



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO**  
**FACULDADE DE ENGENHARIA FLORESTAL**  
**Pós-graduação em Ciências Florestais e Ambientais**

**DISTRIBUIÇÃO ESPACIAL E DIVERSIDADE GENÉTICA**  
**EM POPULAÇÃO DE *Mezilaurus itauba* (Meisn.) Taub.**  
**ex Mez.**

**Alexandre Ebert**

**CUIABÁ-MT**

**2014**

**Alexandre Ebert**

**DISTRIBUIÇÃO ESPACIAL E DIVERSIDADE GENÉTICA EM  
POPULAÇÃO DE *Mezilaurus itauba* (Meisn.) Taub. ex Mez.**

**Orientador: Prof. Dr. Reginaldo Brito da Costa**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências Florestais e Ambientais da Faculdade de Engenharia Florestal - Universidade Federal de Mato Grosso, como parte das exigências para obtenção do título de Mestre em Ciências Florestais e Ambientais.

**CUIABÁ-MT**

**2014**

### Dados Internacionais de Catalogação na Fonte.

E16d Ebert, Alexandre.  
Distribuição espacial e diversidade genética em  
população de *Mezilaurus itauba* (Meisn.) Taub. ex. Mez. /  
Alexandre Ebert. -- 2014  
ix, 76 f. : il. color. ; 30 cm.

Orientador: Reginaldo Brito da Costa.  
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Mato  
Grosso, Faculdade de Engenharia Florestal, Programa de  
Pós-Graduação em Ciências Florestais e Ambientais,  
Cuiabá, 2014.  
Inclui bibliografia.

1. Função K de Ripley. 2. Manejo florestal. 3.  
Biodiversidade. 4. Conservação genética. 5. Marcadores

Ficha catalográfica elaborada automaticamente de acordo com os dados fornecidos pelo(a)  
autor(a).

**Permitida a reprodução parcial ou total, desde que citada a fonte.**



**FACULDADE DE ENGENHARIA FLORESTAL**  
**Programa de Pós-graduação em Ciências Florestais e Ambientais**

**CERTIFICADO DE APROVAÇÃO**

**Título: "Distribuição espacial e diversidade genética em população de *Mezilaurus itauba* (Meinz.) Taub. Ex. Mez."**

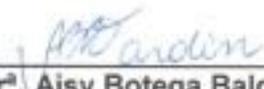
**Autor: Alexandre Ebert**

**Orientador: Reginaldo Brito da Costa**

**Aprovado em 25 de fevereiro de 2014.**

**Comissão Examinadora:**

  
\_\_\_\_\_  
**Prof. Dr. Ronaldo Drescher**  
**UFMT**

  
\_\_\_\_\_  
**Dr. Aisy Botega Baldoni Tardin**  
**EMBRAPA**

  
\_\_\_\_\_  
**Prof. Dr. Reginaldo Brito da Costa**  
**UFMT (Orientador)**

## **Dedicatória**

AO MEU FILHO CAUÊ ALEXANDRE  
E MINHA QUERIDA FLÁVIA FRIPP.

## **Agradecimentos**

Agradeço a todos que de alguma forma colaboraram na execução deste trabalho, em especial:

À Universidade Federal de Mato Grosso que proporcionou a oportunidade de poder cursar e desenvolver minhas pesquisas de mestrado;

Ao grande mestre, orientador e amigo Prof. Dr. Reginaldo Brito da Costa;

Aos Professores do Programa de Pós Graduação em Ciências Florestais e Ambientais: Dr. Ronaldo Drescher, Sidney Fernando Caldeira; Roberto Antonio Ticle de Melo e Souza, Diego Tyszka Martinez, Gilvano Ebling Brondani, Joadil Gonçalves de Abreu, Pedro Hurtado de Mendonza Borges, Maria Corette Pasa, Gustavo Manzon Nunes, Antonio de Arruda Tsukamoto Filho, Otávio Peres Filho, Alberto Dorval, pela paciência e virtude da didática;

Ao Prof. Dr. Luciano Nakazato pela disponibilização da estrutura de Laboratório de Molecular da FAMEV;

A Msc. Adriana Contini pela parceria e apoio laboratorial;

Ao meu pai Afonso, minha querida mãe Anna, meus irmãos Sandro e Keli, pelo apoio e laços familiares, estrutura básica para o sucesso;

A Dra. Aidy Botega Baldoni Tardin e Dr. Ronaldo Drescher pelo apoio e participação na banca examinadora;

Aos parceiros e colegas de mestrado André, Zé Guilherme, Leandro, Evaldo, Edson, Marcos, Jeane, Bruna Ribeiro, Bruna Maria, Diana, Ivani e Valdiclei pela paciência e apoio.

Ao Dr. James Moura pelo apoio nas análises estatísticas;

Ao colega Italo Lenzi pelo apoio e companheirismo;

Enfim a todos que participaram de forma direta ou indireta para a conclusão de mais uma etapa na minha vida.

## Sumário

|   |           |
|---|-----------|
| <b>1 INTRODUÇÃO GERAL.....</b>                                      | <b>10</b> |
| <b>2 OBJETIVOS.....</b>   | <b>14</b> |
| 2.1 OBJETIVO GERAL.....   | 14        |
| 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....                                      | 14        |
| <b>3 CARACTERIZAÇÃO DA ÁREA EM ESTUDO .....</b>                     | <b>15</b> |
| 3.1 VEGETAÇÃO .....   | 15        |
| 3.2 CLIMA .....   | 16        |
| 3.3 SOLOS .....   | 17        |
| <b>4 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....</b>                                | <b>18</b> |
| 4.1 A ESPÉCIE: <i>MEZILAURUS ITAUBA</i> (MEISN.) TAUB. EX MEZ. .... | 18        |
| 4.2 PADRÕES DE DISTRIBUIÇÃO ESPACIAL DE ESPÉCIES ARBÓREAS.....      | 19        |
| 4.3 SISTEMA REPRODUTIVO DE ESPÉCIES ARBÓREAS .....                  | 20        |
| 4.4 DIVERSIDADE GENÉTICA EM ESPÉCIES ARBÓREAS .....                 | 24        |
| 4.5 CONSERVAÇÃO GENÉTICA EM ESPÉCIES ARBÓREAS.....                  | 26        |
| 4.6 MARCADORES MOLECULARES.....                                     | 27        |
| <b>5 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>                           | <b>29</b> |
| <b>CAPÍTULO 1.....</b>  | <b>37</b> |
| <b>1 INTRODUÇÃO .....</b>   | <b>39</b> |
| <b>2 MATERIAL E MÉTODOS.....</b>                                    | <b>42</b> |
| 2.1 COLETA DE DADOS .....   | 42        |
| 2.2 ANÁLISE DOS DADOS .....   | 43        |
| <b>3 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>                               | <b>45</b> |
| 3.1 PADRÕES ESPACIAIS PARA AS CLASSES DE TAMANHO .....              | 46        |
| 3.1.1 DISTRIBUIÇÃO PONTUAL .....                                    | 46        |
| 3.1.2 PADRÃO DE DISTRIBUIÇÃO PELA FUNÇÃO K DE RIPLEY .....          | 49        |
| <b>4 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>                           | <b>57</b> |
| <b>CAPÍTULO 2.....</b>  | <b>60</b> |

|   |           |
|---|-----------|
| <b>1 INTRODUÇÃO .....</b>                 | <b>62</b> |
| <b>2 MATERIAL E MÉTODOS.....</b>          | <b>64</b> |
| 2.1 COLETA DO MATERIAL BOTÂNICO .....     | 64        |
| 2.2 EXTRAÇÃO DE DNA .....                 | 67        |
| 2.3 AMPLIFICAÇÃO DO DNA – PCR .....       | 69        |
| 2.4 ELETROFORESE .....                    | 71        |
| 2.5 INTERPRETAÇÃO DOS GÉIS.....           | 72        |
| 2.6 ANÁLISE DOS DADOS RAPD .....          | 72        |
| 2.6.1 DIVERSIDADE GENÉTICA .....          | 73        |
| 2.6.2 NÍVEIS DE POLIMORFISMO.....         | 74        |
| <b>3 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>     | <b>74</b> |
| 3.1 EXTRAÇÃO DO DNA GENÔMICO .....        | 74        |
| 3.2 DIVERSIDADE GENÉTICA .....            | 76        |
| <b>4 CONCLUSÕES .....</b>                 | <b>81</b> |
| <b>5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b> | <b>82</b> |

## Lista de Equações

|                |    |
|----------------|----|
| Equação 1..... | 73 |
| Equação 2..... | 73 |
| Equação 3..... | 74 |
| Equação 4..... | 74 |

## Lista de Figuras

|   |    |
|---|----|
| Figura 1 - Mapa de localização da área em estudo. ....  | 15 |
| Figura 2 - Fluxograma do procedimento e etapas da pesquisa. ....  | 44 |
| Figura 3 - Mapa de distribuição pontual geográfica de todas as árvores da espécie <i>Mezilaurus itauba</i> inventariadas na área em estudo. Observa-se que em todas as faixas foram obtidos dados de indivíduos que demonstra a frequência de 100%. ....  | 45 |
| Figura 4 - Histograma da abundância absoluta da distribuição diamétrica nos indivíduos da população de <i>Mezilaurus itauba</i> inventariados para o estudo do padrão de distribuição espacial, o eixo Y refere-se ao número total de indivíduos nas respectivas classes diamétricas eixo X. Classe I DAP 30-40; classe II 40,1-50; classe III 50,1-60; classe IV 60,1-70; classe V 70,1-80; classe VI 80,1-90; classe VII 90,1-100; classe VIII 100,1-110; classe IX > que 110. .... | 46 |
| Figura 5 - Mapa de distribuição espacial para o total de eventos (229 árvores), jovens e adultas utilizando o raio em diferentes escalas. Verifica-se uma irregularidade na distribuição dos indivíduos, alguns aglomerados e outros dispersos o que indica uma competição inerespecífica na comunidade. ....   | 47 |
| Figura 6 – Distribuição espacial para os indivíduos adultos inventariados (156 árvores) para o estudo dos padrões espaciais da população estudada. ....   | 48 |
| Figura 7 - Mapa de distribuição espacial utilizando o raio em diferentes escalas, para os eventos classificados como árvores jovens (73 eventos) de <i>Mezilaurus itauba</i> . ....   | 49 |
| Figura 8 - Função K (eixo y) de Ripley para diferentes distâncias das árvores de corte e remanescentes inventariados de   |    |

*Mezilaurus itauba*, ( a ) L = 10 m; ( b ) L = 20 m; e ( c ) L = 30 m. As linhas pontilhadas correspondem aos limites (inferior e superior) de confiança, a linha cheia corresponde às simulações realizadas dentro da população. .... 51

Figura 9 - Função K de Ripley univariada para diferentes distâncias (L) dos indivíduos jovens inventariados de *Mezilaurus itauba*, ( a ) L = 10 m; ( b ) L = 20 m; e ( c ) L = 30 m. .... 53

Figura 10 - Função K de Ripley univariada para diferentes distâncias (L) dos indivíduos adultos inventariados de *Mezilaurus itauba*, ( a ) L = 10 m; ( b ) L = 20 m; e ( c ) L = 30 m. .... 56

Figura 11 - Distribuição dos indivíduos de *Mezilaurus itauba* (Meisn.) Taub. ex Mez distribuídos pelo polígono da população estudada. .... 64

Figura 12 - Imagens da coleta de material botânico de *Mezilaurus itauba* (Meisn.) Taub. ex Mez. (a) coleta de folhas jovens; (b) coleta direta de lenho cambial em solo. .... 65

Figura 13 - Em "a" e "b" Processo de maceração dos tecidos utilizados para a extração do DNA da espécie *Mezilaurus itauba*. .... 68

Figura 14 - Em "a" e "b" Microtubos com visualização da solução aquosa com estágios sobrenadantes que concentra o DNA, e imagem do pellet de DNA formado no fundo do microtubo. 68

Figura 15 - Em "a" e "b" Gel de agarose e brometo de etídio com orifícios inoculados com amostras de DNA e vista da cuba horizontal utilizada para as corridas em eletroforese. .... 69

Figura 16 - Painel de controle do PCR, com configurações do protocolo de amplificação das amostras de DNA de *Mezilaurus itauba* (Meisn.) Taub. ex Mez. .... 70

Figura 17 - Posição e distribuição espacial dos indivíduos de *Mezilaurus itauba* (Meisn.) Taub. ex Mez na população estudada. Pontos vermelhos árvores adultas e pontos azuis árvores jovens. .... 75

Figura 18 - Agrupamento dos fragmentos de DNA revelados em 29 acessos de *Mezilaurus itauba* (Meisn.) Taub. ex Mez. através das distâncias euclidianas pelo método de

|  |    |
|--|----|
| agrupamento hierárquico completo (Complete Linkage) com linha de corte destacada (pontilhada) estimada em 55%. ..  | 79 |
| Figura 19 - Dispersão das amostras de <i>Mezilaurus itauba</i> utilizando a distância de Mahalanobis D2 pela técnica estatística multivariada baseado na minimização das diferenças entre as distâncias originais..... | 80 |

### Lista de Tabelas

|   |    |
|---|----|
| Tabela 1 - Listagem de classes dendrométricas.....  | 64 |
| Tabela 2 - Relação descritiva de localização das árvores amostradas para a coleta de material botânico para os estudos de análise genética em população de <i>Mezilaurus itauba</i> . (*) amostras em que não se conseguiu extrair o DNA. ....                        | 65 |
| Tabela 3 - Iniciadores ( <i>primers</i> ) utilizados para amplificação das amostras de DNA da espécie <i>Mezilaurus itauba</i> . ....   | 71 |
| Tabela 4 - Sequência dos oligonucleotídeos utilizados nas reações PCR RAPD com a respectiva sequência; número de bandas totais e polimórficas e o percentual de polimorfismo. ....  | 76 |
| Tabela 5 - Agrupamento dos genótipos pelo método de Tocher de 18 genótipos de <i>Mezilaurus itauba</i> (Meisn.) Taub. ex Mez. provenientes da população estudada, discriminados a 55% de similaridade genética, utilizando as medidas das distâncias euclidianas..... | 79 |

## RESUMO GERAL

Os distúrbios causados pela antropização de áreas naturais causam fortes alterações na estrutura original da floresta, aumentam o grau de isolamento entre indivíduos afetando o sistema reprodutivo das populações. Diversos processos estão relacionados à distribuição espacial dos indivíduos de uma população, sendo que estes processos refletem na diversidade genética da população. Do ponto de vista genético qualquer alteração no ambiente poderá influenciar nos padrões da estrutura genética, sendo que a extinção de uma espécie é etapa final de um longo processo de declínio ecológico que passa pela perda da diversidade genética. No presente estudo avaliaram-se os padrões espaciais pontuais não homogêneos e a diversidade genética dentro de uma população natural fragmentada de *Mezilaurus itauba*, buscou-se estabelecer os objetivos de modo que se conclui com a afirmação da hipótese de que as alterações dos padrões de distribuição espacial de indivíduos exercem influência direta na estrutura genética da população. A avaliação dos padrões de distribuição espacial para a espécie foi testada através da função K proposta por Ripley e buscou-se associar a diversidade genética através de análise de agrupamentos estatísticos. Os resultados indicam que a população estudada apresenta padrões de distribuição aleatório com tendência a agregado para as árvores adultas, e de completa aleatoriedade espacial para as árvores jovens. Na análise genética verificou-se uma distribuição da diversidade entre os indivíduos jovens e adultos, porém alelos observados entre as árvores adultas não foram observados entre as árvores jovens, o que indica que na exploração das espécies adultas alelos importantes poderão ser perdidos. O trabalho conclui a afirmação de que estudos da diversidade genética de população são de suma importância para a definição de estratégias de conservação das espécies exploradas economicamente na Amazônia meridional brasileira.

Palavras chave: Função K de Ripley; Manejo florestal; Biodiversidade; Conservação genética; Marcadores moleculares.

## ABSTRACT

The disturbances caused by human disturbance of natural areas cause strong changes in the original structure of a forest, increase the degree of isolation between individuals affecting the reproductive system of populations. Several processes are related to the spatial distribution of individuals in a population, and that these processes reflect the genetic diversity of the population. From a genetic perspective any changes in the environment may influence the patterns of genetic structure, and the extinction of a species is the final step in a long process of ecological decline that passes through the loss of genetic diversity. In the present study evaluated the inhomogeneous spatial point patterns and genetic diversity within a natural population of fragmented *Mezilaurus itauba*, we sought to establish the objectives so that concludes with the statement of the hypothesis that changes in the patterns of spatial distribution individuals exert direct influence on the genetic structure of the population . The evaluation of the spatial distribution of the species was tested by K function proposed by Ripley and sought to associate genetic diversity through analysis of statistical groupings. The results indicate that the studied population presents patterns of random distribution with a tendency to aggregate for adult trees, and complete spatial randomness for the young trees. In genetic analysis showed a distribution of diversity among young people and adults, but alleles observed among adult trees were not observed between the young trees, which indicate that the operation of adult species important alleles may be lost. The paper concludes the statement that studies the genetic diversity of the population is of paramount importance for the development of strategies for the conservation of species exploited economically in the southern Brazilian Amazon.

Keywords: Ripley K function; Forest Management, Biodiversity, Conservation Genetics, Molecular Markers.

## 1 INTRODUÇÃO GERAL

Vários esforços científicos têm sido conduzidos para se reduzir à perda de biodiversidade e a conservação das florestas tropicais. A demanda por terras agricultáveis, a exploração madeireira e a expansão das áreas urbanas têm contribuído de forma substancial para o aumento da degradação das florestas tropicais.

Avaliar o estado original da floresta natural, estabelecendo metodologias de análises da dinâmica espacial, das mudanças na composição da estrutura ecológica e genética das espécies, das alterações espaciais com o ingresso e mortalidade de indivíduos de uma população em comunidades, em seus níveis de biodiversidade e diversidade genética entre e dentro das populações, pode subsidiar novas técnicas de condução das práticas de manejo, e com isso estabelecer normas de exploração condizentes a resiliência não somente do ambiente sobre intervenção, mas sobre a capacidade tampão das populações de espécies exploradas.

As práticas do manejo florestal ainda são muito recentes em áreas de floresta amazônica. As informações obtidas até então são insuficientes para atingir a sustentabilidade esperada no que concerne à manutenção da biodiversidade do ecossistema florestal posto a sucessivos ciclos de corte (KANASHIRO et al., 2002; SILVA et al., 2004; MMA, 2011). A maioria das análises para o manejo florestal se detém a parâmetros dendrométricos e ecológicos na dinâmica temporal, o que lança a hipótese de que podem não oferecem subsídios suficientes para o entendimento do comportamento das espécies na redução da densidade, alterações na estrutura espacial e no componente genético (MORAES, 1999; SEBBENN et al., 2000; CLARKE & YOUNG, 2000; CUNHA, 2003).

Os distúrbios causados pela antropização de áreas naturais modificam fortemente a estrutura das florestas tropicais, causando a redução da densidade entre espécies e conseqüentemente afetam o

sistema reprodutivo, aumentando o grau de isolamento espacial entre indivíduos de uma mesma espécie, alteram o fluxo de pólen entre e inter populações e podem causar endogamia (FUCHS, et al 2003; SEBBEN, 2011).

Diversos processos ecológicos estão relacionados à distribuição espacial de indivíduos de uma população em uma comunidade, as síndromes de polinização e de dispersão de sementes, as relações intra e interespecífica como competição e a heterogeneidade edafoclimática, estabelecem a estrutura genética espacial de uma população (EPPERSON, 1992).

Em um primeiro momento, logo após intervenções de exploração madeireira, o número de espécies em área manejada sofre acentuada redução, e posteriormente, percorridos alguns anos, ocorre aumento significativo na diversidade (CLARK, 1990; SILVA, 2004; GREY & HE, 2009; RICE et al., 2012), com isso espécies menos adaptáveis tendem a sofrer prejuízos devido as relações de competição entre espécies tidas como oportunistas, podendo afetar diretamente a manutenção de populações de espécies amplamente exploradas.

Do ponto de vista genético a definição dos processos evolutivos corresponde a qualquer alteração das frequências alélicas da população, objetivando torná-la mais adaptada às alterações naturais ou antrópicas (RAMALHO, et al., 2008). Conforme Primack e Rodrigues (2001) a variabilidade genética é importante na medida em que permite que as populações se adaptem a um ambiente em transformação. A extinção de uma espécie é a etapa final de um longo processo de declínio ecológico, passando pela perda da diversidade genética e conseqüentemente nos processos de adaptação as novas condições (BOYLE, 1996).

A *Mezilaurus itauba*, foi escolhida por ser uma das espécies florestais atualmente mais exploradas em planos de manejo. Trata-se de uma espécie arbórea que pertence à família Lauraceae, sendo que no Brasil é popularmente conhecida como itaúba (APARICIO, 2011, LORENZI, 1998). Possui alta resistência física e mecânica, o que a torna muito utilizada em construções nas diferentes categorias industriais, infra-

estrutura e civil (IBAMA, 1997). Estas características determinam seu alto valor comercial e a colocam como uma das espécies mais exploradas na região amazônica, sendo incluída na categoria das espécies classificadas como vulnerável na listagem da flora ameaçada de extinção pela União Internacional para Conservação da Natureza (IUCN, 2012).

A itaúba é a quinta essência madeireira mais explorada no estado do Mato grosso. Somente no ano de 2012, 70.453,4773 m<sup>3</sup> de madeiras exploradas em áreas de floresta natural, ou seja, cerca de 4,82 % de toda madeira explorada no Mato Grosso (SEMA, 2012). Apesar desses dados oficiais do governo do estado estimarem uma precisão, Zenid (2009) estima que entre 43% e 80% da madeira explorada na Amazônia brasileira é extraída de forma clandestina e ilegal, o que pode tornar esses números ainda maiores.

Os modelos de exploração das florestas naturais adotados na Amazônia consideram a estrutura inicial da floresta, através da produtividade e a distribuição espacial das árvores da comunidade não prevendo esses parâmetros a população de espécies (SEVERIANO et al, 2011), de um modo geral isso propõe generalização contínua no processo exploratório e desconsidera as especificidades de cada espécie (AZEVEDO, 2007), no entanto, a dinâmica específica é própria e se detém a estruturas particulares de cada espécie, que implica em crescimento, mortalidade e sistemas reprodutivos diferenciados (SILVA, 2010).

Entender as relações ecológicas e genéticas torna-se essencial para estratégias de conservação, melhoramento e manejo sustentável, com adequações as especificidades das espécies (KAGEYAMA, 2003).

O sistema reprodutivo das espécies arbóreas é um dos fatores mais decisivos para que a variabilidade genética entre indivíduos de uma população seja mantida. Populações que apresentam fecundação cruzada têm maiores possibilidades de aumentar a variabilidade genética sem adição de novos genes quando comparados a população de indivíduos que realizam a auto-fecundação (BORGES et al., 2009).

A disponibilização de tecnologias que permitem estudar características ecológicas associadas à composição genética das

florestas tem proporcionado um novo cenário para as técnicas de manejo florestal, silvicultura e conservação em vários tipos de ecossistemas, composição florística, biodiversidade e complexidade estrutural, contudo os conhecimentos acumulados até então ainda são insuficientes para garantir a produção sustentada e manter a biodiversidade do ecossistema florestal em sucessivos ciclos de corte (CUNHA, 2003).

Atualmente a disponibilização de softwares de SIG, pacotes estatísticos, técnicas de marcadores moleculares, tem proporcionado resultados mais aprofundados sobre a estrutura e composição genéticas das espécies florestais, e poderão definir estratégias específicas as práticas de manejo florestal estabelecendo subsídios à manutenção e conservação das espécies exploradas, objetivando a sustentabilidade predita nos planos de manejo florestal.

## **2 OBJETIVOS**

### **2.1 Objetivo Geral**

Analisar a estrutura dos padrões espaciais pontuais não homogêneos e a diversidade genética dentro de uma população natural fragmentada de *Mezilaurus itauba* (Meisn.) Taub. ex Mez.

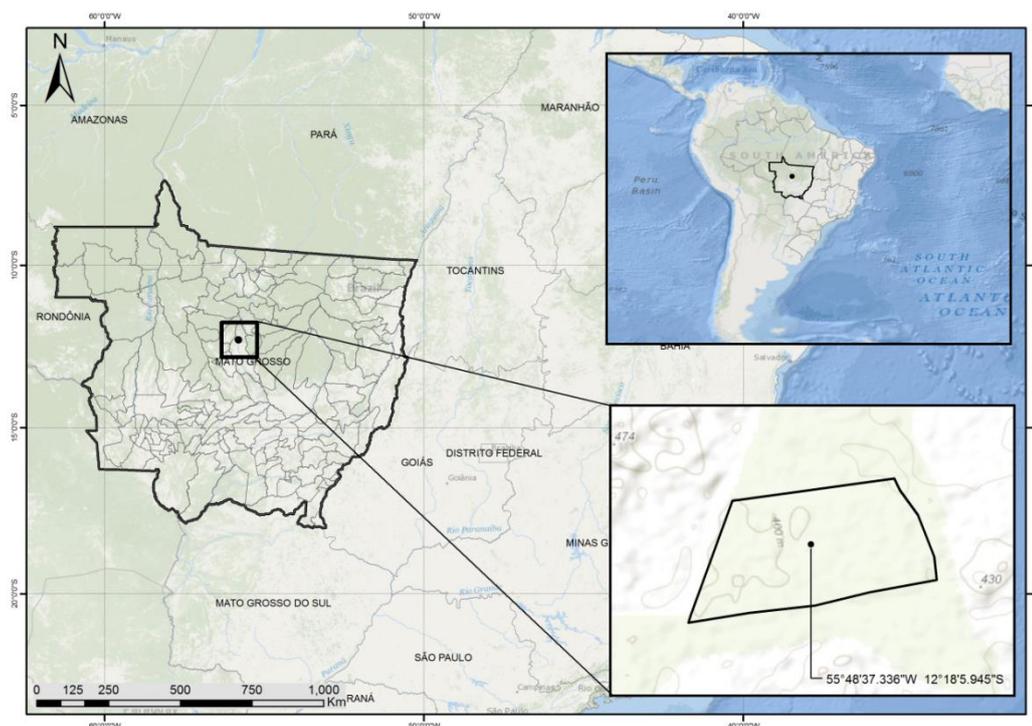
### **2.2 Objetivos Específicos**

- ✓ Determinar o padrão de distribuição espacial da espécie em estudo;
- ✓ Avaliar a diversidade genética da população estudada;
- ✓ Determinar a influência da distribuição espacial na manutenção da diversidade genética de *Mezilaurus itauba* (Meisn.) Taub. ex Mez

### 3 CARACTERIZAÇÃO DA ÁREA EM ESTUDO

#### 3.1 Vegetação

A área do presente estudo corresponde a 185,00 hectares localizada no município de Sorriso, região norte do estado de Mato Grosso, nas coordenadas geográficas DATUM SAD-69, 12° 18'05,945" S; 55° 48'37,336" W (Figura 1.). Refere-se a uma floresta de uma propriedade particular denominada Fazenda Santa Maria da Amazônia, inserida em uma região tipicamente agrícola considerada como a capital do agronegócio do Brasil (BRASIL, 2012).



**Figura 1** - Mapa de localização da área em estudo.

Inserida na sub-bacia hidrográfica do Teles Pires em uma vegetação tipicamente de transição entre cerrado e floresta amazônica, apresenta áreas de floresta com ampla ocorrência de espécies madeiráveis (BRASIL, 2012), muitas dessas degradadas pela exploração predatória ocorrida nas últimas décadas. Segundo RADAMBRASIL (1980)

essas florestas são classificadas como Floresta Estacional Semidecidual com Dossel Emergente, e trata-se de um tipo de vegetação condicionado à dupla estacionalidade climática, o que a compõe principalmente de árvores sempre verdes e ou de semidecíduas.

A forte pressão gerada pelo modelo desenvolvimentista adotado na região resultou em mosaicos de floresta fragmentada, uns mais isolados, e outros dispostos interligando áreas de preservação permanente principalmente de matas ciliares. Seguindo esse exemplo a floresta estudada corresponde a uma área fragmentada de floresta com ocorrência de espécies madeiráveis de grande valor comercial, a exemplo *Erisma uncinatum*, *Dipterix odorata*, *Apuleia* sp., e principalmente a *Mezilaurus itauba* sendo essa última, a espécie proposta para este estudo.

A área de estudo a exemplo de outras áreas de floresta fragmentada da região deverá ser explorada economicamente através de manejo florestal madeireiro. A proposta do proprietário é de explorar as madeiras comercialmente de modo que atenda as normas impostas pela legislação ambiental vigente. Como a coleta dos dados realizada para os estudos antecede a provável exploração madeireira, pretende-se realizar trabalhos posteriores as intervenções, ou seja, essa área poderá servir para pesquisas futuras sobre os efeitos do manejo na estrutura ecológica e genética da área em questão.

### **3.2 Clima**

O clima da região é classificado pelo sistema KOPPEN como do tipo AM, quente e úmido com chuvas do tipo monçônico. Trata-se de um tipo climático em transição entre o clima equatorial superúmido (Af) da Amazônia e o tropical úmido (Aw) do Planalto Central.

Conforme a carta de unidade climáticas do estado de Mato Grosso, três classificações ocorrem na região em que a área em estudo esta localizada (SEPLAN-MT, 2000). O clima equatorial continental úmido

com estação seca definida na depressão Sul Amazônica; Sub-Equatorial Continental Úmido do Planalto dos Parecis e; Tropical Continental Úmido com estação seca definida na depressão Sul Amazônica. As chuvas se distribuem entre os meses de novembro a abril, com precipitação média anual entre 1.800 a 2.100mm. A temperatura média anual ocorre entre 19,6°C a 31,9°C.

### **3.3 Solos**

O solo da propriedade a exemplo da região em que ela esta inserida é classificado como Latossolo Vermelho-amarelo distrófico; solos minerais, hidromórficos com horizonte B latossólico, cores normalmente vermelhas e vermelho-amareladas com teores de FeO (proveniente do ataque sulfúrico) iguais ou inferiores a 11% e normalmente acima de 7% quando os solos são argilosos e não concrecionários.

Segundo a carta geológica do estado de Mato Grosso (SEPLAN, 2011) a região em que a área de estudo se insere esta localizada sobre formação de superfícies paleogênicas peneplanizada com latossolização do período terciário, da era Cenozoica. Trata-se de paleossolos argilosos e argilo arenosos microagregados de coloração vermelho escura. Podendo apresentar na base crosta ferruginosa, raramente com nódulos concrecionarios de caulinita sotopostos as crostas ferruginosas.

A predominância do Latossolo vermelho amarelo distrófico por toda região, com horizonte A moderado, textura argilosa fase floresta equatorial subcaducifolia com relevo plano (IBGE, 1997).

## 4 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 4.1 A Espécie: *Mezilaurus itauba* (Meisn.) Taub. ex Mez.

Das várias espécies florestais potencialmente exploradas em regime de manejo florestal madeireiro, a *Mezilaurus itauba* é uma das mais importantes. Trata-se de uma espécie arbórea que pertence à família Lauraceae, sendo que no Brasil é popularmente conhecida como itaúba (APARICIO, 2011, LORENZI, 1998). Possui alta resistência mecânica e ao ataque de organismos xilófagos, o que a torna muito empregada em construções hidráulicas, pontes, laminações, postes, mobília de alta classe, pisos de veículos, construções náuticas e construção civil (IBAMA, 1997). Estas características determinam o alto valor comercial da espécie e a colocam como uma das mais exploradas da região amazônica, incluindo na categoria das espécies classificadas como vulnerável na listagem da flora ameaçada da União Internacional para Conservação da Natureza (IUCN, 2012).

Segundo Baitello (2001) os inventários botânicos têm revelado que a família Lauraceae, em termos florísticos e econômicos, está entre as famílias economicamente mais importantes, porém a identificação de suas espécies é tarefa difícil, principalmente a arquitetura floral ser complexa e de tamanho reduzido.

A itaúba pode alcançar até 40 m de altura e seu diâmetro pode chegar a 2 m, possui características ecológicas de espécies do grupo das climáticas característica e exclusiva da mata pluvial amazônica de terra firme, onde é abundante, porém com dispersão descontínua. O florescimento ocorre entre os meses de março a abril e os frutos amadurecem durante os meses de junho a agosto, sendo muito consumidos pela avifauna (LORENZZI, 1998).

A distribuição geográfica da itaúba se estende pela região amazônica, nos estados do Mato Grosso, Pará, Rondônia, Amazonas, Acre, Venezuela e Guianas (IUCN, 2012; LORENZZI, 1998).

Conforme Van Der Werff (1987), a espécie é uma árvore que atinge os 35 m de altura. Possui folhas reunidas no topo dos ramos, cartáceas ou coriáceas, glabras na maturidade, elípticas ou obovadas. Inflorescência axilar, subterminal. Flores pubescentes, frutos elipsoides com cúpula.

Amaral et al. (2009) citam a espécie como sendo de estágio sucessional secundário tardio com dispersão por zooscoria, desenvolvendo-se em floresta de terra firme, igapó e matas de várzea.

A propagação da espécie é realizada principalmente por meio de sementes, porém, a dificuldade em se obter sementes viáveis, associado à baixa taxa de germinação são fatores que limitam a produção de mudas. Além disso, as sementes são difíceis de serem coletadas, pois são amplamente consumidas por pássaros, insetos e fungos antes e após a maturação fisiológica.

A escassez de estudos sobre a botânica, ecologia, biologia reprodutiva, genética e comportamento silvicultural envolvendo a espécie *M. itauba*, contribui para a inexistência de mudas em viveiros. A adequação de técnicas de propagação vegetativa é sem dúvida, um passo importante para a conservação e o melhoramento genético dessa espécie. Martini et al. (1998) citam que a espécie possui características ecológicas específicas, que devido a grande pressão madeireira podem entrar em declínio populacional.

## **4.2 Padrões de Distribuição Espacial de Espécies Arbóreas**

O padrão de distribuição espacial de espécies arbóreas é uma das ferramentas de grande importância para o entendimento das interações ecológicas ocorridas em uma população ou comunidade florestal, sendo vital para a compreensão de como determinada espécie utiliza dos recursos disponíveis para se estabelecer e reproduzir-se em determinado espaço (CONDIT et al., 2000).

A distribuição espacial de indivíduos arbóreos é influenciada por vários fatores, dentre eles, destacam-se aqueles que controlam a densidade, como alelopatia e competição intra e interespecífica (DURIGAN et al., 2000; SILVA, 2012).

A análise dos padrões especiais é um método utilizado para se estimar os efeitos de competição entre indivíduos arbóreos responsáveis pela dinâmica de uma floresta. Permitem o conhecimento dos processos espaciais relacionados com o sistema reprodutivo, estabelecimento e desenvolvimento das espécies sobre regime exploratório (CUNHA, 2003), auxiliam os processos de amostragem e monitoramento das espécies florestais em unidades de conservação e sobre manejo (ANJOS, 1998). É fundamental para o entendimento das causas, modos e taxas nas síndromes de polinização e dispersão de sementes (REIS, 1995).

O arranjo espacial de indivíduos de uma população em uma área pode ser em grupos formando manchas com indivíduos próximos entre si resultando em um padrão de distribuição espacial agregado, regularmente distribuídos nos intervalos de espaço como em reflorestamentos comerciais, e completamente ao acaso com posição espacial em que cada indivíduo é independente da posição de todos.

### **4.3 Sistema Reprodutivo de Espécies Arbóreas**

A reprodução em espécies arbóreas ocorre de dois modos sendo; sexual onde ocorre a fusão de gametas (meiose) para formação do embrião e posterior semente, e assexual ou vegetativa onde a formação de novas plantas ocorre através de órgãos vegetativos especializados, ou seja, as plantas se originam por divisão celular (mitose) em órgãos vegetativos como tubérculos, raízes, estacas, meristemas etc.

As plantas em que ocorre a fusão de gametas, ou de reprodução sexual, são classificadas entre as autógamas, mistas e

alógamas. As autógamas são aquelas que preferencialmente (acima de 95%) realizam a autofecundação e são caracterizadas pela homozigose. As plantas alógamas, necessariamente realizam polinização cruzada, onde o grão de pólen de uma planta fertiliza o óvulo de uma flor de outra planta, são caracterizadas pela heterozigose e endogamia. As plantas de sistema reprodutivo mistas, também denominadas intermediárias, são as espécies que realizam fecundação cruzada e autofecundação simultânea (EBERT et al., 2012, COSTA et al., 2003).

Em espécies hermafroditas, o sistema de reprodução é determinado por fatores genéticos, como grau de incompatibilidade, e fatores ecológicos, como hábito do polinizador, fenologia floral, aborto seletivo de frutos e densidade da população (MURAWSKI & HAMRICK, 1992).

Os estudos sobre o sistema reprodutivo de espécies arbóreas é de essencial importância para o entendimento das interações ecológicas promovidas no ambiente floresta. A composição da estrutura genética das populações é diretamente influenciada pelo sistema de cruzamentos e fluxo gênico. Desse modo, determinam como as espécies se reproduzem diretamente, fornecendo subsídios para programas de melhoramento, conservação genética e manejo sustentável. O modo de reprodução de uma espécie e o seu sistema de cruzamento determinam como a variabilidade genética se organiza no espaço e no tempo.

Seoane et al. (2000), estudando o sistema reprodutivo e o fluxo gênico em populações de espécies arbóreas florestais verificou que a redução do habitat natural e consequente isolamento espacial, apresentavam consequências negativas no sistema reprodutivo.

Costa & Scariot (2003) relatam que populações de espécies nativas vegetando em áreas de contínuo processo de fragmentação podem desenvolver estratégias de sistema reprodutivo misto.

Uma das mais significativas características da reprodução sexuada em plantas é que esse mecanismo produz uma enorme variabilidade genética nas populações naturais, o que, até certo ponto, ajuda na manutenção dessa variabilidade (RAVEN et al, 2007).

Seoane et al. (2000) citam que o sistema reprodutivo é determinante na distribuição da variabilidade genética entre e dentro das populações, pois determinam a forma de cruzamento e as síndromes de dispersão de pólen e sementes. Tais fatores permitem explicar o comportamento dos alelos nas populações.

Segundo Hamrick et al. (1993) a densidade das árvores em uma população natural, ou o espaçamento destas em um pomar de sementes, influencia o número de genitores masculinos que podem participar de um cruzamento, sendo que a frequência de fecundações cruzadas, em plantas com sistema misto de cruzamento (plantas que combinam alogamia e autogamia em diferentes proporções) tendem a ser mais altas em populações mais densas (ADAMS et al. 1989).

A caracterização do sistema de cruzamento, permitem o delineamento de estratégias que otimizem a amostragem da variabilidade genética e a adoção de modelos genéticos e estatísticos apropriados para a estimativa de parâmetros genéticos. As espécies alógamas mantêm a maior parte da sua variação genética dentro das suas populações, enquanto que, em espécies autógamias, esta variação encontra-se entre populações (HAMRICK et al 1993). O sistema misto de reprodução, por sua vez, prediz variabilidade genética intermediária entre espécies de autofecundação e alógamas, sendo o potencial de diferenciação entre populações variável em função do balanço dessas duas formas de reprodução (LOVELESS & HAMRICK, 1984).

O sistema reprodutivo das espécies arbóreas pode ser caracterizado basicamente por dois modelos: o modelo aleatório e o modelo misto de reprodução. O modelo aleatório é o modelo de equilíbrio de Hardy-Weinberg e de acordo com Sebbenn (2001), este modelo demonstra o principal problema de transmissão dos genótipos em populações, ou seja, a distribuição das frequências gênicas surge de uma geração para outra.

A conjectura de cruzamentos aleatórios determina um padrão referencial, facultando comparações entre cruzamentos observados em populações experimentais. O modelo misto de reprodução é o mais usado para a avaliação do sistema de reprodução em plantas, utilizando

técnicas de marcadores genéticos, dividindo o processo de reprodução em dois componentes: cruzamentos aleatórios e autofecundação (CLEGG, 1980).

A fragmentação florestal tem reduzido à densidade entre e dentro de populações arbóreas, afetando diretamente o sistema reprodutivo das espécies. A pressão exploratória de espécies de interesse econômico, principalmente das madeireiras, podem alterar a biologia reprodutiva natural, interferindo no fluxo gênico dessas populações, alterando o tamanho populacional, e como consequência aumento da frequência de cruzamentos endogâmicos nas populações remanescentes.

O estudo do sistema reprodutivo pode fornecer informações importantes sobre os padrões de cruzamentos, a dinâmica dos processos microevolucionários e quais as melhores formas para a conservação e manejo dessas espécies.

O tamanho efetivo das populações ( $N_e$ ) é algo muito pouco conhecido e está intimamente ligado a manutenção da variabilidade genética. A extinção de populações abaixo do seu tamanho crítico se daria principalmente devido a endogamia e a incapacidade da população se refazer depois de um distúrbio ambiental. Assim, é importante entender quantos indivíduos adultos formam uma população mínima viável geneticamente a curto e longo prazo. Sebben (2005), cita que para espécies alógamas seria um parâmetro fundamental de definição de sustentabilidade. Nesse sentido um referencial internacional para reservas genéticas recomenda uma população de 500 indivíduos não aparentados, tradicionalmente esse número é embasado no tamanho efetivo de população ( $N_e$ ), e se refere ao número de indivíduos com determinada probabilidade para não ocorrência de problemas genéticos associados a deriva genética e endogamia.

Segundo Vencovsky (1992) através do tamanho mínimo de populações, aplicados a espécies de determinados grupos específicos, poder-se-ia identificar espécies indicadoras, que pudessem ser reconhecidas em quaisquer florestas tropicais.

#### **4.4 Diversidade Genética em Espécies Arbóreas**

A diversidade genética refere-se à variação dos genes dentro das espécies e sua estrutura corresponde à diversidade de genótipos e sua abundância ou a variação dentro das populações. Alta diversidade genética é vantajosa quando o ambiente é instável e imprevisível, pois permite a adaptação da população as intervenções naturais ou antrópicas através da seleção de genótipos (BERG, 2001).

Hamrick et al. (1992) relatam que os níveis de diversidade genética são mais elevados em espécies arbóreas do que em qualquer outro tipo de plantas, principalmente devido aos variados sistemas reprodutivos, síndromes de polinização, dispersão e retro cruzamentos.

Conhecer como a diversidade genética se distribui dentro das populações torna-se uma ferramenta imprescindível para a perpetuação das espécies sobre regime de manejo florestal, objetivando a certificação de que o tamanho dessa diversidade não reduza abaixo do limite mínimo tolerado (BOTREL & CARVALHO, 2004).

A importância da diversidade genética na perpetuação das espécies arbóreas é amplamente defendida, porém muitas vezes negligenciada. Os ganhos genéticos a um longo prazo dependerá diretamente da diversidade genética, que tende a ser prejudicada pela seleção intensiva em populações pequenas e fragmentadas. A resposta contínua da seleção em tais populações podem diminuir rapidamente se a reprodução for afetada por intensas explorações.

Uma das formas de se estudar a diversidade dentro das espécies vegetais é a diferenciação genética entre e dentro de populações (FERREIRA E GRATTAPAGLIA., 1998, TORRES et al., 2000; SANTOS et al., 2004).

A diversidade genética refere-se à variação dos genes dentro das populações de espécies, e sua estrutura corresponde à diversidade de genótipos e sua abundância ou a variação dentro das populações. Alta diversidade genética é vantajosa quando o ambiente é instável e

imprevisível, pois permite a adaptação da população às intervenções naturais ou antrópicas, através da seleção de genótipos (BERG, 2001).

A variabilidade genética em populações florestais é resultado do processo evolutivo, é caracterizada pela adaptação dos indivíduos ao meio. As mudanças na carga hereditária bem como as alterações no meio podem ocasionar fortes alterações genéticas, ao ponto de desenvolver uma nova espécie totalmente isolada e incompatível a qual lhe deu origem (PIRES et al., 2011).

Estudos de diversidade e autocorrelação genética espacial foram realizados em duas populações de *Ocotea odorífera* sob fragmentos florestais, sendo uma de 30 ha e outra de 166 ha, na região de mata atlântica no estado de São Paulo. Os resultados obtidos para a espécie estudada detectaram baixos níveis de divergência genética entre as duas populações e altos índices de diversidade genética intrapopulacional. Esses resultados representam a magnitude dos índices de diversidade e de fixação, e são comuns para espécies alógamas ou de sistema de cruzamento misto, entretanto a população do fragmento de 30 ha apresentou tendência a aleatoriedade na distribuição espacial dos genótipos, conquanto a população maior apresentou indícios de estruturação genética espacial para pequenas distancias (KAGEYAMA et al., 2003).

Vieira (2005) estudando a diversidade genética entre e dentro de populações de *Protium spruceanum* em remanescente e corredores de vegetação em Minas Gerais, verificou altos níveis de diversidade genética dentro e baixos índices entre as populações estudadas.

A distribuição da variabilidade genética entre e dentro de populações esta intimamente relacionada às síndromes de dispersão de pólen e sementes, ao sistema reprodutivo das espécies e aos fatores ambientais que influem nos padrões de distribuição dos indivíduos dentro de uma população considerada (COSTA & SCARIOT 2003, EPPERSON, 2003; SEBBEN et al., 2011).

Soares et al. (2008), avaliando o padrão espacial da variabilidade genética intrapopulacional de *Dipterix alata* por meio de marcadores moleculares RAPD verificaram que a espécie forma grupos

de vizinhança com estruturação endogâmica, ou seja, existe uma relação entre a agregação das árvores dentro das populações e o tamanho da área do grupo vizinho.

Sebbenn et al. (2000), estudando os efeitos do manejo florestal na estrutura genética de populações de *Tabebuia cassinoides*, verificaram através dos resultados obtidos que a exploração da espécie sobre regime de manejo causa a perda de alelos raros, redução da diversidade genética e aumento da endogamia.

#### **4.5 Conservação Genética em Espécies Arbóreas**

As regiões de floresta tropical no mundo estão sujeitas a exploração de seus recursos, inevitavelmente causarão a fragmentação florestal em diferentes ordens de magnitude (DOUROJEANNI e PÁDUA, 2001; BIERREGAARD et al., 1992). A fragmentação florestal provoca uma descontinuidade da distribuição biótica original, acarretando a redução de habitats disponíveis as plantas e animais (ROSADO & CARVALHO, 2001).

A caracterização da variabilidade genética e o conhecimento da dinâmica de fluxo dos alelos em uma população, fornecem subsídios necessários para a execução de estratégias que tratam de otimizar o aproveitamento em programas de melhoramento e de conservação genética (RAJORA, 1999). Para a perpetuação das populações naturais de espécies arbóreas, pressupõe-se a manutenção da dinâmica espacial e de sua estrutura genética, bem como as interações ecológicas da comunidade (TORIBIO & CELESTINO, 2000).

Ainda na década de 80 conceitos foram apresentados no sentido de estabelecer normas técnicas de conservação genética. A proposta de conservação genética é baseada em princípios consistentes em genética de populações, o que fornece subsídios necessários ao

conhecimento da variabilidade genética natural das espécies e sua distribuição entre e dentro das populações.

Roche & Dourojeanni (1984), definiram o significado de conservação *in situ* como sendo o local onde as plantas e seus genitores imediatos se desenvolvem, ou seja, a manutenção de um povoamento maduro e de sua regeneração natural seria considerada *in situ*. A conservação *ex situ* seriam povoamentos artificiais como plantios florestais com caráter de conservação, bem como materiais protegidos em herbários e bancos de germoplasma.

O principal objetivo da conservação *in situ* é a manutenção contínua do ecossistema, buscando conservar o germoplasma e a diversidade genética de populações naturais. A diversidade genética expressa a distinção entre as frequências alélicas nas populações (FALCONER, 1987), e o seu conhecimento permite estabelecer estratégias racionais de manutenção da variabilidade genética e da capacidade de evolução natural das populações de espécies (PAIVA, 1998).

#### **4.6 Marcadores Moleculares**

A amplificação das cadeias de DNA é um tema fascinante, que rendeu a Kary B. Mullis e Michael Smithe o prêmio Nobel de Literatura em 1993, pelo grande impacto científico do desenvolvimento das técnicas de Reação em Cadeia da Polimerase em 1985 (FERREIRA E GRATTAPAGLIA, 1998; NEWTON et al., 1999). Basicamente a PCR consiste da amplificação de fragmentos da molécula de DNA ou RNA localizado entre regiões de sequências conhecidas, as quais são flanqueadas por um par de oligonucleotídeos que hibridizam em direções opostas a sequência alvo (ROSADO & CARVALHO, 2001).

Através de ciclos repetidos de desnaturação, anelamento do *primer* e a extensão pela DNA polimerase, produz-se fragmentos em

escala exponencial, sendo que cada nova molécula sintetizada em um ciclo é utilizada como molde no ciclo seguinte (BORÉM, 2009).

O grande entrave ocorrido no passado no uso da PCR era a necessidade do conhecimento prévio sobre as sequências dos nucleotídeos. Os custos elevados para a obtenção de *primers* específicos limitavam a aplicação de novas técnicas (FERREIRA E GRATTAPAGLIA, 1998).

Um novo avanço na área de marcadores moleculares baseados em PCR ocorreu na década de 90, com a ideia da utilização de *primers* mais curtos e de sequência arbitrária para dirigir a reação da amplificação, sem a necessidade de conhecimento prévio da sequência alvo (FERREIRA E GRATTAPAGLIA, 1998; ROSADO & CARVALHO, 2001). Este processo foi desenvolvido paralelamente por dois grupos de cientistas, Williams et al, (1990) e Welsh & McClelland (1990); nos quais utilizaram-se de *primers* decâmeros como iniciador do processo de amplificação, reproduzindo um polimorfismo detectado sob forma de presença ou ausência de banda de DNA, sendo portanto, de expressão dominante (BORÉM, 2005).

A técnica ficou conhecida como RAPD (*Rapid Amplified Polymorphic DNA*), e tem sido amplamente utilizada para a construção de mapas genéticos, análises de diversidade genética em populações naturais, estudos em filogenia, identificação de variedades e bancos de germoplasma (HEINZE et al., 1996; BORÉM, 2005).

Os marcadores RAPD destacam-se entre os marcadores moleculares principalmente pela simplicidade na sua utilização, por serem aplicáveis a uma grande variedade de espécies e por permitir realizar-se análises em um grande número de locos (ZUCCHI, 2002)

A técnica de RAPD tem se mostrado eficiente para estudos de diversidade genética intraespecífica, proporciona uma análise segura, e reduz consideravelmente o tempo e conseqüentemente os custos no uso de marcadores moleculares para análises genéticas (TARDIM, 2001).

## 5 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADAMS, W.T. 1983 **Application of isoenzymes in tree breeding**. In: **Isoenzymes in plant genetics and breeding**. Part A. Tanksley, S.D. & Orton, T.J. (eds). Elsevier Science Publishers. Amsterdam. p. 60-64.

AMARAL, D.D.; VIEIRA, I.C.G.; ALMEIDA, S.S.; SALOMÃO, R.P.; SILVA, A.S.L.; JARDIM, M.A.G. **Checklist da flora arbórea de remanescentes florestais da região metropolitana de Belém e valor histórico dos fragmentos**. Pará, Brasil. Bol.Mus. Pará. Emílio Goeldi. Cienc. Nat. V.4, n.3, p. 231-289. 2009.

ANJOS, A. **Análise do padrão de distribuição espacial do palmitreiro (*Euterpe edulis*) utilizando a função K de Ripley**. 1998. 113 f. Dissertação (Mestrado) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, SP.

APARÍCIO, W. C. S. **Estrutura da Vegetação em diferentes ambientes na Resex do Rio Cajari: interações solo-floresta e relações com a produção de castanha**. 2011. 150 f. Tese (Doutorado em Ciência Florestal) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife-PE.

AZEVEDO, V. C. R. **Desenvolvimento e aplicações de microssatélites, análise de cpDNA e modelagem computacional para estudos da estrutura e dinâmica genética de maçaranduba – *Manilkara huberi* (Ducke) chev. Sapotacea**. 2007. 215f. Tese (doutorado em Biologia Molecular) – Universidade de Brasília, Brasília-DF.

BAKER, H.G. Reproductive methods as factors in speciation in flowering plants. **Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology** 24:177-191. 1959.

BAWA, K.S. Breeding systems of tree species of a lowland tropical community. **Society for the study of evolution**. v. 28. p. 85-92. 1974.

BERG, E.V.D. Estrutura e ecologia de comunidades e populações vegetais. Lavras: UFLA/FAEPE. **Curso de Pós Graduação “Lato sensu”: Gestão e Manejo Ambiental em Sistemas Florestais**. 29 p. 2001.

BIORREGAARD, J.R.; LOVEJOY, T.E.; KAPOV, V.; SANTOS, A.A.; HUTCHINGS, R.W. **The biological dynamics of tropical rainforest fragments**. *BioScience*. 42, 859-866. 1992.

BORGES, A.; ROSA, M.S.; RECCHIA, G.H. SILVA, J.R.Q.; BRESSAN, E. A.; VEASEY, E.A. CTAB methods for extraction of sweetpotato for microsatellite analysis. *Scientia Agricola*. Piracicaba, v.66, n.4, p. 529-534. 2009.

BORÉM, A.; CAIXETA, E. T. **Marcadores moleculares**. 2ª Ed. Viçosa, 2009. 532p.

BOTREL, M.C.G.; CARVALHO, D. **Variabilidade isoenzimática em populações naturais de jacarandá paulista (*Machaerium villosum* Vog)**. Revista Brasileira de Botânica, São Paulo, v27, n4, p.621-627, 2004.

BOYLE, T.J.B. CIFOR Research Programme on Conservation of Tropical Forest Genetic Resources. **CIFOR Working Paper** 1996. n. 9, 26 p.

BRASIL. **Lei número 12.724, de 16 de outubro de 2012**, Diário Oficial da União de 17/10/2012. Disponível em: [http://www.planalto.gov.br/ccivil\\_03/\\_Ato2011-2014/2012/Lei/L12724.htm](http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_Ato2011-2014/2012/Lei/L12724.htm). Acesso em 18/08/2013. Acesso em 28 jul. 2013.

BRASIL. **Manual técnico da vegetação brasileira**. 2 ed. Diretoria de Geociências. Departamento de Recursos Naturais e Estudos Ambientais. Rio de Janeiro: IBGE, 2012. 271p.

CLARK, A.G. **Inference of haplotypes from PCR-amplified samples of diploid populations**. Mol. Biol. Evol. 7: 111-122. 1990.

CLARKE, G.M. & YOUNG, A.G., Introduction: genetics, demography and the conservation of fragmented populations. In: Young, A.G. & Clarke, G.M. (ed) **Genetics, demography and viability of fragmented populations**. Cambridge University Press. 2000. P. 1-6.

CLEGG, M.T. Measuring plant mating systems. BioScience 30. P. 814-818. 1980.

COSTA, R.B.; SCARIOT, A. A Fragmentação florestal e os recursos genéticos – **Fragmentação florestal e alternativas de desenvolvimento rural na região Centro-Oeste**. In: COSTA, R.B. (org.). Campo Grande: UCDB, 2003. p. 53-70.

CONDIT, R.; ASHTON, P.; BAKER, P. Spatial patterns in the distribution of tropical tree species. **Science**. v. 288, p. 1414-1418, 2000.

CUNHA, U.S. **Análise da estrutura espacial horizontal de uma floresta de terra firme da Amazônia**. Curitiba, 2003, 126f. Tese (Doutorado em ciências florestais) – Setor de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Paraná. 2003.

DOUROJEANNI, M.J.; PÁDUA, M.T.J. Biodiversidade: a Hora decisiva. Curitiba: editora UFPR, 2001.

DURIGAN, G.; FRANCO, G. A. D. C.; MASAHIRO, S. & BAITELLO, J. B. Estrutura e diversidade do componente arbóreo da floresta na Estação Ecológica dos Caetetus, Gália, SP. **Revista Brasileira de Botânica**. v. 23(4), p. 371-383. 2000.

EBERT, A.; CABRAL, J.; SILVA, A.Z.C.; COSTA, R.B. 2012. Sistema Reprodutivo de espécies florestais com utilização de marcadores moleculares. In: Maria Corette Pasa (org.). **Múltiplos olhares sobre a biodiversidade**. Jundiaí, SP. Paco Editorial. P. 95-108.

EPPERSON, B.K. **Geographical genetics**. New Jersey: Princeton University Press, 2003. 356p. (Monographs in population Biology 38.)

EPPERSON, B.K. **Spatial structure of genetic variation within populations of forest tree**. *New Forests* 6: 257-278. 1992.

FAEGRI, K. & PIJL, L.V. **The principles of pollination ecology**. Pergamon, New York. 1979. 244p.

FEDOROV, A.A. The structure of the tropical rain forest and speciation in the humid tropics. **Journal of Ecology**. v. 54:1, p. 1-11, 1966.

FALCONER, D. S. **Introdução à genética quantitativa**. Trad. Martinho Almeida Silva; José Carlos da Silva. Viçosa: UFV, 279P. 1987.

FERREIRA, M. E. & GRATTAPAGLIA, D. **Introdução ao uso de marcadores moleculares em análise genética**. 2<sup>a</sup> ed. Brasília, EMBRAPA/CENARGEN, 220p. 1998.

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

GRAY L.; HE F. Spatial point-pattern analysis for detecting density-dependent competition in a boreal chronosequence of Alberta. **Forest Ecology and Management**. v. 259, p. 98–106. 2009.

HAMRICK, J.L.; GODT, M.J.W. **Allozyme diversity in plant species**. In: Brown, A.W.D., Clegg, M.T., Kahler, A.L., Weir, B.S. (eds). *Plant populations genetics, Breeding, and genetic resources*, p. 43-63. Sinauer associates, Sunderland, MA. 1989.

HAMRICK, J.L.; MURAWSKI, D.A.; NASON, J.D. The influence of seed dispersal mechanisms on the genetic structure of tropical tree populations. **Vegetatio**. v. 107/108, p. 281-297. 1993.

HEINZE, B.; WESTCOTT, R.; SCHMIDT, J.; GLOSSL, J. **Application of random amplified polymorphic DNA (RAPD) to detect genetic variation in Norway spruce**. *New-Forests*, Seibersdorf, v. 11, n.2, p. 173-184. 1996.

IBAMA - INSTITUTO BRASILEIRO DO MEIO AMBIENTE E DOS RECURSOS NATURAIS RENOVÁVEIS. **Madeiras Tropicais Brasileiras**. Brasília: IBAMA-LPF, 1997a. 152p.

IBGE. Mapas do Diagnóstico Ambiental da Amazônia Legal. **Base de dados Mapas Interativos**. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Vegetação. 1997. Disponível em; [HTTP://mapas.ibge.gov.br/website/amazonia/viewer.htm](http://mapas.ibge.gov.br/website/amazonia/viewer.htm). Acessado em: 05 jul. 2012.

IUCN – International for conservation of nature. Red list of threatened species. Disponível em; [www.iucnredlist.org/details/32486/0](http://www.iucnredlist.org/details/32486/0) acesado em 25 de jul. de 2013.

JANSEN, D.H. Euglossine bees as long distance pollinators of tropical plants. **Science**. v. 171, p. 203-205. 1971.

KAGEYAMA, P.Y., SEBBEN, A.M., RIBAS, L.A., GANDARA, F.B., CASTELLEN, M., VENCOVSKY, R. Diversidade Genética em espécies arbóreas tropicais de diferentes estágios sucessionais por marcadores genéticos. **Scientia Forestalis**, v. 64, p. 93-107. 2003.

KANASHIRO, M.; THOMPSON, I. S.; YARED, J. A. G.; LOVELESS, M. D.; COVENTRY, P.; MARTINS-DA-SILVA, R. C. V.; DEGEN, B.; AMARAL, W. Improving conservation values of managed forests: the Dendrogene project in the brazilian Amazon. **Unasylva**., v. 209, n. 53, p. 25-33, 2002.

LORENZI, H. **Árvores brasileiras**: Manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas do Brasil. Nova Odessa: Instituto Plantarum de Estudos da Flora, 1998. v.2.

LOVELESS, M. D.; HAMRICK, J. L. Distribuicion de la variacion en species de arboles tropicales. **Revista Biologia Tropicales**., v. 35, n. 1, p. 165- 75, 1987.

LOVELESS, M. D.; HAMRICK, J. L. **Ecological determinants of genetic structure in plant populations**. Annual review of ecology and systematics. V.15. p.65-95, 1984.

MARTINI, A.; ROSA, N.A.; UHL C., **Espécies madeireiras da Amazônia potencialmente ameaçadas**, Série Amazônia, Belém, PA, n.11, p.34, 1998.

MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE. **Quarto relatório nacional para a convenção sobre diversidade biológica: Brasil**. Brasília: MMA, 2011. 248 p.

MORAES, P.L.R.; MONTEIRO, R. & VENCOVSKY, R. Conservação genética de populações de *Cryptocarya moschata* Ness (Lauraceae) na Mata Atlântica do Estado de São Paulo. **Revista Brasileira de Botânica**. v. 22(2), p. 237-248. 1999.

MURAWSKI D.A.; HAMRICK, J.L. Mating system and phenology of *Ceiba pentandra* (Bombacaceae) in central Panama. **Journal of Heredity**. v. 83, p.401-404. 1992.

NEWTON, A.C.; ALLNUT, T.R.; GILLIES, A.C.M.; LOWE, A.J.; ENNOS, R.A. **Molecular phylogeography, intraspecific variation and the conservation of tree species**. Trends in Ecology and Evolution, 14: p.140-146. 1999.

PAIVA, J.R. **Melhoramento genético de espécies agroindustriais na Amazônia: Estratégias e novas abordagens**. Brasília: Embrapa SPI; Fortaleza: Embrapa-CNPAT, 1998. 135p.

PIRES, I.E.; RESENDE, M.D.V.; SILVA, R.L.; RESENDE JUNIOR, M.F.R. 2011. **Genética florestal**. Viçosa, MG : Arka, 2011. 318p.

PINTO, A. C. M. **Análise de danos de colheita de madeira em floresta tropical úmida sob regime de manejo florestal sustentável na Amazônia Ocidental**. 2000. 165 p. Dissertação (Mestrado em Ciência Florestal) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa-MG.

PRIMACK, R. B.; RODRIGUES, E. **Biologia da conservação**. Londrina: E. Rodrigues, 2001, 328p.

RAJORA, O.P. **Molecular biology in sustainable forest management**. In: Espinel S., Ritter, E. (Ed.) . Proceeding of application of biotechnology to forest genetics: BIOFOR 99. Madrid: Vitoria-Gasteiz, p.29-39. 1999.

RAMALHO, M.A.P.; SANTOS, J.B.P. **Genética na agropecuária**. Lavras: Ed. UFLA. 2008. 464p.

RAVEN, P.H., EVERT, R.F. & EICHHORN, S.E. **Biologia Vegetal**, 7° ed. Coord. Trad. J.E.Kraus. Editora Guanabara Koogan, Rio de Janeiro. 2007. 686p.

REIS, A. **Dispersão de sementes de *Euterpe edulis* Martius. (Palmae) em uma floresta ombrófila densa montana da encosta atlântica em Blumenau, SC**. 1995. 154 f. Tese (Doutorado) Universidade de Campinas, Campinas-SP.

RICE, J.M.; HALPERN, C.B., ANTOS, J.A., JONES, J.A. Spatio-temporal patterns of tree establishment are indicative of biotic interactions during early invasion of a montane meadow. **Plant Ecology**. v. 13, p 555-568. 2012.

ROCHE, L.; DOUROJEANNI, M. **Manual sobre la conservacion in situ de lós recursos geneticos de especies leñosas tropicales**. FAO, Rome, 1984. 161p.

ROSADO, S. C. S., CARVALHO, D. **Biodiversidade e conservação genética de espécies arbóreas**. Curso de pós graduação Lato sensu. Lavras-MG: UFLA/FAEPE. 35p. 2001.

SANTOS, R.P. **Avaliação da diversidade genética de populações naturais de Pau-rosa (*Aniba roseodora* Ducke) por meio de marcadores moleculares RAPD**. 2004. 81 f. INPA/UFAM. Dissertação. INPA/UFAM, Manaus-AM.

SEBBENN, A.M.; SEAONE, C.E.; KAGEYAMA, P.Y.; VENCOVSKY, R. Efeitos do manejo florestal sobre a estrutura genética de caixeta – *Tabebuia cassinoides*, no Vale do Ribeira, SP. **Scientia Forestalis**. v. 58, p.127-143, 2000.

SEBBENN, A.M.; SEAONE, C.E.; KAGEYAMA, P.Y.; LACERDA, C.M.B. Estrutura Genética em populações de *Tabebuia cassinoides*: Implicações para o Manejo Florestal e a Conservação Genética. **Revista do Instituto Florestal**. v.13, p. 99-113, 2001.

SEBBENN, A.M.; SEOANE, C.E.S. **Estimativa de tamanho efetivo de endogamia por marcadores genéticos**. Revista árvore, Viçosa, v.29, n.1, p. 1-7, 2005.

SEBBEN, A.M.; CARVALHO, A.C.M.; FREITAS, M.L.M.; MORAES, S.M.B.; GAINO, A.P.S.C.; SILVA, J.M.; JOLIVET, C.; MORAES, M.L.T. Low level of realized seed and pollen gene flow and strong spatial genetic structure in a small, isolated and fragmented population of the tropical tree *Copaifera langsdorffii* Desf. **Heredity**. v.106, n.1, p.134-145, 2011.

SEMA – Secretaria de Estado de Meio Ambiente. Relatório de comercialização total através de guias florestais GF1, GF2, GF3. Disponível em: [www.sema.mt.gov.br/portalsisflora/index.php/relatorios](http://www.sema.mt.gov.br/portalsisflora/index.php/relatorios) Acesso em: 18 fev. 2013.

SEOANE, C.E.S.; SEBBENN, A.M.; KAGEYAMA, P.Y. Efeitos da fragmentação florestal em populações de *Esenbeckia leiocarpa* Engl. **Scientia Forestalis**, Piracicaba, n. 57, p. 123-139, 2000.

SEPLAN-MT. Anuário Estatístico de Mato Grosso – 2000. Secretaria de Estado de Planejamento e Coordenação Geral do Estado de Mato Grosso. Disponível em [HTTP://www.anuario.splan.mt.gov.br/2000/](http://www.anuario.splan.mt.gov.br/2000/). Acesso em : 23 Jul. 2012.

SEPLAN-MT. Atlas de Mato Grosso: Abordagem socioeconômico-ecológica. Secretaria de Estado de Planejamento e Coordenação Geral do Estado de Mato Grosso / Ligia Camargo, (org.) – Cuiabá, MT : Entrelinhas 2011.

SEVERIANO, C.E.; APARÍCIO, P.S.; APARÍCIO, W.C.S.; SOTA, E.D.; GUEDES, M.C.; OLIVEIRA, L.P.S. Distribuição diamétrica, espacial, características ecológicas e silviculturais de *Mezilaurus itauba* (Meisn.)

Taub. ex Mez, na floresta do estado do Amapá (FLOTA/AP), Brasil. In: **Simpósio Latino-americano sobre Manejo Florestal**, 5., 2011. Santa Maria: UFSM. 2011. P526-533.

SILVA, M.B.; AZEVEDO, V.R.; SILVA, V.P.; KANASHIRO, M.; CIAMPI, A.Y. **Avaliação da Diversidade Genética de uma população natural de tatajuba (*Bagassa guianensis* Aubl. (Moraceae) uma espécie de madeira tropical.** (Comunicado Técnico 105) Brasília-DF, 2004.

SILVA, S.M.M. **Estrutura populacional e genética de Jatobá em florestas manejadas na Amazônia sul - ocidental.** 2010. 104 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Federal do Acre, Rio Branco-AC.

SILVA, K. E. ; MARTINS, S.B; Santos N.T; Carlos Antonio A.S. Ribeiro . Padrões Espaciais de Espécies Arbóreas Tropicais. In: Sebastião Venâncio Martins. (Org.). **Ecologia de Florestas Tropicais do Brasil.** 2.ed.Viçosa: Editora UFV, 2012, v. 1, p. 326-352.

SOARES, T.N., CHAVES, L.J., TELLES, M.P.C., DINIZ-FILHO, J.A.F., RESENDE, L.V. **Landscape conservation genetic of *Dipterix alata* (“baru” tree: Fabaceae) from cerrado region of cntral Brazil.** Genética, Gravenhage, v.132, p. 9-19, 2008.

TARDIM, F. D. **Diversidade morfoagronômica e molecular em acessos de alface (*Lactuca sativa*).** Mestrado em produção vegetal. Campos dos Goytacazes: CCTA-UENF. 2001. 61p.

TORIBIO, M.; CELESTINO, C. **El uso de la biotecnología em la conservación de recursos genéticos forestales.** Investigación Agraria, n.2, p. 49-259. 2000.

TORRES, A.C.; FERREIRA, A.T.; SÁ, F.G.; BUSO, J.A; CALDAS, L.S. NASCIMENTO, A.S.; BRIGIDO, M.M.; ROMANO, E. **Glossário de Biotecnologia Vegetal.** EMBRAPA. Brasília, 2000. 128p.

VAN DER WERFF, H. **A revision of *Mezilaurus* (Lauraceae).** Annals of the Missouri Botanical Garden 74: 153-182. 1987.

VENCOVSKY, R. Análise de variância de frequências alélicas. **Revista brasileira de genética**, v.15, n.1, p.53-60, 1992.

VIEIRA, F.A. **Diversidade e estrutura genética de *Protium spruceanum* (Benth.) Engler em remanescentes e corredores de vegetação da região de Alto Rio Grande-MG.** 100p. Dissertação mestrado. Universidade Federal de Lavras, MG. 2005.

ZENID, G.J. **Madeira: uso sustentável na construção civil.** 2. ed. São Paulo: Instituto de Pesquisas Tecnológicas de São Paulo: SVMA, 2009.

ZUCCHI, M.I. **Análise da estrutura genética de *Eugenia dysenterica* DC utilizando marcadores RAPD e SSR.** 2002. 148f. Tese (Doutorado em agronomia) Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba SP.

# CAPÍTULO 1

## RESUMO

EBERT, Alexandre. **Distribuição espacial de *Mezilaurus itauba* (Meisn.) Taub. ex Mez, em floresta da Amazônia meridional mato-grossense.** 2013. Dissertação (Mestrado em Ciências Florestais e Ambientais) – Universidade Federal de Mato Grosso, Cuiabá-MT. Orientador: Prof. Dr. Reginaldo Brito da Costa.

A compreensão da distribuição espacial de árvores em uma floresta constitui em uma excepcional ferramenta para responder questões fundamentais de ecologia, subsidiando estratégias de conservação genética e práticas sustentáveis de manejo dos recursos florestais. O presente estudo objetivou avaliar os padrões de distribuição de indivíduos para uma população de *Mezilaurus itauba*, fornecendo informações sobre o arranjo espacial para a espécie estudada. Com o desenvolvimento de softwares de Sistemas de Informações Geográficas e de técnicas mais elaboradas de estatística, estudos da distribuição pontual que representam processos estocásticos têm sido comumente utilizados. Técnicas de análise espacial associados a pacotes estatísticos podem determinar se há a existência de aglomerados de eventos e se estão relacionados a fatores ambientais e genéticos. As coordenadas de localização das árvores que caracterizam a localização de um evento geram envelopes que definem a associação de uma população em determinada área, e podem ser analisados empregando técnicas de análise estatística e de sistema de informações geográficas. A função K proposta por Ripley trata-se de uma análise estatística descritiva representada por gráficos que estabelece através da distribuição de Poisson e de simulações de Monte Carlo envelopes de confiança que descrevem o padrão de distribuição espacial, sendo muito utilizada em estudos em floresta tropical. Os resultados obtidos sugerem um padrão de aleatoriedade espacial com tendência a agrupamentos para os indivíduos classificados como adultos, e de completa aleatoriedade espacial para os indivíduos classificados como jovens. A definição dos padrões de distribuição analisados estatisticamente através da função K de Ripley podem fornecer subsídios a programas específicos de manejo para espécies afins, nos quais a espécie em estudo poderá servir de modelo para exploração das espécies nativas em áreas de florestas da Amazônia meridional.

Palavras-chave: Função K de Ripley; Manejo Florestal; Conservação da biodiversidade; Estrutura horizontal.

## ABSTRACT

EBERT , Alexandre . **Spatial distribution of *Mezilaurus itauba* (Meisn.) Taub. ex Mez in forest Mato Grosso southern Amazon** . 2013. Dissertation ( MSc in Forestry and Environmental Sciences ) - Federal University of Mato Grosso , Cuiabá - MT . Advisor: Prof. . Dr. Reginaldo Brito da Costa.

Understanding the spatial distribution of trees in a forest constitutes an exceptional tool to answer fundamental questions of ecology, supporting strategies for genetic conservation and sustainable management practices of forest resources. The present study aimed to evaluate the distribution patterns of individuals in a population of *Mezilaurus itauba*, providing information about the spatial arrangement of this species. With the development of software for Geographic Information Systems and more elaborate statistical techniques, studies of point pattern representing stochastic processes have been commonly used. Spatial analysis techniques associated with statistical packages can determine if the existence of clusters of events and are related to environmental and genetic factors. The location coordinates of trees that characterize the location of an event generate envelopes that define the association of a population in a given area, and can be analyzed using statistical analysis techniques and geographic information system. The K function proposed by Ripley it is a descriptive statistical analysis represented by graphs lying by the Poisson distribution and Monte Carlo simulations envelopes confidence that describe the spatial distribution pattern, commonly used in studies in tropical forest. The results suggest a pattern of spatial randomness -prone groups for individuals classified as adults, and complete spatial randomness for individuals classified as youth. The definition of distribution patterns statistically analyzed by Ripley's K function can provide subsidies to specific management programs to related species, in which the species under study could serve as a model for exploitation of native species in areas of the southern Amazon forests.

Keywords: Ripley K function; Forest Management, Conservation of biodiversity; horizontal structure.

## 1 INTRODUÇÃO

A floresta amazônica tem papel fundamental no controle dos ciclos biogeoquímicos do planeta, realizando importantes trocas de energia, umidade e massa entre a superfície continental e a atmosfera (DAVIDSON et al., 2012; ROCHA et al., 2012). Além disso, a biodiversidade encontrada na Amazônia corresponde a não menos que 50% de toda biodiversidade encontrada no restante de todo planeta (MYERS et al., 2000; CDB, 2011).

Conter a perda de biodiversidade é um dos maiores desafios da comunidade científica nos últimos anos. O desmatamento e a fragmentação florestal, ocasionados pela expansão da fronteira agropecuária e a exploração seletiva de madeiras, tem gerado perdas irreparáveis no que concerne aos fatores ecológicos e genéticos de manutenção da biodiversidade de espécies amazônicas (LAURANCE E PERES, 2006; BROADBENT, 2008; ASNER et al., 2009)

A escassez de estudos sobre estrutura e diversidade tem sido apontada como a grande deficiência nas pesquisas em ecologia e manejo, pois deles dependem os esperados avanços da ciência e na conservação dos ecossistemas (DURIGAN, 2012; FAO, 2012)

O padrão espacial de espécies arbóreas é uma questão chave para estudos em ecologia florestal, vital para o entendimento de como determinada espécie usa os recursos disponíveis, e sua função no sucesso do estabelecimento e reprodução (CONDIT et al., 2000). É determinado pela densidade das fontes de sementes, síndromes de dispersão e pelos processos pós-dispersão. A densidade das fontes de semente, por sua vez, é determinada pela densidade de indivíduos potencialmente reprodutivos e pelo sistema reprodutivo da espécie (BLEHER et al., 2002).

O padrão de distribuição espacial das árvores de uma população tem aspecto de grande relevância no manejo florestal, ela revela como os indivíduos se organizam horizontalmente no ambiente, sendo que essa organização esta relacionada com as interações entre

fatores bióticos e abióticos que controlam a dinâmica dos processos ecológicos dentro de uma população (CAPRETZ, 2004; SILVA, 2008).

Basicamente as espécies arbóreas estão distribuídas em três padrões, sendo: uniforme, aleatório ou agregado (SILVA et al., 2012; BEGON et al., 2006). Odum (1993) cita cinco tipos de padrões espaciais que ocorrem na natureza, sendo: aleatório, regular, agregado-aleatório, agregado-regular e agregado-agregado.

Existem vários métodos de análise do padrão através de medidas de distancias, na maioria são baseados em distancias ou áreas e tratam apenas da simples contagem dos indivíduos dentro de parcelas ou na busca pelo vizinho mais próximo (DALMASO et al., 2012). São chamados métodos de distância porque utilizam medidas por meio de duas abordagens gerais: 1. Seleção aleatória de indivíduos de uma população medindo a distância entre indivíduos vizinhos mais próximos; 2. Seleção aleatória de pontos específicos e localização e medição da distância entre os indivíduos da população (KREBS, 1999). Conquanto Sterner et al. (1986) já relatavam na época da publicação de seu artigo que o uso deste métodos acaba ocasionando na perda de dados em escalas maiores, considerando apenas as informações em escalas menores de distâncias, o que provoca a perda de informações importantes ao entendimento do padrão de distribuição das espécies estudadas.

A função K de Ripley é uma estatística descritiva do padrão espacial, sendo uma das ferramentas mais apropriadas em análises do padrão espacial de florestas sobretudo quando são conhecidas as coordenadas das árvores (DRUCK et al., 2004; SILVA et al., 2012), permitem avaliar o grau de interação entre arvores de uma população ou comunidade (PENTTINEN et al., 1992). O método avalia como os padrões espaciais de qualquer evento em diferentes escalas simultaneamente ocupam um determinado espaço (CAPRETZ, 2004) e corresponde ao número esperado de pontos dentro de um círculo com raio (  $r$  ) centrado em um ponto de referência arbitrário dividido pela intensidade ( $\lambda$ ) do padrão.

Os impactos do manejo sobre a distribuição espacial remanescente pode alterar os mecanismos de reprodução das espécies. Por serem pouco documentados, há preocupação de que os processos reprodutivos como o fluxo de pólen, sejam prejudicados por alterações significativas na dinâmica de clareiras resultantes da exploração (CUNHA, 2003).

A exploração de madeiras em manejo florestal reduz significativamente a densidade das árvores, e conseqüentemente aumenta a distância entre os indivíduos remanescentes, o que ocasiona em prejuízos no sistema reprodutivo e no fluxo de pólen entre indivíduos (MURAWSKI & HAMRICK, 1991; ROUBIK & DEGEN, 2004).

Avaliar como os indivíduos se distribuem em uma população é questão chave para o entendimento de como determinada espécie se estabelece e se reproduz em um ambiente (CONDIT et al., 2000; DALMASO et al., 2012). Fornece subsídios que estabelecem medidas e técnicas que devem ser associadas ao manejo florestal e que podem prever aspectos na conservação da diversidade genética de uma população (CAPRETZ, 2004, LAW et al., 2009).

Com isso o presente estudo tem por objetivo analisar a estrutura espacial de uma população de *Mezilaurus itauba*, e descrever como os mecanismos de reprodução podem ser influenciados pela exploração madeireira sobre regime de manejo florestal madeireiro.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1 Coleta de dados

Para definição do desenho da pesquisa primeiramente foi estabelecido os procedimentos para a coleta de dados. Através da elaboração de mapas foi realizado o micro zoneamento da área. O mapeamento foi realizado utilizando o Software *ArcGis* 10, vetorizando a área com auxílio de imagens de satélite *Spot*. Em mãos do mapa da área de estudo, iniciou-se a campanha de campo. Foram delimitadas faixas de 50 m de largura (eixo x), e média de 1800 m de comprimento (eixo Y) resultando em 18 faixas numa área total de 185,00 hectares. Por essas faixas foi realizado o censo 100%. Percorreu-se a extensão das faixas em busca de exemplares de *Mezilaurus itauba* que compreendessem o diâmetro a altura do peito (DAP) mínimo de 30 cm, e através de planilha eletrônica inserida em um GPS Juno (*Handheld*), foi possível fazer as anotações dos dados definidos preliminarmente, sendo: coordenadas cartesianas (X e Y), o diâmetro a altura do peito *DAP*, a altura comercial (HC) e total (HT), a fitossanidade e qualidade do fuste e a localização geográfica das mesmas.

Foram medidos todos os indivíduos  $\geq 30$  cm de DAP, gerando o censo 100% para das árvores inventariadas. As alturas comerciais e totais foram obtidas com mensuração direta através da utilização de um clinômetro eletrônico “Haglof”, que fornece os valores referentes à altura de maneira direta sem a necessidade de realizar cálculos posteriores.

A identificação da espécie foi realizada por mateiros da região, entretanto foram coletadas amostras de material para a confecção de exsiccatas as quais foram comparadas a arquivos bibliográficos, e ao herbário central da Universidade Federal de Mato Grosso para certificação na identificação da espécie..

## 2.2 Análise dos dados

Para a análise dos dados obtidos foram determinados dois grupos, sendo: árvores classificadas como remanescentes (Grupo 1) (< 50cm de DAP) e destinadas ao corte (Grupo 2) (>50cm de DAP).

Para a análise estatística foi utilizado o software estatístico "R" versão 3.0.1, objetivando os testes para função K (h) proposta por Ripley (1977, 1981, 1988). A função k de Ripley corresponde a uma função de densidade que considera as variâncias de todas as distâncias entre todos os eventos (HAASE, 1995).

A análise é exibida graficamente objetivando a facilitação da visualização dos desvios em relação a hipótese nula, onde determinou-se em gráficos a abscissa que corresponde as distâncias definidas, e a ordenada a função transformada L (m) da função K(m) de Ripley, avaliando a relação entre os pares de eventos a cada distância estabelecida.

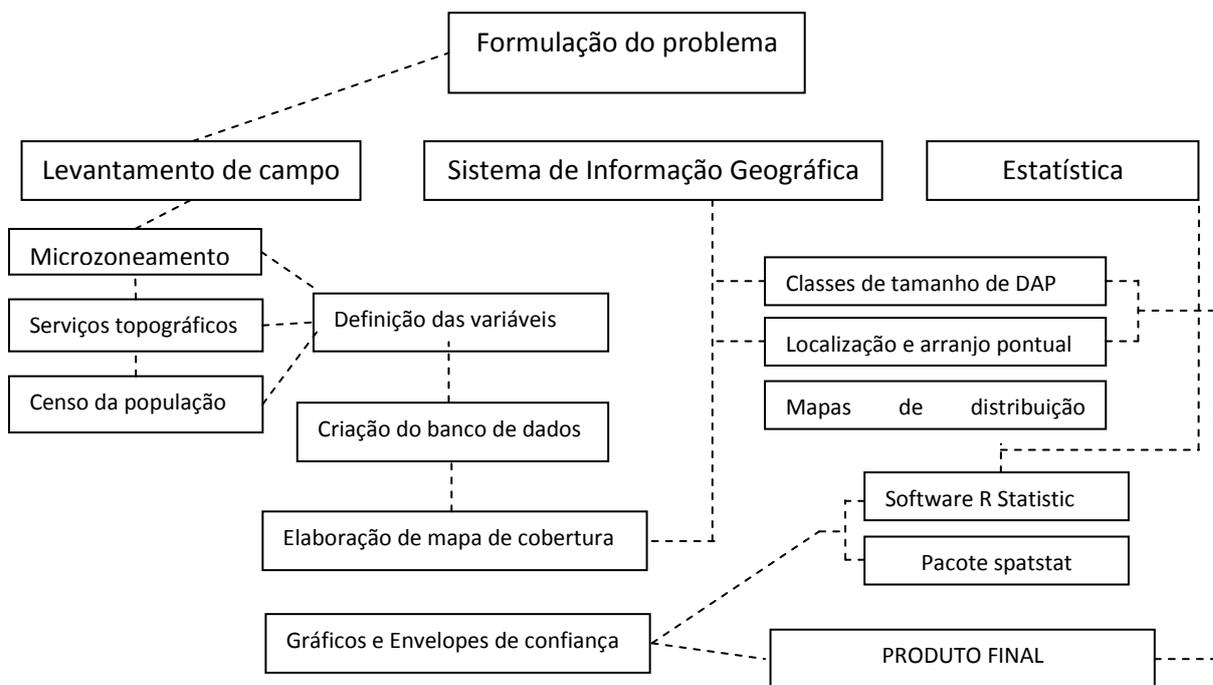
A análise da função K foi utilizada para avaliação das árvores com DAP abaixo de 50 cm e maiores que 50 cm, processadas separadamente, os envelopes de confiança foram construídos obtendo os valores máximo e mínimos gerados através de simulações *Monte Carlo*. O número de simulações varia de acordo com a precisão requerida, por exemplo, Cunha (2003) cita em seus trabalhos que, para se obter envelopes de confiança aproximado de 5%, 19 simulações foram utilizadas e para um envelope de confiança de 1%, 99 simulações seriam necessárias, e quando o número de árvores não é tão grande 1000 simulações são necessárias para se obter um nível de probabilidade aceitável.

Para os mapas propostos neste trabalho definiu-se o modelo da completa aleatoriedade espacial (CAE) realizando 1000 simulações Monte Carlo para  $\alpha = 0,01$  com os limites de confiança, gerou-se envelopes com valores máximos e mínimos. Estes valores correspondem aos limites de confiança inferior e superior dos envelopes. A função K reproduz uma linha simples que estabelece como a população se distribui

dentre os valores inferiores e superiores do envelope, sendo que os valores dentro do envelope referem-se à completa aleatoriedade, acima da linha superior com agrupamento ou agregadas, e abaixo da linha inferior de uniformidade espacial. A hipótese testada é a de completa aleatoriedade espacial e para satisfazê-la são construídas pela simulação do processo homogêneo de Poisson.

Determinaram-se círculos de raio entre 10, 20 e 30 m para análise gráfica gerada, sendo que estas distâncias foram definidas para as diferentes situações de tamanho em cada evento contabilizando o número de indivíduos dentro desse círculo.

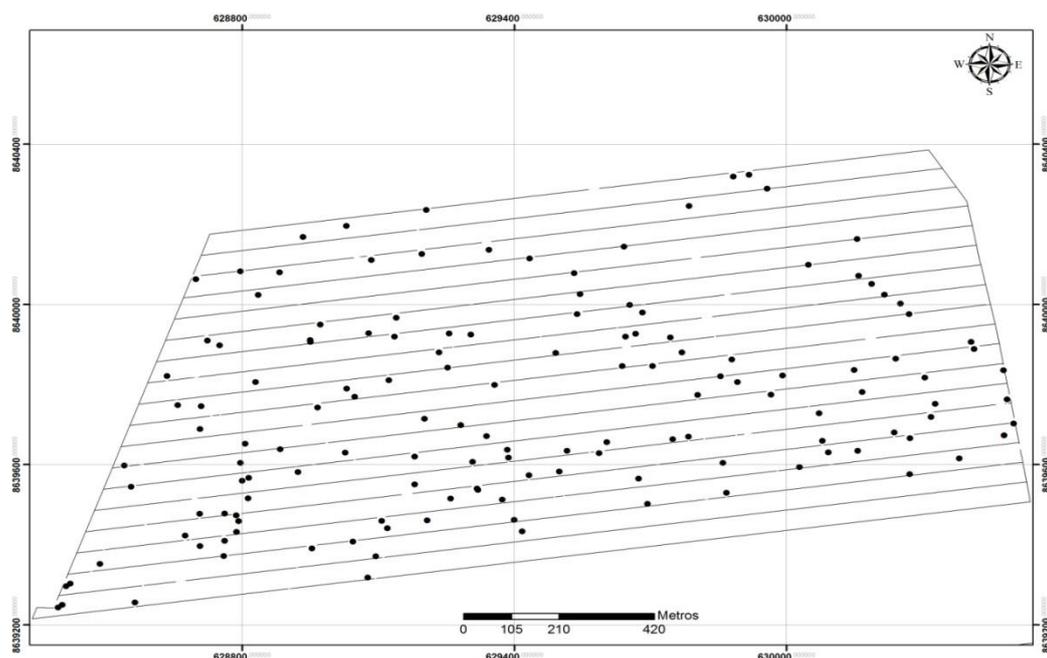
Para ilustração das atividades executadas no presente estudo foi confeccionado um fluxograma esquemático (Figura 2.).



**Figura 2** - Fluxograma do procedimento e etapas da pesquisa.

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Ao todo foram levantados 229 indivíduos distribuídos a toda extensão da área de estudo, portanto a abundância total foi de 229 indivíduos distribuídos em uma frequência relativa de 100% (Figura 3), ou seja, em todas as faixas foi localizada pelo menos um indivíduo da espécie estudada.

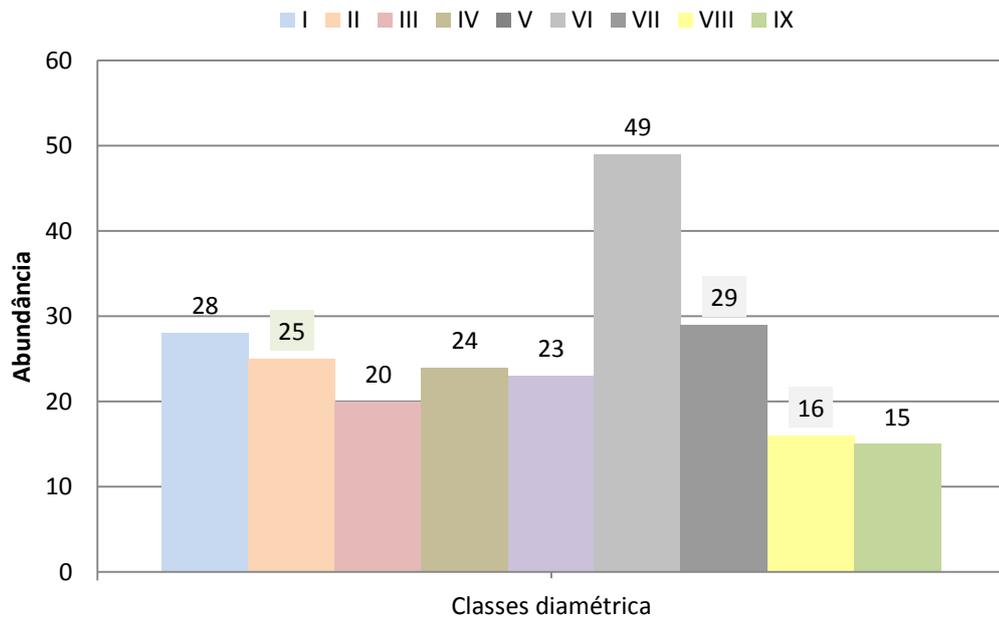


**Figura 3** - Mapa de distribuição pontual geográfica de todas as árvores da espécie *Mezilaurus itauba* inventariadas na área em estudo. Observa-se que em todas as faixas foram obtidos dados de indivíduos que demonstra a frequência de 100%.

Os indivíduos inventariados foram subdivididos em gupos, sendo: Grupo 1: indivíduos destinados ao corte, que apresentaram diâmetro a altura do peito (DAP) > que 50 cm; e Grupo 2: indivíduos remanescentes ou seja DAP < que 0,49 m. A abundância total dos indivíduos de corte foi de 156 árvores, e de indivíduos remanescentes de 73 árvores.

A distribuição da abundância de indivíduos dentro dos grupos é atípica quando comparada a outras espécies da comunidade. Costa & Mantovani (1995), descrevem a distribuição de frequência dentro das classes de tamanho em forma de J invertido em várias espécies,

registrando um grande número de indivíduos nas classes inferiores diminuindo gradativamente quando se aumenta de tamanho. Esses mesmos resultados também são descritos por Severiano et al., (2011) e por Dalmaso et al., (2012).



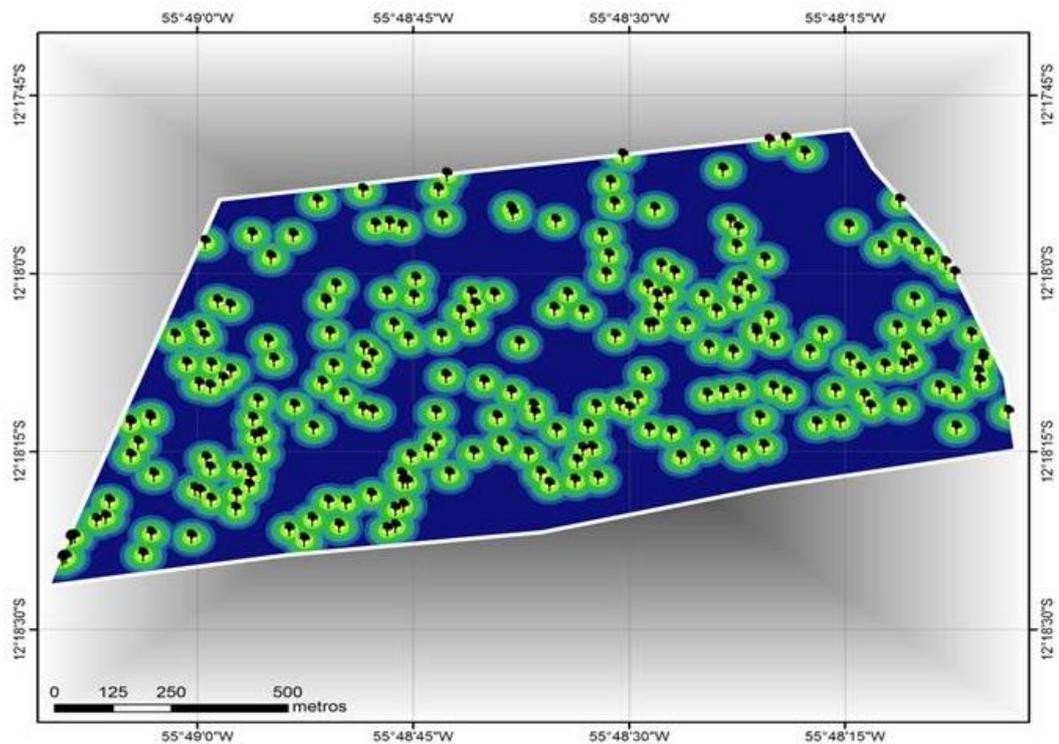
**Figura 4** - Histograma da abundância absoluta da distribuição diamétrica nos indivíduos da população de *Mezilaurus itauba* inventariados para o estudo do padrão de distribuição espacial. o eixo Y refere-se ao número total de indivíduos nas respectivas classes diamétricas eixo X. Classe I DAP 30-40; classe II 40,1-50; classe III 50,1-60; classe IV 60,1-70; classe V 70,1-80; classe VI 80,1-90; classe VII 90,1-100; classe VIII 100,1-110; classe IX > que 110.

### 3.1 Padrões Espaciais Para as Classes de Tamanho

#### 3.1.1 Distribuição pontual

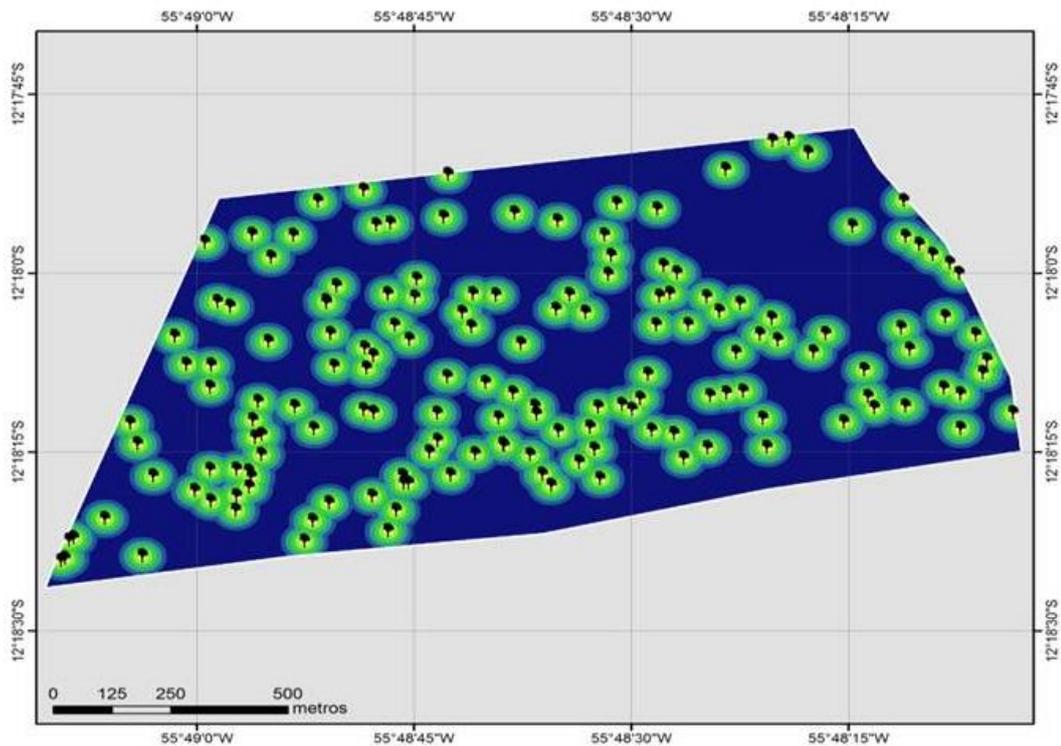
As coordenadas (x e y) obtidas no censo 100% transmitem num plano ortogonal cartesiano a localização espacial dos eventos, ou seja, das árvores. Com a utilização do software *Arcgis 10* gerou-se um

mapa de distribuição dos pontos, georreferenciados e devidamente localizados geograficamente. A distribuição destes pontos conforme sua localização permite gerar o mapa de distribuição pontual, possibilitando a visualização direta de uma distribuição aleatória para as de árvores inventariadas, com a formação de pequenos grupos aglomerados (Figura 5.).



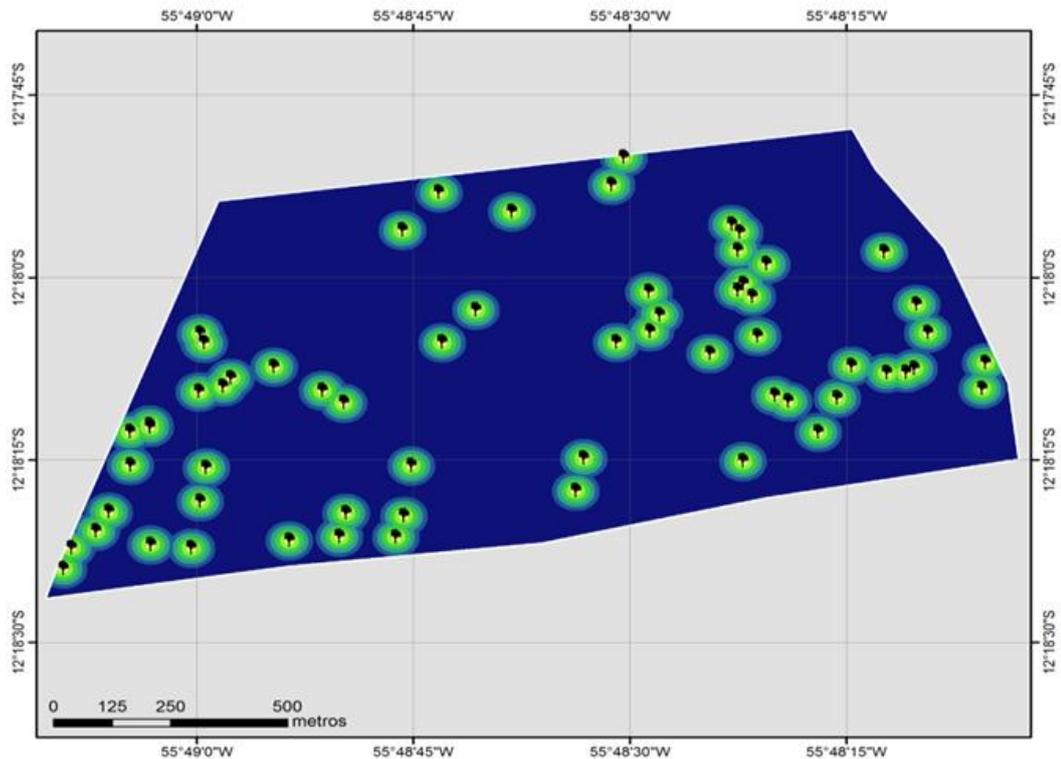
**Figura 5** - Mapa de distribuição espacial para o total de eventos (229 árvores), jovens e adultas utilizando o raio em diferentes escalas. Formação de faixas contínuas, com aglomerados e vazios.

Para verificar a distribuição dos indivíduos caracterizados como árvores de corte selecionaram-se apenas as árvores de maiores diâmetros. Verifica-se uma distribuição aleatória formando pequenos grupos, porém dispersos pela área total, o que sugere uma distribuição aleatória com tendência a agrupamento (Figura 6). A irregularidade na distribuição desses aglomerados pode estar relacionada a fatores ambientais como tipologia de solo e ou síndromes de dispersão de sementes. A parte superior do mapa sugere aleatoriedade espacial entre os indivíduos com poucos agrupamentos e um número reduzido de árvores em um raio de dispersão maior.



**Figura 6** – Distribuição espacial para os indivíduos adultos inventariados (156 árvores) para o estudo dos padrões espaciais da população estudada.

Quando se objetivou analisar a distribuição espacial dos pontos que representam as árvores remanescentes, determinando distâncias do raio semelhante ao testado nas árvores de corte, observou-se um acentuado declínio na abundância de indivíduos, revelando um padrão aleatório na distribuição dos indivíduos (Figura 7), a frequência manteve-se em 100% ou seja, todas as faixas foram observadas indivíduos remanescentes, essa distribuição sugere que as inter-relações reprodutivas podem ser prejudicadas caso a área seja explorada nos moldes das normas estabelecidas pela legislação vigente. O fluxo de pólen pode ser comprometido devido ao aumento da distância entre os eventos.



**Figura 7** - Mapa de distribuição espacial utilizando o raio em diferentes escalas, para os eventos classificados como árvores jovens (73 eventos) de *Mezilaurus itauba*.

Esses resultados diferem dos publicados por Capretz et al., (2004), onde foi observado um padrão agregado para espécies florestais em diâmetros menores e um padrão aleatório para indivíduos com diâmetros maiores.

Vários fatores físicos e ou biológicos podem estar relacionados à distribuição observada para a espécie na população em estudo. A tipologia de solos, a disponibilização de nutrientes, a competição interespecífica influencia diretamente no estabelecimento das espécies em uma comunidade (MIYAMOTO et al., 2003; BUDKE et al., 2007).

### 3.1.2 Padrão de distribuição pela função K de Ripley

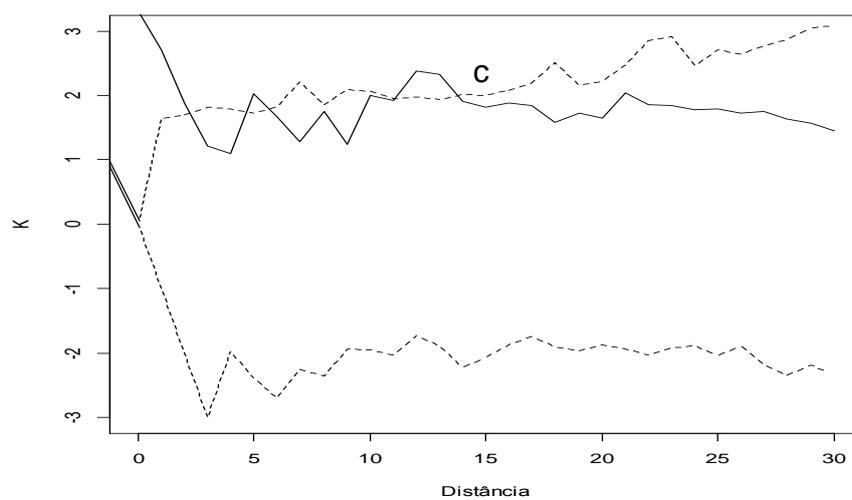
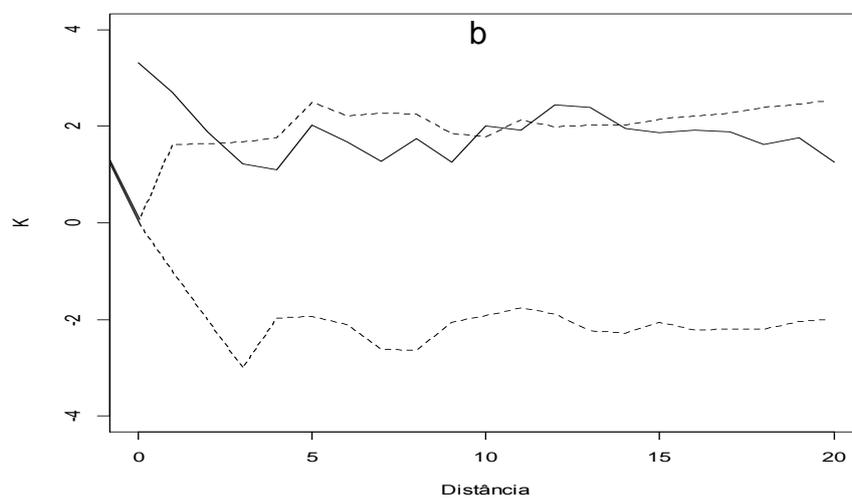
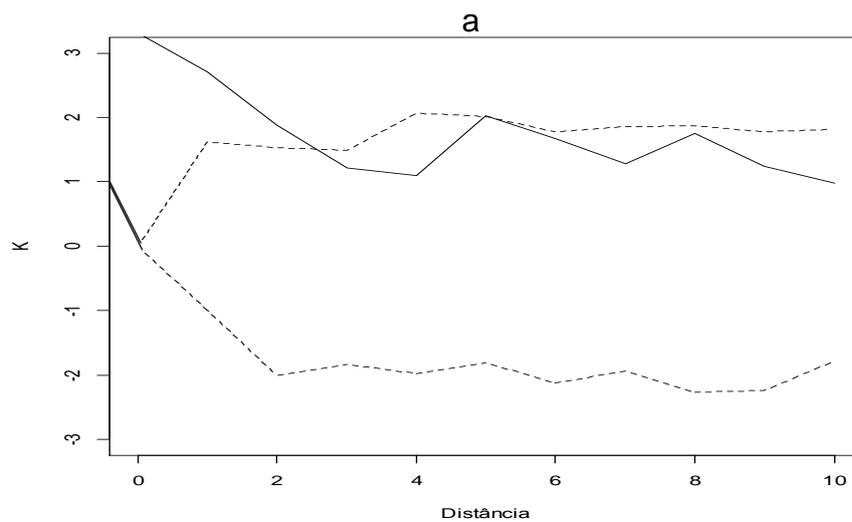
Como foi descrito anteriormente, o padrão de distribuição aleatório na análise pontual era sugerida em todas as escalas de

distâncias do raio. Hubbell (1979) cita em seu trabalho que para florestas tropicais é comum o padrão de distribuição agregado nas populações arbóreas.

Para as análises realizadas na população estudada ocorre basicamente a distribuição aleatória, porém observando-se a linha de tendência da função K de Ripley percebe-se um comportamento da curva ultrapassando a linha superior do envelope de confiança, com tendência ao padrão agregado, o que sugere condições microclimáticas favoráveis ao estabelecimento da população em determinados locais.

Na análise da dependência espacial entre os indivíduos de toda a população estudada, árvores de corte e remanescentes, observa-se uma distribuição aleatória com tendência ao agrupamento. As linhas pontilhadas estabelecem os limites do envelope de intervalo de confiança com 1000 simulações de Monte Carlo.

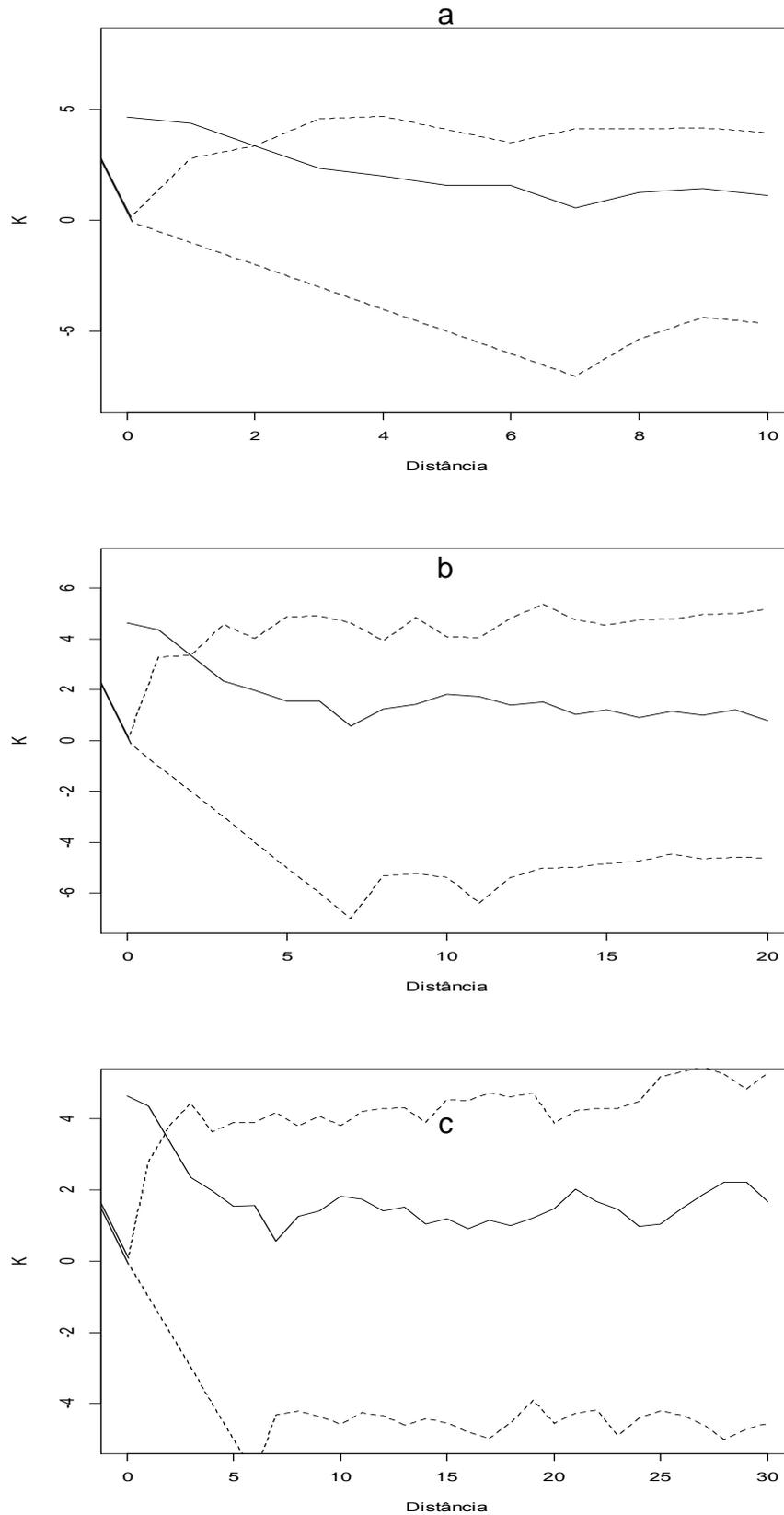
Quando se definiu o raio de distância em 10 m verificou-se uma distribuição aleatória para a espécie de *Mezilaurus itauba*, com os pontos inteiramente dispostos dentro do envelope de confiança e não ultrapassando a linha superior que determina o padrão de distribuição agregado (Figura 8a). Alterando-se o raio para 20 e 30 m os pontos distribuíram-se dentro do envelope e em determinadas distâncias ultrapassaram os limites superiores, caracterizando uma leve atração de tendência ao agrupamento da população dentro desses raios (Figuras 8b e 8c). Essa distribuição pode ser visualizada no mapa de distribuição pontual, verifica-se a ocorrência de pequenos agrupamentos de 10 a 15 indivíduos próximos entre si, e que podem estar em coancestria.



**Figura 8** - Função K (eixo y) de Ripley para diferentes distâncias das árvores de corte e remanescentes inventariados de *Mezilaurus itauba*, ( a ) L = 10 m; ( b ) L = 20 m; e ( c ) L = 30 m. As linhas pontilhadas

correspondem aos limites (inferior e superior) de confiança, a linha cheia corresponde às simulações realizadas dentro da população.

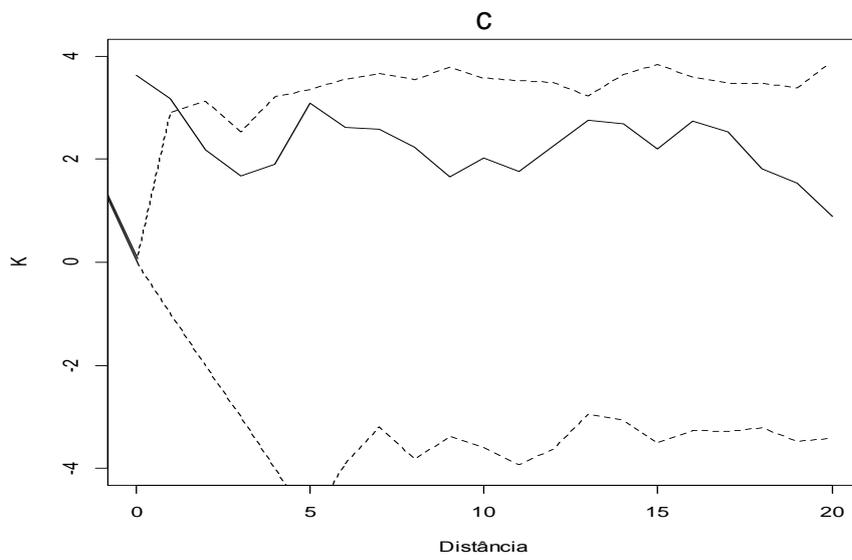
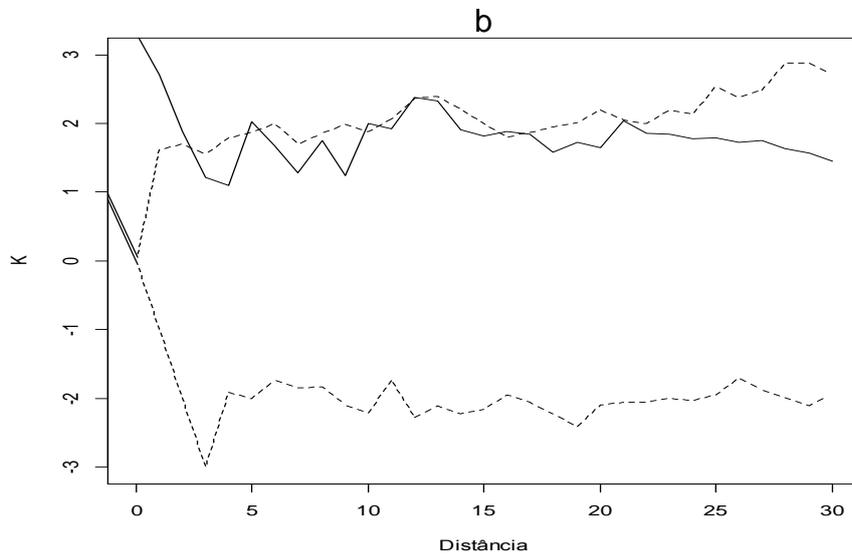
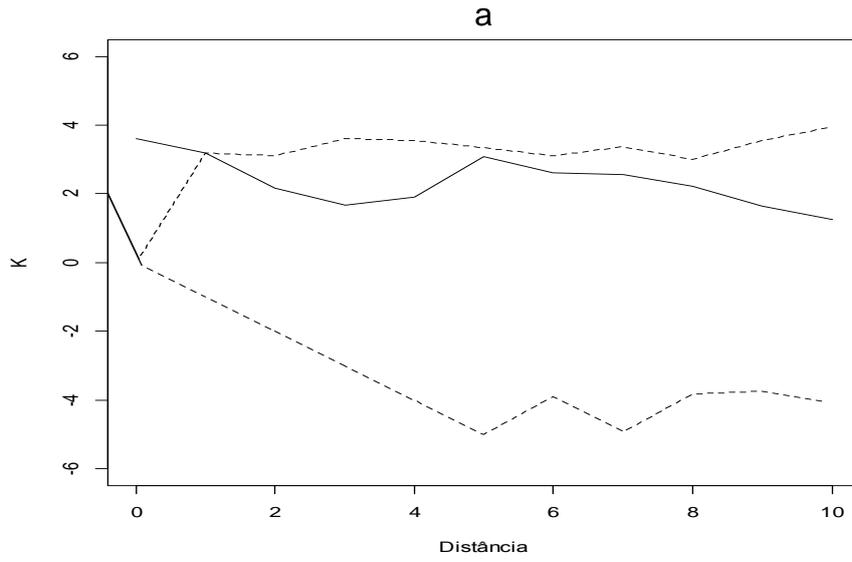
Na análise das árvores classificadas como indivíduos remanescentes, definindo o raio de distância entre 10 m verifica-se o padrão de distribuição aleatório. Nos raios de 20 e 30 m, observa-se uma distribuição de completa aleatoriedade espacial (Figuras 9a; 9b; 9c), os envelopes de confiança são definidos por 1000 simulações Monte Carlo e permanecem dentro do intervalo de confiança, que determina a aleatoriedade na distribuição estudada. Observa-se que a densidade de árvores remanescentes é menor quando comparada as árvores de corte, fato que pode estar relacionado às síndromes de polinização e ou de dispersão de sementes. A distribuição aleatória pode estar relacionada a competição inter e intraespecífica, haja visto o padrão com tendência a agregado dos eventos tidos como arvores adultas estarem neste arranjo de distribuição.



**Figura 9** - Função K de Ripley univariada para diferentes distâncias (L) dos indivíduos jovens inventariados de *Mezilaurus itauba*, ( a ) L = 10 m; ( b ) L = 20 m; e ( c ) L = 30 m.

Na análise dos indivíduos agrupados como árvores adultas, observa-se uma distribuição aleatória, ora com tendência ao agrupamento (Figura 10b). A densidade de árvores de corte mostrou-se maior quando comparada as árvores remanescentes. Ocorre uma redução exponencial na reposição do estoque natural dos indivíduos da espécie ao longo dos processos de dinâmica estrutural natural.

Já quando se aumento o raio de análise (Figura 10a e 10c) o padrão espacial observado se mostrou aleatório mantendo a linha de tendência do gráfico dentro do envelope de confiança, neste aspecto pode-se inferir que a espécie apresenta competição intraespecífica, o que pode inibir o desenvolvimento de indivíduos muito próximo entre si.



**Figura 10** - Função K de Ripley univariada para diferentes distâncias (L) dos indivíduos adultos inventariados de *Mezilaurus itauba*, ( a ) L = 10 m; ( b ) L = 20 m; e ( c ) L = 30 m.

## CONCLUSÕES

- O padrão espacial da população estudada foi aleatório com tendência a agregado;
- As árvores jovens apresentaram um padrão de completa aleatoriedade espacial;
- A distância entre árvores jovens e adultas dentro da população, com uma frequência e densidade alta, permitem possíveis trocas de pólen;
- A definição dos padrões de distribuição analisados estatisticamente através da função K de Ripley fornecem subsídios à exploração ordenada em planos de manejo de madeiras.
- Para *Mezilaurus itauba* na população estudada, as normas vigentes que estabelecem as diretrizes para a exploração de madeiras de modo generalizado, comprometendo as estruturas ecológicas reprodutivas e genéticas da espécie.
- Os resultados obtidos sugerem a necessidade de se realizar outros estudos em áreas adjacentes com a mesma tipologia florestal, objetivando ampliar o entendimento relacionado ao padrão de distribuição espacial para a espécie *Mezilaurus itauba*.

#### 4 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AMARAL, D.D.; VIEIRA, I.C.G.; ALMEIDA, S.S.; SALOMÃO, R.P.; SILVA, A.S.L.; JARDIM, M.A.G. Checklist da flora arbórea de remanescentes florestais da região metropolitana de Belém e valor histórico dos fragmentos, Pará, Brasil, 2009. **Boletim do Museu Paraense Emílio Goeldi. Ciências Naturais.** 4(3): p. 231-289.

APARÍCIO, W. C. S. **Estrutura da Vegetação em diferentes ambientes na Resex do Rio Cajari: interações solo-floresta e relações com a produção de castanha.** 2011. 150 f. Tese (Doutorado em Ciência Florestal) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife-PE.

ASNER, G.P.; RUDEL, T.K.; AIDE, T.M.; DEFRIES, R.; EMERSON, R. A contemporary assessment of change in humid tropical forests. **Conservation Biology.** v.23, p. 1386-1395. 2009.

BLEHER, B.; OBERRATH, R. & BÖHNING-GAESE, K. Seed dispersal, breeding system, tree density and the spatial pattern of trees – a simulation approach. **Basic and applied Ecology.** v. 3, p. 115-123. 2002.

BEGON, M.; TOWNSEND, C. R.; HARPER, J. L. **Ecology: from individuals to ecosystems.** 4 ed. Oxford: Blackwell, 2006. 738p.

BROADBENT, E.; ASNER, G.P.; KELLER, M.; KNAP, D.; OLIVEIRA, P.; SILVA, J. Forest fragmentation and edge effects from deforestation and selective logging in the Brazilian Amazon. **Biological Conservation.** v. 140, p. 142–155. 2008.

BUDKE, J.C.; JARENKOW, J.A.; OLIVEIRA-FILHO, A.T. **Relationships between tree component structure, topography and soils of a riverside forest, Rio Botucaraí, Southern Brazil.** *Plant Ecology.* V.189, p.187-200. 2007.

CARPRETZ, R.L. **Análise dos padrões espaciais de árvores em quatro formações florestais do estado de São Paulo, através de análises de segunda ordem, como a função K de Ripley.** Dissertação (Mestrado em ecologia) Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, SP. 93f. 2004.

CDB. **Convention on Biological Diversity. Forest Biodiversity – Earth’s living treasure.** Montreal. 2011. 48 p.

CONDIT, R.; ASHTON, P.; BAKER, P. Spatial patterns in the distribution of tropical tree species. **Science.** v. 288, p. 1414-1418, 2000.

COSTA, M.; MANTOVANI, W. **Dinâmica sucessional da floresta mesófila semidecídua em Piracicaba (SP).** *Oecologia Brasiliensis,* v.1, p.291-305, 1995.

CUNHA, U.S., **Análise da estrutura espacial horizontal de uma floresta de terra firme da Amazônia**. 2003. 126 f. Tese (Doutorado em ciências florestais) Universidade Federal do Paraná, Curitiba-PR.

DALMASO, C.A.; INOUE, M.T.; FILHO, P.C.O., MARCELINO, V.R., POTTKER, G.S. **Análise dos padrões espaciais de Ocotea odorífera (vell.) rohwer na floresta nacional de Irati (PR)**. *Ambiência* Guarapuava, PR. V.8. Ed. Especial, p.559-570. 2012.

DAVIDSON, E.A.; ARAÚJO, A.C.; ARTAXO, P.; BALCH, J.K.; BROWN, I.F.; BUSTAMANTE, M.M.C.; COE, M.T.; DEFRIES, R.S.; KELLER, M.; LONGO, M.; MUNGER, J.W.; SCHROEDER, W.; SOARES FILHO, B.S.; SOUZA Jr, C.M.; WOPSY, S.C. The amazon basin in transition. *Nature*, v.481, p. 321-328. 2012.

DRUCK, S.; CARVALHO, M. S.; CÂMARA, G.; MONTEIRO, A. M. V. **Análise espacial de dados geográficos**. Brasília: EMBRAPA, 2004. 209p.

DURIGAN, G.; ENGEL, V.L. **Restauração de ecossistemas no Brasil: Onde estamos e para onde podemos ir?** In: Martins, S.V. (ed.). Restauração .

FAO. Food and Agriculture Organization of the United Nations. **Forest Management and Climate Change: a literature review**. Rome, Italy. 2012. 46p.cológica de ecossistemas degradados. Editora UFV, Viçosa. P.1-23. 2012.

HAASE, P. **Spatial pattern analysis in ecology based on ripley's k function: introduction and methods of edge correction**. *Journal of vegetation Science*, Knivsta, v.6, p.575-582. 1995.

IBDF - **Madeiras da Amazônia: características e utilização**, Brasília-DF. IBDF/DPq/LPF. 364p. 1997.

KENT, M.; COKER, P. **Vegetation description and analysis: a practical approach**. New York: John Wiley and sons, 1992. 363p.

KREBS, C.J. **Ecological methodology**. 2 ed. British Columbia. University of British Columbia, Addison Wesley Longman. 1999. 620p.

LAW, R.; ILLIAN, J.; BURSLEM, D. F. R. P.; GRATZER, G.; GUNATILLEKE, C. V. S.; GUNATILLEKE, I. Ecological information from spatial patterns of plants: insights from point process theory. *Journal of Ecology*, v. 97, n. 4, p. 616 - 628, 2009.

LAURANCE, W.F.; PERES, C.A. (Eds.). **Emerging Threats to Tropical Forests**. University of Chicago Press, Chicago. 2006. 520p.

LORENZI, H. **Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil**. 3 ed. Nova Odessa: Instituto Plantarum. 1992. v. 2, 384p.

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

MIYAMOTO, K.; SUZUKI, E.; KOHYAMA, T.; SEINO, T.; MIRMANTO, E.; SIMBOLON, H. Habitat differentiation among tree species with small-scale variation of humus depth and topography in a tropical heath forest of Central Kalimantan, Indonésia. *Journal of tropical ecology* v.19, p.43-54. 2003.

MYERS, N.; MITTERMEIER, R.A.; MITTERMEIER, C.G.; FONSECA, G.A.B.; KENT, J. Biodiversity hotspots for conservation priorities. **Nature**. v. 403. p. 853-858. 2000.

ODUM, E.P. **Ecologia**. São Paulo, SP. Ed. Pioneira, 1993. 201p.

PENTTINEN, A.; STOYAN D.; HENTTONEN, H. M. Marked point processes in forest statistics. **Forest Science**, v. 38, n. 4 p. 806-824, 1992.

ROCHA, V.M.; CORREIA, F.W.S.; FIALHO, E.S. A Amazônia frente as mudanças no uso da terra e do clima global e a importância das áreas protegidas na mitigação dos impactos: Um estudo de modelagem numérica da atmosfera. **Acta Geográfica**, PP. 31-48. 2012.

ROUBIK, D.W. & DEGEN, B. Effects of animal pollination on pollen dispersal, selfing, and effective population size of tropical trees: a simulation study. **Biotropica**. v. 36, p.165-179, 2004.

SEVERIANO, C.E.; APARÍCIO, P.S.; APARÍCIO, W.C.D.; SOTA, E.D.; GUEDES, M.C.; OLIVEIRA, L.P.S. 2011. Distribuição diamétrica, espacial, características ecológicas e silviculturais de *Mezilaurus itauba* (Meisn.) Taub. ex Mez, na floresta do estado do Amapá (Flota/AP), Brasil. **V Simpósio Latino Americano Sobre Manejo Florestal**. P.526-533.

SILVA, K. E. ; MARTINS, S.B; Santos N.T; Carlos Antonio A.S. Ribeiro . Padrões Espaciais de Espécies Arbóreas Tropicais. In: Sebastião Venâncio Martins. (Org.). **Ecologia de Florestas Tropicais do Brasil**. 2.ed. Viçosa: Editora UFV, 2012, v. 1, p. 326-352.

SILVA, M.A.; MELLO, J.M.; SCOLFORO, R.S.S.; JUNIOR, L.C.; ANDRADE, I.S.; OLIVEIRA, A.D. Análise da distribuição espacial de Candeia (*Eremanthus erythropappus* (DC.) MacLeish) Sujeita ao sistema de manejo de porta sementes. **Revista Cerne**, Lavras, v. 14, n. 4, p. 311-316, out/dez 2008.

## CAPÍTULO 2

### RESUMO

EBERT, Alexandre. **Diversidade genética em população natural de *Mezilaurus itauba*** (Meisn.) Taub. ex Mez. 2014. Dissertação (Mestrado em Ciências Florestais e Ambientais) – Universidade Federal de Mato Grosso, Cuiabá-MT. Orientador: Prof. Dr. Reginaldo Brito da Costa.

Os estudos de diversidade genética em populações naturais de espécies florestais tem ganhado espaço nos últimos anos. Considerando que a biodiversidade esta diretamente envolvida a diversidade genética inter e intrapopulacional, torna-se essencial se conhecer os padrões genéticos das populações exploradas economicamente. Neste estudo buscou-se avaliar a diversidade da espécie *Mezilaurus itauba* em uma população natural, verificar como esta distribuída dentro dos grupos de árvores adultas e remanescentes conforme determina as normas legais vigentes para a exploração de madeiras em regime de manejo florestal. Os resultados obtidos indicam que para a espécie estudada, dentro da população analisada, ocorreu 77,46 % de polimorfismo entre os locos observados ocorrendo alta diversidade genética distribuída entre os indivíduos jovens e adultos. Foi observado que alguns alelos manifestaram-se somente no grupo das árvores adultas o que se pode concluir que na exploração destas, alelos importantes poderão ser perdidos, caso não se considere o fator genético na manutenção das árvores remanescentes.

Palavras chave: Genética de população, conservação genética, manejo florestal, indicadores ecológicos.

## ABSTRACT

EBERT , Alexandre. **Genetic diversity in natural populations of *Mezilaurus itauba*** (Meisn.) Taub. ex Mez. 2014. Dissertation ( MSc in Forestry and Environmental Sciences ) - Federal University of Mato Grosso , Cuiabá - MT . Advisor: Prof. . Dr. Reginaldo Brito da Costa.

Studies of genetic diversity in natural populations of forest species have gained ground in recent years. Whereas biodiversity is directly involved in inter-and intra-population genetic diversity, it is essential to know the genetic patterns of populations exploited economically. In this study we sought to evaluate the diversity of species *Mezilaurus itauba* in a natural population, see how this distributed within groups of adult and remnant trees as determined by the rules for the exploitation of timber in a forest management regime. The results indicate that for this species, within populations, was 77.46 % of polymorphism loci occurring between the observed high genetic diversity distributed among young people and adults. It was observed that some alleles are expressed only in the group of mature trees which one can conclude that the holding of these important alleles may be lost if they did not consider the genetic factor in the maintenance of the remaining trees.

Keywords: Population genetics, genetic conservation, forest management, ecological indicators.

# 1 INTRODUÇÃO

A biodiversidade dos sistemas florestais manifesta-se de várias formas, sendo a vegetação um dos bioindicadores de maior expressão para estudos ecológicos entre as espécies. Uma das formas de se estudar a diversidade dentro das espécies vegetais é a diferenciação genética entre e dentro de populações (FERREIRA & GRATTAPAGLIA 1998, TORRES et al., 2000; SANTOS et al., 2004).

Pires et al. (2011) citam a necessidade de programas de conservação dos recursos genéticos em comunidades florestais exploradas economicamente, sendo essa a única forma de se evitar no futuro um colapso na cultura de várias espécies florestais.

Naturalmente o equilíbrio genético se manifesta em uma população com grande tamanho efetivo populacional, na ausência da migração, mutação e seleção, de modo que mantenham constantes as frequências alélicas e genotípicas entre uma geração e outra (LOVELESS, & HAMRICK, 1984; PIRES et al., 2011).

Kageyama et al. (2003) descrevem a dificuldade de se incluir um grande número de espécies em estudos de diversidade genética quando relacionado a gama de diversidade de espécies naturais das florestas tropicais. Os autores sugerem que se estabeleçam espécies-modelo que servirão de representantes de um grupo comum nas características ecológicas e genéticas objetivando a conservação *in situ* da diversidade de uma população específica.

Roche & Dourojeanni (1984), definiram o significado de conservação *in situ* como sendo o local onde as plantas e seus genitores imediatos se desenvolvem, ou seja, a manutenção de um povoamento maduro e de sua regeneração natural seria considerada *in situ*.

A conservação *ex situ* se refere à manutenção dos genes ou complexos de genes em condições artificiais, como plantios florestais com caráter de conservação, bem como materiais protegidos em herbários e bancos de germoplasma (ROCHE & DOUROJEANNI 1984; PAIVA 1994).

Um método que tem recebido destaque da comunidade científica contemporânea trata-se do monitoramento da estrutura e diversidade genética de populações de espécies madeiráveis em exploração, buscando estabelecer indicadores genéticos que tendem a contribuir nos processos de conservação da biodiversidade (BOYLE, 2000).

A diversidade genética refere-se à variação dos genes dentro das espécies, e sua estrutura corresponde à diversidade de genótipos e sua abundância ou a variação dentro das populações. Alta diversidade genética é vantajosa quando o ambiente é instável e imprevisível, pois permite a adaptação da população as intervenções naturais ou antrópicas através da seleção dos genótipos (BERG, 2001).

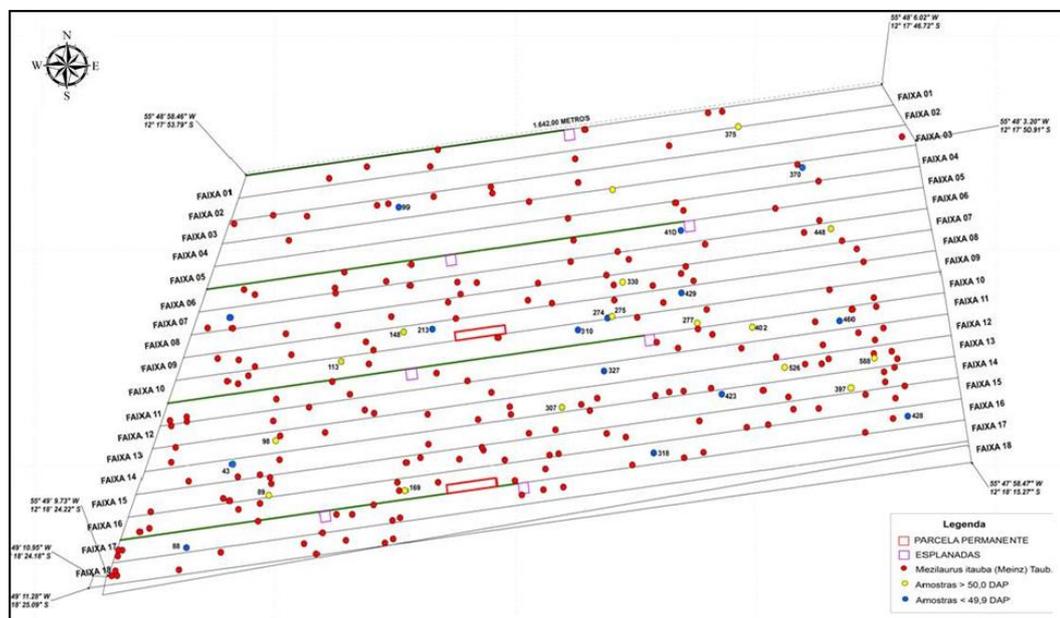
As normas estabelecidas pela legislação atual no que concerne a exploração de madeiras em florestas da Amazônia preveem principalmente parâmetros dendrométricos o que pode acarretar na dinâmica estrutural de uma floresta perdas irreparável quando se considera fatores ecológicos e genéticos.

Neste contexto, o presente estudo objetivou avaliar a diversidade genética de uma população de *Mezilaurus itauba* localizada em uma floresta estacional sob domínio da Amazônia meridional brasileira.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1 Coleta do Material Botânico

Através do mapa de distribuição pontual gerado no censo 100%, no qual todos os indivíduos da população estudada foram inventariados e devidamente alocados por coordenadas geográficas (Capítulo 1), foi possível fazer a distribuição amostral para coleta do material botânico objetivando a análise genética.



**Figura 11** - Distribuição dos indivíduos de *Mezilaurus itauba* (Meisn.) Taub. ex Mez distribuídos pelo polígono da população estudada.

A listagem preliminar dendrométrica foi gerada através censo (Figura 11), agrupando-se as classes de tamanho baseadas no diâmetro a altura do peito (DAP) da seguinte forma: Classe de tamanho conforme segue:

**Tabela 1** - Listagem de classes dendrométricas.

| Classe | DAP entre      | Classe | DAP            |
|--------|----------------|--------|----------------|
| I      | 30 e 40 cm     | IV     | 60,1 e 70,0 cm |
| II     | 40,1 e 50,0 cm | V      | 70,1 e 80,0 cm |
| III    | 50,1 e 60,0 cm | VI     | Maior que 80,1 |

O delineamento amostral utilizado foi o aleatório para todas as classes de tamanho inventariadas. Sortearam-se amostras dentro das classes de tamanho, de modo que se mantivesse uma proporcionalidade no número total de indivíduos por classes de tamanho, as quais possuem características de idade fisiológica e ontogenética reprodutivas.

Estabeleceu-se como árvores adultas aquelas que possuísem medidas acima de 50 cm de DAP que na prática são destinadas a exploração madeireira (árvores com diâmetro mínimo para o corte), e árvores jovens ou menores que 49,9 cm de DAP que são consideradas remanescentes conforme Conama, (2009). Ao todo foram coletadas amostras de lenho da região do câmbio vascular e folhas de 36 indivíduos sendo 20 indivíduos com DAP acima de 50 cm e 16 indivíduos com DAP abaixo de 49,9 cm de DAP, conforme a Tabela 2.



**Figura 12** - Imagens da coleta de material botânico de *Mezilaurus itauba* (Meisn.) Taub. ex Mez. (a) coleta de folhas jovens; (b) coleta direta de lenho cambial em solo.

**Tabela 2** - Relação descritiva de localização das árvores amostradas para a coleta de material botânico para os estudos de análise genética em população de *Mezilaurus itauba*. (\*) amostras em que não se conseguiu extrair o DNA.

| Registro | Faixa | Diâmetro | Classe | Latitude    | Longitude   |
|----------|-------|----------|--------|-------------|-------------|
| 1        | 1     | 50,30    | III    | 12:17:51,76 | 55:48:42,65 |
| 2        | 1     | 57,30    | III    | 12:17:49,94 | 55:48:17,81 |
| 3        | 2     | 43,50    | II     | 12:17:52,40 | 55:48:31,28 |
| 4        | 3     | 37,85    | I      | 12:17:56,77 | 55:48:45,77 |
| 5        | 5     | 35,10    | I      | 12:17:55,68 | 55:48:22,97 |
| 6*       | 7     | 74,80    | V      | 12:18:0,16  | 55:48:31,60 |
| 7        | 7     | 54,12    | III    | 12:18:5,35  | 55:49:1,52  |
| 8        | 8     | 30,25    | I      | 12:18:0,55  | 55:48:22,18 |
| 9        | 8     | 89,12    | VI     | 12:18:5,80  | 55:48:55,09 |
| 10       | 9     | 60,48    | IV     | 12:18:6,29  | 55:48:48,42 |

Tabela 2, cont.

|            |          |               |           |                   |                    |
|------------|----------|---------------|-----------|-------------------|--------------------|
| <b>11*</b> | <b>9</b> | <b>109,82</b> | <b>VI</b> | <b>12:18:5,57</b> | <b>55:48:45,33</b> |
| <b>12*</b> | 9        | 42,98         | II        | 12:18:7,37        | 55:48:54,69        |
| <b>13</b>  | 10       | 55,71         | III       | 12:18:7,84        | 55:48:50,50        |
| <b>14</b>  | 11       | 76,40         | V         | 12:18:12,61       | 55:49:4,61         |
| <b>15</b>  | 11       | 73,85         | V         | 12:18:9,21        | 55:48:40,08        |
| <b>16*</b> | 11       | 73,21         | V         | 12:18:8,71        | 55:48:42,71        |
| <b>17</b>  | 12       | 63,66         | IV        | 12:18:5,56        | 55:48:0,45         |
| <b>18</b>  | 12       | 39,15         | I         | 12:18:7,31        | 55:48:14,65        |
| <b>19*</b> | 13       | 63,66         | IV        | 12:18:10,29       | 55:48:24,58        |
| <b>20</b>  | 13       | 63,50         | IV        | 12:18:10,09       | 55:48:23,45        |
| <b>21</b>  | 13       | 47,75         | II        | 12:18:9,94        | 55:48:22,27        |
| <b>22</b>  | 13       | 44,56         | II        | 12:18:17,56       | 55:48:33,74        |
| <b>23</b>  | 13       | 42,50         | II        | 12:18:6,20        | 55:48:0,75         |
| <b>24</b>  | 14       | 41,38         | II        | 12:18:7,44        | 55:48:0,71         |
| <b>25</b>  | 14       | 54,12         | III       | 12:18:13,27       | 55:48:35,05        |
| <b>26</b>  | 15       | 31,84         | I         | 12:18:14,87       | 55:48:33,20        |
| <b>27*</b> | 15       | 57,29         | III       | 12:18:13,50       | 55:48:27,07        |
| <b>28</b>  | 15       | 57,23         | III       | 12:18:16,64       | 55:48:56,41        |
| <b>29</b>  | 15       | 73,27         | V         | 12:18:17,11       | 55:48:56,25        |
| <b>30</b>  | 15       | 76,40         | V         | 12:18:14,51       | 55:48:38,77        |
| <b>31</b>  | 16       | 72,58         | V         | 12:18:17,63       | 55:48:45,38        |
| <b>32</b>  | 16       | 43,29         | II        | 12:18:15,12       | 55:48:22,18        |
| <b>33</b>  | 16       | 57,29         | III       | 12:18:14,65       | 55:48:20,65        |
| <b>34</b>  | 16       | 46,80         | II        | 12:18:15,88       | 55:48:33,61        |
| <b>35</b>  | 16       | 47,75         | II        | 12:18:14,68       | 55:48:24,76        |
| <b>36*</b> | 17       | 63,66         | IV        | 12:18:18,76       | 55:48:47,88        |

As amostras foram devidamente acondicionadas e armazenadas da seguinte forma: as folhas jovens foram limpas extraindo-se detritos e organismos epifíticos existentes, acondicionadas em sacos de polipropileno e transportadas em caixas de isopor contendo gelo, esse procedimento visa manter a qualidade do DNA a ser extraído e reduzir efeitos indesejados que influenciem nas análises laboratoriais, por exemplo, reações de enzimas e metabólitos secundários. As amostras de lenho cambial foram extraídas e instaladas em tubos individuais de 50 mL de volume, e acrescentado solução de transporte, contendo Ácido ascórbico, CTAB,  $\beta$  mercaptoetanol e etanol absoluto. Na sequência foram transportadas em caixas de isopor contendo gelo. As amostras permaneceram nestas condições até serem levadas ao laboratório de Biotecnologia da Faculdade de Engenharia Florestal da UFMT, onde foram devidamente preparadas para as análises.

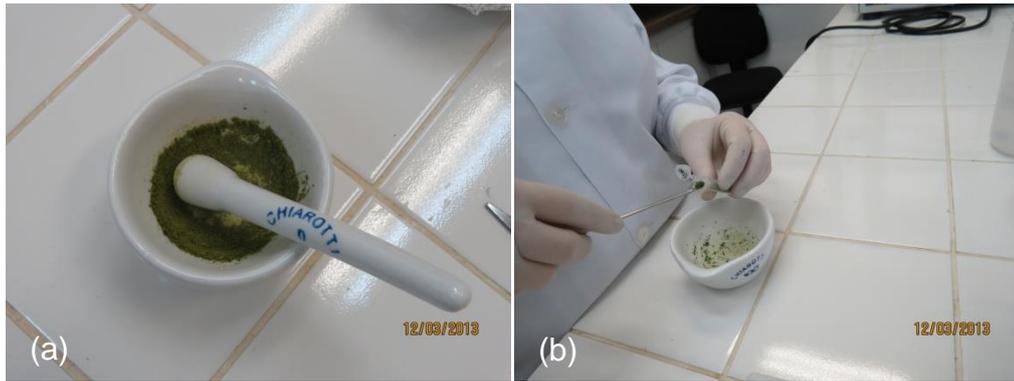
## 2.2 Extração de DNA

Existem vários protocolos para extração de DNA, sendo que o método CTAB (Doyle & Doyle, 1987) com solução tampão de extração é o mais utilizado em plantas arbóreas tropicais (FERREIRA & GRATTAPAGLIA, 1998). A diferença básica entre esses protocolos está na composição do tampão de extração que, normalmente, integra um agente tamponante para estabilizar o pH em torno de 7.0; um sal para dissociar as proteínas do DNA; um detergente para solubilizar as membranas e auxiliar na inativação de algumas enzimas; e, um inibidor de DNases para proteger o DNA (BERED, 1998). A principal vantagem desse método é a aplicação em vários tipos de tecidos de plantas, como raízes, folhas, sementes, embriões e células em suspensão (FERREIRA & GRATTAPAGLIA 1998).

Aras et al. (2003) citam que os métodos de extração de DNA convencionais não são reproduzíveis a todas espécies, em muitos casos são necessárias adaptações e modificações nos protocolos.

O procedimento se iniciou com a maceração dos tecidos vegetais para rompimento das membranas celulares, utilizando nitrogênio líquido (Figura 13 a). Após esse processo o macerado foi instalado em microtubos (Figura 13 b), adicionando-se a solução de tampão extração, para desnaturar as proteínas e solubilizar as membranas lipoproteicas, levou-se ao banho Maria a uma temperatura de 50 a 60°C, de 10.000 a 12.000 rpm, durante 15 a 20 minutos, onde os compostos orgânicos e aquoso foram separados pela centrifugação.

Foi necessário realizar um procedimento de adaptação para a espécie, testando diferentes concentrações de 2-mercaptoetanol, sendo: Concentração 1 (2,5 %); Concentração 2 (5,0 %); Concentração 3 (7,5 %).

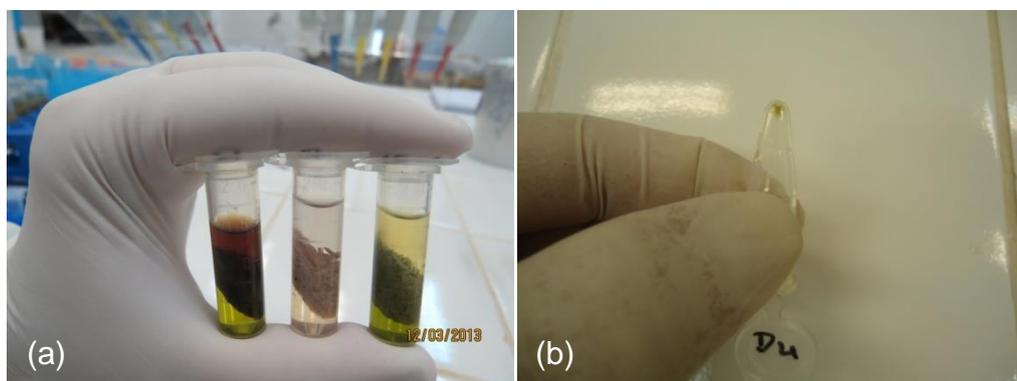


**Figura 13** - Em "a" e "b" Processo de maceração dos tecidos utilizados para a extração do DNA da espécie *Mezilaurus itauba*.

Com a primeira etapa concluída, os lipídeos, as proteínas e a maioria dos polissacarídeos ficaram retidos na camada orgânica, e o DNA ficou exposto na parte sobrenadante (Figura 14 a), a qual foi extraída com auxílio de pipetas, instalando-se em novos microtubos devidamente identificados, adicionou-se isopropanol mantendo em repouso por um tempo de 30 min.

Seguindo um novo procedimento de centrifugação por 15 minutos, o DNA ficou precipitado em forma de *pellets* sendo possível a sua visualização direta ao fundo do microtubo (Figura 14 b). O precipitado obtido passou por mais uma etapa de lavagem com isopropanol, ficando apenas a estrutura de DNA na forma de *pellets*.

Para a separação do DNA e RNA acrescentou-se ao meio, solução EDTA contendo *RNAse* para a degradação do RNA presente, ressuspendendo então somente o DNA.

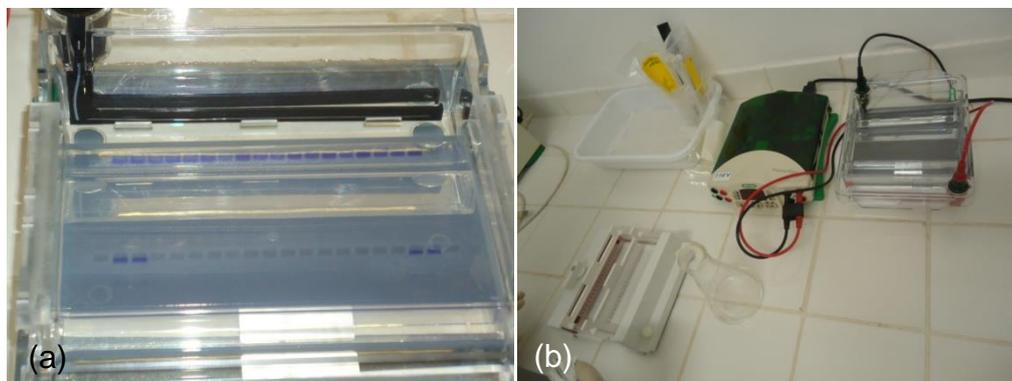


**Figura 14** - Em "a" e "b" Microtubos com visualização da solução aquosa com estágios sobrenadantes que concentra o DNA, e imagem do pellet de DNA formado no fundo do microtubo.

As amostras de DNA obtidas foram quantificadas através de leitura da concentração e pureza. A quantificação do DNA extraído foi realizada através da leitura em *nanodrop*.

Após a quantificação das amostras de DNA, foi realizada a diluição em água ultra pura (milli-Q) a uma concentração de 4,2 ng/μL.

O material extraído foi aplicado em gel de agarose, realizando-se as corridas eletroforéticas por 30 min em 80 volts e 300 mA (Figura 15). A leitura foi realizada em fotorevelador com luz ultra violeta (UV), comparando-se as amostras a padrões conhecidos, no caso, um marcador molecular, determinando-se as concentrações aproximadas de DNA em cada amostra.



**Figura 15** - Em "a" e "b" Gel de agarose e brometo de etídio com orifícios inoculados com amostras de DNA e vista da cuba horizontal utilizada para as corridas em eletroforese.

Para o armazenamento e ou estoque do DNA mantiveram-se em câmaras frias ou freezers na temperatura constante de -20°C.

### 2.3 Amplificação do DNA – PCR

Adaptações nas concentrações de DNA foram necessárias, a quantidade de ácido nucleico nas amostras influenciavam os processos de amplificação do DNA, então se realizaram testes de concentrações com duas quantidades, sendo: Tratamento 1 (4,2 ng/μL) e Tratamento 2 (5,0 ng/μL). Os melhores resultados para amplificação dos *primers* foi obtido na concentração 4,2 ng/μL de DNA.

A quantidade de DNTP também necessitou ser definida, realizando-se testes nas concentrações: tratamento 1 (75  $\mu$ L); tratamento 2 (60  $\mu$ L) e tratamento 3 (50  $\mu$ L). Os melhores resultados foram obtidos no tratamento 2, ou seja, 60  $\mu$ L de DNTP. A DNTP esta intimamente relacionada a ação da enzima *taq* polimerase, essencial na amplificação via PCR do DNA genômico.

O protocolo de PCR inicia-se com a desnaturação da fita dupla de DNA a ser amplificado. Utilizou-se a temperatura indicada para espécies arbóreas tropicas (92° C por 1 minuto).

No protocolo de amplificação em PCR o seguimento iniciador realiza o anelamento, ligando ou não a região especifica em que o *primer* seqüência com a fita simples de DNA, formando uma nova fita dupla, e consequentemente ampliando o fragmento de DNA. A temperatura ideal para o anelamento da espécie foi obtida empiricamente, ou seja, foram realizados testes em gradientes de temperatura entre 30° e 50° C. A temperatura ideal obtida com os testes foi de 38° C por um tempo de 2 minutos, nas temperaturas de 92° C por 1 minuto, 38° C por 2 minutos, 72° C por 1 minuto em ciclos de 35 vezes (Figura 16).



**Figura 16** - Painel de controle do PCR, com configurações do protocolo de amplificação das amostras de DNA de *Mezilaurus itauba* (Meisn.) Taub. ex Mez.

O processo final do protocolo de amplificação da fita de DNA refere-se à extensão dos segmentos complementares da fita, através da enzima *taq*-polimerase ligando os nucleotídeos entre si. A polimerase reconhece os blocos iniciais e as duas extremidades dos *primers* (3' e 5') completando a fita simples sempre em direção do fragmento obtido.

Os *primers* foram obtidos do laboratório *Life Technologies*<sup>®</sup>, e foram desenhados para amplificação de RAPD de espécies da mesma família da estudada. A Tabela 3 relaciona 11 iniciadores que estão sendo utilizados para amplificação do DNA da espécie em estudo.

**Tabela 3** - Iniciadores (*primers*) utilizados para amplificação das amostras de DNA da espécie *Mezilaurus itauba*.

| N° | Nome do oligonucleotídeo | Sequência        | Escala de síntese |
|----|--------------------------|------------------|-------------------|
| 1  | P4                       | '5-AAGTCCGCTC-3' | 25N               |
| 2  | P6                       | '5-CCACGGGAAG-3' | 25N               |
| 3  | P10                      | '5-TCAGAGCGCC-3' | 25N               |
| 4  | P16                      | '5-AAGACCCCTG-3' | 25N               |
| 5  | P19                      | '5-CTTCACCCGA-3' | 25N               |
| 6  | P40                      | '5-AGCGCCATTG-3' | 25N               |
| 7  | P48                      | '5-GGCACGCGTT-3' | 25N               |
| 8  | P50                      | '5-ACGGCGTATG-3' | 25N               |
| 9  | P51                      | '5-CATCCGTGCT-3' | 25N               |
| 10 | P22                      | '5-AATCGGGCTG-3' | 25N               |
| 11 | P53                      | '5-ATATGCGCCA-3' | 25N               |

Após a amplificação do DNA, as amostras foram inoculadas em gel de agarose a 2% acrescido de brometo de etídio em cuba horizontal, objetivando a revelação dos fragmentos de DNA em diferentes tamanhos.

## 2.4 Eletroforese

Basicamente a corrida eletroforética consiste na aplicação de uma corrente elétrica contínua nas placas de gel, que objetivam realizar a migração do DNA amplificado extraídas de um tecido vegetal, permitindo a visualização das bandas através das revelações.

Para as corridas eletroforéticas foram instaladas placas de gel em agarose em uma cuba em solução tampão de TBE a 1% (Tris, Borato e EDTA), com um transmissor de corrente elétrica contínua de 80 v e amperagem de 300 A por 30 minutos de duração.

As moléculas de DNA tendem a migrar pela malha presente no gel, correndo do polo negativo ao positivo e deslocam-se pela placa de

gel conforme o tamanho dessas moléculas, ou seja, quando maior o peso molecular menor é o espaço percorrido pela caneleta.

Na visualização direta das corridas utilizou-se corante azul de bromofenol, onde a principal função era a comprovação de que as amostras estavam sendo assentadas de modo apropriado no *slot* do gel e que permitissem o monitoramento das corridas.

A revelação dos fragmentos de DNA pode ser realizada com utilização do corante fluorescente Brometo de Etídeo, que promove as revelações fotográficas através do fotodocumentador *Gel Doc Ez Imager*.

## **2.5 Interpretação dos géis**

Após a revelação das bandas formadas nos géis, realizou-se a interpretação dos das mesmas.

As bandas reveladas foram enumeradas de forma sequencial crescente, ou seja, da maior mobilidade a menor. Um marcador molecular de peso conhecido (100pb) foi aplicado como testemunho objetivando referenciar as posições dos alelos nos géis.

Utilizou-se do software *Image LAB 4.0* para analisar as imagens, o programa permitiu a captura das imagens classificando as bandas abertas durante as corridas eletroforéticas e documentadas através de fotografias.

## **2.6 Análise dos Dados RAPD**

As avaliações dos géis foram realizadas através da construção de matrizes binárias construídas no software Microsoft Excel, onde foi determinado: Presença de banda (1) e ausência de banda (0), essas matrizes foram utilizadas para as análises estatísticas.

A distribuição da diversidade genética foi avaliada pela análise de agrupamentos, a distribuição espacial dos indivíduos agrupados classificou dois grupos, sendo: Grupo 1 árvores adultas ( $\geq$  que 50 cm DAP) e grupo 2; árvores remanescentes ( $<$  que 50 cm DAP). No primeiro grupo as árvores encontram-se distribuídas ao longo da área de modo aleatório com tendência ao agrupamento e no segundo grupo apresenta um padrão de distribuição de completa aleatoriedade espacial (Capítulo 1).

### 2.6.1 Diversidade genética

A dissimilaridade genética entre os indivíduos de *Mezilaurus itauba* foi determinada pela análise de agrupamento através o cálculo das distâncias Euclidianas entre cada par de observações (HAIR et al., 2005).

$$d_{ii'} = \sqrt{\sum_{k=1}^p (X_{ik} - X_{jk})^2} \quad \text{Equação 1}$$

ou pela forma matricial

$$d_{ii'} = [(X_i - X_{i'})(X_i - X_{i'})]^{\frac{1}{2}} \quad \text{Equação 2}$$

em que  $X_i = (X_{i1}, \dots, X_{ip})$  e  $X_{i'} = (X_{i'1}, \dots, X_{i'p})$

A técnica de agrupamento adotada para as análises da similaridade genética foi o dendrograma de agrupamento hierárquico de ligação completa (Complete Linkage) que realiza o agrupamento das amostras pela distância média entre o objeto que se pretende incluir num grupo e cada objeto pertencente a este grupo. Essa técnica satisfaz a propriedade de hierarquia em que cada interação forma um novo grupo a partir do anterior (REIS et al, 2003).

Outro método aglomerativo analisado foi de distância de Mahalanobis ( $D^2$ ). Ela também pode ser definida como uma medida de dissimilaridade entre dois vetores aleatórios  $y$  e  $x$  de mesma distribuição

com matriz de covariância. Esse método difere da distância euclidiana por levar em consideração a correlação entre o conjunto de dados, sendo que o ajuste é feito para as intercorrelações entre as variáveis. É dada por:

$$d(x, y) = \sqrt{(x - y)^T \Sigma(x - y)^{-1}} \quad \text{Equação 3}$$

## 2.6.2 Níveis de polimorfismo

Através da matriz binária gerada na interpretação das bandas foi possível determinar a porcentagem de polimorfismo em cada oligonucleotídeo, utilizando-se da fórmula:

$$P = \left( \frac{nbp}{nbt} \right) * 100 \quad \text{Equação 4}$$

Onde: P = Porcentagem de polimorfismo;  
nbp = número de fragmentos polimórficos;  
nbt = número de fragmentos totais.

## 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 3.1 Extração do DNA Genômico

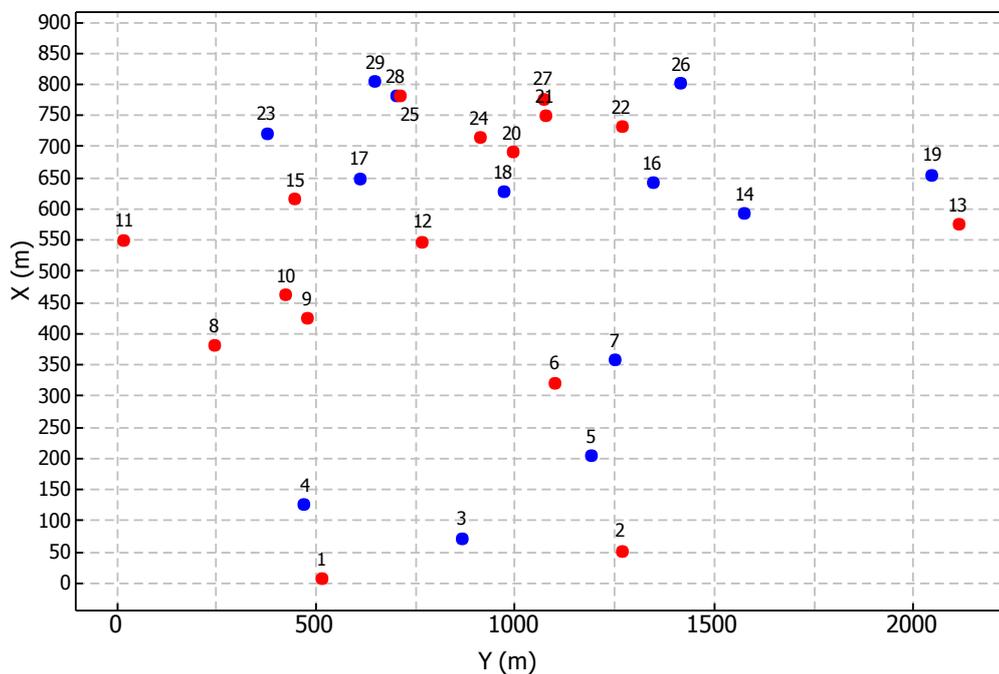
No presente estudo foram comparados dois métodos de coleta de material biológico para a extração do DNA, sendo: folhas jovens e lenho da região cambial. Nos dois métodos obteve-se sucesso, porém as amostras de lenho da região do câmbio armazenadas em solução tampão de transporte se destacaram pela simplicidade e facilidade na coleta em

campo e menos trabalhosa para o preparo da extração do DNA em laboratório.

Das 36 amostras coletadas, 29 foram extraídas com sucesso, ou seja, obteve-se êxito para 80,55% das amostras na extração do DNA, obtendo-se material em boa qualidade e quantidade suficiente para realização das análises genéticas. A localização das árvores amostradas foi facilitada devido ao levantamento preliminar executado durante o censo 100% realizado para os estudos do padrão de distribuição espacial (Capítulo 1).

A distribuição espacial das 29 amostras que se obteve êxito na extração do DNA está representada na Figura 17, observa-se uma tendência de localização de indivíduos adultos concentrados de 0 a 1.300 metros e uma distribuição menos agrupada entre os indivíduos jovens.

Piovesan et al. (2009), verificaram que a espécie *Mezilaurus itauba* raramente apresenta indivíduos jovens em áreas em que realizam a exploração madeireira.



**Figura 17** - Posição e distribuição espacial dos indivíduos de *Mezilaurus itauba* (Meisn.) Taub. ex Mez na população estudada. Pontos vermelhos árvores adultas e pontos azuis árvores jovens.

O protocolo de extração de DNA descrito por Ferreira e Grattapaglia (1998) possibilitou resultados satisfatórios para a espécie

estudada. As adaptações realizadas para a solução tampão de extração no que se refere à quantidade de 2-mercaptoetanol ajustadas para 5% permitiram condições ideais para a extração.

A corrida de eletroforese em gel de agarose a 2% utilizando o corante fluorescente brometo de etídio e radiação ultravioleta permitiu de modo satisfatório a fotodocumentação dos fragmentos de DNA.

### 3.2 Diversidade genética

A técnica molecular de marcadores RAPD utilizada na pesquisa, mostrou-se eficaz e de grande valia para a caracterização e avaliação da diversidade genética de *Mezilaurus itauba*. As principais vantagens encontradas, relacionada a outros tipos de marcadores conforme relatado por vários pesquisadores foram confirmadas principalmente nos indicadores de baixo custo, tempo de execução das análises laboratoriais e a necessidade de pequena quantidade de material vegetal para sua execução.

Para a população estudada, vinte e nove (29) acessos de *Mezilaurus itauba* foram analisados. A porcentagem de polimorfismo foi estimada através do número de bandas com a maior frequência e com ocorrência menor que 99% em relação à totalidade de todos os fragmentos observados. Foram geradas 89 bandas sendo destas 71 polimórficas representando 79,77% de polimorfismo. Os locos mais polimórficos correspondem aos *primers* P6 e P16 (Tabela 4), ambos com 12 fragmentos cada, e o *primer* P50 apresentou menor polimorfismo com apenas 1 alelo revelado.

**Tabela 4** - Sequência dos oligonucleotídeos utilizados nas reações PCR RAPD com a respectiva sequência; número de bandas totais e polimórficas e o percentual de polimorfismo.

| Nome do oligonucleotídeo | Sequência        | n° de bandas |             |       |
|--------------------------|------------------|--------------|-------------|-------|
|                          |                  | totais       | polimórfica | %     |
| P4                       | '5-AAGTCCGCTC-3' | 10           | 8           | 8,99  |
| P6                       | '5-CCACGGGAAG-3' | 12           | 9           | 10,11 |

|     |                  |    |    |       |
|-----|------------------|----|----|-------|
| P10 | '5-TCAGAGCGCC-3' | 3  | 3  | 3,37  |
| P16 | '5-AAGACCCCTG-3' | 12 | 10 | 11,24 |
| P19 | '5-CTTCACCCGA-3' | 8  | 5  | 5,62  |
| P40 | '5-AGCGCCATTG-3' | 11 | 9  | 10,11 |
| P48 | '5-GGCACGCGTT-3' | 10 | 9  | 10,11 |
| P50 | '5-ACGGCGTATG-3' | 1  | 1  | 1,12  |
| P51 | '5-CATCCGTGCT-3' | 8  | 6  | 6,74  |
| P22 | '5-AATCGGGCTG-3' | 11 | 9  | 10,11 |
| P53 | '5-ATATGCGCCA-3' | 3  | 2  | 2,25  |

Esses Resultados sugerem elevada taxa de polimorfismos intrapopulacional com alta diversidade genética entre os indivíduos amostrados, refletindo as interações ecológicas dos fatores do sistema florestal.

A redução da diversidade genética em populações ocasionada muitas vezes por ações antrópicas, afeta diretamente a capacidade evolutiva das espécies. O tamanho efetivo populacional quando reduzido torna as populações suscetíveis à baixa adaptação as mudanças ambientais, em função de uma população endogâmica resultado de endocruzamentos com perda da heterozigidade (FRANKHAN et al., 1999).

Resultados semelhantes foram obtidos por Santos (2004) estudando a diversidade genética em *Aniba rosaeodora* Ducke por meio de marcadores RAPD. Para a espécie estudada foi obtido resultados de 77,46 % de polimorfismo entre os locos observados. Gomes et al, (2011) avaliando a diversidade genética de *Mauritia flexuosa* L. f. (Arecaceae) através do uso de marcadores AFLP (polimorfismo no comprimento de fragmentos amplificados) em quatro populações, obteve um percentual médio de polimorfismo de 82 a 91,1%. Kageyama et al (2003) utilizando marcadores moleculares do tipo RAPD no estudo da diversidade genética em uma população natural de *Ocotea odorífera* (Lauraceae) verificaram um percentual de 95% de locos polimórficos. Sandigawab e Patil (2011) verificaram 89% de polimorfismo em 11 *primers* RAPD em *Cinnamomum zeylanicum* Blume (Lauraceae).

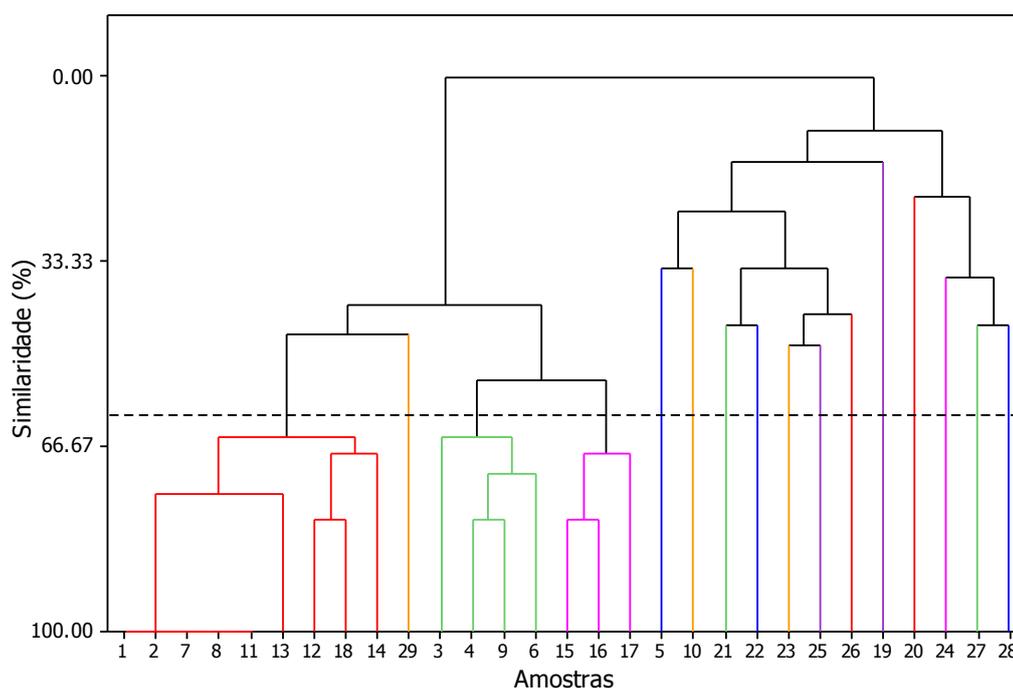
Analisando os locos polimórficos nos dois grupos estudados, árvores jovens e árvores adultas, obteve-se um percentual de 47,42% de

alelos entre o grupo das árvores remanescentes e 53,58% para o grupo das árvores adultas. Esses resultados sugerem que os valores de diversidade genética poderão ser mantidos nas árvores remanescentes caso ocorra à exploração de madeiras através de regime de manejo florestal, conseqüentemente retirando assim as árvores adultas (> que 50 DAP). Porém destaca-se que alelos importantes poderão ser perdidos durante a exploração, haja visto que, alguns locos revelados só foram verificados no grupo nas espécies adultas.

Observa-se entre os grupos um equilíbrio na distribuição dos genótipos, o que permite afirmar que a diversidade genética esta sendo mantida pelas gerações de árvores existentes na população estudada. Isso pode estar relacionado ao sistema reprodutivo, síndromes de polinização e de dispersão de sementes, que a estrutura natural da floresta mantém, através das trocas genéticas incentivadas pela densidade e frequência dos indivíduos na população.

O dendrograma de similaridade genética (Figura 18) gerado pelo método de agrupamento hierárquico completo ilustra os resultados de maneira sintética, realizou-se o corte na similaridade média de 55%, ocorreu a formação de três grupos. O primeiro grupo está representado pelas amostras 1, 2, 7, 8, 11, 12, 13, 14 e 18; destas amostras 1, 2, 8, 11, 12 e 13 pertencem à classe das árvores adultas e as amostras 7, 14 e 18 as árvores jovens. O segundo grupo revelou as amostras 3, 4, da classe das árvores jovens e as amostras 6 e 9 da classe das árvores adultas; e o terceiro grupo pelas amostras 15 da classe das árvores adultas e as amostras 16 e 17 da classe das árvores jovens.

A diversidade genética mantida dentro da população estudada é função dos eventos históricos ocorridos e de outros processos evolutivos mais recentes (LEE et al., 2002). Poucos são os trabalhos relacionados a espécie *Mezilaurus itauba*, a maioria dos trabalhos verificados se direcionam a tecnologia empregada na produção de madeiras da espécie, existindo assim escassez em trabalhos relacionados a evolução e ecologia da espécie. Com isso as explicações relacionadas a diversidade genética dentro da população estudada se afirmam em inferências científicas.



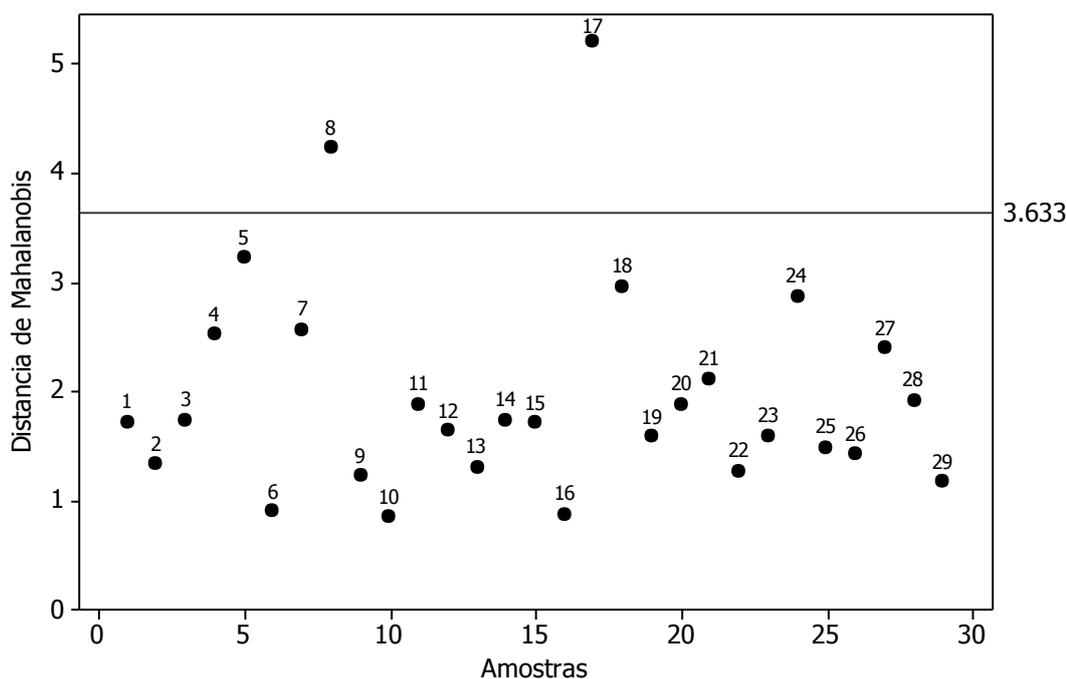
**Figura 18** - Agrupamento dos fragmentos de DNA revelados em 29 acessos de *Mezilaurus itauba* (Meisn.) Taub. ex Mez. através das distâncias euclidianas pelo método de agrupamento hierárquico completo (Complete Linkage) com linha de corte destacada (pontilhada) estimada em 55%.

**Tabela 5** - Agrupamento dos genótipos pelo método de Tocher de 18 genótipos de *Mezilaurus itauba* (Meisn.) Taub. ex Mez. provenientes da população estudada, discriminados a 55% de similaridade genética, utilizando as medidas das distâncias euclidianas.

| Grupo | Amostras                       |
|-------|--------------------------------|
| 1     | 1, 2, 7, 8, 11, 12, 13, 14, 18 |
| 2     | 3, 4, 6, 9                     |
| 3     | 15, 16, 17                     |

A matriz de similaridade revela que os níveis de diversidade genética variaram entre as amostras, permitindo o entendimento de como a variabilidade genética se organiza na população, esse conhecimento é a premissa para a conservação da diversidade genética e conseqüentemente do potencial evolutivo da espécie (HAMRICK & GODT, 1987).

A média das distâncias considerando todos os genótipos dos grupos em relação as características fenotípicas e genotípica avaliadas, com base na distância  $D^2$  de Mahalanobis foi de 1,89 (Figura 19). A distância mínima observada foi entre as amostras 14 e 15; 25 e 26; e as maiores distâncias entre 10 e 17; 16 e 17. A utilização do conjunto de dados gerados na análise de Mahalanobis em grupos com similaridade tem como premissa tornar a distância  $D^2$  mínima dos grupos (adultas e jovens) e máxima fora deles.



**Figura 19** - Dispersão das amostras de *Mezilaurus itauba* utilizando a distância de Mahalanobis  $D^2$  pela técnica estatística multivariada baseado na minimização das diferenças entre as distâncias originais.

É importante analisar a dissimilaridade genética entre os componentes dos grupos, buscando entender as diferenças do padrão dos fenótipos observados em campo dos analisados geneticamente. Para proposta de conservação genética para a espécie bem como para programas de melhoramento, esse tipo de pesquisa fornece subsídios importantes para a manutenção e conservação das espécies exploradas economicamente na região da Amazônia meridional brasileira.

## 4 CONCLUSÕES

- A população estudada apresenta alto percentual de polimorfismo entre os locos analisados, o que demonstra alta diversidade genética entre a população estudada;
- Os índices de diversidade genética indicam a possibilidade de manutenção das gerações, através das síndromes de polinização entre os indivíduos adultos;
- Alguns fragmentos de DNA manifestaram-se apenas em exemplares adultos, não sendo observados entre os indivíduos jovens;
- Variáveis genóticas estão relacionadas às árvores jovens, com maior número de bandas obtidas entre os indivíduos jovens;
- Indicadores genéticos devem ser considerados em programas de manejo florestal de modo que contribuam para a perpetuação das espécies exploradas economicamente na Amazônia meridional brasileira.

## 5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AMARAL, D.D.; VIEIRA, I.C.G.; ALMEIDA, S.S.; SALOMÃO, R.P.; SILVA, A.S.L.; JARDIM, M.A.G. Checklist da flora arbórea de remanescentes florestais da região metropolitana de Belém e valor histórico dos fragmentos, Pará, Brasil, 2009. **Boletim do Museu Paraense Emílio Goeldi**. Ciências Naturais. 4(3): p. 231-289.

ARAS, S.; DURIGAN, A.; YENILMEZ, G. Isolation of DNA for RAD analysis from dry leaf material of some *Hesperis* L. specimens. **Plant Molecular Biology Reporter**, v. 2. p. 461a-461f, 2003.

BERED, F. Extração de DNA – considerações e prática. In: Milach, s.c.k. (Ed.). **Marcadores moleculares em plantas**. Porto Alegre: S.C.K. Milach, 1998. 141p.

BERG, E.V.D. Estrutura e ecologia de comunidades e populações vegetais. Lavras: UFLA/FAEPE. **Curso de Pós Graduação “Lato sensu”:** **Gestão e Manejo Ambiental em Sistemas Florestais**. 29 p. 2001.

BIORREGAARD, J.R.; LOVEJOY, T.E.; KAPOS, V.; SANTOS, A.A.; HUTCHINGS, R.W. **The biological dynamics of tropical rainforest fragments**. *BioScience*. 42, 859-866. 1992.

BORÉM, A.; MIRANDA, G. V. **Melhoramento de plantas**. 4. Ed. Viçosa: Editora UFV. 2005. 547p.

BORÉM, A.; CAIXETA, E. T. **Marcadores moleculares**. 2ª Ed. Viçosa, 2009. 532p.

BOYLE, T.J. Criteria and indicators for the conservation of genetic diversity In: Young A.; Boschier, D.; Boyle, T.J. (Ed.). **Forest conservation genetics: principles and practice**. Collingwood: CSIRO Publishing and CABI Publishing. P. 239-250. 2000.

BRUNE, W.; ALFENAS, A.C.; JUNGHANS, T.G. Identificações específicas de enzimas em géis. In: ALFENAS, A.C. (Ed). **Eletroforese e marcadores bioquímicos em plantas e microrganismos**. 2.ed. Viçosa: Editora UFV, 2006. p. 202-328.

EXCOFFIER, L.; SMOUSE, P.E.; QUATTRO, J.M. **Analysis of molecular variance inferred from metric distance among DNA haplotypes: application to human mitochondrial restriction data**. *Genetics*. 1992. 131: 479–491.

FALCONER, D. S. **Introdução à genética quantitativa**. Trad. Martinho Almeida Silva; José Carlos da Silva. Viçosa: UFV, 279P. 1987.

FERREIRA, M. E. & GRATTAPAGLIA, D. **Introdução ao uso de marcadores moleculares em análise genética.** 2<sup>a</sup> ed. Brasília, EMBRAPA/CENARGEN, 220p. 1998.

FRANKHAN, R.; LEES, K.; MONTGOMERY, M.E.; ENGLAND, P.R.; BRISCOE, D.A. **Do population size bottlenecks reduce evolutionary potential.** *Animal conservation*, v. 2, p.255-260. 1999.

GOMES, L. R. P.; LOPES, M. T. G.; BENTES, L. S.; BARROS, W. S.; COSTA NETO, P. Q. CONTIM, L. A. S. **Genetic diversity in natural populations of Buriti (*Mauritia flexuosa* L. f.).** *Crop Breeding and Applied Biotechnology* 11: 216-223. 2011.

HAIR, Jr., HAIR.; J.F.; ANDERSON, R.E.; TATHAN, R.L.; BLACK, W.C. **Análise multivariada de dados.** Tradução Adonai Schlup Sant'Anna e Anselmo Chaves Neto. %ed. Porto Alegre: Bookman. P.593. 2005.

HAMRICK, J.L.; GODT, M.J.W. **Effects of life history traits on genetic diversity in plant species.** In Silvertown, J.M. Franco & J.L. Harper (eds.). *Plant life histories. Ecology, phylogeny and evolution.* Cambridge University Press, Cambridge, UK. P. 102-118. 1997.

HEINZE, B.; WESTCOTT, R.; SCHMIDT, J.; GLOSSL, J. **Application of random amplified polymorphic DNA (RAPD) to detect genetic variation in Norway spruce.** *New-Forests, Seibersdorf*, v. 11, n.2, p. 173-184. 1996.

INSTITUTO BRASILEIRO DO MEIO AMBIENTE E DOS RECURSOS NATURAIS RENOVÁVEIS – IBAMA. **Madeiras Tropicais Brasileiras.** Brasília: IBAMA-LPF, 1997a. 152p.

KEGEYAMA, P.Y.; SEBBEN, A.M.; RIBAS, L.A.; GANDARA, F.B.; CASTELLEN, M.; PERECIN, M.B.; VENCOVSKY, R. 2003. **Diversidade genética em espécies arbóreas tropicais de diferentes estágios sucessionais por maradores genéticos.** *Scientia Forestalis*, Piracicaba-SP. v.64, p. 93-107, 2003.

LEE, S.-L., NG, K.K.-S., SAW, L.-G., NORWATI, A., SALWANA, M.H.S., LEE, C.-T. & NORWATI, M. 2002. **Population genetics of *Intsia palembanica* (Leguminosae) and genetic conservation of Virgin Jungle Reserves in Peninsular Malaysia.** *Am. J. Bot.* 89:447-459.

LORENZI, H. **Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil.** 3 ed. Nova Odessa: Instituto Plantarum. 1992. v. 2, 384p.

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

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

PAIVA, J. R. Conservação ex situ de recursos genéticos de plantas na região tropical úmida. **Acta Amazônica**. v. 24, n. 1/2, p. 63-80, 1994.

PAIVA, J.R. **Melhoramento genético de espécies agroindustriais na Amazônia: Estratégias e novas abordagens**. Brasília: Embrapa SPI; Fortaleza: Embrapa-CNPAT, 1998. 135p.

PIRES, I.E.; RESENDE, M.D.V.; SILVA, R.L.; RESENDE JUNIOR., M.F.R. **Genética Florestal**. Viçosa: Arka, 2011. 318p.

RADAMBRASIL. **Levantamento de recursos naturais**. Folha SC. 21 Juruena; geologia, geomorfologia, pedologia, vegetação e uso do potencial da terra. Rio de Janeiro: DNPM-MME, 1980.

REIS, E.; MELO, P.; ANDRADE, R.; CALAPEZ, T. Estatística multivariada Aplicada. Edições Sílabo. 4ª Ed. Lisboa. 266p. 2003.

ROCHE, L.; DOUROJEANNI, M. **Manual sobre la conservacion in situ de los recursos geneticos de especies leñosas tropicales**. FAO, Rome, 1984. 161p.

ROSADO, S. C. S., CARVALHO, D. **Biodiversidade e conservação genética de espécies arbóreas**. Curso de pós graduação Lato sensu. Lavras-MG: UFLA/FAEPE. 35p. 2001.

SANDIGAWAB, A. M.; PATIL, C. G. **Genetic diversity in *Cinnamomum zeylanicum* Blume. (Lauraceae) using random amplified polymorphic DNA (RAPD) markers**. African Journal of Biotechnology. Vol. 10 (19). Pp. 3682-3688. 2011. ISSN 1684-5315.

SANTOS, R.P. **Avaliação da diversidade genética de populações naturais de Pau-rosa (*Aniba roseodora* Ducke) por meio de marcadores moleculares RAPD**. 2004. 81 f. INPA/UFAM. Dissertação. INPA/UFAM, Manaus-AM.

SANTOS, R.P.; SPIRONELLO, W. R.; SAMPAIO, P. T. B. **Genetic diversity in rosewood saplings (*Aniba rosaeodora* ducke, Lauraceae): an ecological approach**. **Acta Amazônica**. vol.38, n.4, pp. 707-714. ISSN 0044-5967. 2008.

TARDIM, F. D.; AMARAL JUNIOR, A.T.; PEREIRA, M.G.; VIDIGAL, M.C.G.; DAHER, R.F.; SCAPIM, C.A. **Genetic diversity and determination of the optimum number of RAPD markers in lettuce (*Lactuca sativa* L.)**. **Acta Scientiarum Agronomy**. Maringá, PR. v.25 n.1, p. 1-5, 2003.

TORRES, A.C.; FERREIRA, A.T.; SÁ, F.G.; BUSO, J.A; CALDAS, L.S. NASCIMENTO, A.S.; BRIGIDO, M.M.; ROMANO, E. **Glossário de Biotecnologia Vegetal**. EMBRAPA. Brasília, 2000. 128p.

VIEIRA, F.A. **Diversidade e estrutura genética de *Protium spruceanum* (Benth.) Engler em remanescentes e corredores de vegetação da região de Alto Rio Grande-MG**. 100p. Dissertação mestrado. Universidade Federal de Lavras, MG. 2005.

ZUCCHI, M.I. **Análise da estrutura genética de *Eugenia dysenterica* DC utilizando marcadores RAPD e SSR**. 2002. 148f. Tese (Doutorado em agronomia) Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba SP.