,7	8	42	20	0	4	78
<b>34</b>	9	sel	15,0	25,2	8,5	1,5	-0,0562	0,1224	0,0217		16	62	5,5	1,9	54	26	0	6	71
<b>35</b>	10	sel	15,3	48,1	10,7	0,9	0,0193	0,0707	0,1782		10	37	5,5	3,4	28	20	0	6	62
<b>36</b>	11	sel	19,0	53,5	11,9	1,7	0,4374	0,4973	0,3132		7	32	5,4	2,5	17	13	0	2	57
<b>37</b>	12	sel	21,1	56,8	19,7	1,8	0,1530	0,1900	0,0792		8	39	5,5	1,7	26	16	0	3	64
<b>38</b>	13	sel	18,2	52,8	13,2	2,4	0,0322	-	0,1163	0,0643	6	29	5,3	1,4	18	8	0	4	52
<b>39</b>	14	sel	22,6	45,5	12,9	1,3	-0,0271	-	-	-0,0941	14	53	5,7	3,1	29	17	0	4	66

								0,2388										
<b>40</b>	15	sel	17,6	42,0	14,9	1,3	0,0826	0,1762	-0,0775	11	30	5,9	7,2	34	25	0	3	79
<b>41</b>	16	sel	0,0	0,0	0,0	0,0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
								-										
<b>42</b>	17	sel	17,2	55,1	14,6	1,2	-0,3133	0,3622	-0,2676	8	39	6	5,3	355	23	0	5	76
								-										
<b>43</b>	18	sel	21,1	33,7	12,9	0,9	-0,0086	0,2360	0,098	10	53	5,9	5,7	69	25	0	2	88
								-										
<b>44</b>	19	sel	24,1	36,5	9,6	1,0	0,1705	0,1207	0,3649	9	33	4,9	4,2	16	15	4	1	66
								-										
<b>45</b>	20	sel	17,8	30,1	12,7	1,2	-0,3696	0,5289	-0,2717	1	13	4,2	1,1	4	3	20	1	35
								-										
<b>46</b>	21	sel	20,9	24,8	11,6	1,1	-0,2333	0,2786	-0,2386	8	44	5,3	1,9	33	20	0	1	77
<b>47</b>	22	sel	0,0	0,0	0,0	0,0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
								-										
<b>48</b>	23	sel	11,7	17,7	9,0	0,9	-0,2626	0,5347	-0,1144	11	41	6	1,8	40	23	0	4	78
								-										
<b>49</b>	24	sel	13,2	27,9	8,9	1,6	-0,0982	0,0917	-0,0524	14	51	6,1	4,5	65	32	0	4	82
<b>50</b>	25	sel	8,9	21,3	0,0	0,8	-0,0781	-	-0,1225	13	50	5,5	3,2	43	21	0	2	73



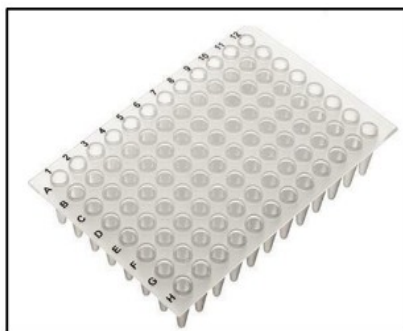
**Apêndice 4A - Diluições feitas nas amostras de DNA a fim de padronizá-las para a montagem da placa de sequenciamento.**

population	sample_id	conc_qubit	vol_dna	vol_buffer	conc_final	vol_final
ara	1	6.4	10	0	6.4	10
ara	2	22.2	4.5	5.5	10	10
ara	3.3	28.4	3.5	6.5	10	10
ara	4	36.0	2.8	7.2	10	10
ara	5	77.0	1.3	8.7	10	10
ara	6	22.8	4.4	5.6	10	10
ara	7	15.9	6.3	3.7	10	10
ara	8	14.6	6.8	3.2	10	10
ara	9	13.9	7.2	2.8	10	10
ara	10	12.2	8.2	1.8	10	10
ara	10.1	13.6	7.4	2.6	10	10
ara	11	12.0	16.7	-6.7	10	10
ara	11.1	23.6	4.2	5.8	10	10
ara	12	21.0	9.5	0.5	10	10
ara	13	9.58	10	0	9.58	10
ara	14	12.3	16.3	-6.3	10	10
ara	15	35.6	5.6	4.4	10	10
ara	15.1	17.6	11.4	-1.4	10	10
ara	16	15.4	13.0	-3.0	10	10
ara	17	14.5	13.8	-3.8	10	10
ara	18	17.5	11.4	-1.4	10	10
ara	19	22.4	8.9	1.1	10	10
ara	19	13.4	14.9	-4.9	10	10

<b>ara</b>	<b>19.1</b>	<b>13.8</b>	<b>14.5</b>	<b>-4.5</b>	<b>10</b>	<b>10</b>
<b>ara</b>	<b>20</b>	<b>13.2</b>	<b>15.2</b>	<b>-5.2</b>	<b>10</b>	<b>10</b>
<b>ara</b>	<b>21</b>	<b>12.6</b>	<b>15.9</b>	<b>-5.9</b>	<b>10</b>	<b>10</b>
<b>ara</b>	<b>22</b>	<b>16.6</b>	<b>12.0</b>	<b>-2.0</b>	<b>10</b>	<b>10</b>
<b>ara</b>	<b>23</b>	<b>12.2</b>	<b>16.4</b>	<b>-6.4</b>	<b>10</b>	<b>10</b>
<b>ara</b>	<b>24</b>	<b>13.2</b>	<b>15.2</b>	<b>-5.2</b>	<b>10</b>	<b>10</b>
<b>ara</b>	<b>24.1</b>	<b>23.6</b>	<b>8.5</b>	<b>1.5</b>	<b>10</b>	<b>10</b>
<b>ara</b>	<b>25</b>	<b>20.2</b>	<b>9.9</b>	<b>0.1</b>	<b>10</b>	<b>10</b>
<b>sel</b>	<b>1</b>	<b>12.7</b>	<b>7.9</b>	<b>2.1</b>	<b>10</b>	<b>10</b>
<b>sel</b>	<b>2</b>	<b>27.0</b>	<b>3.7</b>	<b>6.3</b>	<b>10</b>	<b>10</b>
<b>sel</b>	<b>3</b>	<b>8.8</b>	<b>10</b>	<b>0</b>	<b>8.8</b>	<b>10</b>
<b>sel</b>	<b>4</b>	<b>7.6</b>	<b>10</b>	<b>0</b>	<b>7.6</b>	<b>10</b>
<b>sel</b>	<b>5</b>	<b>20.6</b>	<b>4.9</b>	<b>5.1</b>	<b>10</b>	<b>10</b>
<b>sel</b>	<b>6</b>	<b>7.96</b>	<b>10</b>	<b>0</b>	<b>7.96</b>	<b>10</b>
<b>sel</b>	<b>7</b>	<b>13.0</b>	<b>7.7</b>	<b>2.3</b>	<b>10</b>	<b>10</b>
<b>sel</b>	<b>8</b>	<b>14.1</b>	<b>7.1</b>	<b>2.9</b>	<b>10</b>	<b>10</b>
<b>sel</b>	<b>9</b>	<b>10.8</b>	<b>10</b>	<b>0</b>	<b>10.8</b>	<b>10</b>
<b>sel</b>	<b>10</b>	<b>15.7</b>	<b>6.4</b>	<b>3.6</b>	<b>10</b>	<b>10</b>
<b>sel</b>	<b>11</b>	<b>3.74</b>	<b>10</b>	<b>0</b>	<b>3.74</b>	<b>10</b>
<b>sel</b>	<b>12</b>	<b>7.68</b>	<b>10</b>	<b>0</b>	<b>7.68</b>	<b>10</b>
<b>sel</b>	<b>13</b>	<b>2.68</b>	<b>10</b>	<b>0</b>	<b>2.68</b>	<b>10</b>
<b>sel</b>	<b>14</b>	<b>15.2</b>	<b>6.6</b>	<b>3.4</b>	<b>10</b>	<b>10</b>
<b>sel</b>	<b>15</b>	<b>9.44</b>	<b>10</b>	<b>0</b>	<b>9.44</b>	<b>10</b>
<b>sel</b>	<b>16</b>	<b>8.64</b>	<b>10</b>	<b>0</b>	<b>8.64</b>	<b>10</b>
<b>sel</b>	<b>17</b>	<b>9.24</b>	<b>10</b>	<b>0</b>	<b>9.24</b>	<b>10</b>
<b>sel</b>	<b>18</b>	<b>24.4</b>	<b>4.1</b>	<b>5.9</b>	<b>10</b>	<b>10</b>
<b>sel</b>	<b>19b</b>	<b>14.3</b>	<b>7.0</b>	<b>3.0</b>	<b>10</b>	<b>10</b>

<b>sel</b>	<b>20</b>	<b>12.2</b>	<b>8.2</b>	<b>1.8</b>	<b>10</b>	<b>10</b>
<b>sel</b>	<b>21</b>	<b>18.8</b>	<b>5.3</b>	<b>4.7</b>	<b>10</b>	<b>10</b>
<b>sel</b>	<b>22</b>	<b>15.4</b>	<b>6.5</b>	<b>3.5</b>	<b>10</b>	<b>10</b>
<b>sel</b>	<b>23</b>	<b>19.1</b>	<b>5.2</b>	<b>4.8</b>	<b>10</b>	<b>10</b>
<b>sel</b>	<b>24</b>	<b>15.0</b>	<b>6.7</b>	<b>3.3</b>	<b>10</b>	<b>10</b>
<b>sel</b>	<b>25b</b>	<b>22.2</b>	<b>4.5</b>	<b>5.5</b>	<b>10</b>	<b>10</b>
<b>sel</b>	<b>26</b>	<b>18.3</b>	<b>5.5</b>	<b>4.5</b>	<b>10</b>	<b>10</b>

**Apêndice 5A - Esquema de uma placa de sequenciamento de 96 poços representando a maneira como as amostras de DNA deste estudo foram alocadas.**



	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	Ara 1	Ara 8	Ara 14	Ara 20	Sel 2	Sel 10	Sel 18	Sel 26				
B	Ara 2	Ara 9	Ara 15	Ara 21	Sel 3	Sel 11	Sel 19					
C	Ara 3	Ara 10	Ara 15.1	Ara 22	Sel 4	Sel 12	Sel 20					
D	Ara 4	Ara 10.1	Ara 16	Ara 23	Sel 5	Sel 13	Sel 21					
E	Ara 5	Ara 11	Ara 17	Ara 24	Sel 6	Sel 14	Sel 22					
F	Ara 6	Ara 11.1	Ara 18	Ara 24.1	Sel 7	Sel 15	Sel 23					
G	Ara 6.1	Ara 12	Ara 19	Ara 25	Sel 8	Sel 16	Sel 24					
H	Ara 7	Ara 13	Ara 19.1	Sel 1	Sel 9	Sel 17	Sel 25					



## Apêndice 6A - Produções adicionais

**Conférences conjointes**  
 12 avril 2019, Université Laval

**Luciane Sato**  
 Étudiante au doctorat  
 Université d'État Paulista Júlio de Mesquita Filho (UNESP), Brésil

PhD Exchange Program – PDISE CAPES

**Partenariat Brésil – Québec et recherche en génétique forestière: exemple et attentes**

Luciane Sato

Directeur: Miguel Freitas (IF - Instituto Florestal de São Paulo)  
 Co-directeurs: Mário Moraes (UNESP - Universidade Estadual Paulista)  
 Damase Khasa (Université Laval – PDISE/CAPES)

12 avril 2019

CEF  
 Centre d'étude de la forêt

IBIS  
 Instituto Brasileiro de Informação em Biologia e Saúde

INSTITUTO FLORESTAL

unesp  
 UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA "JULIO DE MESQUITA FILHO"

UNIVERSITÉ LAVAL

Divulgação científica: palestra ministrada pela autora em evento do Centro de Estudos da Floresta (CEF) em Québec, Canadá, sobre a presente tese como exemplo de atividades de parceria entre Brasil e Canadá nas pesquisas de genética florestal. Data: 12/04/2019. Disponível em: [https://www.youtube.com/watch?v=leE\\_7JdmSnE](https://www.youtube.com/watch?v=leE_7JdmSnE)

**PROPORÇÃO SEXUAL E TAMANHO EFETIVO EM DUAS POPULAÇÕES DE AROEIRA (*Myracrodruon urundeuva* Allemão) CONSERVADAS EX SITU: IMPLICAÇÕES PARA A RESTAURAÇÃO FLORESTAL POR PLANTIO DE MUDAS SEMINAIS**

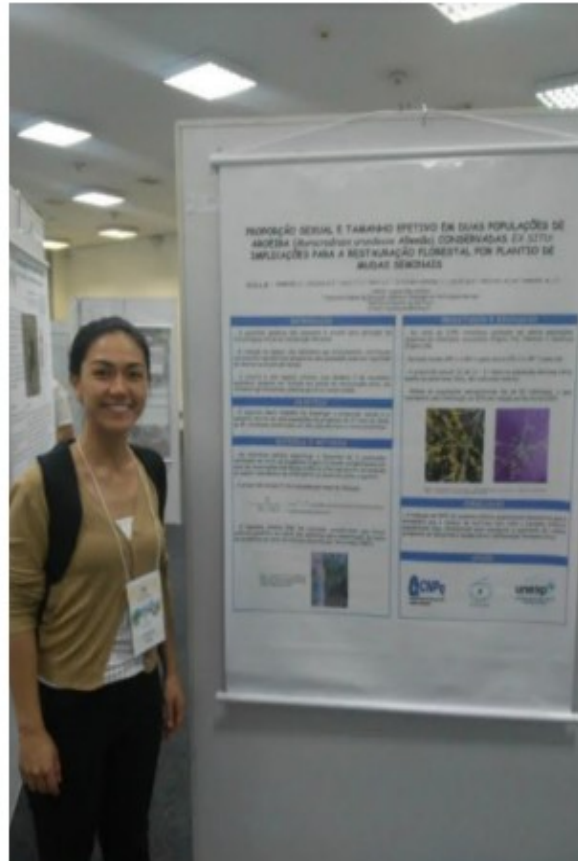
SATO, L.M.<sup>1</sup>; CAMBUIM, J.<sup>2</sup>; ZULIAN, D.F.<sup>3</sup>; SAUL, F.C.<sup>1</sup>; RIVA, L.C.<sup>1</sup>; OLIVEIRA-JÚNIOR, J.<sup>1</sup>; SILVA, M.S.<sup>2</sup>; FREITAS, M.L.M.<sup>2</sup>; MORAES, M.L.T.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> UNESP campus Ilha Solteira

<sup>2</sup> Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Pará campus Marabá

<sup>3</sup> Instituto Florestal de São Paulo

Contato: luciane.sato@unesp.br



Trabalho apresentado pela autora no Simpósio de Restauração Ecológica de São Paulo: sugerimos que o aumento do número de matrizes e do tamanho efetivo populacional seja levado em consideração para boa qualidade da cadeia produtora de sementes de *M. urundeuva* e mudas para restauração florestal ativa. Data: 4-8/11/2019.



## ARTICLE

## Genetic control of wood quality of *Myracrodruon urundeuva* populations under anthropogenic disturbance

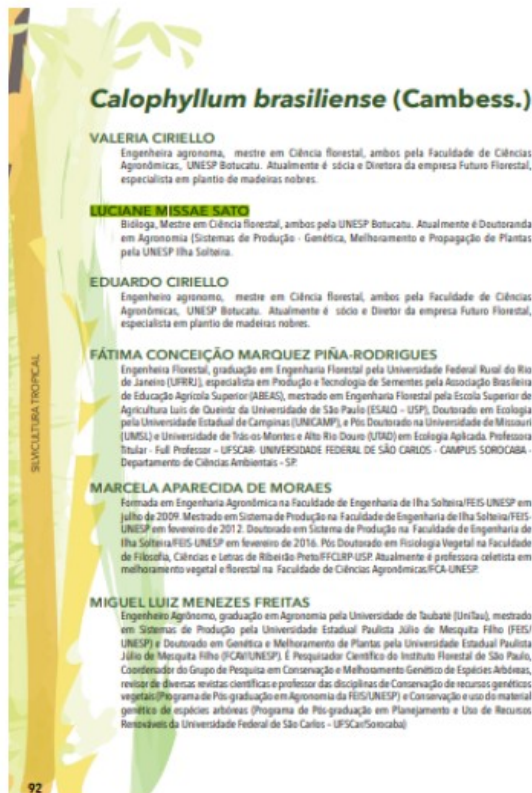
Lara Comar Riva<sup>1</sup>, Marcela Aparecida de Moraes<sup>2\*</sup>, José Cambuim<sup>1</sup>, Daniele Fernanda Zulian<sup>1</sup>, Luciane Missae Sato<sup>1</sup>, Francieli Alves Caldeira<sup>1</sup>, Alan Rodrigo Panosso<sup>3</sup> and Mario Luiz Teixeira de Moraes<sup>1</sup>

Crop Breeding and Applied Biotechnology  
20(4): e320920411, 2020  
Brazilian Society of Plant Breeding.  
Printed in Brazil  
<http://dx.doi.org/10.1590/1984-70332020v20n4a64>

**Abstract:** Forest fragmentation in the Cerrado biome exposes the tree species *Myracrodruon urundeuva* to the risk of extinction. Thus, the objective of the study was to evaluate silvicultural characteristics related to wood quality, based on genetic parameters estimated in two *M. urundeuva* progenies from natural populations, assessed in Bauru-SP (PBAU) and Selvíria-MS (PSEL), 31 years after planting. The genetic parameters were estimated according to the REML/BLUP (Restricted maximum likelihood/Best Linear Unbiased Prediction) method using a mixed linear model. The progeny tests detected genetic variation. In PSEL, more positive genetic correlations and a greater number of clusters were observed. Based on the heartwood/sapwood ratio, a higher genetic gain was predicted for PBAU, and for the basic wood density, the genetic gain of the populations was approximately the same. Consequently, the areas of the two progeny tests may be used as future seed orchards to ensure wood quality and long-term *ex situ* conservation.

**Keywords:** Cerrado, genetic conservation, genetic variation, risk of extinction, tree breeding, seed orchard.

Artigo científico publicado como coautora: neste estudo foi mostrado que há controle genético em caracteres relativos à qualidade da madeira em *M. urundeuva*, com base na avaliação de progênies de geração 1 instaladas em banco ativo de germoplasma e por meio de análises estatísticas com modelos lineares mistos (Riva *et al.*, 2020).



Capítulo de livro publicado como coautora: neste capítulo apresentamos o resultado do levantamento de informações aprofundadas sobre a espécie arbórea *Calophyllum brasiliense* (guanandi) para potenciais atividades de silvicultura no Brasil (Ciriello et al., 2021). E-book gratuito disponível em: <https://www.laboratorioementesemudas.com/> (último acesso em 18 de julho de 2021).



Capítulo de livro publicado como coautora: neste capítulo apresentamos o resultado do levantamento de informações aprofundadas sobre a espécie arbórea *Cariniana legalis* (jequitibá-rosa) para potenciais atividades de silvicultura no Brasil (Ciriello et al., 2021). E-book gratuito disponível em: <https://www.laboratoriosementesemudas.com/> (último acesso em 18 de julho de 2021).



Capítulo de livro publicado como coautora: neste capítulo apresentamos o resultado do levantamento de informações aprofundadas sobre a espécie arbórea *Cordia trichotoma* (louro-pardo) para potenciais atividades de silvicultura no Brasil (Ciriello et al., 2021). E-book gratuito disponível em: <https://www.laboratoriosementesemudas.com/> (último acesso em 18 de julho de 2021).

## ANEXOS

**Anexo 1A: Protocolo de extração de DNA genômico a partir de folhas de *Myracrodruon urundeuva*, adaptado de Souza et al., 2017.**

1. Pré-aquecer 750  $\mu$ L de tampão de extração a 65 °C em banho maria.

Tampão de extração de DNA

<b>PVP-40</b>	<b>6 g</b>
<b>CTAB</b>	<b>3 g</b>
<b>NaCl 5M</b>	<b>42 mL</b>
<b>EDTA 0,5M</b>	<b>6 mL</b>
<b>Tris-HCl 1 M ph 8,0</b>	<b>15 mL</b>

*Observação: apenas no momento do uso → para cada mL do tampão de extração de DNA, acrescentar :*

*- 2  $\mu$ L de beta mercaptoetanol*

*- 3  $\mu$ L de Proteinase-K (10 mg/L)*

2. Adicionar a amostra macerada (20 discos) no tampão pré-aquecido e inverter gentilmente para homogeneizar.

3. Incubar as amostras a 50 °C por 30', elevar a 65 °C por 1 h, homogeneizando a cada 10'.
4. Adicionar 500 µL de clorofórmio-álcool-isoamílico (CIA) (24:1) e homogeneizar invertendo gentilmente por 8' ou no agitador de tubos.
5. Centrifugar a 5.000 xg a 20 °C por 10', coletar o sobrenadante e alocar em microtubo limpo.
6. Coletar a fase aquosa (superior), transferir para o novo microtubo e adicionar 400 µL de isopropanol gelado, homogeneizando gentilmente para precipitação dos ácidos nucleicos.

*Observação: Esta é uma fase conveniente para uma parada (overnight) em temperatura ambiente ou freezer por 1 h em isopropanol.*

7. Recuperação do DNA: centrifugar a solução em alta velocidade (10.000 xg) por 10'. Descartar o sobrenadante. Atenção: não descartar o precipitado (pellet).
8. Adicionar 500 µL de etanol 70% para soltar o *pellet* da parede do microtubo e centrifugar a 12.000 rpm por 5'.
9. Descartar o etanol 70% e repetir a etapa.



10. Descartar o etanol 70%. Acrescentar 500  $\mu\text{L}$  de etanol 100% e centrifugar a 12.000 rpm por 5'.
  
11. Descartar o etanol 100% e deixar secar bem.
  
12. Ressuspender o *pellet* em 44  $\mu\text{L}$  de TE (10 mM Tris-HCl pH 7,4 + 1 mM EDTA) e 6  $\mu\text{L}$  de RNase (110  $\mu\text{g}$  por mL). Incubar por 30' a 37 °C em banho-maria.