



LAURA RIBEIRO ATALA

**DIVERSIDADE E ESTRUTURA GENÉTICA ESPACIAL DE
Copaifera langsdorffii Desf. EM ÁREAS DE FLORESTA
NATIVA E EM RESTAURAÇÃO**

LAVRAS - MG

2021

LAURA RIBEIRO ATALA

**DIVERSIDADE E ESTRUTURA GENÉTICA ESPACIAL DE *Copaifera langsdorffii*
Desf. EM ÁREAS DE FLORESTA NATIVA E EM RESTAURAÇÃO**

Dissertação de mestrado apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Florestal, para a obtenção do título de Mestre.

Profa. Dra. Dulcinéia de Carvalho
Orientadora

**LAVRAS - MG
2021**

Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da Biblioteca
Universitária da UFLA, com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).

Atala, Laura Ribeiro.

Diversidade e Estrutura Genética Espacial de *Copaifera
langsdorffii* Desf. em áreas de floresta nativa e em restauração /
Laura Ribeiro Atala. - 2021.

77 p. : il.

Orientador(a): Dulcinéia de Carvalho.

Dissertação (mestrado acadêmico) - Universidade Federal de
Lavras, 2021.

Bibliografia.

1. Restauração de Ecossistemas. 2. Conservação da
Biodiversidade. 3. Marcadores Microssatélites. I. de Carvalho,
Dulcinéia. II. Título.

LAURA RIBEIRO ATALA

**DIVERSIDADE E ESTRUTURA GENÉTICA ESPACIAL DE *Copaifera langsdorffii*
Desf. EM ÁREAS DE FLORESTA NATIVA E EM RESTAURAÇÃO**

**GENETIC DIVERSITY AND SPATIAL GENETIC STRUCTURE OF *Copaifera
langsdorffii* Desf. IN NATIVE FOREST AND IN RESTORATION PROCESS AREAS**

Dissertação de mestrado apresentada à
Universidade Federal de Lavras, como parte
das exigências do Programa de Pós-Graduação
em Engenharia Florestal, para a obtenção do
título de Mestre.

APROVADA em 29 de setembro de 2021.

Dr. Carolina Ribeiro Diniz Boaventura Novaes
Dr. Enéas Ricardo Konzen
Dr. Carlos Delano Cardoso de Oliveira

Profa. Dra. Dulcinéia de Carvalho
Orientadora

**LAVRAS - MG
2021**

AGRADECIMENTOS

A elaboração desse trabalho só foi possível devido a uma equipe. Agradeço a querida professora Dulcinéia, pela orientação, sugestões, paciência e cuidados. Ao Delano, por ter idealizado e iniciado esse projeto, e à toda sua equipe nos trabalhos de campo e procedimentos laboratoriais (José Pedro, Flavia Alessandra, Guilherme Oliveira, Gabriela, e Bruna Thalita). À Natalia, Lucas e Fabrina, por todo auxílio e sugestões.

À minha família, primeiramente aos meus pais, por me proporcionarem experienciar as belezas da vida e por todo incentivo e apoio à minha educação. Aos meus avós (*in memoriam*), principalmente a D. Therezinha, que sempre me deu forças para seguir. Às minhas tias Deda, Nilvinha e Nilze, que são como mães, pelo amor e todo tipo de suporte. Aos meus irmãos Lygia e Humberto, que me fortaleceram como pessoa, pela parceria e pelo bullying. Se não fossem de sangue, eu ainda escolheria vocês. Ao Zion, meu sobrinho de ouro, que me instiga a ser uma pessoa melhor, mesmo ainda não sabendo disso.

Ao Tex, pelo companheirismo, por acreditar em mim e estar sempre presente.

Aos verdadeiros amigos do coração que me rodeiam.

Aos professores Lucas Amaral de Melo, Soraya Alvarenga Botelho e Carolina Ribeiro Diniz Boaventura Novaes, pela disponibilidade e sugestões na banca de qualificação.

Aos professores Carolina Ribeiro Diniz Boaventura Novaes, Enéas Ricardo Konzen, Soraya Alvarenga Botelho, e ao Carlos Delano Cardoso de Oliveira, pela disponibilidade de participação na banca de defesa de dissertação.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG) pela concessão de bolsa de estudos durante o período de mestrado.

À Companhia Energética de Minas Gerais (CEMIG), por permitir o desenvolvimento deste estudo.

Ao programa de Pós-Graduação em Engenharia Florestal, aos professores e funcionários do Departamento de Ciências Florestais da Universidade Federal de Lavras (DCF/UFLA).

A todos aqueles que, de alguma forma, contribuíram com esta pesquisa.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG).

RESUMO

O conhecimento da diversidade genética e da sua distribuição no espaço é uma importante ferramenta no estabelecimento, manejo e conservação genética de ecossistemas, pois possui forte correlação com a capacidade de adaptação da espécie e de manutenção das áreas em longo prazo, mecanismos essenciais para uma restauração ecológica eficaz. O objetivo desse estudo foi avaliar a diversidade e a estrutura genética espacial de indivíduos adultos e regenerantes de *C. langsdorffii* em nove áreas, sendo quatro florestas nativas (ecossistemas de referência) e cinco áreas em restauração. As áreas estão localizadas nas proximidades do reservatório da Usina Hidrelétrica de Camargos, nos municípios de Nazareno e Itutinga, em Minas Gerais. A diversidade genética e a estrutura genética espacial foram avaliadas por meio da genotipagem de 384 indivíduos, com o uso de oito locos microssatélites específicos para *C. langsdorffii*. Foram encontrados 195 alelos e todos os locos utilizados foram altamente polimórficos. A diversidade genética (H_e) foi elevada tanto em indivíduos regenerantes como nos adultos das áreas nativas e em restauração. O número médio de alelos por loco (A) foi mais elevado nos indivíduos regenerantes, nos dois tipos de áreas, do que nos adultos. Não foi detectada endogamia significativa nas áreas ($f=0,183$) e a divergência genética foi baixa entre as áreas de estudo ($R_{ST}=0,0374$). A Análise de Variância Molecular indicou que a maioria da diversidade genética (96%) ocorre dentro das áreas. Não houve correlação significativa entre distância genética e geográfica ($r=0,324$) e não foram identificados gargalos genéticos em nenhuma das áreas amostradas. A análise Bayesiana indicou que a diversidade genética está distribuída em dois grupos genéticos ($K = 2$). Observou-se estruturação genética espacial nos indivíduos regenerantes dos ecossistemas de referência e das áreas em restauração. A alta diversidade genética indicou que ocorre fluxo gênico entre essas áreas. Nossos resultados mostraram que plantios para restauração florestal podem restabelecer populações geneticamente conservadas. Estudos em outras gerações podem inferir se essas áreas conseguirão manter ou elevar a diversidade genética no futuro.

Palavras-chave: Restauração de Ecossistemas. Marcadores Microssatélites. Copaliba. Conservação genética. Conservação da biodiversidade.

ABSTRACT

The knowledge of genetic diversity and its distribution in space is an important tool in the establishment, management and genetic conservation of ecosystems, as it has a strong correlation with the species' ability to adapt and with the maintenance of the areas in the long term, which are essential mechanisms for restoration effective ecological. The aim of this study was to evaluate diversity and spatial genetic structure of adult and regenerating individuals of *C. langsdorffii* in nine areas, four of which were native forests (reference ecosystems) and five areas under restoration. The areas are located near Camargos Hydroelectric Power Plant reservoir, in Nazareno and Itutinga municipalities, in Minas Gerais. Genetic diversity and spatial genetic structure were evaluated by genotyping 384 individuals, using eight microsatellite loci specific for *C. langsdorffii*. In total, 195 alleles were found and all loci used were highly polymorphic. Genetic diversity (H_e) was high both in regenerating individuals and in adults from native and under restoration areas. The average number of alleles per locus (A) was higher in regenerating individuals, in both types of areas, than in adults. The Analysis of Molecular Variance indicates that the majority of genetic diversity (96%) occurs within sampled areas. There was no correlation between genetic and geographic distance ($r = 0.324$) and no genetic bottlenecks were identified in any of the sampled areas. A Bayesian analysis indicated that genetic diversity is distributed into two genetic groups ($K = 2$). Spatial genetic structuring was observed in juvenile individuals of reference ecosystems and areas under recovery. High genetic diversity indicated that gene flow is occurring between these areas. Our results showed that forest restoration can reestablish genetically conserved populations. Studies in other generations can infer whether these areas will manage to maintain or increase genetic diversity in the future.

Keywords: Ecosystem Restoration. Microsatellite Markers. Copaiba. Genetic Conservation. Biodiversity Conservation.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Indivíduo adulto de <i>Copaifera langsdorffii</i>	16
Figura 2 – Plântulas (a) árvore adulta (b), flores (c) e fruto (d) de <i>Copaifera langsdorffii</i> ...	17
Figura 3 – Localização geográfica dos ecossistemas de referência e dos plantios para restauração ecológica nas proximidades do reservatório de Camargos, em Itutinga, e Nazareno, MG.....	30
Figura 4 – a) Indivíduo adulto de <i>Copaifera langsdorffii</i> ; b) Medição do CAP; d) Indivíduo regenerante de <i>C. langsdorffii</i> .; d) Medição da altura do indivíduo regenerante.....	32
Figura 5 – a) Aparelho GPS; b) Medição da distância horizontal entre os indivíduos adulto e regenerante; c) Bússola.....	33
Figura 6 – a) Coleta de tecidos foliares de um indivíduo adulto de <i>Copaifera langsdorffii</i> ; b) Tecidos foliares; c) Armazenamento dos tecidos foliares em sacos plásticos com sílica em gel.....	33
Figura 7 – Teste de desequilíbrio de ligação para os locos CL01, CL02, CL06, CL20, CL27, CL32, CL34 e CL39 para os indivíduos amostrados de <i>Copaifera langsdorffii</i>	39
Figura 8 – Intervalo de confiança a 95% de probabilidade das médias dos índices de fixação (f) das áreas.....	45
Figura 9 – Dendrograma UPGMA entre pares de ecossistemas de referência (ER) e áreas em restauração (AR) de <i>Copaifera langsdorffii</i> , de acordo com as distâncias de NEI (1978)	46
Figura 10 – Dendrograma UPGMA entre pares de indivíduos adultos e regenerantes dos ecossistemas de referência (ER) e áreas em restauração (AR) de <i>Copaifera langsdorffii</i> , de acordo com as distâncias de NEI (1978)	47
Figura 11 – Análise das coordenadas principais (PCoA) dos ecossistemas de referência (ER) e áreas em restauração (AR) de <i>Copaifera langsdorffii</i>	48
Figura 12 – Número ideal de grupos genéticos de 384 indivíduos de <i>Copaifera langsdorffii</i> baseado no valor de Delta K, calculado de acordo com o método de Evanno et al. (2005)	48

Figura 13 – Atribuição de 384 indivíduos de <i>Copaifera langsdorfii</i> das áreas estudadas em dois (K=2) grupos genéticos, utilizando análise de agrupamento bayesiano. Cada indivíduo é representado por uma barra sólida, enquanto áreas coloridas correspondem a grupos genéticos distintos.....	49
Figura 14 – Correlograma do coeficiente de coancestria (Kinship), por classes de distância, para os indivíduos adultos de <i>Copaifera langsdorffii</i> dos ecossistemas de referência (ER) amostrados. Intervalo de confiança a 95% de probabilidade.....	52
Figura 15 – Correlograma do coeficiente de coancestria (Kinship), por classes de distância, para os indivíduos adultos das áreas em restauração (AR) amostradas. Intervalo de confiança a 95% de probabilidade.....	53
Figura 16 – Correlograma do coeficiente de coancestria (Kinship), por classes de distância, para os indivíduos regenerantes dos ecossistemas de referência (ERs) amostrados. Intervalo de confiança a 95% de probabilidade.....	53
Figura 17 – Correlograma do coeficiente de coancestria (Kinship), por classes de distância, para os indivíduos regenerantes das áreas em restauração (AR) amostradas. Intervalo de confiança a 95% de probabilidade.....	54

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Ecossistemas de referência e plantios para restauração ecológica nas proximidades do reservatório de Camargos, em Itutinga e Nazareno, MG, seus respectivos tamanhos e coordenadas geográficas.....	30
Tabela 2 – Número de indivíduos arbóreos (IA) e regenerantes (IR) amostrados de <i>C. langsdorffii</i> Desf. nas áreas em restauração (AR) e nos ecossistemas de referência (ER).....	31
Tabela 3 – Sequência de oito pares de iniciadores de locos microssatélites (SSR) desenvolvidos para <i>Copaifera langsdorffii</i> (CIAMPI et al., 2000), com as respectivas fluorescências, amplitudes alélicas e temperaturas de anelamento (Ta °C).....	35
Tabela 4 – Frequência de alelos nulos em cada loco (estimador 1, Brookfield) para ecossistemas de referência (ER) e áreas em restauração (AR) de <i>Copaifera langsdorffii</i>	40
Tabela 5 – Frequência de alelos nulos em cada loco (estimador 1, Brookfield) de indivíduos de <i>Copaifera langsdorffii</i> nas áreas estudadas.....	40
Tabela 6 – Parâmetros de diversidade genética estimados para os oito locos microssatélites nas áreas amostradas de <i>Copaifera langsdorffii</i>	41
Tabela 7 – Probabilidades exatas do Teste de Monte Carlo dos desvios das proporções de Hardy-Weinberg em locos microssatélites nas áreas estudadas de <i>Copaifera langsdorffii</i>	41
Tabela 8 – Probabilidades exatas do Teste Qui-quadrado dos desvios das proporções de Hardy-Weinberg em locos microssatélites nas áreas estudadas de <i>Copaifera langsdorffii</i>	42
Tabela 9 – Proporções dos locos fora do EHW estimadas pelos testes Qui-quadrado (χ^2) e Monte Carlo (MC), após a correção False Discovery Rate (FDR).....	42
Tabela 10 – Parâmetros de diversidade genética para indivíduos adultos e regenerantes de <i>Copaifera langsdorffii</i> em ecossistemas de referência (ER) e áreas em restauração (AR).....	44
Tabela 11 – Divergência genética entre as áreas em restauração (AR) e os em ecossistemas de referência (ER) de <i>Copaifera langsdorffii</i>	45

Tabela 12 – Número de migrantes identificados pela análise de máxima verossimilhança a partir de oito locos microssatélites de <i>Copaifera langsdorffii</i>	49
Tabela 13 – Análise de Variância Molecular (AMOVA) de indivíduos de <i>Copaifera langsdorffii</i> nas áreas estudadas.....	51
Tabela 14 – Teste de Wilcoxon para análise de gargalo genético em nove áreas de <i>Copaifera langsdorffii</i>	54
Tabela 15 – Comparação de parâmetros de diversidade genética obtidos de marcadores microssatélites em outros trabalhos com <i>Copaifera langsdorffii</i>	57

LISTA DE SIGLAS E ABREVIações

A _{ex}	Alelos exclusivos
AMOVA	Análise de Variância Molecular
AR	Área(s) em restauração
A _r	Riqueza alélica rarefeita
CTAB	Brometo de cetiltrimetilamônio
EHW	Equilíbrio de Hardy-Weinberg
ER	Ecossistema(s) de referência
<i>f</i>	Índice de fixação
F _{ST}	Divergência genética
GD	Diversidade genética
G _{ST}	Divergência genética
H _e	Heterozigosidade esperada
H _o	Heterozigosidade observada
N	Número de alelos
N _a	Número de alelos por loco
N _e	Número de alelos efetivos
PCR	Reação em Cadeia da Polimerase
R _{ST}	Divergência genética
SGS	Estrutura Genética Espacial
SSR	Sequências Simples Repetidas
UHE	Usina Hidrelétrica

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	13
2	REFERENCIAL TEÓRICO	15
2.1	<i>Copaifera langsdorffii</i>	15
2.2	Restauração ecológica e aspectos genéticos	17
2.3	Diversidade genética	19
2.4	Estrutura Genética Espacial	21
2.5	Marcadores Microsatélites (SSR)	23
2.6	Cenário brasileiro atual de estudos genéticos na restauração ecológica	24
3	OBJETIVOS	27
4	HIPÓTESES	28
5	MATERIAL E MÉTODOS	29
5.1	Região e áreas de estudo	29
5.2	Coleta de dados	31
5.3	Extração e amplificação do DNA	34
5.4	Análises estatísticas	35
5.4.1	Qualidade e diversidade genética dos locos microsatélites	35
5.4.2	Diversidade genética das áreas em indivíduos adultos e regenerantes	36
5.4.3	Estrutura genética	37
5.4.4	Estrutura genética espacial	37
5.4.5	Aderência ao Equilíbrio de Mutação e Deriva	38
6	RESULTADOS	39
6.1	Qualidade e diversidade genética dos locos microsatélites	39
6.2	Diversidade genética dos indivíduos adultos e regenerantes nas áreas	43
6.3	Estrutura genética	45
6.4	Estrutura genética espacial	51
6.5	Aderência ao Equilíbrio de Mutação e Deriva	54
7	DISCUSSÃO	55
7.1	Qualidade e diversidade genética dos locos microsatélites	55
7.2	Diversidade genética das áreas em indivíduos adultos e regenerantes	56
7.3	Estrutura genética	59

7.4	Estrutura genética espacial.....	61
7.5	Aderência ao Equilíbrio de Mutação e Deriva.....	63
7.6	Implicações para pesquisa e conservação.....	63
8	CONCLUSÕES.....	65
	REFERÊNCIAS.....	66

1 INTRODUÇÃO

A pressão antrópica exercida sobre os recursos naturais resulta na intensa substituição dos ecossistemas naturais por formas alternativas de ocupação do solo (BARÃO *et al.*, 2021). A agricultura, a pecuária, a urbanização e a industrialização se expandiram significativamente e se tornaram, em grande parte das regiões, as formas predominantes de ocupação da paisagem. Essa transformação no ambiente trouxe consequências na estrutura e no funcionamento dos ecossistemas que, coloca em risco a conservação dos recursos naturais e o fornecimento de serviços ecossistêmicos (BARÃO *et al.*, 2021).

A restauração de ecossistemas surgiu e tem crescido globalmente como umas das alternativas para a proteção da biodiversidade e recursos hídricos; melhoria da saúde e bem-estar humanos; provisão de bens, serviços e prosperidade econômica; e apoio à mitigação das mudanças climáticas, resiliência e adaptação (GANN *et al.*, 2019). A nível global, a Assembleia Geral da Organização das Nações Unidas (ONU), declarou 2021-2030 como a década da restauração ecológica. O Brasil tem como meta recompor e reflorestar 12 milhões de hectares de florestas e restaurar 15 milhões de hectares de pastagens degradadas com ampliação de 5 milhões de hectares de sistemas de integração de lavoura, pecuária e floresta (UN NEWS, s./d.).

As consequências negativas da perda e fragmentação de habitats na conservação genética, como a diminuição do tamanho efetivo e a deriva genética, podem ser mitigadas por meio da proteção dos remanescentes florestais, pela conectividade entre fragmentos e pela manutenção da diversidade genética em áreas remanescentes (FRANKHAM, 2015). A restauração da biodiversidade é um dos apelos mundiais da ONU (ATWOLI *et al.*, 2021) e, por meio da restauração de áreas degradadas, também é possível conservar espécies de flora e fauna, reconectar fragmentos e manter os ecossistemas saudáveis (DOBSON *et al.*, 1997; POSSINGHAM *et al.*, 2015).

A popularização dos estudos em genética de populações resultou na maior consideração dos aspectos genéticos nas iniciativas de restauração ecológica (RODRIGUES *et al.*, 2009). Entretanto, os aspectos relacionados à diversidade e estrutura genética espacial ainda não foram completamente estabelecidos. O conhecimento a respeito das características genéticas das matrizes utilizadas para coleta de sementes, bem como das comunidades em processo de restauração ainda é incipiente (ZUCCHI *et al.*, 2018).

Para alcançar o sucesso da restauração ecológica, é imprescindível considerar as características do ecossistema que se deseja restaurar, como a estrutura, a composição e o

funcionamento, bem como as interações existentes entre e dentre os grupos taxonômicos que permitem a manutenção dos organismos e habitats em longo prazo (SUJII *et al.*, 2019). Não menos importante, deve-se atentar para a composição genética do material reprodutivo utilizado, uma vez que as populações são dependentes da variação genética adaptativa, de forma a combinar sobrevivência e bom crescimento com a resistência aos fatores atuantes negativamente oriundos da degradação (THOMAS *et al.*, 2014).

A *Copaifera langsdorffii* é uma espécie amplamente utilizada na restauração de áreas degradadas, porém a caracterização da diversidade e estrutura genética espacial não foram esclarecidas nesse âmbito. Os estudos genéticos já realizados com a espécie foram em fragmentos de áreas nativas ou populações naturais. Nesse contexto, torna-se imprescindível gerar informações sobre a variabilidade genética da espécie em áreas em restauração. Dessa forma, o presente trabalho visou conhecer a diversidade genética e estrutura espacial de *C. langsdorffii* para a manutenção de um programa efetivo de conservação. No intuito de investigar os aspectos que interferem na diversidade e estrutura genética espacial da espécie, foi realizada a avaliação de áreas de Floresta Estacional Semidecidual nativas e em restauração, nos municípios de Itutinga e Nazareno, MG, utilizando oito locos microssatélites específicos para a espécie.

No cenário brasileiro, os estudos que relacionam a diversidade e a estrutura genética espacial com projetos de restauração ecológica estão, em sua maioria, concentrados no estado de São Paulo. Portanto, o presente estudo se mostra relevante uma vez que será pioneiro a ser realizado com a espécie *C. langsdorffii*, em Minas Gerais, em áreas que foram restauradas há mais de 20 anos. O conhecimento da diversidade genética e da sua distribuição no espaço é uma importante ferramenta no estabelecimento, manejo e conservação genética de ecossistemas, pois possui forte correlação com a capacidade de adaptação da espécie e de manutenção das áreas em longo prazo, mecanismos essenciais para uma restauração ecológica eficaz.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 *Copaifera langsdorffii*

Copaifera langsdorffii é uma espécie arbórea pertencente à família Fabaceae e à subfamília Caesalpinioideae (REFLORA, 2020; FREITAS; OLIVEIRA, 2002), sendo popularmente conhecida como copaíba, copaibeira, pau-de-óleo, copaúva, óleo-copaíba, entre outros (CASCON, 2004) (FIGURA 1). É uma árvore amplamente distribuída no Brasil, ocorrendo nos domínios Amazônia, Caatinga, Cerrado e Mata Atlântica (REFLORA, 2020). Esta espécie também ocorre no nordeste da Argentina, sul da Bolívia e norte do Paraguai (GONELA *et al.*, 2013).

No entanto, a maior parte dos habitats naturais da espécie no Brasil foi destruída (Mata Atlântica) e atualmente a espécie é encontrada apenas em fragmentos florestais pequenos e isolados (SEBBENN *et al.*, 2011), e em campos e pastagens (KUBOTA, 2014). A espécie é classificada como secundária tardia a clímax, caracterizando-se como heliófila tolerante a sombra, podendo ser encontrada em vários estágios de sucessão, desde áreas totalmente degradadas até aquelas com dossel em fechamento (SALGADO *et al.*, 2001).

A *C. langsdorffii* é uma árvore tropical hermafrodita que pode atingir 25-40 m de altura e 100 cm de diâmetro à altura do peito (DAP) (CARVALHO, 2003b). Esta espécie possui flores branco-esverdeadas, que duram apenas um dia, e que são reunidas em inflorescências paniculadas sem pétalas (FREITAS; OLIVEIRA, 2002) (FIGURA 2). Os frutos são ovóides, rodeados por um arilo colorido e carregam uma única semente (SEBBEN *et al.*, 2011). As árvores podem começar a florescer a partir dos cinco anos de idade e a reprodução da espécie é considerada mista, predominantemente alógama, com até 8% de autofecundação (OLIVEIRA; CARVALHO; ROSADO, 2002).

As flores nectaríferas de *C. langsdorffii* são intensamente visitadas por diversos insetos, principalmente das famílias Apinae e Vespidae, sendo *Trigona* spp e *Apis mellifera* os mais frequentes (GONELA *et al.*, 2013). Vespas sociais, dípteros, lepidópteros e coleópteros constituem os polinizadores secundários (FREITAS; OLIVEIRA, 2002). Após a frutificação, a dispersão de sementes é feita por gravidade e por animais, principalmente aves, como o tucanuçu (*Ramphastos toco*), a gralha-do-campo (*Cyanocorax cristatellus*) e o sabiá-laranjeira (*Turdus rufiventris*) (CARVALHO *et al.*, 2010). O macaco muriqui (*Brachyteles arachnoides*)

e o macaco-prego (*Cebus apella nigrinus*) também atuam como possíveis dispersores (MENDONÇA FILHO, 1996).

Um estudo fenológico da *C. langsdorffii*, realizado em uma Floresta Estacional Semidecidual no sudeste do Brasil, constatou que o ritmo de suas fenofases ocorre em sequência: a queda das folhas ocorre no final da estação seca (julho-agosto), o brotamento no final da estação seca e início da estação chuvosa (setembro-outubro), a floração ocorre no meio da estação chuvosa (dezembro-fevereiro), a frutificação ocorre durante a estação seca (abril-setembro) e a dispersão, ao final desta estação (agosto-setembro) (PEDRONI *et al.*, 2002). Este padrão foi similar ao relatado por Oliveira-Filho *et al.* (1994) em uma Floresta Estacional Semidecídua Montana em Lavras (MG).

Além de ser utilizada na arborização urbana e restauração de áreas degradadas de preservação permanente (CARVALHO, 2003a), a espécie possui relevante valor econômico no Brasil em função da produção de madeira e óleo. A madeira é utilizada na construção civil, como vigas, caibros, ripas, batente de portas e janelas, e confecção de móveis (LORENZI, 2002). O óleo é extraído de seu tronco e pode ser utilizado na área medicinal e apícola, na indústria de cosméticos, plásticos e aditivos para resina, tintas e vernizes (CARVALHO, 2003a).

Figura 1 – Indivíduo adulto de *Copaifera langsdorffii*.



Fonte: COPAÍBA (c2021).

Figura 2 – Plântulas (a), árvore adulta (b), flores (c) e fruto (d) de *Copaifera langsdorffii*.



Fonte: Tarazi (2009).

2.2 Restauração ecológica e aspectos genéticos

A alteração dos ambientes naturais causada por ações antrópicas resultou na degradação e na fragmentação de áreas nativas. A pressão exercida sobre essas áreas contribuiu desfavoravelmente para a manutenção dos ecossistemas florestais, principalmente no que se refere à redução da biodiversidade e ao tamanho das populações (DUARTE; NOGUEIRA; VIEIRA, 2018). Na tentativa de reverter essa situação, a restauração desses ambientes é uma prioridade ambiental global e muitas iniciativas internacionais têm o objetivo de restaurar milhões de hectares em todo o mundo (HOLL, 2017).

A *Society for Ecological Restoration* – SER (2004) define a restauração ecológica como o processo de auxílio à recuperação de um ecossistema que foi degradado, danificado ou destruído. Esse auxílio é necessário quando o ecossistema é incapaz de suportar distúrbios por si só ou quando isso ocorre em tempo demasiado (RODRIGUES *et al.*, 2009). O processo de restauração ecológica acontece por meio de ações que direta ou indiretamente possibilitam o

restabelecimento da riqueza de espécies de comunidades funcionais e estimulem a resiliência do ecossistema numa perspectiva de paisagem (RODRIGUES *et al.*, 2009).

A conversão em larga escala de áreas degradadas para ecossistemas com florestas nativas é vista como necessária para atenuar futuras extinções em regiões com altos níveis de perda de habitat e fragmentação (BANKS-LEITE *et al.*, 2014; NEWMARK *et al.*, 2017). Através da restauração é possível aumentar a conectividade das paisagens modificadas, facilitando o fluxo gênico de plantas e animais, reconstituir as funções ecológicas do ecossistema, apoiar a conservação, e restabelecer populações que apresentem diversidade genética suficiente para persistir durante o tempo (BRANCALION *et al.*, 2018; CHAZDON *et al.*, 2014).

É imprescindível respeitar as características do ecossistema que se deseja restaurar, como a estrutura, composição e o funcionamento, bem como as interações existentes entre e dentre os grupos taxonômicos (RODRIGUES *et al.*, 2009; SIQUEIRA *et al.*, 2013; DARONCO *et al.*, 2013). Não menos importante, deve-se atentar para a composição genética do material reprodutivo utilizado, uma vez que as populações são dependentes da variação genética adaptativa, de forma a combinar o potencial de sobrevivência, bom crescimento e resistência a estresses bióticos e abióticos (THOMAS *et al.*, 2014).

Apesar da infinidade de benefícios que a restauração florestal pode fornecer, a probabilidade de persistência da população após o plantio é incerta e pode ser afetada por diversos fatores, tais como limitações de recrutamento (BERTACCHI *et al.*, 2016), competição entre espécies (D'ANTONIO; MEYERSON, 2002), limitação da polinização e da dispersão (DIXON, 2009), alterações climáticas (HARRIS *et al.*, 2006), e processos genéticos, tais como depressão por endogamia (THOMAS *et al.*, 2014). Portanto, melhorar o entendimento sobre as condições que mantêm a persistência dos indivíduos nos ecossistemas é fundamental para que os projetos de restauração sejam bem-sucedidos e conservem efetivamente a biodiversidade (SUJII *et al.*, 2019).

A genética de populações surge com o intuito de quantificar a diversidade genética e entender sua distribuição no espaço mediante o estudo do material genético dos seres vivos, bem como de fatores que interferem neste. Trata-se de uma área relevante, uma vez que busca entender as características genéticas das espécies e como elas estão relacionadas às habilidades das populações em responder às mudanças no ambiente e adaptar às condições existentes (SIQUEIRA *et al.*, 2013).

A genética pode ser aplicada em diversos âmbitos da restauração ecológica, como por exemplo: mensurar divergência genética (ZUCCHI *et al.*, 2018); realizar teste de agrupamento genético (ABOUKHALID *et al.*, 2017); detectar a existência de gargalo genético (RAMEY *et al.*, 2000) e estimar o número de migrantes entre áreas (ROBERTSON; GEMMELL, 2004). Uma vez que os projetos de restauração envolvem frequentemente a translocação de uma gama de diferentes organismos, as ferramentas genéticas podem fornecer informações cruciais para o planejamento e execução destas ações, bem como para a tomada de decisão e o monitoramento das áreas restauradas (MIJANGOS *et al.*, 2015).

Embora haja avanços nos estudos sobre restauração ecológica, o conhecimento a respeito da diversidade genética de populações restauradas e quão bem ela reflete os padrões naturais de variação ainda é incipiente (SIQUEIRA *et al.*, 2013). Contudo, uma nova demanda nos projetos de restauração tem levado a uma busca, tanto em relação a restauração florística, bem como a diversidade genética das comunidades (SUJII *et al.*, 2019).

2.3 Diversidade genética

A diversidade genética é a matéria prima para evolução, uma vez que permite a adaptação das espécies às condições adversas (LESICA; ALLENDORF, 1999; WANG *et al.*, 2006), sendo que a sua manutenção é essencial para a conservação da biodiversidade (ZUCCHI *et al.*, 2018). As variações genéticas têm origem pelo processo de mutação e são moldadas pelo fluxo gênico, pela recombinação, deriva genética e seleção natural (MCKAY *et al.*, 2005). Essas variações podem ser medidas por métodos quantitativos, tais como a expressão de traços fenotípicos, ou diretamente por métodos moleculares que quantificam a diversidade em nível de genoma (marcadores SNP) (MIJANGOS *et al.*, 2015).

A diversidade genética possui papel fundamental na aptidão dos indivíduos, na persistência das populações e nos processos ecossistêmicos, que são elementos primordiais na restauração ecológica (WILLIAMS, 2001; REYNOLDS; MCGLATHERY; WAYCOTT, 2012). A influência da diversidade genética não ocorre apenas nos níveis individual e populacional, mas também nos níveis de comunidade e ecossistema (HUGHES *et al.*, 2008; BENAYAS *et al.*, 2009). Além disso, há evidências da existência de uma relação direta entre a dinâmica de população e a diversidade genética, que exigem que ambas sejam levadas em consideração simultaneamente (MIJANGOS *et al.*, 2015).

A persistência em médio e longo prazo de populações restauradas depende da capacidade das espécies e populações de evoluírem em resposta às mudanças ambientais, que por sua vez depende dos níveis populacionais intraespecíficos de diversidade genética (SUJII *et al.*, 2019; BOOY *et al.*, 2000). Limitada ou baixa diversidade genética reflete em baixo tamanho populacional efetivo, reduzida heterozigosidade, níveis elevados de endogamia com potencial para depressão endogâmica. Este último fenômeno pode aumentar a suscetibilidade ao ataque de pragas e doenças. Conjuntamente, esses fatores podem reduzir o potencial adaptativo e evolutivo da população ou da espécie (SUJII *et al.*, 2019; BLAKESLEY *et al.*, 2004; BRANCALION *et al.*, 2009).

Nos ecossistemas degradados, as reduções drásticas no tamanho populacional e no fluxo gênico podem eliminar algumas populações devido ao aumento na frequência de alelos recessivos deletérios em homozigose, devido à deriva genética e endogamia (AGUILAR *et al.*, 2008). Estes ecossistemas geralmente são dominados por manchas de vegetação de crescimento secundário (SLOAN *et al.*, 2014), onde as populações arbóreas podem ter baixos níveis iniciais de diversidade genética devido a fortes efeitos fundadores. Este cenário aumenta a necessidade de plantios com níveis mais elevados de diversidade genética para garantir um nível suficiente de viabilidade autônoma para as populações restauradas até que o fluxo gênico seja restabelecido ou reforçado (ZUCCHI *et al.*, 2018).

Além da ausência ou limitação do fluxo gênico, há outros fatores que também podem influenciar a diversidade genética de determinadas espécies, tais como o tipo de sistema de cruzamento, vetores de polinização e dispersão de sementes, ciclo de vida, especificidade do habitat, história demográfica e mudanças na paisagem e/ou clima (JOHN *et al.*, 2019). Uma vez que a diversidade está diretamente ligada à sobrevivência das espécies, a análise do pool genético da espécie é fundamental para identificar populações que possuam níveis altos e representativos de polimorfismo genético (SUJII *et al.*, 2019). Esse conhecimento pode orientar estratégias sobre como a população deve ser manejada e como sua gestão deve ser realizada (CASACCI; BARBERO; BALLETO, 2014; CIÉSLAK *et al.*, 2015).

Apesar da importância da quantificação da diversidade genética e do entendimento de sua distribuição espacial, grande parte das pesquisas tem analisado apenas os indivíduos adultos, sendo poucas aquelas que abordam características dos indivíduos regenerantes (RITCHIE; KRAUSS, 2012). A análise das características desses indivíduos é relevante pois permite entender como as variáveis genético-populacionais se comportam em diferentes

gerações (RITCHIE; KRAUSS, 2012), fornecendo informações importantes sobre o sucesso da restauração ecológica do ponto de vista genético.

A introdução de populações que apresentem variabilidade genética é necessária para garantir a integridade e a sustentabilidade ecológica de um ecossistema (ZUCCHI *et al.*, 2018). Os esforços para incluir a variabilidade na restauração florestal muitas vezes envolvem a seleção de populações de origem específicas e uma alta diversidade de árvores matrizes as quais as sementes são coletadas para a produção de mudas (SUJII *et al.*, 2019). Portanto, é fundamental ter conhecimento sobre a diversidade dos indivíduos, uma vez que a caracterização da população permite o reconhecimento da perda genética real, possibilitando realizar inferências sobre o estabelecimento e adoção das melhores formas de conservação, gestão e uso sustentável de recursos genéticos (DUARTE; NOGUEIRA; VIEIRA, 2018).

2.4 Estrutura Genética Espacial

A estrutura genética espacial (SGS – do inglês Spatial Genetic Structure) é definida como a distribuição não aleatória dos genótipos no espaço geográfico (VEKEMANS; HARDY, 2004). A SGS trata do padrão da variabilidade genética em sua área de distribuição dentro de cada população. Em organismos sésseis como as plantas, o componente espacial da estruturação genética é particularmente importante, pois estas se encontram completamente dependentes das condições locais do ambiente em que estão inseridas, estabelecendo uma relação íntima e permanente com este (ABREU *et al.*, 2014).

Diversos processos evolutivos e ecológicos podem afetar os padrões de distribuição espacial dos indivíduos dentro de uma população (LOVELESS; HAMRICK, 1984), tais como a distribuição geográfica das espécies (ZUCCHI *et al.*, 2004), o sistema reprodutivo, a competição inter e intraespecífica (PIÑA-RODRIGUES *et al.*, 2007), a heterogeneidade do ambiente (GONÇALVES *et al.*, 2010), o fluxo gênico (SEBBENN *et al.*, 2011), o estágio de sucessão (MANOEL *et al.*, 2012) e o tamanho efetivo (GOIS *et al.*, 2014). Além desses processos, a estrutura genética espacial (SGS) dentro das populações pode ser o resultado da dispersão limitada de pólen e sementes, da deriva genética local, da endogamia e da seleção, que podem favorecer um mesmo ou diferentes genótipos (EPPERSON, 1992).

Os padrões de dispersão e estabelecimento de sementes tendem a ter o maior impacto na distribuição espacial da diversidade genética dentro das populações (NASON; HAMRICK, 1997), podendo influenciar a demografia e a distribuição espacial de indivíduos de gerações

subsequentes (DE PÁDUA *et al.*, 2016). O fluxo gênico restrito de sementes (VEKEMANS; HARDY, 2004) é a causa mais provável de SGS interpopulacional em escala refinada, o que pode afetar as estimativas da diversidade genética (DOLIGEZ; JOLY, 1997). Enquanto a SGS em escalas maiores é relacionada à dispersão de pólen (DICK *et al.*, 2008), visto que o fluxo de pólen é geralmente mais extenso do que o fluxo de sementes (PETIT *et al.*, 2005).

Além das estratégias de dispersão, os padrões e a intensidade da SGS são dependentes da interação dessas estratégias com os elementos da paisagem onde a população está inserida (REIS *et al.*, 2015). As sementes de espécies que não alcançam longas distâncias, sejam em função do agente dispersor ou da presença de barreiras físicas, permanecem próximos à planta mãe e apresentarão uma tendência à agregação espacial de genótipos aparentados (VEKEMANS; HARDY, 2004). Portanto, populações mais distantes tendem a realizar menos trocas de material genético do que populações mais próximas, o que pode gerar uma estrutura genética espacial resultante da deriva genética local (REIS *et al.*, 2015).

Espécies com dispersão zoocórica podem apresentar diferentes estruturas espaciais entre populações (ALDRICH *et al.*, 1998; SCHNABEL *et al.*, 1998). A escala e a intensidade da SGS podem também diferir significativamente entre estágios de vida, com indivíduos juvenis exibindo geralmente maior estruturação dentro das populações que os adultos (HAMRICK; NASON, 1996; NG *et al.*, 2004). Dessa forma, a comparação da diversidade genética de indivíduos juvenis, que estão regenerando nas áreas, com a diversidade observada em indivíduos adultos poderá mostrar os efeitos genéticos da fragmentação em curto e em médio prazo, oriundos da alteração nos padrões de fluxo gênico e dos efeitos de deriva genética, endogamia e seleção (MARTINS *et al.*, 2008).

A sobrevivência e manutenção de fragmentos florestais nativos e restaurados dependerão da definição de estratégias adequadas de implantação e manejo dessas áreas. Para assegurar que estas estratégias sejam efetivas, é preciso compreender e quantificar os principais efeitos populacionais e genéticos da fragmentação. (MARTINS *et al.*, 2008). O conhecimento da SGS permite identificar se os padrões genéticos observados nas áreas fragmentadas são resultantes da redução da população original, ou são indicativos de níveis naturais esperados para a espécie (WILLIAMS *et al.*, 2003). Além disso, a compreensão da SGS permite auxiliar a amostragem (coleta de sementes) em áreas naturais para a conservação ou restauração genética, pois a SGS afeta a distância mínima necessária entre os indivíduos amostrados para garantir a variabilidade genética em populações (GONÇALVES *et al.*, 2016; CLOUTIER *et al.*, 2007; MELO JUNIOR *et al.*, 2015).

As práticas de conservação *in situ* e *ex situ* dependem do conhecimento de padrões ecológicos e genéticos, e a compreensão dos padrões de estrutura genética espacial é importante para melhorar as estratégias de conservação e auxiliar no entendimento das forças que direcionam a dinâmica genética local (DE PÁDUA *et al.*, 2016). Nesse contexto, o uso de marcadores moleculares trouxe importantes avanços nos estudos de genética populacional de espécies arbóreas, especialmente na descrição da organização da variabilidade genética em populações de plantas (HAMRICK; LOVELESS, 1986).

2.5 Marcadores Microsatélites (SSR)

Dentre várias abordagens empregadas na área da conservação, o desenvolvimento das técnicas de biologia molecular gerou novas dimensões nos estudos populacionais, pois permitiram a análise dos seres vivos em relação a sua composição genética detalhada. O desenvolvimento da técnica *Polymerase Chain Reaction* (PCR), publicado em 1985 (SAIKI *et al.*, 1985), possibilitou o aprofundamento dos estudos genéticos por meio da utilização de marcadores de DNA (ROCHA *et al.*, 2021).

Marcadores moleculares genéticos são fragmento de DNA com variações de comprimento, número de cópias ou nucleotídicas, capazes de identificar variações genéticas entre e dentro de populações (HUFFORD; MAZER, 2003). Estes podem ser usados na determinação do sistema reprodutivo de uma espécie, no estudo dos padrões de migração, e no entendimento das consequências da fragmentação florestal no fluxo gênico e na deriva genética (SIQUEIRA *et al.*, 2013). As ferramentas moleculares são importantes, uma vez que permitem o conhecimento de padrões genéticos que não são possíveis de avaliar com ferramentas ecológicas tradicionais (AAVIK; HELM, 2017).

Dentre os vários marcadores moleculares desenvolvidos, um dos mais utilizados são os microsatélites. Os microsatélites ou *simple sequence repeat* (SSR), são fragmentos de DNA que variam de 1 a 6 (ou mais) nucleotídeos repetidos (ELLEGREN, 2004; TÓTH *et al.*, 2000). Cada segmento amplificado de tamanho diferente representa um alelo distinto do mesmo loco, e o comprimento das repetições de nucleotídeos destes microsatélites é uma característica herdada e altamente variável dentro de uma espécie (FERREIRA; GRATAPAGLIA, 1998).

As sequências do DNA que flanqueiam os microsatélites geralmente são conservadas entre os indivíduos da mesma espécie e permitem a seleção de iniciadores específicos (*primers*) que amplificam as sequências do DNA via PCR (ZANE; BARGELLONI; PATARNELLO,

2002). Na maioria das vezes, os microssatélites são encontrados em regiões não-codificadoras do genoma, ou seja, regiões que não são influenciadas pela seleção natural, sendo classificadas como seletivamente neutras (LI *et al.*, 2002), que os tornam ideais para análises de genética de populações (ELLEGREN, 2004; ZANE; BARGELLONI; PATARNELLO, 2002).

Os marcadores moleculares SSR possuem uma série de características que lhes confere grande aplicabilidade na análise genética: apresentam grande ocorrência e distribuição ao acaso no genoma dos eucariotos; são codominantes e permitem a detecção de alto grau de polimorfismo, devido às elevadas taxas de mutação que apresentam; são facilmente detectáveis via PCR; possuem transferibilidade dos locos entre espécies do mesmo gênero e, em alguns casos, entre famílias; o acesso rápido (alguns meses) à variação genética de um grande número de indivíduos e a utilização de pequenas amostras de tecido. (FERREIRA; GRATTAPAGLIA, 1998; CIAMPI *et al.*, 2000; ZUCCHI *et al.*, 2004; CARVALHO *et al.*, 2010; PIÑA-RODRIGUES *et al.*, 2007; GONELA *et al.*, 2013).

O uso de marcadores moleculares permitiu avanços no entendimento dos padrões genéticos e das relações entre os indivíduos de uma espécie, sendo amplamente empregado em estudos sobre diversidade e estrutura genética espacial, fornecendo informações relevantes a respeito da distribuição da variabilidade nas populações (GOIS *et al.*, 2014). Os oito locos microssatélites desenvolvidos e específicos para a *Copaifera langsdorffii* (CIAMPI *et al.*, 2000), têm se apresentado como uma excelente ferramenta para a obtenção de dados genéticos populacionais, sendo essenciais na condução de programa de coletas e conservação *ex situ* e *in situ* desta espécie.

2.6 Cenário brasileiro atual de estudos genéticos na restauração ecológica

Diversos projetos locais e internacionais vêm sendo criados para minimizar os impactos antrópicos no meio ambiente, principalmente por meio da restauração florestal. No Brasil, há o “Pacto pela Restauração da Mata Atlântica”, cujo a meta é recuperar 15 milhões de hectares de floresta até 2050. A restauração de áreas degradadas é uma importante ferramenta para reverter e melhorar a perda da cobertura vegetal, da biodiversidade e dos serviços ecossistêmicos (MIJANGOS *et al.*, 2015)

Além da cobertura vegetal a ser restabelecida no reflorestamento, é necessário reestabelecer a comunidade funcional dessas áreas, com populações capazes de sobreviver e se adaptar a mudanças ambientais. Para isso, é relevante a obtenção de informações taxonômicas,

ecológicas e genéticas sobre espécies nativas. Entretanto, a composição florística e as características ecológicas e genéticas de espécies de áreas nativas ainda são pouco elucidadas, principalmente em florestas tropicais. Além disso, informações sobre diversidade genética ainda são pouco utilizadas no planejamento de projetos de restauração (SUJII *et al.*, 2019).

A dispersão de sementes em escala de paisagem é o principal processo vinculado à recuperação da vegetação e à manutenção de espécies e da diversidade genética após a restauração. Em paisagens fragmentadas, a dispersão dos materiais genéticos é frequentemente interrompida, gerando falhas na recuperação, no estabelecimento e na manutenção populações geneticamente diversas (AAVIK; HELM, 2017). Dentre as principais recomendações no processo de restauração, têm-se: a disponibilidade do conjunto de espécies e populações geneticamente diversas; a conectividade estrutural entre os habitats e a disponibilidade de dispersores de pólen e sementes. É importante restaurar populações com alto potencial evolutivo e criar paisagens que promovam a movimentação de genótipos potencialmente benéficos, que ajudam a lidar com as pressões ambientais (AAVIK; HELM, 2017).

Nunes *et al.* (2021) realizaram um levantamento sobre a conservação genética de espécies florestais nativas, sugerindo o número de progênies e de indivíduos a conservar para garantir a perpetuação da espécie no ambiente. Segundo os autores, por meio da amostragem correta do número de populações e matrizes amostradas por espécie, e o número de mudas a serem produzidas é possível garantir a conservação genética das espécies arbóreas nativas ao longo do tempo. Essa abordagem prática e estatística sobre conservação genética, evidencia o número de genótipos que devem ser trabalhados para garantir a conservação do DNA das espécies ao longo do tempo, podendo subsidiar novas políticas públicas e legislações federais e estaduais sobre o tema.

No cenário brasileiro, ainda não há relatos de estudos que avaliam os aspectos genéticos na restauração ecológica utilizando *Copaifera langdorffii*, porém há estudos em outras espécies, como: *Centrolobium tomentosum* (SUJII *et al.*, 2019); *Casearia sylvestris* (VIANA *et al.*, 2018); *Myroxylon peruiferum* (SCHWARCZ *et al.*, 2018); *Laguncularia racemosa*; *Avicennia schaueriana* (GRANADO *et al.*, 2018) e *Piptadenia gonoacantha* (ZUCCHI *et al.*, 2018). Zucchi *et al.* (2018) avaliaram a diversidade genética de espécies arbóreas de diferentes grupos ecológicos em plantios de restauração e fragmentos florestais remanescentes. Contrariamente à expectativa de que as estratégias de plantio poderiam resultar na homogeneização da composição genética, descobriu-se que, em todas espécies estudadas, as áreas em restauração estabeleceram grupos genéticos heterogêneos com níveis semelhantes de diversidade genética

e parentesco aos observados em remanescentes florestais naturais. Entretanto, mesmo apesar dos resultados positivos, reforça-se o uso de altos níveis de diversidade genética na restauração, para apoiar a conservação da biodiversidade em paisagens modificadas pelo homem, e se reforça o papel da restauração ecológica para recuperar a diversidade genética, que é o constituinte básico da biodiversidade.

Copaifera langsdorffii é uma espécie bastante utilizada em projetos de restauração de áreas degradadas no Brasil, porém a caracterização da diversidade e estrutura genética espacial não foram elucidadas para essa finalidade. Os estudos genéticos iniciais com a espécie foram feitos utilizando isoenzimas, avaliando a taxa de cruzamento e o sistema reprodutivo (OLIVEIRA *et al.*, 2002); a variabilidade genética (PINTO *et al.*, 2004) e a estrutura genética da espécie (CARVALHO; OLIVEIRA, 2004). Outros estudos genéticos foram realizados com o uso de microsatélites, avaliando a estrutura genética populacional (MARTINS *et al.*, 2008; SEBBEN *et al.*, 2011); diversidade genética (GONELA *et al.*, 2013; ANTIQUEIRA *et al.*, 2014); endogamia e fluxo gênico (CARVALHO *et al.*, 2010; MANOEL *et al.*, 2012); e a herdabilidade em caracteres de crescimento (KUBOTA, 2014). Entretanto, esses trabalhos foram realizados em populações naturais ou fragmentos de florestas nativas, havendo uma lacuna de informações genéticas da espécie em áreas de restauração.

3 OBJETIVOS

a) Objetivo Geral:

Avaliar a resiliência genética de duas gerações -indivíduos adultos e regenerantes- de *Copaifera langsdorffii*, em áreas nativas e em plantios para restauração ecológica, por meio da quantificação e distribuição da diversidade genética no espaço e tempo.

b) Objetivos Específicos:

- Quantificar e comparar os índices de variabilidade genética de indivíduos arbóreos e regenerantes de *C. langsdorffii* em áreas nativas e em restauração;
- Estimar o índice de fixação de indivíduos arbóreos e regenerantes de *C. langsdorffii* em áreas nativas e em restauração;
- Verificar se há correlação entre distâncias geográficas e genética nas áreas estudadas;
- Mensurar a divergência genética entre as áreas amostradas;
- Analisar a estrutura genética populacional das áreas com base no modelo de agrupamento Bayesiano;
- Estimar o número de migrantes existentes nas áreas amostradas;
- Caracterizar a estrutura genética espacial de *C. langsdorffii* dos indivíduos arbóreos e regenerantes em áreas nativas e em restauração.

4 HIPÓTESES

- a) Os indivíduos de *Copaifera langsdorffii* amostrados nos fragmentos de vegetação nativa possuem maior diversidade genética que os indivíduos amostrados nas áreas de plantio para restauração;
- b) No plantio para restauração ecológica foram utilizados indivíduos aparentados entre si, o que reflete em uma maior taxa de endogamia;
- c) Os indivíduos regenerantes de *C. langsdorffii* apresentam forte estrutura genética espacial nas áreas de plantio;
- d) Os indivíduos regenerantes de *C. langsdorffii* encontrados nas áreas de plantio apresentam menor diversidade genética que os indivíduos arbóreos dessas áreas.

5 MATERIAL E MÉTODOS

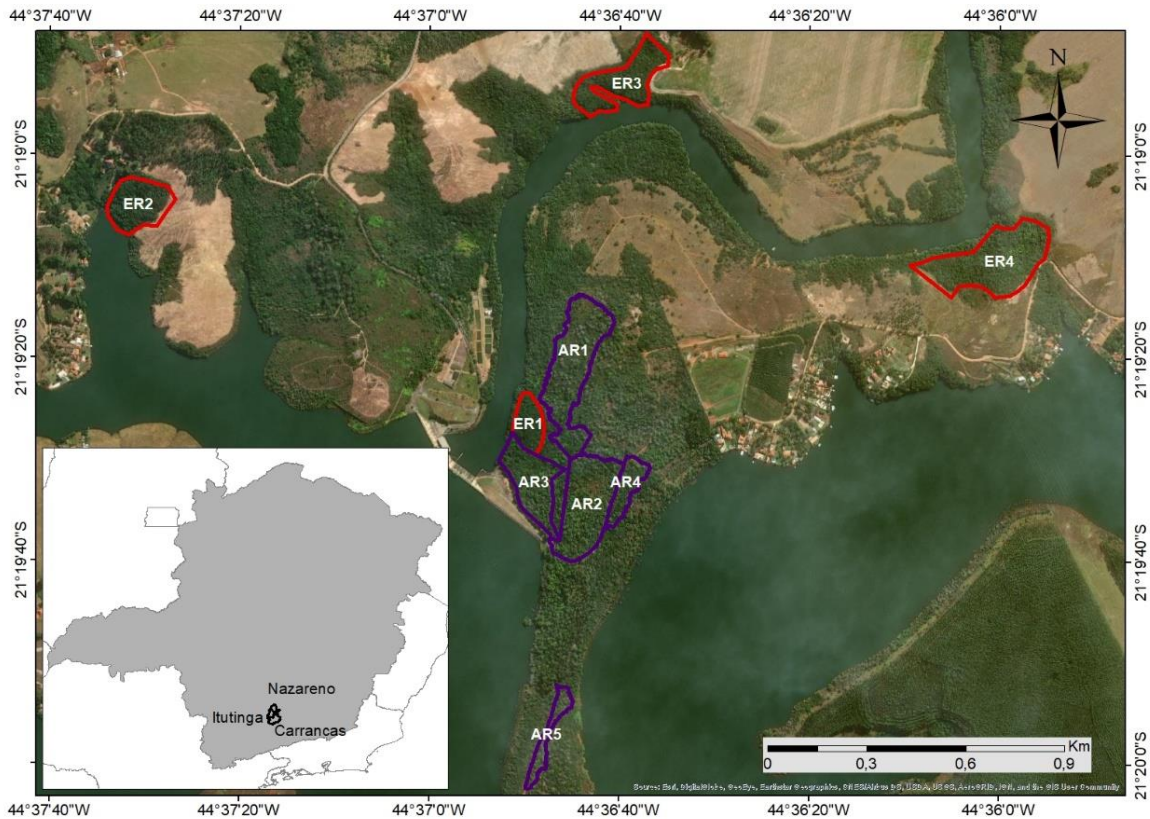
5.1 Região e áreas de estudo

As áreas de estudo estão localizadas nos municípios de Itutinga e Nazareno e fazem parte da mesorregião do Campo das Vertentes, no sul de Minas Gerais. Trata-se de cinco áreas de plantio para restauração de áreas degradadas (AR1, AR2, AR3, AR4 e AR5) nas proximidades do reservatório da Usina Hidrelétrica de Camargos, pertencentes à Companhia Energética de Minas Gerais (CEMIG), e quatro áreas de Floresta Estacional Semidecidual nativos, considerados ecossistemas de referência (ER1, ER2, ER3 e ER4).

Os plantios para restauração das áreas foram realizados no mesmo ano (1994), entretanto essas áreas apresentam diferentes históricos de uso e níveis de perturbação. As áreas AR1, AR4 e AR5 sofreram intervenções moderadas, caracterizadas pela remoção da vegetação e ausência de intervenções no solo. As áreas AR2 e AR3 sofreram intensas intervenções, como a remoção da vegetação, movimentação de máquinas, remoção da camada fértil e exposição do horizonte C, sendo estas as práticas que causaram a degradação dessas áreas (FARIA, 2013). A localização, o tamanho e as coordenadas geográficas dessas áreas são mostrados na Figuras 3 e na Tabela 1.

Esses plantios são experimentos que fazem parte de uma série de estudos desenvolvidos pelo Projeto Mata Ciliar, que se iniciou em 1990, com um convênio entre a Universidade Federal de Lavras (UFLA) e a Companhia Energética de Minas Gerais (CEMIG), do convênio CEMIG/UFLA/FAEPE. O objetivo desse projeto foi a geração de tecnologia em recomposição de matas ciliares às margens dos reservatórios e rios de Minas Gerais.

Figura 3 – Localização geográfica dos ecossistemas de referência e dos plantios para restauração ecológica nas proximidades do reservatório de Camargos, em Itutinga e Nazareno, MG.



Fonte: Da autora (2021).

Tabela 1 – Ecossistemas de referência e plantios para restauração ecológica nas proximidades do reservatório de Camargos, em Itutinga e Nazareno, MG, seus respectivos tamanhos e coordenadas geográficas.

Código	Área (ha)	Latitude	Longitude
ER1	1,2273	21° 19' 26,482" S	44° 36' 49,764" O
ER2	2,4513	21° 19' 4,912" S	44° 37' 30,778" O
ER3	3,1085	21° 18' 52,953" S	44° 36' 39,230" O
ER4	5,3821	21° 19' 11,175" S	44° 36' 0,387" O
AR1	5,0100	21° 19' 20,303" S	44° 36' 44,963" O
AR2	4,2907	21° 19' 34,439" S	44° 36' 42,946" O
AR3	2,7950	21° 19' 32,798" S	44° 36' 49,051" O
AR4	1,1839	21° 19' 32,324" S	44° 36' 39,045" O
AR5	0,9450	21° 19' 54,553" S	44° 36' 46,265" O

ER = ecossistema de referência; AR = área em restauração.

Fonte: Da Autora (2021).

Pertencente à região do Planalto do Alto Rio Grande, a área apresenta relevo ondulado, com predominância de Latossolos e Cambissolos (GIAROLA, 1994). O clima da área é tipo

Cwb (subtropical de altitude) (ÁLVARES *et al.*, 2013). A temperatura média anual é de 19,6° C, variando de 14,8 ° C e 26,5 ° C nos meses mais frios e mais quentes, respectivamente. A precipitação média anual é de 1511 mm, variando de 16,9 mm no mês mais seco a 293,9 mm no mês mais úmido. A umidade relativa média anual é de 76,2% e a evaporação total anual é de 901,1mm (INSTITUTO NACIONAL DE METEOROLOGIA, 2019).

A vegetação da região é bastante diversa, uma vez que pertence à zona de transição entre os biomas Cerrado e Mata Atlântica no sudeste do Brasil. Há predominância de Campos, Matas de Galeria e fragmentos de Floresta Estacional Semidecidual (VELOSO *et al.*, 1991). A composição florística das Florestas Estacionais Semidecíduais é considerada tanto como transição entre a flora das florestas úmidas costais e do Cerrado, quanto parte de um contínuo de ligação entre os domínios Atlântico e Amazônico (OLIVEIRA-FILHO; FONTES, 2000).

5.2 Coleta de dados

No total foram amostrados 384 indivíduos de *Copaifera langsdorffii* (TABELA 2), respeitando-se um tamanho amostral total de, pelo menos, 170 indivíduos em cada tipo de área – nativa e em recuperação. Foram amostrados, no mínimo, 50 indivíduos arbóreos e 100 regenerantes de *C. langsdorffii* em cada tipo de área.

Tabela 2 – Número de indivíduos arbóreos (IA) e regenerantes (IR) amostrados de *C. langsdorffii* Desf. nas áreas em restauração (AR) e nos ecossistemas de referência (ER).

Área	IA	IR	Área	IA	IR
AR1	16	32	ER1	6	12
AR2	22	44	ER2	11	22
AR3	11	22	ER3	27	54
AR4	9	18	ER4	14	28
AR5	12	24	-	-	-
TOTAL	70	140	-	58	116

IA = número de indivíduos arbóreos; IR = número de indivíduos regenerantes.

Fonte: Da Autora (2021).

Os indivíduos arbóreos amostrados foram aqueles cujas copas se encontram no dossel da vegetação e cuja circunferência a altura do peito (medida a 1,3 m do solo) apresentou valor mínimo de 15,7 cm (FIGURA 4). Os indivíduos regenerantes amostrados foram aqueles com altura total entre 0,3 e 1 m. Para essa amostragem foram utilizados os dois indivíduos regenerantes mais próximos de cada indivíduo arbóreo amostrado (CORDEIRO *et al.*, 2019), e

as mensurações foram feitas com o uso de fitas métricas. Nas áreas de plantio para restauração, a diferenciação entre os indivíduos que foram plantados e aqueles que se regeneraram naturalmente foi feita a partir da identificação das linhas de plantio, uma vez que estas se mantem evidentes mesmo em plantios antigos.

Figura 4 – a) Indivíduo adulto de *Copaifera langsdorffii*; b) Medição do CAP; c) Indivíduo regenerante de *C. langsdorffii*; d) Medição da altura do indivíduo regenerante.



Fonte: Arquivo pessoal de Delano (2015).

Cada indivíduo arbóreo teve sua coordenada geográfica coletada com o uso de um aparelho GPS de navegação (FIGURA 5). Os indivíduos regenerantes tiveram suas distâncias horizontais e ângulos azimutais magnéticos, em relação aos indivíduos arbóreos mais próximos, mensurados com trena e bússola, respectivamente. Os dados de distância horizontal e ângulo azimutal magnético foram mensurados e, a partir deles e de uma coordenada geográfica conhecida (indivíduo arbóreo), foi possível estimar a coordenada geográfica do indivíduo regenerante mediante relações trigonométricas. Isso foi necessário pois aparelhos GPS de navegação apresentam erros de precisão significativos, principalmente em vegetação com

5.3 Extração e amplificação do DNA

A extração do DNA genômico dos indivíduos amostrados foi realizada com base no protocolo CTAB (Brometo de Cetiltrimetilamônio), descrito por Ferreira e Grattapaglia (1998), com algumas adaptações. Para isso, foram necessárias aproximadamente 100 mg de tecido foliar de cada indivíduo amostrado.

As reações de amplificação do DNA (Reação em cadeia da polimerase – PCR) foram realizadas utilizando-se oito iniciadores (*primers*) específicos para *C. langsdorffii* (CIAMPI *et al.*, 2000), seguindo-se a metodologia proposta por Ciampi *et al.* (2000). Os primers foram adquiridos com marcações de fluorescência, o que permitiu que a análise do tamanho dos fragmentos de DNA fosse feita em sequenciador automático. Os primers microssatélites e suas respectivas sequências, amplitudes alélicas e temperaturas de anelamento (T_a °C) são mostrados na Tabela 3.

As reações de PCR ocorreram em um volume final de 15 μ L: 3 μ L (30 ng de DNA) foi adicionado a 12,0 μ L do mix de reação com [1,2 μ L de Tampão IB (Photoneutria) e 1,2 μ L de MgCl₂ a 25 mM, 1,2 μ L de dNTP a 100 mM, 0,2 μ L de Taq polimerase 5 U/ μ L (Photoneutria) 1 μ L do *primer* R (100mM) 1 μ L do *primer* F (100mM) e 6,2 μ L de água ultra pura Milli-Q®),

As amplificações foram realizadas em termociclador (Gene Amp PCR System 9700), seguindo as etapas: Etapa 1 [1 ciclo] 5 minutos de iniciação a 94°C; Etapa 2 [35 ciclos] desnaturação a 94°C por 1 minuto, temperatura de anelamento otimizada para cada loco por 45 segundos, extensão a 72 ° C por 1 minuto; Etapa 3 [1 ciclo] extensão final a 72 ° C por 7 min; Etapa 4 - 4° C ∞ .

As etapas de extração e amplificação do DNA foram realizadas no Laboratório de Conservação Genética de Espécies Arbóreas, do Departamento de Ciências Florestais (DCF) da Universidade Federal de Lavras (UFLA). Os produtos oriundos da PCR foram submetidos à eletroforese capilar em um sequenciador automático ABI 3730 (Life Technologies, Carlsbad, CA, Estados Unidos da América) com o tamanho de referência padrão GS500 LIZ, no Laboratório de Parasitologia Celular e Molecular do Centro de Pesquisa René Rachou – Fundação Oswaldo Cruz, em Belo Horizonte – MG.

O tamanho dos amplicons foi identificado utilizando o *software* GeneMarker 1.9 V (AppliedBiosystems) para a realização da genotipagem dos indivíduos.

Tabela 3 – Sequência de oito pares de iniciadores de locos microssatélites (SSR) desenvolvidos para *Copaifera langsdorffii* (CIAMPI *et al.*, 2000), com as respectivas fluorescências, amplitudes alélicas e temperaturas de anelamento (Ta °C)

Loco	SSR	Fluoróforo	Sequência dos primers (5'-3')	Amplitude alélica (pb)	Ta (°C)
CL 01	(AG) ₂₄	PET	F_AGA CTC CAT TCT TCC ACA GC R_CTG TCT TCT CTC TGC AAC CA	174 - 226	56
CL 02	(TC) ₂₅	VIC	F_CCT CGA TCC TCC TTG TGT TC R_TCA GTT CGG ATA GCG ATG C	183 - 331	56
CL 06	(TC) ₁₄	6-FAM	F_GAG CGT TGC AAG GAA TTT CT R_CGA AAC TTG CAT GCG GAT A	130 - 174	54
CL 20	(AG) ₂₁	6-FAM	F_ACC AAT CTC AAT CAT CGA GC R_GTG CGG GTG AAT GTA GAGTT	85 - 165	56
CL 27	(TC) ₂₅	PET	F_GAA TAT ACA ATG CAC CGC A R_CTC CAA AAG CCA TGC AAG	182 - 240	54
CL 32	(AG) ₂₄	NED	F_GTG AGA GTA TGG AAT GTAAC R_TAG TCA TGA AAA TAG GAGTG	150 - 222	50
CL 34	(AG) ₃₃	VIC	F_TGT TGA CAT GAC ACT AAT TC R_ACA ACC GAC TTA TTG GA	183 - 259	50
CL 39	(TC) ₂₄	NED	F_GCA GCT GTT CTC TTG TGA CT R_CAA GAA TCC GTG ACT TCA TC	102 - 156	56

F (*forward*); R (*reverse*); pb (tamanho dos alelos em pares de base)

Fonte: Da autora (2021).

5.4 Análises estatísticas

5.4.1 Qualidade e diversidade genética dos locos microssatélites

O teste de desequilíbrio de ligação foi realizado entre pares de locos para verificar se os locos usados nas análises são amostrados de forma independente do genoma. O teste foi realizado pelo *software* R (RCORE, 2013), utilizando o pacote *Adegenet* (JOMBART, 2008), mediante o cálculo do índice de correlação $\bar{r}d$ (AGAPOW; BURT, 2001), aplicando-se 999 permutações.

Para detectar possíveis erros na genotipagem devido a presença de *stutter* (repetições mais curtas ou mais longas que o verdadeiro alelo – locos adicionais) e *dropout* (alelos que aparecem bastante afastados da série principal) foi utilizado o *software* Micro Checker Versão 2.2.3 (VAN OOSTERHOUT *et al.*, 2004). A significância foi obtida por 1.000 permutações e o intervalo de confiança a 95% foi obtido com 10.000 reamostragens. Para detectar a presença

e a frequência de alelos nulos (um ou mais alelos que não amplificam durante a PCR), foi utilizado o pacote *Adegenet* do *software* R (RCORE, 2013).

A diversidade genética dos locos foi estimada para os seguintes parâmetros: número total de alelos (A), número médio de alelos por loco (N_a), número de alelos efetivos (A_e), heterozigosidade observada (H_o), heterozigosidade esperada (H_e) de acordo com o Equilíbrio de Hardy-Weinberg, heterozigosidade máxima (h_{max}), proporção da diversidade máxima possível (H_e/h_{max}) e índice de fixação (F), utilizando o *software* GeneAIEx 6.501 (PEAKALL; SMOUSE, 2006) e R (RCORE, 2013).

5.4.2 Diversidade genética dos indivíduos adultos e regenerantes amostrados das áreas

A diversidade genética dos indivíduos adultos e regenerantes amostrados nas áreas foi estimada para os seguintes parâmetros: número total de alelos (A), número médio de alelos por loco (N_a), número de alelos efetivos (A_e), heterozigosidade esperada (H_e) de acordo com o Equilíbrio de Hardy-Weinberg, heterozigosidade observada (H_o), número de alelos exclusivos (A_{ex}), e índice de fixação (f), utilizando o *software* GeneAIEx 6.501 (PEAKALL; SMOUSE, 2006) e R (RCORE, 2013).

A aderência das frequências genotípicas às proporções esperadas pelo Equilíbrio de Hardy-Weinberg para as áreas foi testada por meio do teste de Monte Carlo, com 1000 permutações, utilizando o pacote *Adegenet* (JOMBART, 2008) no *Software* R (RCORE, 2013).

5.4.3 Estrutura genética

As distâncias genéticas de Nei (DN) (NEI, 1978) foram estimadas entre pares de áreas e entre estágios de vida utilizando o *software* GenAIEx 6.501 (PEAKALL; SMOUSE, 2006). As matrizes de distâncias genéticas (DN) foram utilizadas para a construção dos dendrogramas, de acordo com o método UPGMA (Método da Média não Ponderada) com o *software* NTSYS-pc 2.0 (ROHLF, 2001). A consistência entre as matrizes de similaridade genética e os grupos formados foi determinada pelo coeficiente de correlação cofenética (CCC), utilizando o *software* Genes (CRUZ, 2016).

As estimativas de divergência genética entre as áreas e entre os estágios de vida foram quantificadas pelas estimativas θ_P e R_{ST} , pelos programas GDA (LEWIS; ZAYKIN, 2002) e GeneAIEx 6.501 (PEAKALL; SMOUSE, 2006), respectivamente. Adicionalmente foi

estimado o G_{st} , segundo o método de Hedrick (2005) e o F_{ST} de Wright (NEI, 1977) utilizando o software GeneAIEx 6.501 (PEAKALL; SMOUSE, 2006). O índice de divergência genética (F_{ST}) entre áreas e entre estágios de vida foi estimado utilizando o *software* ARLEQUIN v 3.5 (EXCOFFIER; LISCHER, 2010) para analisar as diferenças nas frequências alélicas.

A análise das coordenadas principais (PCoA) (SMITH, 2002) foi realizada utilizando o *software* GeneAIEx 6.501 (PEAKALL; SMOUSE, 2006), com base nos valores de R_{ST} , calculados para os dados originais de frequências alélicas e genotípicas. No intuito de testar a hipótese de isolamento por distância foi aplicado o teste de Mantel (SLATKIN, 1995), comparando a matriz de distância genética entre pares das áreas e a matriz de distância geográfica utilizando o *software* GeneAIEx 6.501 (PEAKALL; SMOUSE, 2006).

O número de migrantes (N_m) entre as áreas foi estimado utilizando o programa GeneClass 2 v.2 (PIRY *et al.*, 2004). As Análises de Variância Molecular (AMOVA) foram conduzidas para calcular a partição da variabilidade genética entre e dentro das áreas utilizando o *software* GeneAIEx v.6.501 (PEAKALL; SMOUSE, 2012).

Outra análise da estrutura genética populacional foi realizada com base no modelo de agrupamento bayesiano, utilizando o *software* STRUCTURE V.2.3.4 (PRITCHARD *et al.*, 2000). Os indivíduos foram agrupados, de acordo com seus genótipos, em K grupos genéticos. O modelo assumido foi o *admixture*. Foram realizadas 20 corridas independentes para cada valor de K, com este variando de 1 a 12. Para cada corrida foram usadas 1.000.000 de iterações de MCMC, aplicando-se 250.000 repetições *burn-in* e 750.000 iterações. O número de grupos genéticos que melhor representou os dados foi identificado de acordo com o método ΔK proposto por Evanno *et al.* (2005) na plataforma STRUCTURE HARVESTER (EARL *et al.*, 2012). Os dados de saída foram visualizados na plataforma STRUCTURE SELECTOR (LI; LIU, 2018).

5.4.4 Estrutura genética espacial

As coordenadas geográficas dos indivíduos foram correlacionadas com os dados genéticos para criar uma análise de autocorrelação espacial. Estimou-se o coeficiente de coancestria multiloco (F_{ij}), para diferentes classes de distância geradas a partir das coordenadas. O coeficiente de coancestria estima a probabilidade de identidade dos alelos em dois genes homólogos, ou seja, identificar um alelo descendente por meio de comparação gênica.

O coeficiente de coancestria é definido como:

$$F_{ij} = (Q_{ij} - Q_m)(1 - Q_m),$$

em que Q_{ij} é a probabilidade de amostras aleatórias dos indivíduos i e j serem idênticas por ancestralidade e Q_m é a probabilidade de amostras aleatórias da população serem idênticas por descendência.

O coeficiente de coancestria (F_{ij}) e as classes de distância foram estimados pelo software SPAGeDi, versão 1.1 (HARDY; VEKEMANS, 2002). O erro padrão da média foi obtido por meio da reamostragem *jackknife* entre locos, sendo utilizado na construção do intervalo de confiança a 95% de probabilidade para o coeficiente médio de coancestria estimado para as classes de distância. Em cada classe de distância foram realizadas 10.000 permutações para testar a ocorrência de estruturação genética espacial.

A extensão da estrutura genética espacial foi estimada pela estatística S_p (VEKEMANS; HARDY, 2004), que permite a comparação da magnitude da estrutura genética espacial entre as populações. A seguinte fórmula foi aplicada:

$$S_p = -b \log(1 - F_{ij}(1)),$$

em que b é a inclinação da curva de regressão do coeficiente de coancestria (F_{ij}) e $F_{ij}(1)$ é a média do coeficiente de coancestria na primeira classe de distância.

5.4.5 Aderência ao Equilíbrio de Mutação e Deriva

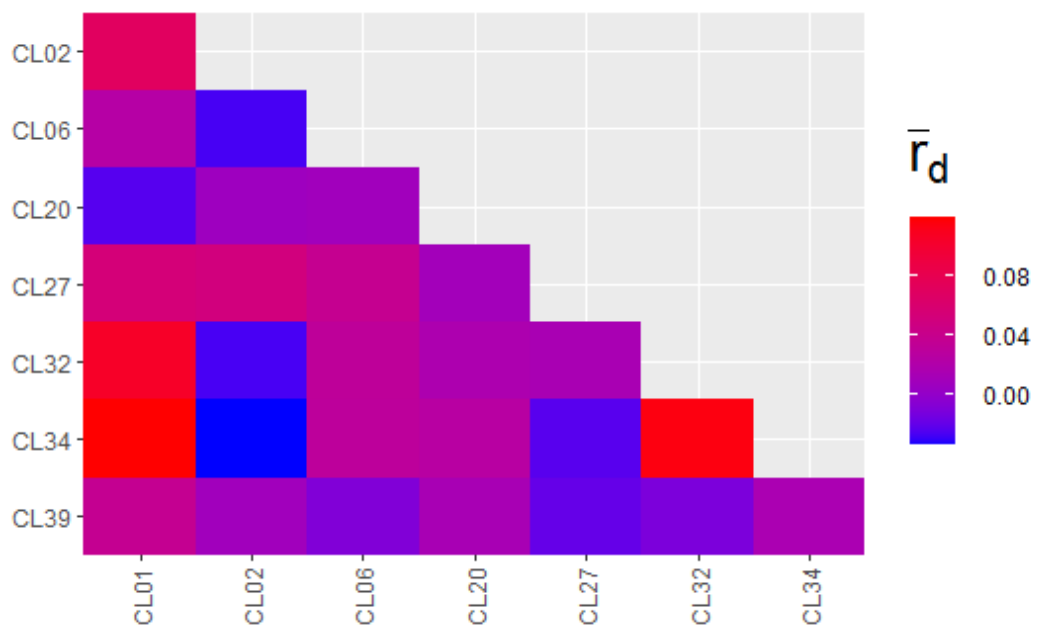
Para testar se os conjuntos de indivíduos amostrados em cada área estão em Equilíbrio entre Mutação e Deriva, que pode indicar gargalo genético, foi utilizado o *software* Bottleneck 2.1.2 (PIRY; LUIKART; CORNUET, 1999). Foram utilizados três modelos de mutação, para verificar se as áreas amostradas passaram por uma redução recente na diversidade genética: Modelo de Alelos Infinitos (IAM), que supõe que cada mutação cria um novo alelo; Modelo Simples de Mutação (SMM), em que a cada mutação ocorre o ganho ou a perda de uma repetição; e o Modelo de Passos de Mutação (TPM), que é intermediário aos modelos anteriores, sendo adequado para a maioria dos conjuntos de dados microssatélites (DI RIENZO *et al.*, 1994). Para o modelo TPM, a proporção de SMM em TPM foi 0,000 e a variância para TPM foi de 0,36, que são os valores mais sensíveis para microssatélites (PIRY; LUIKART; CORNUET, 1999). A significância foi obtida por meio do teste de Wilcoxon, sendo o mais indicado quando o número de locos polimórficos utilizados é menor que 20 (PIRY; LUIKART; CORNUET, 1999).

6 RESULTADOS

6.1 Qualidade e diversidade genética dos locos microsatélites

Os resultados do teste de desequilíbrio de ligação mostraram que não houve desequilíbrio significativo entre os marcadores microsatélites utilizados neste estudo ($\bar{r}_d < 0,5$) ($p > 0,05$) (FIGURA 7).

Figura 7 – Teste de desequilíbrio de ligação para os locos CL01, CL02, CL06, CL20, CL27, CL32, CL34 e CL39 os indivíduos amostrados de *Copaifera langsdorffii*.



Fonte: Da autora (2021).

O teste para detecção de erros de genotipagem não indicou a presença de *stutter* e *dropout*. No entanto, este teste mostrou a presença de alelos nulos em alguns locos (TABELA 4). A frequência de alelos nulos no loco CL34 foi significativa em todas as áreas estudadas. O loco CL01 apresentou frequência significativa de alelos nulos em oito áreas. Os locos CL20, CL27 e CL32 em sete áreas; o loco CL39 em três áreas; e os locos CL02 e CL06 em uma área.

Tabela 4 – Frequência de alelos nulos em cada loco (estimador 1, Brookfield) para ecossistemas de referência (ER) e áreas em restauração (AR) de *Copaifera langsdorffii*.

	ER1	ER2	ER3	ER4	AR1	AR2	AR3	AR4	AR5
CL01	0,2836*	0,2789*	0,1426*	0,0771*	0,1049*	0,1308*	0,0521	0,0973*	0,0991*
CL02	-0,0779	-0,0267	0,0245	0,0246	0,0397	0,0537*	0,0032	-0,022	0,0194
CL06	-0,0579	0,0243	0,0414*	0,0073	0,031	0,006	-0,0233	-0,0062	-0,0096
CL20	0,1531*	0,2084*	0,154*	0,1087*	0,0035	0,0909*	0,0862*	-0,0163	0,0733*
CL27	0,0254	0,1236*	0,1406*	0,2159*	0,1216*	0,1201*	0,1334*	0,0682	0,099*
CL32	-0,0696	0,102*	0,106*	0,1619*	0,0796*	0,1263*	0,0834*	0,0605	0,2503*
CL34	0,2276*	0,1737*	0,1285*	0,0915*	0,0756*	0,1056*	0,2192*	0,2191*	0,2231*
CL39	-0,058	0,0397	0,0196	0,0087	-0,0184	-0,0014	0,1844*	0,198*	0,2323*

ER= ecossistema de referência; AR= áreas em restauração

Fonte: Da autora (2021).

As frequências de alelos nulos em todos os locos foram significativas e inferiores a 25%, para as áreas (TABELA 5).

Tabela 5 – Frequência de alelos nulos em cada loco (estimador 1, Brookfield) de indivíduos de *Copaifera langsdorffii* nas áreas estudadas.

	CL01	CL02	CL06	CL20	CL27	CL32	CL34	CL39
Frequência observada	0,172	0,025	0,022	0,126	0,165	0,153	0,198	0,079
Frequência mediana	0,172	0,024	0,021	0,125	0,164	0,152	0,197	0,078
2,5 percentil	0,133	0,005	0,002	0,095	0,132	0,118	0,158	0,053
97,5 percentil	0,211	0,044	0,040	0,161	0,199	0,191	0,239	0,106

Fonte: Da autora (2021).

A partir da genotipagem dos oito locos microssatélites nos 384 genótipos de *C. langsdorffii* avaliados, sendo 128 indivíduos adultos e 256 regenerantes, detectou 195 alelos. Todos os locos foram altamente polimórficos (TABELA 6). O número total de alelos por loco (A) variou de 21 (CL06 e CL20) a 26 alelos (CL01, CL02, CL27 e CL32), com média de 24. O número de alelos efetivos (A_e) variou de 8 a 12, com média de 10. A heterozigosidade observada (H_o) variou de 0,61 (CL34) a 0,87 (CL06) e a heterozigosidade esperada (H_e) variou de 0,88 (CL02) a 0,92 (CL39) com média de 0,91. A diversidade genética (H_e) foi superior a 88% em todos os locos. Os locos CL06, CL20, CL27, CL34 e CL39 foram os que apresentaram a diversidade genética mais elevada, sendo que mais de 95% da diversidade total possível, de acordo com o número de alelos (H_e / h_{max}). Os maiores índices de fixação (F) para o conjunto das áreas amostradas foram obtidos pelos locos CL34, CL01 e CL27, sendo 0,33; 0,29 e 0,28, respectivamente. O valor médio do índice de fixação (F) foi de 0,204.

Tabela 6 – Parâmetros de diversidade genética estimados para os oito locos microssatélites nas áreas amostradas de *Copaifera langsdorffii*.

Loco	N	A	Ae	He	Ho	F	hmax	He/hmax (%)	EHW
CL01	337	26	9,86	0,899	0,635	0,293	0,962	0,935	**
CL02	357	26	8,54	0,883	0,840	0,048	0,962	0,918	**
CL06	380	21	11,06	0,910	0,871	0,042	0,952	0,955	**
CL20	380	21	11,80	0,915	0,711	0,224	0,952	0,961	**
CL27	355	26	12,48	0,920	0,659	0,283	0,962	0,957	**
CL32	353	26	10,18	0,902	0,663	0,265	0,962	0,938	**
CL34	369	24	11,21	0,911	0,610	0,331	0,958	0,950	**
CL39	384	25	12,60	0,921	0,786	0,146	0,960	0,959	**
Média	364,38	24,38	10,96	0,907	0,722	0,204	0,959	0,946	-

Número de indivíduos (N); número de alelos (A); número de alelos efetivos (Ae); heterozigidade esperada (He); heterozigidade observada (Ho); índice de fixação (F); diversidade máxima possível (hmax); proporção da máxima diversidade (He/hmax); e desvios do equilíbrio de Hardy-Weinberg (EHW).

** = significativo a 5%

Fonte: Da autora (2021).

Segundo os testes de Monte Carlo e Qui-quadrado o número de heterozigotos observados foi menor que o esperado pelas proporções do Equilíbrio de Hardy-Weinberg (EHW) em todos os locos, segundo (TABELA 6). Os dados destes testes indicaram que as nove áreas apresentaram desvios significativos das proporções esperadas pelo equilíbrio de Hardy-Weinberg, em pelo menos três e quatro locos, respectivamente ($p < 0,05$) (TABELAS 7 e 8).

Tabela 7 – Probabilidades exatas do Teste de Monte Carlo dos desvios das proporções de Hardy-Weinberg em locos microssatélites nas áreas estudadas de *Copaifera langsdorffii*.

	CL01	CL02	CL06	CL20	CL27	CL32	CL34	CL39
ER1	0.000***	0.110ns	0.109ns	0.000***	0.528ns	0.693ns	0.000***	0.104ns
ER2	0.000***	0.001**	0.018*	0.000***	0.000***	0.002**	0.000***	0.000***
ER3	0.000***	0.004**	0.000***	0.000***	0.000***	0.000***	0.000***	0.000***
ER4	0.003**	0.153ns	0.475ns	0.004**	0.000***	0.000***	0.039*	0.001**
AR1	0.000***	0.050ns	0.007**	0.009**	0.000***	0.000***	0.000***	0.000***
AR2	0.000***	0.002**	0.000***	0.002**	0.000***	0.000***	0.000***	0.000***
AR3	0.154ns	0.023*	0.217ns	0.000***	0.000***	0.049*	0.000***	0.000***
AR4	0.004**	0.363ns	0.465ns	0.752ns	0.208ns	0.061ns	0.000***	0.000***
AR5	0.004**	0.009**	0.003**	0.020*	0.007**	0.000***	0.000***	0.000***

ns=não significativo, * $p < 0,050$, ** $p < 0,010$, *** $p < 0,001$

Fonte: Da autora (2021).

Tabela 8 – Probabilidades exatas do Teste Qui-quadrado dos desvios das proporções de Hardy-Weinberg em locos microssatélites nas áreas estudadas de *Copaifera langsdorffii*.

	CL01	CL02	CL06	CL20	CL27	CL32	CL34	CL39
ER1	0.000***	0.110ns	0.022*	0.002**	0.693ns	0.750ns	0.023*	0.362ns
ER2	0.000***	0.000***	0.468ns	0.000***	0.002**	0.000***	0.000***	0.000***
ER3	0.000***	0.000***	0.000***	0.000***	0.000***	0.000***	0.002**	0.000***
ER5	0.000***	0.123ns	0.557ns	0.000***	0.000***	0.000***	0.014*	0.000***
AR1	0.000***	0.036*	0.033*	0.007**	0.000***	0.000***	0.007**	0.000***
AR2	0.000***	0.063ns	0.002**	0.082ns	0.000***	0.000***	0.000***	0.000***
AR3	0.284ns	0.060ns	0.227ns	0.000***	0.000***	0.024*	0.000***	0.000***
AR4	0.001**	0.887ns	0.711ns	0.023*	0.240ns	0.110ns	0.000***	0.000***
AR5	0.000***	0.008**	0.000***	0.084ns	0.004**	0.000***	0.000***	0.000***

ns=não significativo, * $p<0,05$, ** $p<0,01$, *** $p<0,001$

Fonte: Da autora (2021).

As relações dos locos que se não se encontram nas proporções esperadas pelo EHW foram calculadas pelos testes de permutações de Monte Carlo (MC) e o Qui-quadrado (χ^2), após a correção FDR (False Discovery Rate), visando o controle de falsos positivos (TABELA 9). Os desvios das proporções esperadas pelo EHW foram de 100% no loco CL34, de 88% para CL01, CL20 e CL39, 77% para CL27 e CL32 e de 55% para CL02 e CL06.

Tabela 9 – Proporções dos locos que não se aderiram ao EHW estimadas pelos testes Qui-quadrado (χ^2) e Monte Carlo (MC), após a correção False Discovery Rate (FDR).

	χ^2	MC
CL01	0,889	0,889
CL02	0,444	0,556
CL06	0,556	0,556
CL20	0,778	0,889
CL27	0,778	0,778
CL32	0,778	0,778
CL34	1,000	1,000
CL39	0,889	0,889

Fonte: Da autora (2021).

6.2 Diversidade genética dos indivíduos adultos e regenerantes nas áreas

O número médio de alelos por loco (N_a) variou de 6,25 (ER1-adultos) a 16,37 (ER3-regenerantes) nos ecossistemas de referência e de 6,75 (AR4-adultos) a 16,62 (AR2-regenerantes) nas áreas em restauração (TABELA 10). A riqueza alélica rarefeita (A_r) variou de 4,82 (ER1-adultos) a 8,81 (ER3-regenerantes) nos ecossistemas de referência, e 4,53 (AR4-adultos) a 8,86 (AR2-regenerantes) nas áreas em restauração. O número de alelos efetivos (A_e) variou de 5,2 (ER1-adultos) a 9,79 (ER3-regenerantes) nos ecossistemas de referência, e 5,52 (AR5 - adultos) a 9,53 (AR2-regenerantes) nas áreas em restauração. No geral, os indivíduos regenerantes nos ER e nas AR apresentaram valores superiores aos adultos dessas áreas para os índices de número médio alelos por loco, o número de alelos efetivos e a riqueza alélica rarefeita.

Os indivíduos adultos das áreas ER2, ER3 e AR2 apresentaram maiores números de alelos exclusivos, sendo oito, nove e sete alelos, respectivamente (TABELA 10). Nas áreas AR1 e AR2 foram encontrados seis alelos exclusivos nos regenerantes. Os valores de diversidade genética (H_e) de indivíduos adultos e regenerantes foram elevados nos ER e AR, variando de 0,77 (AR4-adultos) a 0,89 (AR2-regenerantes), com média de 0,85. A diversidade genética nos indivíduos adultos da AR4 foi a mais baixa, porém não foi significativa. O maior valor de heterozigosidade observada (H_o) foi de 0,81 nos indivíduos adultos do ER1 e o menor valor foi de 0,59 nos indivíduos adultos da AR5.

Os níveis de endogamia não foram significativos entre as áreas e estágios de vida estudados (TABELA 10). O índice de fixação (f) apresentou valor negativo apenas para os indivíduos adultos no ER1. Os indivíduos adultos das áreas AR1 e AR2 apresentaram os valores mais baixos do índice de fixação (f), sendo estes 0,07 e 0,08, respectivamente. Os demais índices de fixação (f) variaram de 0,12 (ER1-regenerantes) a 0,25 (ER2-regenerantes) nos ecossistemas de referência, e de 0,12 (AR4-adultos) a 0,26 (AR5-adultos) nas áreas em restauração. No geral, os indivíduos adultos tenderam a apresentar índice de fixação menor que os regenerantes, porém os valores não foram significativos. Para as áreas amostradas (ER e AR), o índice de fixação médio foi de 0,183.

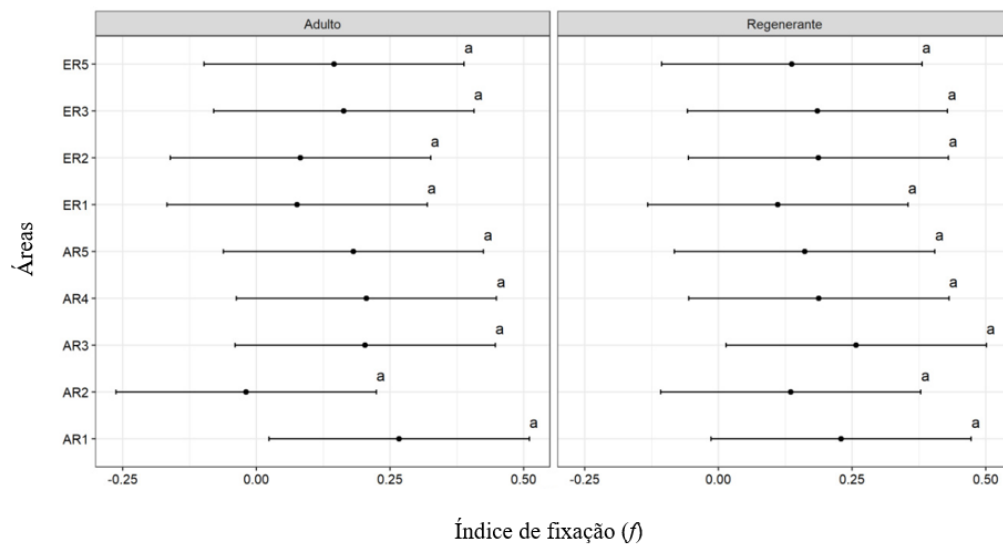
Tabela 10 – Parâmetros de diversidade genética para indivíduos adultos e regenerantes de *Copaifera langsdorfii* em ecossistemas de referência (ER) e áreas em restauração (AR).

Área	N	A	Na	He	Ho	Ae	Aex	Ar	<i>f</i>
Adultos									
ER1	6	53	6,625	0,798	0,815	5,203	2	4,823	-0,020
ER2	11	86	10,750	0,877	0,699	8,408	8	5,734	0,203
ER3	27	111	13,875	0,888	0,705	9,179	9	5,777	0,206
ER4	14	78	9,750	0,833	0,680	6,356	3	5,132	0,184
Média	-	-	10,25	0,85	0,72	7,29	5,5	5,37	0,14
Regenerantes									
ER1	12	76	9,5	0,848	0,740	6,958	2	7,587	0,127
ER2	22	97	12,125	0,853	0,639	7,284	3	7,734	0,251
ER3	54	131	16,375	0,893	0,725	9,796	5	8,817	0,188
ER4	28	111	13,875	0,890	0,747	9,138	2	8,581	0,161
Média	-	-	12,97	0,87	0,71	8,29	3	8,18	0,18
Adultos									
AR1	16	77	9,625	0,818	0,759	5,797	1	4,941	0,072
AR2	22	99	12,375	0,833	0,764	6,565	7	5,123	0,083
AR3	11	69	8,625	0,832	0,698	6,329	1	5,068	0,162
AR4	9	54	6,75	0,779	0,681	4,927	0	4,533	0,126
AR5	12	67	8,375	0,814	0,598	5,528	1	4,825	0,265
Média	-	-	9,15	0,82	0,70	5,83	2	4,90	0,14
Regenerantes									
AR1	32	124	15,5	0,886	0,788	9,366	6	8,769	0,111
AR2	44	133	16,625	0,894	0,727	9,534	6	8,868	0,187
AR3	22	106	13,25	0,881	0,719	8,831	1	8,593	0,185
AR4	18	107	13,375	0,861	0,747	7,610	2	8,378	0,133
AR5	24	105	13,125	0,879	0,675	8,489	0	8,371	0,231
Média	-	-	14,38	0,88	0,731	8,77	3	8,60	0,17

Número de indivíduos (N); número total de alelos (A); número médio de alelos por loco (Na); número de alelos efetivos (Ae); heterozigosidade esperada (He); heterozigosidade observada (Ho); número de alelos exclusivos (Aex); riqueza alélica rarefeita (Ar); e índice de fixação (*f*).

Fonte: Da autora (2021).

Figura 8 – Intervalo de confiança a 95% de probabilidade das médias dos índices de fixação (f) estimado para as os indivíduos adultos e regenerantes de *Copaifera langsdorffii* nas áreas estudadas.



Fonte: Da autora (2021).

6.3 Estrutura genética

As estimativas de divergência genética entre as áreas estudadas, utilizando os índices G_{ST} de Hedrick (2005) e θ_P apresentaram valores próximos, 0,0131 e 0,0137, respectivamente (TABELA 11). A estimativa de divergência genética utilizando a estatística F_{ST} foi de 0,0148 ($p < 0,05$), sendo os menores valores observados entre as áreas AR1 e AR2 (0,001); AR2 e AR3 (0,002); os maiores valores entre ER1 e AR4 (0,040) e ER2 e AR4 (0,033). Não foi observada divergência genética entre as áreas AR3 e AR4; AR3 e AR5; e AR4 e AR5. A estimativa R_{ST} foi de 0,0374 ($p > 0,05$).

Tabela 11 – Divergência genética entre as áreas em restauração (AR) e os em ecossistemas de referência (ER) de *Copaifera langsdorffii*.

Método	Divergência genética
θ_P	0,0137
$F_{ST}(\text{Wright})$	0,0148*
$G_{ST}(\text{Hedrick})$	0,0131
R_{ST}	0,0374

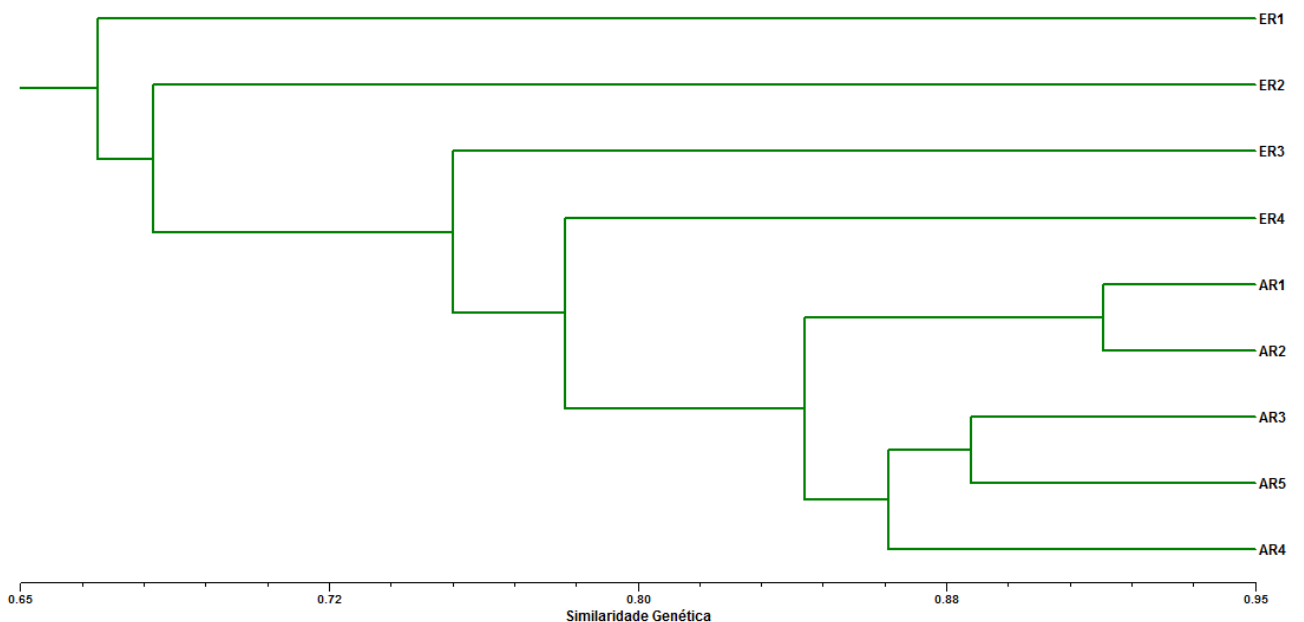
*significativo a 1%

Fonte: Da autora (2021).

O dendrograma, gerado pelo método UPGMA, mostrou um distanciamento genético do ER1 em relação as demais áreas e a formação de dois grupos (FIGURA 9). Um grupo composto pelos indivíduos do ER1 e o outro grupo pela amostragem dos indivíduos das demais áreas. Observou-se que, no segundo grupo, os indivíduos dos ER2, ER3 e ER4 estão mais distantes geneticamente, enquanto os indivíduos das AR estão geneticamente mais próximos.

Um subgrupo contendo os indivíduos das AR foi observado, evidenciando 91% de similaridade genética entre AR1 e AR2, 89% entre AR3 e AR5, 86% entre AR4 e (AR3 e AR5). Os indivíduos do ER2 são mais próximos geneticamente dos indivíduos do ER1, enquanto, aqueles do ER3 são mais próximos de ER4. Os indivíduos do ER4 foram mais próximos geneticamente dos indivíduos das AR. No geral, os indivíduos dos ER se mostraram mais distantes geneticamente tanto em relação uns aos outros, como em relação as AR. O ER1 apresentou 66% de similaridade genética de seus indivíduos em relação ao grupo composto pelas demais populações. O ER2 apresentou 68% de similaridade em relação ao subgrupo formado por ER3, ER4 e as AR. O coeficiente de correlação cofenética foi de 95%, demonstrando uma alta consistência entre a matriz e a formação dos grupos.

Figura 9 – Dendrograma UPGMA entre pares de ecossistemas de referência (ER) e áreas em restauração (AR) de *Copaifera langsdorffii* de acordo com as distâncias de NEI (1978).

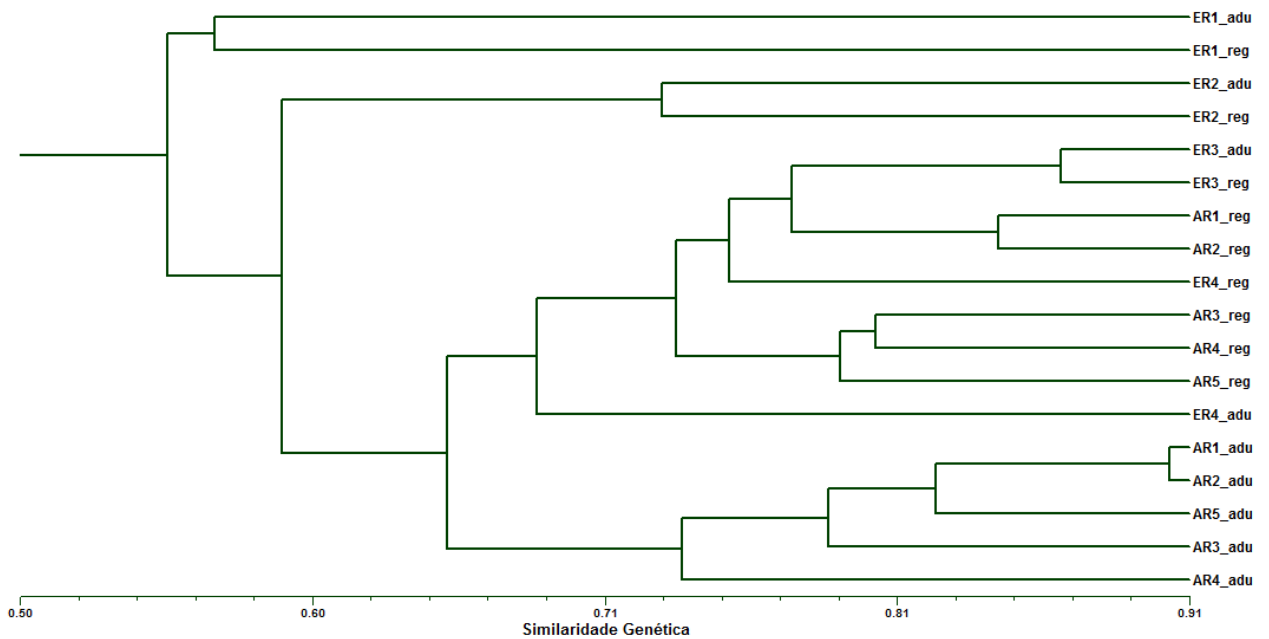


Fonte: Da autora (2021).

Considerando os estágios de vida amostrados, houve maior similaridade genética entre os indivíduos adultos e regenerantes de cada ER (FIGURA 10). Nas AR, os indivíduos adultos

se mostraram similares geneticamente e formaram um subgrupo, enquanto os regenerantes se mostraram mais distantes geneticamente dos adultos dessas áreas.

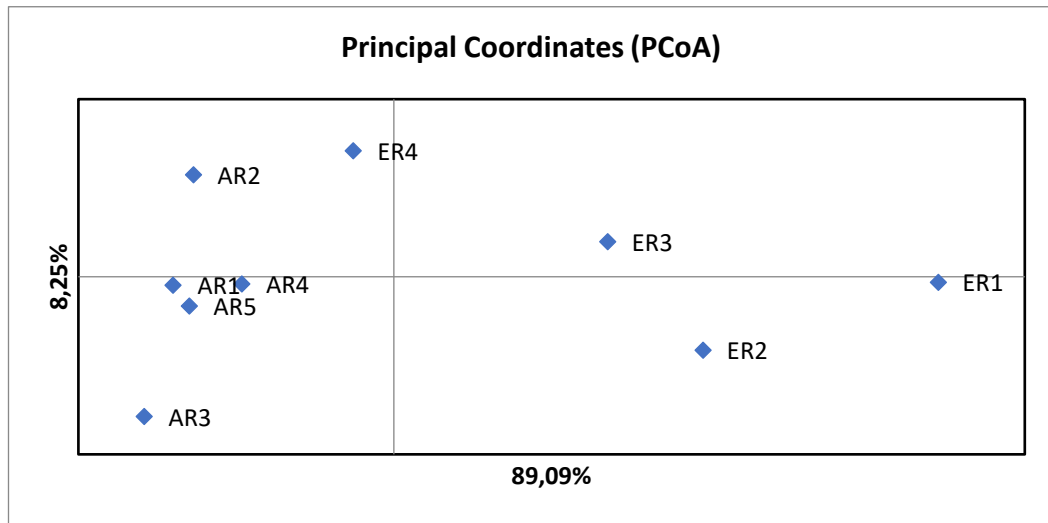
Figura 10 – Dendrograma UPGMA entre pares de indivíduos adultos e regenerantes dos ecossistemas de referência (ER) e áreas em restauração (AR) de *Copaifera langsdorffii* de acordo com as distâncias de NEI (1978).



Fonte: Da autora (2021).

O teste de Mantel indicou ausência de correlação entre as matrizes de distâncias genética e geográfica ($r=0,324$, $p>0,05$). A análise das coordenadas principais (PCoA) baseada nos valores de R_{ST} para as áreas de estudo está representada na Figura 11. Os dois primeiros eixos das coordenadas principais explicaram 97,07% da divergência genética entre as populações de *Copaifera langsdorffii*, sendo 89,09% (eixo 1) e 8,25% (eixo 2).

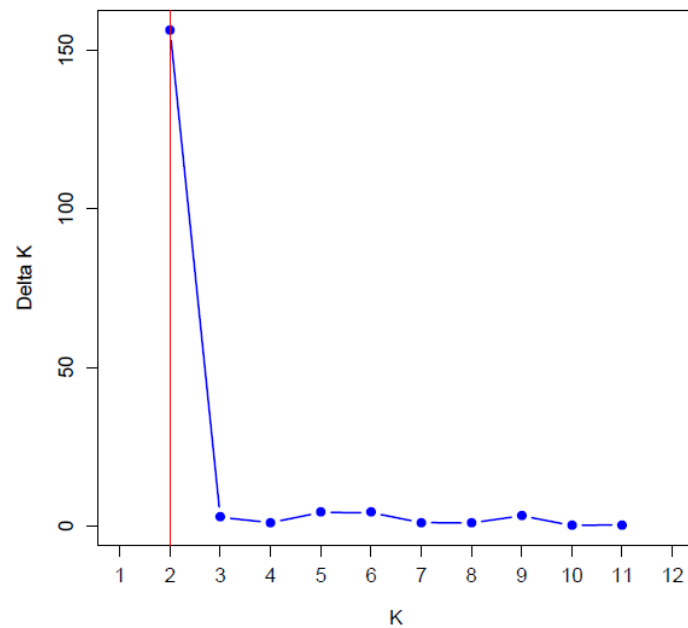
Figura 11 – Análise das coordenadas principais (PCoA) dos ecossistemas de referência (ER) e áreas em restauração (AR) de *Copaifera langsdorffii*.



Fonte: Da autora (2021).

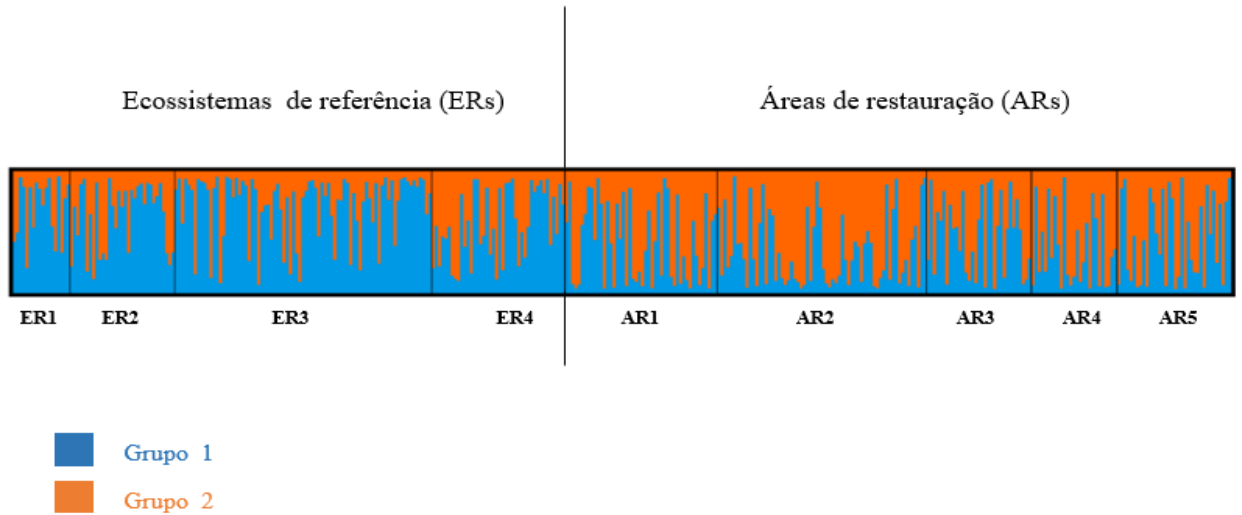
A análise da estrutura genética populacional, baseada no modelo de agrupamento bayesiano, revelou a existência de dois grupos genéticos distintos ($K=2$) (FIGURA 12). O valor ótimo de grupos genéticos foi determinado pelo método de Evanno *et al.* (2005), em que Delta K (ΔK) atinge o maior valor quando $K=2$ (FIGURA 13).

Figura 12 – Número ideal de grupos genéticos de 384 indivíduos de *Copaifera langsdorffii* baseado no valor de Delta K, calculado de acordo com o método de Evanno *et al.* (2005).



Fonte: Da autora (2021).

Figura 13 – Atribuição de 384 indivíduos de *Copaifera langsdorffii* das áreas estudadas em dois (K=2) grupos genéticos, utilizando análise de agrupamento bayesiano. Cada indivíduo é representado por uma barra sólida, enquanto áreas coloridas correspondem a grupos genéticos distintos.



Fonte: Da autora (2021).

O teste da máxima verossimilhança entre as áreas revelou a presença de 198 migrantes (TABELA 12). Os maiores números de migrantes (N_m) foram originários das áreas em restauração AR2, AR1 e AR5, sendo estes 30, 29 e 27 indivíduos, respectivamente. Os migrantes da AR2 se direcionaram para sete áreas, com exceção do ER2. Os migrantes da AR1 se direcionaram para todas as áreas. Embora o número de migrantes na AR5 seja elevado (27), estes se movimentaram somente nas AR. Os ecossistemas de referência ER3 e ER4 também apresentaram alto número de migrantes, sendo estes 25 e 21 indivíduos, respectivamente. Os migrantes do ER3 se direcionaram para todas as outras áreas, e os migrantes do ER4 para sete áreas.

Tabela 12 – Número de migrantes identificados pela análise de máxima verossimilhança a partir de oito locos microssatélites de *Copaifera langsdorffii* (continua).

Área de origem	Área de destino	N_m
ER1	ER2	2
ER1	ER3	3
ER1	ER4	1
ER1	AR1	1
ER1	AR2	2
ER1	AR4	2
ER1	AR5	1
Total		12

Tabela 12 – Número de migrantes identificados pela análise de máxima verossimilhança a partir de oito locos microssatélites de *Copaifera langsdorffii* (continua).

ER2	ER1	2
ER2	ER3	3
ER2	ER4	2
ER2	AR2	4
ER2	AR3	1
ER2	AR4	1
ER2	AR5	1
Total		14
ER3	ER1	5
ER3	ER2	2
ER3	ER4	2
ER3	AR1	4
ER3	AR2	6
ER3	AR3	2
ER3	AR4	2
ER3	AR5	2
Total		25
ER4	ER3	5
ER4	AR1	3
ER4	AR2	5
ER4	AR3	2
ER4	AR4	3
ER4	AR5	3
Total		21
AR1	ER1	1
AR1	ER2	1
AR1	ER3	6
AR1	ER4	2
AR1	AR2	10
AR1	AR3	5
AR1	AR4	3
AR1	AR5	1
Total		29
AR2	ER1	3
AR2	ER3	5
AR2	ER4	4
AR2	AR1	7
AR2	AR3	5
AR2	AR4	3
AR2	AR5	3
Total		30

Tabela 12 – Número de migrantes identificados pela análise de máxima verossimilhança a partir de oito locos microssatélites de *Copaifera langsdorffii* (conclusão).

AR3	ER3	1
AR3	ER4	1
AR3	AR1	3
AR3	AR2	6
AR3	AR4	6
AR3	AR5	4
Total		21
AR4	ER3	1
AR4	ER4	4
AR4	AR2	1
AR4	AR3	6
AR4	AR5	7
Total		19
AR5	AR1	4
AR5	AR2	7
AR5	AR3	8
AR5	AR4	8
Total		27

Fonte: Da autora (2021).

A Análise de Variância Molecular (AMOVA) indicou que a maior proporção de variabilidade genética ocorre dentro das áreas (96%) (TABELA 13). A AMOVA revelou baixa divergência genética entre as áreas amostradas de *C. langsdorffii* ($R_{ST}=0,0374$, $p<0,05$). Da diversidade genética total, 4% da variação ocorreu entre as áreas estudadas.

Tabela 13 – Análise de Variância Molecular (AMOVA) de indivíduos de *Copaifera langsdorffii* nas áreas estudadas.

Fonte de variação	GL	SQ	QM	Varição (%)
Entre áreas	8	71,952	8,994	4%
Dentro de áreas	375	1677,013	4,472	96%

GL: graus de liberdade; SQ: soma dos quadrados dos desvios; QM: quadrados médios

Fonte: Da autora (2021).

6.4 Estrutura genética espacial

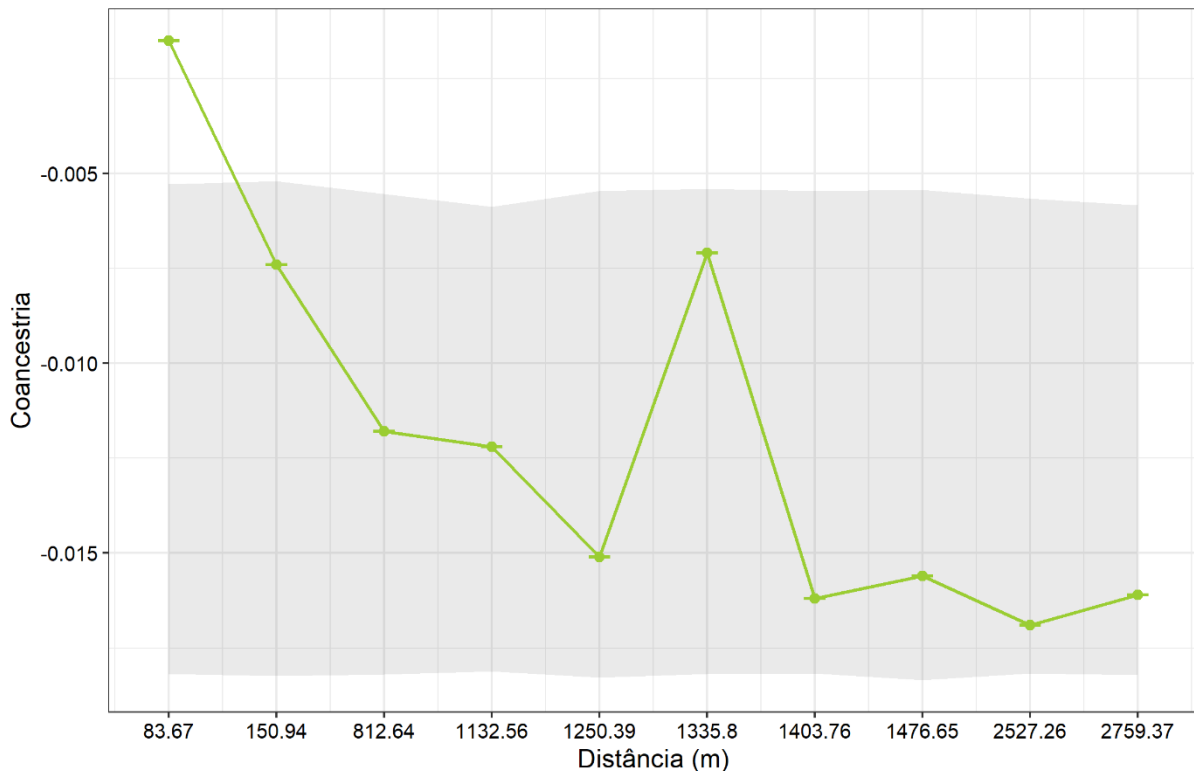
Os correlogramas gerados para os indivíduos adultos dos ER e das AR indicaram ausência de estruturação genética significativa (FIGURAS 14 e 15). Entretanto, os indivíduos

regenerantes dos ER e das AR apresentaram estrutura espacial com valores positivos e significativos do coeficiente de coancestria ($p < 0,05$) (FIGURAS 16 e 17).

Os indivíduos regenerantes das AR apresentaram coeficiente de coancestria significativo ($F_{ij}=0,0005$) ($p < 0,05$) na primeira classe de distância (0 a 80,37 metros). Os indivíduos regenerantes dos ER apresentaram coeficientes de coancestria significativos ($F_{ij}=0,0041$) e ($F_{ij}=0,0010$) ($p < 0,05$) nas duas primeiras classes (0 a 77,94 metros) e (77,94 a 145,74 metros), respectivamente.

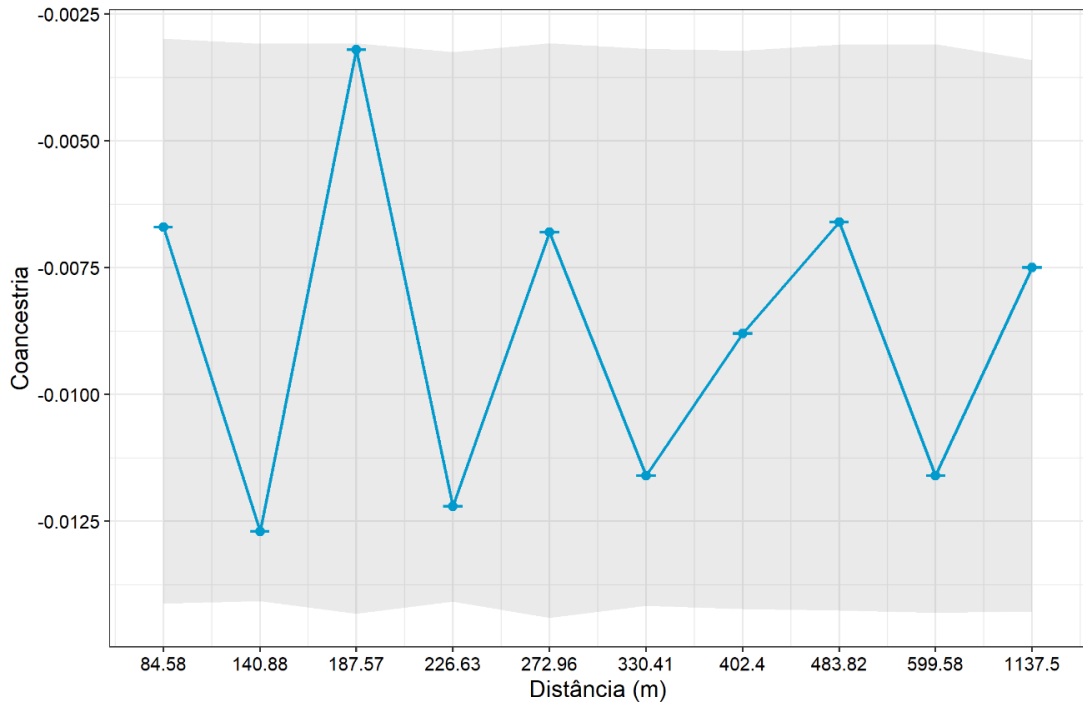
Os valores da estatística S_p da estrutura genética espacial dos indivíduos adultos foram 0,00067 e 0,00299 ($p < 0,05$), e dos indivíduos regenerantes 0,00189 ($p < 0,05$) e 0,00372 ($p < 0,05$), nas áreas em restauração e ecossistemas de referência, respectivamente. A média dos valores de S_p foi de 0,00231.

Figura 14 – Correlograma do coeficiente de coancestria (Kinship), por classes de distância, para os indivíduos adultos de *Copaifera langsdorffii* dos ecossistemas de referência (ER) amostrados. Intervalo de confiança a 95% de probabilidade.



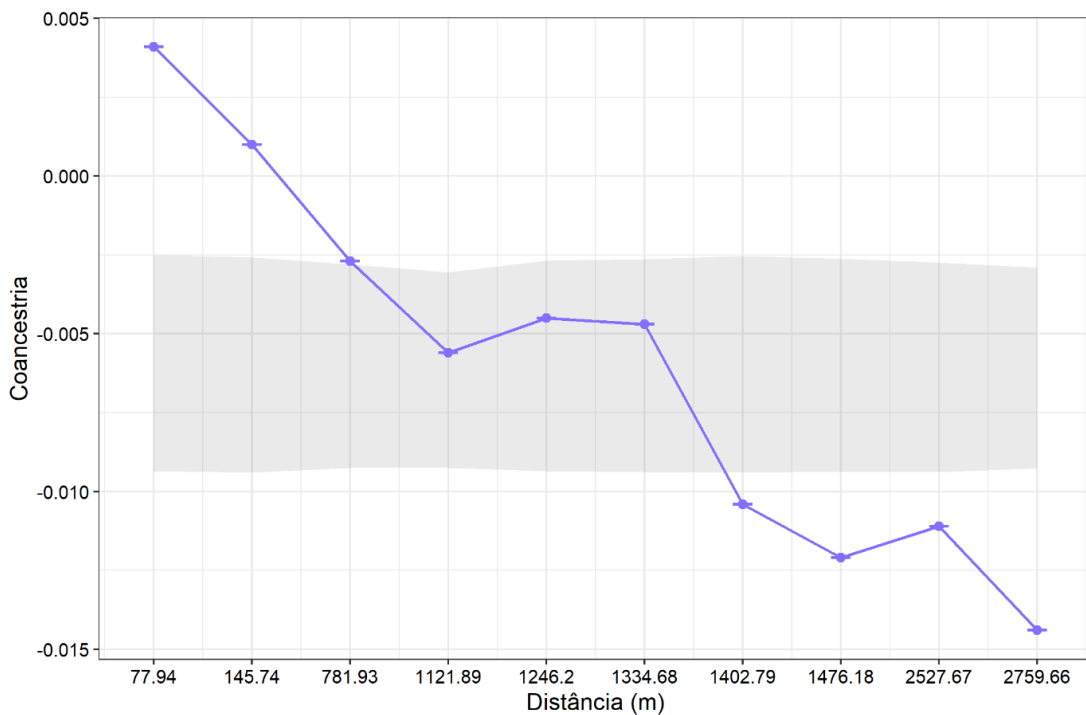
Fonte: Da autora (2021).

Figura 15 – Correlograma do coeficiente de coancestria (Kinship), por classes de distância, para os indivíduos adultos das áreas em restauração (AR) amostradas. Intervalo de confiança a 95% de probabilidade.



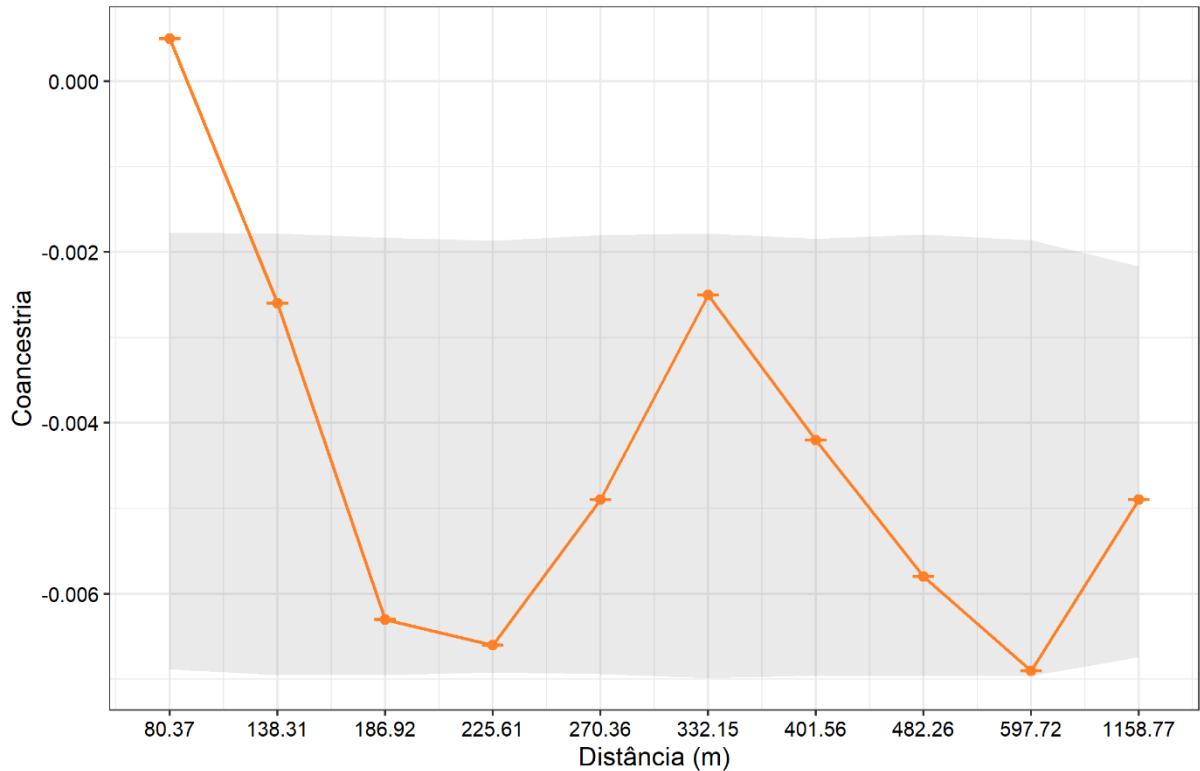
Fonte: Da autora (2021).

Figura 16 – Correlograma do coeficiente de coancestria (Kinship), por classes de distância, para os indivíduos regenerantes dos ecossistemas de referência (ER) amostrados. Intervalo de confiança a 95% de probabilidade.



Fonte: Da autora (2021).

Figura 17 – Correlograma do coeficiente de coancestria (Kinship), por classes de distância, para os indivíduos regenerantes das áreas em restauração (AR) amostradas. Intervalo de confiança a 95% de probabilidade.



Fonte: Da autora (2021).

6.5 Aderência ao Equilíbrio de Mutação e Deriva

Os resultados do teste de Wilcoxon, para os modelos TPM e SMM, indicaram que as áreas estudadas não sofreram o efeito de gargalo genético, ou seja, não passaram por uma redu o recente no tamanho populacional ($p > 0,05$) (TABELA 14). Entretanto, o teste de Wilcoxon, para o modelo IAM, indicou que as áreas sofreram o efeito de gargalo genético.

Tabela 14 – Teste de Wilcoxon para análise de gargalo genético em nove áreas de *Copaifera langsdorffii*.

	ER1	ER2	ER3	ER4	AR1	AR2	AR3	AR4	AR5
IAM	0,00391*	0,00195*	0,00195*	0,00195*	0,00195*	0,00195*	0,00195*	0,03711*	0,00977*
TPM	0,57813	0,76953	0,87500	0,84375	0,90234	0,98633	0,80859	0,99023	0,67969
SMM	0,87500	0,99023	0,97266	0,96289	0,98633	0,99414	0,87500	0,99414	0,67969

Fonte: Da autora (2021).

7 DISCUSSÃO

7.1 Qualidade e diversidade genética dos locos microsatélites

Os locos microsatélites usados para genotipagem de *Copaifera langsdorffii* apresentaram baixa correlação entre si, indicando a não sobreposição de informações genéticas. Portanto, os oito locos utilizados puderam ser utilizados em todas as análises genéticas. Os microsatélites são marcadores de DNA codominantes, amplamente utilizados em biologia da conservação, ecologia e filogenia por serem altamente polimórficos, terem alta reprodutividade e simplicidade do uso da PCR (GONELA *et al.*, 2013). No entanto, frequentemente são detectados alelos nulos, *stutter* (repetições mais curtas ou mais longas que o verdadeiro alelo) e *dropout* (alelos que aparecem bastante afastados da série principal). A presença de alelos nulos em marcadores microsatélites podem surgir por falhas na amplificação ou quando uma sequência de mutação altera uma ou ambas as regiões flanqueadoras (CALLEN *et al.*, 1993). A ocorrência de alelos nulos, *stutter* e *dropout* podem levar a desvios nas proporções do equilíbrio de Hardy-Weinberg, devido ao excesso de homozigotos.

As frequências de alelos nulos em todos os locos na amostragem de indivíduos de *C. langsdorffii* foram significativas, porém inferiores a 25%. Kelly *et al.* (2011) sugerem que a ocorrência de alelos nulos em baixa frequência (< 25%) não interferem na avaliação da estrutura genética de populações. Na revisão realizada por Dakin e Avise (2004), os autores citam que em 90% dos artigos pesquisados houve a ocorrência de alelos nulos em locos microsatélites e, em 233 artigos publicados, os alelos nulos não influenciaram os estudos de parentesco. Portanto, mesmo com os alelos nulos, os oito locos microsatélites foram confiáveis para análises da diversidade e estrutura genética.

Os microsatélites utilizados no presente estudo foram polimórficos e revelaram elevados níveis de heterozigidade. Estes resultados são próximos a valores encontrados em outros estudos realizados com a espécie (TABELA 15) (CIAMPI *et al.*, 2000; MARTINS *et al.*, 2008; SEBBEN *et al.*, 2011; GONELA *et al.*, 2013; ANTIQUEIRA *et al.*, 2014). Os índices de fixação para todos os locos foram positivos, indicando desvios de panmixia. Em um estudo com populações de espécies arbóreas, Aldrich *et al.* (1998) constataram que o déficit de genótipos heterozigotos era maior nos locos microsatélites com maior polimorfismo. Esse padrão foi encontrado no nosso estudo, visto que locos mais polimórficos, como o CL01, CL27 e CL32, apresentaram menor número de heterozigotos observados e a presença de alelos nulos.

7.2 Diversidade genética das áreas em indivíduos adultos e regenerantes

Os índices de diversidade genética encontrados neste estudo foram altos nos ER e nas AR, sugerindo que os indivíduos utilizados no plantio de restauração foram eficientes, pois inibiram os efeitos de deriva genética. Observou-se que os indivíduos regenerantes amostrados nos ER e nas AR apresentaram número médio de alelos por loco, número de alelos efetivos e riqueza alélica rarefeita superiores aos adultos. Este resultado rejeitou nossa hipótese inicial, em que se esperava encontrar menores níveis de diversidade genética nos indivíduos regenerantes nas áreas de plantio. Uma explicação para este resultado é de que os indivíduos regenerantes representam a recombinação entre vários genótipos de uma área muito maior do que a constituída pelos atuais adultos.

Os indivíduos adultos das áreas ER2, ER3, e AR2 e os indivíduos regenerantes das áreas AR1 e AR2 foram os que mais apresentaram alelos exclusivos, indicando que fontes de materiais genéticos vindos de locais não amostrados provavelmente contribuíram para a regeneração nas áreas estudadas. A presença de alelos exclusivos nos indivíduos adultos normalmente se deve à deriva genética entre os eventos de reprodução e regeneração, e indica que nem todos os indivíduos adultos contribuem para a reprodução. Em indivíduos regenerantes, a presença desses alelos sugere que o fluxo gênico ou que os parentais não se encontram mais na população (CARVALHO *et al.*, 2010). Indivíduos que possuem alelos exclusivos são importantes, pois auxiliam na manutenção dos níveis de heterozigidade, mediante o fluxo gênico.

A diversidade genética (H_e) foi elevada e com valores próximos tanto nos indivíduos adultos quanto regenerantes nas áreas amostradas. Os índices de diversidade genética em espécies tropicais arbóreas são influenciados por características como tamanho, longevidade, fecundidade, sistemas de reprodução e distribuição geográfica (HAMRICK; GODT, 1990). Embora as atividades antrópicas possam modificar os padrões naturais de diversidade genética, o fluxo gênico mediado pelo pólen e pela dispersão de sementes reduz os efeitos da perda de biodiversidade e evita a deriva genética (COUVET, 2002).

Espécies arbóreas que possuem ciclo de vida longo, fluxo gênico efetivo (pólen e sementes) e sistema misto de reprodução, tendem a apresentar níveis elevados de diversidade genética. *C. Langsdorffii* apresenta todas essas características e os altos níveis de diversidade genética provavelmente são devidos a vários fatores que se combinam, como polinização e dispersão zoocórica, altas taxas de cruzamento e a complexidade no sistema de reprodução, o

que permite a persistência dos indivíduos, mesmo se as populações diminuam a sua densidade de forma abrupta (HAMRICK *et al.*, 1992; CASCANTE *et al.*, 2002).

Os índices de fixação (f) observados neste trabalho, apesar de positivos, não diferiram de zero (FIGURA 8). Isso indica que as áreas amostradas ainda possuem grande potencial evolutivo, pois apresentam pequenas chances de sofrerem com os efeitos da endogamia e deriva genética, que afetam negativamente a viabilidade de populações pequenas (FRANKHAM, 2005). Portanto, em curto e em médio prazo, há uma saúde genética dessa espécie nas áreas estudadas.

Na tabela 15 são apresentados os índices de diversidade genética de *C. langsdorffii*. Notou-se que os valores encontrados são próximos aos trabalhos realizados para a espécie com os mesmos marcadores microsatélites.

Tabela 15 – Comparação de parâmetros de diversidade genética obtidos de marcadores microsatélites em outros trabalhos com *Copaifera langsdorffii*.

Espécie	n	Nº de locos SSR	Nº de Alelos	\hat{A}	Ho	He	f	Referência	
<i>C. langsdorffii</i>	96	8	196	24,5	0,89	0,88	-	Ciampi <i>et al.</i> (2000)	
	28			10,3	-	-	0,278		
<i>C. langsdorffii</i>	25	6	108	10	-	-	0,387	Martins <i>et al.</i> (2008)	
	28			10,8	-	-	0,361		
<i>C. langsdorffii</i>	112	8	186	9,8	0,757	0,893	0,154	Sebben <i>et al.</i> (2011)	
	30			15,8	0,881	0,743	-		
<i>C. langsdorffii</i>	22	6	140	15	0,882	0,908	-	Gonela <i>et al.</i> (2013)	
	28			17,3	0,879	0,706	-		
	100			113	14,1	0,659	0,861		0,236
	100			126	15,7	0,699	0,881		0,198
<i>C. langsdorffii</i>	100	8	106	15,5	0,61	0,852	0,283	Antiqueira <i>et al.</i> (2014)	
	53			125	13	0,732	0,901		0,189

Fonte: Da autora (2021).

Carvalho *et al.* (2010) avaliaram a diversidade genética da espécie com os mesmos microsatélites, sendo que os resultados foram semelhantes aos do presente estudo. Os resultados dos trabalhos citados, e o nosso estudo, indicam que *C. langsdorffii* não apresenta diminuição da diversidade genética em plantios de restauração.

Nossa hipótese inicial era que as estratégias de plantio adotadas nos programas de restauração poderiam resultar na homogeneização da composição genética das áreas. Ficou evidente que as áreas em restauração (AR) estabeleceram grupos genéticos com níveis elevados de diversidade genética, semelhantes aos níveis encontrados nos ecossistemas de referência (ER). No entanto, houve algum grau de homogeneização nas AR, mesmo que pequeno, de acordo com a análise PCoA. Os índices de fixação foram próximos nas AR e ER, rejeitando a hipótese inicial, que os indivíduos das áreas em restauração apresentariam maiores níveis de endogamia, uma vez que poderiam ter sido utilizados indivíduos aparentados nos plantios de restauração. Portanto, pode se inferir que a espécie apresenta alta diversidade ou, mesmo que a coleta de sementes tenha sido realizada em locais próximos geograficamente, ainda assim conseguiu manter a alta diversidade genética nos plantios.

A alta diversidade genética em plantios de restauração tem sido relatada em alguns trabalhos. Zucchi *et al.* (2018), estudando áreas em restauração e fragmentos naturais de Floresta Estacional Semidecidual, observaram que os níveis de diversidade genética e de endogamia foram próximos nas duas áreas. A composição genética heterogênea dessas áreas restauradas pode ter sido consequência da coleta de sementes em diferentes locais, visto que os plantios mostraram incluir adequadamente uma alta diversidade de grupos genéticos, capazes de representar uma parte diversa do mosaico encontrado em paisagens mais amplas (ZUCCHI *et al.*, 2018).

Os resultados obtidos em nosso trabalho indicam que *C. langsdorffii* possui uma alta diversidade genética independentemente do estágio de vida, tanto nos ecossistemas de referência quanto nas áreas em restauração. No geral, os resultados indicam que é possível restabelecer a diversidade genética por meio dos plantios de restauração, o que aumenta as chances de persistência das populações reintroduzidas nas áreas. Além disso, o fluxo gênico entre as áreas parece estar se mantendo, ou mesmo aumentando, a diversidade genética nos indivíduos regenerantes.

A restauração ecológica de áreas antropizadas é capaz de restabelecer níveis semelhantes ou mais elevados de diversidade genética em comparação com fragmentos florestais remanescentes e conservados. A diversidade genética é um aspecto relevante a ser considerado nos projetos de restauração ecológica, pois altos níveis de variabilidade genética permitem novas combinações genotípicas, resultando em um aumento no potencial de evolução das espécies devido ao maior capacidade de adaptação ao meio ambiente (GONÇALVES *et al.*, 2016).

7.3 Estrutura genética

Em espécies que apresentam fecundação cruzada e que pertencem a estágios de sucessão avançados, como a *Copaifera langsdorffii*, espera-se uma maior divergência genética dentro das áreas, em função do intenso fluxo gênico. Como esperado, os valores das estimativas obtidas pelos índices G_{ST} de Hedrick (2005), θ_P , F_{ST} e R_{ST} indicaram baixa divergência genética entre as áreas estudadas.

A baixa divergência genética observada entre as áreas analisadas indica ausência de isolamento e ocorrência de intenso fluxo gênico entre elas. Isso também se deve ao fato das pequenas distâncias geográficas existentes entre as áreas, sendo a menor distância encontrada entre AR2 e AR3 (0,156km) e a maior distância de entre ER2 e ER5 (2,6km). Valores baixos de divergência genética entre populações de para *C. langsdorffii* foram encontrados em trabalhos, como o de Ciampi *et al.* (2000), Carvalho e Oliveira (2004); Martins *et al.* (2008) e Gonela *et al.* (2013). Portanto, este padrão de distribuição genética é esperado para espécies de árvores com altas taxas de cruzamento e mecanismos eficientes de fluxo gênico, como as espécies arbóreas tropicais, que são polinizadas por animais e possuem dispersão zoocórica de sementes.

O dendrograma baseado nas distâncias genéticas entre as áreas de estudo mostrou maior similaridade genética dos indivíduos de *C. langsdorffii* amostrados nas áreas em restauração (AR). Provavelmente as sementes coletadas para produção das mudas usadas nos plantios de restauração podem ter sido oriundas de matrizes com a mesma constituição genética ou em função da proximidade geográfica existente entre essas áreas. Quanto aos ecossistemas de referência, estes tenderam a ficar mais afastados uns dos outros, evidenciando que os indivíduos de *C. langsdorffii* presentes nestas áreas são menos similares geneticamente.

O desdobramento do dendrograma (UPGMA) para os estágios de vida mostrou um agrupamento dos indivíduos adultos das áreas em restauração (AR), que corrobora a hipótese de que o plantio de restauração possa ter sido implantado com mudas advindas das mesmas árvores matrizes. Os indivíduos regenerantes das AR não se agruparam e nem se mostraram tão próximos geneticamente quanto os adultos dessas áreas, evidenciando a existência de fluxo gênico para essas áreas. Os indivíduos adultos dos ER não se mostraram tão similares geneticamente, evidenciando a diversidade genética presente nos ecossistemas nativos. Os indivíduos regenerantes dos ecossistemas de referência (ER) se mostraram mais próximos geneticamente dos adultos de suas respectivas áreas, indicando que os regenerantes dos ER

estão descendendo, em sua maioria, dos indivíduos adultos dessas mesmas áreas. A análise das coordenadas principais (PCoA) foram consistentes com os resultados obtidos pelo agrupamento dos indivíduos.

Não foi detectada correlação entre as matrizes de distâncias genética e geográfica, sugerindo distribuição aleatória dos genótipos de *C. langsdorffii*, ou seja, não houve isolamento por distância entre as áreas. Isso é confirmado pela baixa divergência genética e o considerável fluxo gênico entre as áreas amostradas. Como exemplo, ER2 e ER4 são as áreas mais distantes geograficamente (2,6 km) mas não são distantes geneticamente.

Alto fluxo gênico foi observado em todas as áreas de estudo, onde existem migrantes se movimentando para, pelo menos, outras seis áreas, com exceção de migrantes oriundos das áreas AR4 e AR5. A migração de indivíduos dos ecossistemas de referência para as áreas em restauração, mostram a importância de remanescentes florestais próximos a áreas que serão restauradas, funcionando como fontes de propágulos, contribuindo para recuperar e/ou aumentar a diversidade genética e, dessa forma, a persistência das comunidades ao longo das gerações. A migração de indivíduos das áreas em restauração para os ecossistemas de referência possibilita a troca de alelos e a manutenção da diversidade genética nos dois tipos de áreas.

A análise de agrupamento bayesiano indicou alta relação de similaridade entre as áreas, embora estas pertençam a grupos distintos. Os genótipos de *C. langsdorffii* foram classificados em dois grupos genéticos ($K = 2$), que representaram a estrutura genética das áreas estudadas. A análise mostrou que as áreas compartilham os mesmos conjuntos gênicos, entretanto, com uma distinção na distribuição destes, em que nos ecossistemas de referência (ER), houve predominância do conjunto gênico 1 e nas áreas em restauração (AR) do conjunto gênico 2. Esses resultados confirmam que os ecossistemas de referência e as áreas em restauração apresentaram intenso fluxo gênico de sementes e/ou pólen. No entanto, análises mais detalhadas de parentesco entre os indivíduos devem ser performadas para maior entendimento da persistência desses indivíduos a longo prazo.

A Análise de Variância Molecular (AMOVA) indicou que a maior proporção da variabilidade genética total de *Copaifera langsdorffii* ocorre dentro das áreas amostradas, resultando em uma baixa divergência genética entre estas. Os baixos índices de divergência encontrados também confirmam a existência de alto fluxo gênico entre as áreas.

A quantificação da diversidade genética dentro e entre as populações de espécies arbóreas é essencial para elaborar estratégias de restauração de ecossistemas, com o objetivo de manutenção da biodiversidade. Com base nos resultados obtidos para *C. langsdorffii*,

estratégias como a coleta de sementes de um maior número de matrizes dentro de cada área podem ser mais adequadas do que a coleta apenas em um grande número de áreas, conforme recomendado por Yang *et al.* (2016).

7.4 Estrutura genética espacial

Os indivíduos adultos de *C. langsdorffii* amostrados nos ecossistemas de referência (ER) e nas áreas em restauração (AR) não apresentaram estruturação genética, indicando a distribuição aleatória dos genótipos dentro das áreas. Entretanto, nos indivíduos regenerantes detectou-se estrutura espacial significativa.

Os regenerantes das AR apresentaram coeficiente de coancestria positivo e significativo na primeira classe de distância. Na coleta de sementes destas áreas deve ser observada uma distância de cerca de 80 metros entre as matrizes, para evitar o parentesco das mudas e maximizar a diversidade genética. Os coeficientes de coancestria nos indivíduos regenerantes dos ER foram positivos e significativos, indicando a presença de estruturação familiar, sendo que os indivíduos mais próximos geograficamente possuem algum grau de parentesco em uma distância inferior a 145,74 m.

Nas áreas estudadas, observou-se parentesco de 80 a 146 m, nas AR e ER, respectivamente. A coleta de sementes em *C. langsdorffii*, visando a obtenção de maior variabilidade genética, deve ser realizada em indivíduos que estejam distanciados acima destes valores, pois a coancestria é nula (BOUVET *et al.*, 2004; CLOUTIER *et al.*, 2007; JIN; HE; LU, 2003; KELLY; HARDY; BOUVET, 2004). Essas distâncias entre os indivíduos na coleta das sementes são essenciais para estratégias efetivas de conservação e melhoramento visando contemplar a maior diversidade genética (DUARTE; NOGUEIRA; VIEIRA, 2018).

O sistema de reprodução de *C. langsdorffii* foi estudado por Oliveira *et al.* (2002) e mostrou que a espécie se reproduz predominantemente por fecundação cruzada e que os cruzamentos entre indivíduos aparentados não são comuns. O transporte de pólen é realizado por abelhas e a dispersão de sementes é zoocórica. Apenas aves de grande tamanho dispersam as sementes a longas distâncias e as de pequeno porte regurgitam as sementes próximas à planta-mãe (MOTTA-JUNIOR; LOMBARDI, 1990), restringindo o fluxo gênico entre as populações e entre árvores distantes. Além disso, os frutos que não são consumidos caem no solo, ficando sob a copa da planta-mãe (MARTINS *et al.*, 2008). Neste caso, as formigas realizam a dispersão secundária das sementes de *C. langsdorffii*. por centenas de metros, o que

provavelmente leva a taxas de endogamia próximas entre os indivíduos regenerantes e adultos (MARTINS *et al.*, 2008).

A média dos valores de S_p para a espécie estudada foi semelhante à de espécies cuja dispersão sementes é feita por animais (VEKEMANS; HARDY, 2004). A estruturação familiar detectada nos indivíduos regenerantes *C. langsdorffii* das áreas estudadas pode ser devida ao fato de um grande número destes terem se originado de matrizes próximas. A dispersão zoocórica parece não ter sido efetiva nestas áreas e o que predominou foi que estes regenerantes tiveram sua origem de sementes que caíram nas proximidades das matrizes.

Nossos resultados elucidam a importância da análise da estrutura genética espacial em áreas para a coleta de sementes de espécies arbóreas, pois os valores podem se diferenciar entre as áreas. Em trabalhos com *C. langsdorffii*, em diferentes locais, já foram descritas estrutura genética em torno de 80 a 90m (ANTIQUERA *et al.*, 2014) e de 50 m em indivíduos adultos e 20m em regenerantes (SEBBENN *et al.*, 2011). Portanto, a distância mínima para coleta em matrizes deve ser conhecida para o local onde será realizada e não deve ser generalizada.

7.5 Aderência ao Equilíbrio de Mutação e Deriva

É importante detectar os efeitos de gargalo genético na biologia da conservação, pois estes podem aumentar o risco de extinção (MORAES; DERBYSHIRE, 2003). Apesar de não haver um modelo definitivo que explique o processo de mutação de microssatélites, TPM é um modelo intermediário entre IAM e SMM, sendo o mais adequado para microssatélites (DI RIENZO *et al.*, 1994; PIRY *et al.*, 1999).

Dessa forma, é possível concluir que as nove áreas amostradas não tiveram uma redução recente no tamanho populacional, pois não se desviaram do equilíbrio de mutação e deriva. Isso pôde ser confirmado pela alta diversidade genética nos indivíduos adultos e regenerantes nas áreas amostradas. Nestas áreas não houve redução da riqueza alélica e da heterozigosidade esperada. Normalmente, a diminuição da riqueza alélica ocorre mais rapidamente em poucas gerações, caso os locos estiverem em equilíbrio de mutação-deriva (CORNUET; LUIKART, 1996). Entretanto, sugere-se que sejam realizados estudos visando estimar a persistência desses indivíduos nas próximas gerações.

7.6 Implicações para pesquisa e conservação

A fim de aumentar a diversidade genética em remanescentes florestais e restaurar áreas degradadas é necessário obter sementes com alta qualidade. Isso inclui a produção de mudas com alta diversidade genética, o que é essencial para a conservação em longo prazo das populações (FRANKHAM, 2005; BASEY *et al.*, 2015). Em espécies arbóreas alógamas, a diversidade genética é distribuída entre e dentro das populações. Dessa forma, é importante entender como essa diversidade se organiza no espaço. Além disso, a diversidade genética é influenciada pelas taxas de cruzamento e pelo fluxo gênico de pólen e sementes (VEKEMANS; HARDY, 2004; HARDY; VEKEMANS, 2006; EPPERSON, 1992). Portanto, informações sobre os mecanismos de dispersão de pólen e sementes, taxas de cruzamento e estrutura genética espacial das espécies são necessárias para elaborar os planos de amostragem de áreas para a coleta de sementes para fins de conservação e restauração ecológica (SUJII *et al.*, 2019).

Carvalho *et al.* (2010) pesquisaram o tamanho efetivo populacional e o número de árvores matrizes para a coleta de sementes de espécies arbóreas em áreas ciliares, destacando alguns trabalhos para determinação desses parâmetros, visando a conservação dos recursos genéticos, a prevenção da depressão endogâmica e a manutenção do potencial evolutivo da espécie. Vencovsky (1987) sugeriu que os lotes de sementes utilizados em viveiros sejam oriundos de, no mínimo, 12 a 13 indivíduos, para atender as variações ambientais do novo local e evitar que os novos cruzamentos na área implantada sejam endogâmicos. Nunney e Campbell (1993) sugerem um tamanho efetivo de 1000 a 1500 para conservação a longo prazo. Sebbenn *et al.* (2003) sugerem a coleta de sementes de, no mínimo, 45 matrizes - distantes pelo menos 100 metros ou a uma distância equivalente a duas vezes a altura da árvore - para evitar a coleta de sementes de indivíduos aparentados. Além disso, segundo estes autores, deve-se considerar os valores de tamanho efetivo de 50 e 100 (10 gerações) para conservação a curto prazo e de 1000 (100 gerações) para longo prazo (SEBBENN *et al.*, 2003).

A *C. langsdorffii*, como a maioria das espécies que possuem sementes maiores, apresentam uma capacidade de dispersão restrita. Os indivíduos regenerantes das áreas amostradas no presente estudo apresentaram distribuição agregada e significativa de estrutura genética espacial. Portanto, deve-se evitar amostrar sementes de árvores muito próximas, que provavelmente possuem parentesco. Entretanto, apesar da estruturação desses indivíduos, os resultados de diversidade genética de *C. langsdorffii* mostraram que não ocorreu declínio na diversidade genética no plantio de restauração das áreas estudadas e nas áreas nativas.

Para a elaboração de estratégias de conservação genética utilizando a *C. langsdorffii*, devem ser conhecidos os níveis de diversidade dentro e entre populações, a estrutura genética espacial e fatores ambientais. Com base no nosso estudo, podemos priorizar algumas estratégias para a persistência de *C. langsdorffii* nessas áreas, como a seleção de matrizes para coleta de sementes e produção de mudas para reflorestamento, para manter, ou até mesmo elevar a diversidade genética nestas áreas, para que estas sejam capazes de persistir a longo prazo.

Recentemente estas áreas nas proximidades do reservatório da Usina Hidrelétrica de Camargos foram vendidas e possivelmente será feito um loteamento das mesmas. Ressaltamos a importância da divulgação destas informações para os proprietários da área com a intenção de mostrar a relevância ecológica da espécie e da sua conservação. Além da importância do projeto de restauração como referência a ser seguido para as áreas de restauração, pois foi demonstrado que a restauração foi capaz de segurar a diversidade genética, que foi adequada e, no momento, não difere das áreas de floresta nativa.

Apesar da infinidade de benefícios que a restauração pode fornecer, a probabilidade de persistência população após o plantio restauração florestal é incerta. O uso de modelos computacionais simulando essas probabilidades é uma solução potencial para este problema. Recentemente, Sujii *et al.* (2019) desenvolveram um modelo de simulação espacial baseado em indivíduo para avaliar os efeitos a curto (dezenas de anos) e a médio prazo (centenas de anos) dos diferentes níveis de diversidade genética inicial e dos diferentes tamanhos da área na eu viabilidade da população restaurada. Os modelos computacionais que incluam fatores ecológicos e genéticos se tornam ferramentas extremamente relevantes para auxiliar os gestores ambientais a realizarem uma restauração ecológica de sucesso.

8 CONCLUSÕES

- a) Os indivíduos adultos e regenerantes de *C. langsdorffii* das nove áreas amostradas de apresentam altos níveis de diversidade genética (H_e), sendo que a maior parte dessa diversidade se encontra dentro das populações;
- b) O índice de fixação (f) entre indivíduos adultos e regenerantes das áreas de estudo não diferem de zero;
- c) Não há correlação entre as distâncias genética e geográfica;
- d) A divergência genética entre as áreas é baixa;
- e) As áreas amostradas estão divididas em dois grupos genéticos;
- f) Há intenso fluxo gênico entre as áreas;
- g) Os indivíduos adultos apresentam distribuição aleatória dos genótipos, enquanto os indivíduos regenerantes apresentam estruturação espacial, indicando parentesco.

REFERÊNCIAS

- AAVIK, T.; HELM, A. Restoration of plant species and genetic diversity depends on landscape-scale dispersal. **Restoration ecology**, v. 26, p. S92-S102, 2017.
- ALVARES, C. A. et al. Köppen's climate classification map for Brazil. **Meteorologische Zeitschrift**, v. 22, n. 6, p. 711-728, 2013.
- ABOUKHALID, K. *et al.* Analysis of genetic diversity and population structure of the endangered *Origanum compactum* from Morocco, using SSR markers: implication for conservation. **Biological Conservation**, v. 212, p. 172-182, 2017.
- ABREU, A. G. *et al.* Genetic diversity and age class structure of seedlings and saplings after a mast flowering of bamboo in the Brazilian Atlantic Forest. **International Journal of Plant Sciences**, v. 175, n. 3, p. 319-327, 2014.
- AGAPOW, P.; BURT, A. Indices of multilocus linkage disequilibrium. **Molecular Ecology Notes**, v. 1, n. 1-2, p. 101-102, 2001.
- AGUILAR, R. *et al.* Genetic consequences of habitat fragmentation in plant populations: susceptible signals in plant traits and methodological approaches. **Molecular ecology**, v. 17, n. 24, p. 5177-5188, 2008.
- ALDRICH, P.R. *et al.* Microsatellite analysis of demographic genetic structure in fragmented populations of the tropical tree *Symphonia globulifera*. **Molecular ecology**, v. 7, n. 8, p. 933-944, 1998.
- ANTIQUERA, L. M. O. R. *et al.* Genetic structure and diversity of *Copaifera langsdorffii* Desf. in Cerrado fragments of the São Paulo state, Brazil. **Revista Árvore**, Viçosa, v. 38, n. 4, p. 667-675, 2014.
- ATWOLI, L. *et al.* Call for emergency action to limit global temperature increases, restore biodiversity, and protect health: wealthy nations must do much more, much faster. **Nutrition Reviews**, v. 385, p. 1134-1137, 2021.
- BANKS-LEITE, C. *et al.* Using ecological thresholds to evaluate the costs and benefits of set-asides in a biodiversity hotspot. **Science**, v. 345, n. 6200, p. 1041-1045, 2014.
- BARÃO, W. N. *et al.* Técnicas de geoprocessamento aplicadas ao estudo do conflito de uso do solo em microbacias do município de Senador Amaral–MG. **Revista Brasileira de Geografia Física**, v. 14, n. 01, p. 439-454, 2021.
- BASEY, A. C. *et al.* Producing native plant materials for restoration: 10 rules to collect and maintain genetic diversity. **Native Plants Journal**, v. 16, n. 1, p. 37-53, 2015.
- BENAYAS, J. M. R. *et al.* Enhancement of biodiversity and ecosystem services by ecological restoration: a meta-analysis. **Science**, v. 325, n. 5944, p. 1121-1124, 2009.

- BERTACCHI, M. F. *et al.* Establishment of tree seedlings in the understory of restoration plantations: natural regeneration and enrichment plantings. **Restoration Ecology**, v. 24, n. 1, p. 100-108, 2016.
- BLAKESLEY, D. *et al.* Genetic diversity of *Castanopsis acuminatissima* (Bl.) A. DC. in northern Thailand and the selection of seed trees for forest restoration. **New Forests**, Dordrecht, v. 27, n. 1, p. 89-100, 2004.
- BOOY, G. *et al.* Genetic diversity and the survival of populations. **Plant biology**, v. 2, n. 4, p. 379-395, 2000.
- BOUVET, J. *et al.* An analysis of the pattern of genetic variation in *Vitellaria paradoxa* using RAPD markers. **Agroforestry systems**, v. 60, n. 1, p. 61-69, 2004.
- BRANCALION, P. H. S. *et al.* Incorporação do conceito da diversidade genética na restauração ecológica. In: RODRIGUES, R. R.; BRANCALION, P. H. S.; ISERNHAGEN, I. (org.). **Pacto pela restauração da Mata Atlântica: referencial dos conceitos e ações de restauração florestal**. São Paulo: LERF/ESALQ, Instituto BioAtlântica, 2009. p. 37-54.
- BRANCALION, P. H. S. *et al.* Maximizing biodiversity conservation and carbon stocking in restored tropical forests. **Conservation Letters**, v. 11, n. 4, p. e12454, 2018.
- CALLEN, D. F. *et al.* Incidence and origin of “null” alleles in the (AC) n microsatellite markers. **American journal of human genetics**, v. 52, n. 5, p. 922, 1993.
- CARVALHO, A. C. M. *et al.* Diversidade genética, endogamia e fluxo gênico em pequena população fragmentada de *Copaifera langsdorffii*. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 33, n. 4, p. 599-606, 2010.
- CARVALHO, D.; OLIVEIRA, A.F. Genetic structure of *Copaifera langsdorffii* Desf. natural populations. **Cerne**, v. 10, n. 2, p. 137-153, 2004.
- CARVALHO, P. E. R. **Espécies florestais brasileiras: recomendações silviculturais, potencialidades e uso da madeira**. Colombo: EMBRAPA-CNPQ, 2003a.
- CARVALHO, P. E. R. **Espécies arbóreas brasileiras**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2003b.
- CASACCI, L. P.; BARBERO, F.; BALLETTTO. The “evolutionarily significant unit” concept and its applicability in biological conservation. **Italian Journal of Zoology**, v. 81, n. 2, p. 182-193, 2014.
- CASCANTE, A. *et al.* Effects of dry tropical forest fragmentation on the reproductive success and genetic structure of the tree *Samanea saman*. **Conservation Biology**, v. 16, n. 1, p. 137-147, 2002.
- CASCON, V. Copaíba - *Copaifera spp.* In: CARVALHO, J. C. T. **Fitoterápicos anti-inflamatórios: aspectos químicos, farmacológicos e aplicações terapêuticas**. Ribeirão Preto: Tecmedd, 2004.

CHAZDON, R. L. Perceptions of tropical forests and natural regeneration. *In*: CHAZDON, R. L. **Second growth: the promise of tropical forest regeneration in an age of deforestation**. Londres: The University of Chicago Press, 2014. p. 1–10.

CIAMPI, A. Y. *et al.* Desenvolvimento de marcadores microssatélites para *Copaifera langsdorffii* Desf. (copaíba) *Leguminosae – Caesalpinoideae* e otimização de sistemas fluorescentes de genotipagem multiloco. **Boletim de Pesquisa da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia**, Brasília, v. 16, p. 1-40, 2000.

CIÉSLAK, E. *et al.* Genetic structure of *Galium cracoviense* (Rubiaceae): a naturally rare species with an extremely small distribution range. **Conservation Genetics**, v. 16, n. 4, p. 929-938, 2015.

CLOUTIER, D. *et al.* Impact of selective logging on inbreeding and gene dispersal in an Amazonian tree population of *Carapa guianensis* Aubl. **Molecular Ecology**, v. 16, n. 4, p. 797-809, 2007.

COPAÍBA (*COPAIFERA LANGSDORFFII*). Online. c2021. Disponível em: <https://www.sitiodamata.com.br/copaiba-copaifera-langsdorffii>. Acesso em: 04 ago. 2021.

CORDEIRO, E. MG *et al.* Diversity, genetic structure, and population genomics of the tropical tree *Centrolobium tomentosum* in remnant and restored Atlantic forests. **Conservation Genetics**, v. 20, n. 5, p. 1073-1085, 2019.

CORNUET, J. M.; LUIKART, G. Description and power analysis of twotests for detecting recent populations bottleneck from allele frequency data. **Genetics**, London, v. 144, n. 4, p. 2001–2014, 1996.

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

CRUZ, C. D. Genes Software-extended and integrated with the R, Matlab and Selegen. **Acta Scientiarum. Agronomy**, v. 38, p. 547-552, 2016.

DAKIN, E. E.; AVISE, J. C. Microsatellite null alleles in parentage analysis. **Heredity**, London, v. 93, n. 5, p. 504-509, 2004.

D'ANTONIO, C.; MEYERSON, L. A. Exotic plant species as problems and solutions in ecological restoration: a synthesis. **Restoration Ecology**, v. 10, n. 4, p. 703-713, 2002.

DARONCO, C. *et al.* Ecosistema em restauração versus ecosistema de referência: estudo de caso da comunidade vegetal de mata ciliar em região de Cerrado, Assis, SP, São Paulo, Brasil. **Hoehnea**, v. 40, n. 3, p. 485-498, 2013.

DE PÁDUA, J. A. R. *et al.* Spatial genetic structure in natural populations of the overexploited tree *Eremanthus erythropappus* (DC.) Macleish (Asteraceae). **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 66, p. 307-311, 2016.

- DI RIENZO, A. *et al.* Mutational processes of simple-sequence repeat loci in human populations. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 91, n. 8, p. 3166-3170, 1994.
- DICK, C. W. *et al.* Spatial scales of pollen and seed-mediated gene flow in tropical rain forest trees. **Tropical Plant Biology**, v. 1, n. 1, p. 20-33, 2008.
- DIXON, K.W. Pollination and restoration. **Science**, v. 325, n. 5940, p. 571-573, 2009.
- DOBSON, A. P.; BRADSHAW, A. D.; BAKER, A. J. M. Hopes for the future: restoration ecology and conservation biology. **Science**, v. 277, n. 5325, p. 515-522, 1997.
- DOLIGEZ, A.; JOLY, H. I. Mating system of *Carapa procera* (Meliaceae) in the French Guiana tropical forest. **American Journal of Botany**, v. 84, n. 4, p. 461-470, 1997.
- DUARTE, M. M.; NOGUEIRA, A. C.; VIEIRA, E. S. N.. Diversity and spatial genetic structure of natural populations of *Ziziphus joazeiro* Mart. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v. 13, n. 4, 2018.
- EARL, D. A. *et al.* STRUCTURE HARVESTER: a website and program for visualizing STRUCTURE output and implementing the Evanno method. **Conservation genetics resources**, v. 4, n. 2, p. 359-361, 2012.
- ELLEGREN, H. Microsatellites: simple sequences with complex evolution. **Nature Reviews Genetics**, v. 5, n. 6, p. 435-445, 2004.
- EPPERSON, B. K. Spatial structure of genetic variation within populations of forest trees. *In*: ADAMS, W. T.; STRAUSS, S. H.; COPEL, D. L.; GRIFFIN, A. R. (org.). **Population genetics of forest trees**. Forestry Sciences. v. 42. Dordrecht: Springer, 1992. p. 257-278.
- EVANNO, G. *et al.* Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: a simulation study. **Molecular ecology**, v. 14, n. 8, p. 2611-2620, 2005.
- EXCOFFIER, L.; LISCHER, H. E. L. Arlequin suite ver 3.5: a new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. **Molecular Ecology Resources**, v. 10, n. 3, p. 564-567, 2010.
- FARIA, R. A. V. B. **Estoque de carbono e atributos florísticos e edáficos de ecossistemas florestais em processo de restauração**. 2013. 168 p. Tese (Doutorado em Engenharia Florestal) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2013.
- FERREIRA, M.A.; GRATTAPAGLIA, D. **Introdução ao uso de marcadores moleculares em análise genética**. 3. ed. Brasília: EMBRAPA, CENARGEN, 1998.
- FRANKHAM, R. Genetic rescue of small inbred populations: meta-analysis reveals large and consistent benefits of gene flow. **Molecular Ecology**, v. 24, n. 11, p. 2610-2618, 2015.
- FRANKHAM, R. Genetics and extinction. **Biological Conservation**, v. 126, n. 2, p. 131-140, 2005.

FREITAS, C. V.; OLIVEIRA, P. E. Biologia reprodutiva de *Copaifera langsdorffii* Desf. (Leguminosae, Caesalpinioideae). **Brazilian Journal of Botany**, v. 25, n. 3, p. 311-321, 2002.

GANN, G. D. *et al.* International principles and standards for the practice of ecological restoration. **Restoration Ecology**, 27 (S1): S1-S46., v. 27, n. S1, p. S1-S46, 2019.

GIAROLA, N. F. B. Levantamento pedológico da região sob influência do reservatório de Itutinga/Camargos (MG). *In*: GIAROLA, N. F. B. **Levantamento pedológico, perdas de solo e aptidão agrícola das terras na região sob influência do reservatório de Itutinga/Camargos (MG)**. 1994. 235 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Escola Superior de Agricultura de Lavras, Lavras, 1994.

GOIS, I. B. *et al.* Diversidade genética entre indivíduos de *Spondialutea* L. procedentes do baixo São Francisco sergipano, por meio de marcadores RAPD. **Revista Árvore**, Viçosa, v. 36, n. 2, p. 261-269, 2014.

GONÇALVES, A. C. *et al.* Estrutura genética espacial em populações naturais de *Dimorphandra mollis* (Fabaceae) na região norte de Minas Gerais, Brasil. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 33, n. 2, p. 325-332, 2010.

GONÇALVES, F. R. *et al.* Naturally fragmented but not genetically isolated populations of *Podocarpus sellowii* Klotzsch (Podocarpaceae) in southeast Brazil. **Genetics and Molecular Research**, v. 15, n. 4, p. 1-17, 2016.

GONELA, A. *et al.* Genetic diversity and mating system of *Copaifera langsdorffii* (Leguminosae/Caesalpinioideae). **Genetics and Molecular Research**, v. 12, n. 1, p. 569-580, 2013.

GRANADO, R. *et al.* Assessing genetic diversity after mangrove restoration in Brazil: why is it so important? **Diversity**, v. 10, n. 2, p. 27, 2018.

HAMRICK, J. L.; LOVELESS, M. D. Isozyme variation in tropical trees: procedures and preliminary results. **Biotropica**, p. 201-207, 1986.

HAMRICK, J. L.; NASON, J. D. Consequences of dispersal in plants. *In*: RHODES, E. O.; CHESSER, R. K.; SMITH, M. H. (org.). **Population dynamics in ecological space and time**. Chicago: The University of Chicago Press, 1996. p. 203-236.

HAMRICK, J. L.; GODT, M. J. W. Allozyme diversity in plant species. *In*: BROWN, A. H. D.; CLEGG, M. T.; KAHLER, A. L.; WEIR, B. S. (org.). **Plant population genetics, breeding, and genetic resources**. Sinauer: Sunderland, 1990. p. 43-63.

HAMRICK, J. L. *et al.* Factors influencing levels of genetic diversity in woody plant species. **New Forest**, n. 6, p. 95-124, 1992.

HARDY, O. J.; VEKEMANS, X. **SPAGeDi 1.4 – a program for Spatial Patterns Analysis of Genetic Diversity**. 2002. Disponível em: http://ebe.ulb.ac.be/ebe/SPAGeDi_files/Manual_SPAGeDi%20_1-4.pdf. Acesso em: 04 set. 2019.

HARDY, O. J.; VEKEMANS, X. Fine-scale genetic structure and gene dispersal inferences in 10 Neotropical tree species. **Molecular Ecology**, v. 15, n. 2, p. 559-571, 2006.

HARRIS, J. A. *et al.* Ecological restoration and global climate change. **Restoration Ecology**, v. 14, n. 2, p. 170-176, 2006.

HEDRICK, P. W. A standardized genetic differentiation measure. **Evolution**, v. 59, n. 8, p. 1633-1638, 2005.

HOLL, K. D. Restoring tropical forests from the bottom up. **Science**, v. 355, n. 6324, p. 455-456, 2017.

HUFFORD, K. M.; MAZER, S. J. Plant ecotypes: genetic differentiation in the age of ecological restoration. **Trends in Ecology & Evolution**, v. 18, n. 3, p. 147-155, 2003.

HUGHES, A. R. *et al.* Ecological consequences of genetic diversity. **Ecology Letters**, v. 11, n. 6, p. 609-623, 2008.

INSTITUTO NACIONAL DE METEOROLOGIA. **Normais Climatológicas do Brasil 1961-1990**. Disponível em:

<http://www.inmet.gov.br/portal/index.php?r=clima/normaisClimatologicas>. Acesso em: 17 set. 2019.

JIN, Y.; HE, T.; LU, B. Fine scale genetic structure in a wild soybean (*Glycine soja*) population and the implications for conservation. **New Phytologist**, v. 159, n. 2, p. 513-519, 2003.

JOHN, A. L. W. *et al.* Genetic diversity and population structure of naturally rare *Calibrachoa* species with small distribution in southern Brazil. **Genetics and Molecular Biology**, n. AHEAD, 2019.

JOMBART, T. Adegnet: a R package for the multivariate analysis of genetic markers. **Bioinformatics**, v. 24, n. 11, p. 1403-1405, 2008.

MELO JÚNIOR, A. F. *et al.* Spatial genetic structure of *Cavanillesia arborea* K. Schum. (Malvaceae) in Seasonally Dry Tropical Forest: implications for conservation. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 58, p. 114-119, 2015.

KELLY, A. C. *et al.* Microsatellites behaving badly: empirical evaluation of genotyping errors and subsequent impacts on population studies. **Genetic Molecular Resources**, Washington, v. 10, n. 4, p. 2534-2553, 2011.

KELLY, B. A.; HARDY, O. J.; BOUVET, J. Temporal and spatial genetic structure in *Vitellaria paradoxa* (Shea tree) in an agroforestry system in southern Mali. **Molecular Ecology**, Oxford, v. 13, n. 5, p. 1231-1240, 2004.

KUBOTA, T. Y. K. Herdabilidade em caracteres de crescimento de populações fragmentadas da espécie arbórea *Copaifera langsdorffii* (fabaceae). 2014. 33 f. Dissertação

(mestrado) – Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira, 2014.

LESICA, P.; ALLENDORF, F. W. Ecological restoration and the restoration of plant communities: mix or match? **Restoration Ecology**, v. 7, n. 1, p. 42-50, 1999.

LEWIS, P. O.; ZAYKIN, D. **GDA - Genetic Data Analysis**. 2002. Disponível em: <http://hydrodictyon.eeb.uconn.edu/people/plewis/software.php>. Acesso em: 21 set. 2019.

LI, M.H. *et al.* Genetic relationships among twelve Chinese indigenous goat populations based on microsatellite analysis. **Genetics Selection Evolution**, v. 34, n. 6, p. 1-16, 2002.

LI, Y.L.; LIU, J. X. StructureSelector: a web-based software to select and visualize the optimal number of clusters using multiple methods. **Molecular Ecology Resources**, v. 18, n. 1, p. 176-177, 2018.

LORENZI, H. **Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil**. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2002. 640 p.

LOVELESS, M. D.; HAMRICK, J. L. Ecological determinants of genetic structure in plant populations. **Annual Review of Ecology and Systematics**, v. 15, n. 1, p. 65-95, 1984.

MANOEL, R. O. *et al.* Sistema de reprodução, parentesco e tamanho efetivo em sementes de polinização livre de populações fragmentadas de *Copaifera langsdorffii* Desf. por análise de locos microssatélites. **Scientia Forestalis**, v.40, n.94, p.145-155, 2012.

MARTINS, K. *et al.* Estrutura genética populacional de *Copaifera langsdorffii* Desf. (Leguminosae – Caesalpinoideae) em fragmentos florestais do Pontal do Paranapanema, SP, Brasil. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 31, n. 1, p. 61-69, 2008.

MCKAY, J.K. *et al.* “How local is local?”—a review of practical and conceptual issues in the genetics of restoration. **Restoration Ecology**, v. 13, n. 3, p. 432-440, 2005.

MENDONÇA FILHO, C. V. **Braúna, angico, jacarandá e outras leguminosas de Mata Atlântica, Estação Biológica de Caratinga, Minas Gerais**. Belo Horizonte: FBMM. FB/APEBC/IEF/FZB/SBMG, 1996.

MIJANGOS, J. L. *et al.* Contribution of genetics to ecological restoration. **Molecular Ecology**, v. 24, n. 1, p. 22-37, 2015.

MORAES, P. L. R.; DERBYSHIRE, M.T. V. C. Diferenciação genética e diversidade em populações naturais de *Cryptocarya aschersoniana* Mez (Lauraceae). **Biota Neotropica**, v. 3, n. 1, p. 1-10, 2003.

MOTTA-JUNIOR, J. C.; LOMBARDI, J. A. Aves como agentes dispersores da copaíba (*Copaifera langsdorffii*, Caesalpiniaceae) em São Carlos, estado de São Paulo. **Ararajuba**, v. 1, n. 1, p. 105-109, 1990.

NASON, J. D.; HAMRICK, J. L. Reproductive and genetic consequences of forest fragmentation: two case studies of neotropical canopy trees. **Journal of Heredity**, v. 88, n. 4, p. 264-276, 1997.

NEI, M. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. **Genetics**, v. 89, n. 3, p. 586-590, 1978.

NEI, M. F-statistics and analysis of gene diversity in subdivided populations. **Annals of Human Genetics**, v. 41, n. 2, p. 225-233, 1977.

NEWMARK, W. D. *et al.* Targeted habitat restoration can reduce extinction rates in fragmented forests. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 114, n. 36, p. 9635-9640, 2017.

NG, K.S *et al.* Spatial structure and genetic diversity of two tropical tree species with contrasting breeding systems and different ploidy levels. **Molecular Ecology**, v. 13, n. 3, p. 657-669, 2004.

NUNES, A. C. P. *et al.* Conservação genética de espécies florestais nativas: número de progênies e indivíduos a conservar para garantir a perpetuação da espécie no ambiente. **Boletim Técnico SIF**, p. 05, 2021.

NUNNEY, L.; CAMPBELL, K. A. Assessing minimum viable population size: demography meets population genetics. **Trends in Ecology & Evolution**, v. 8, n. 7, p. 234-239, 1993.

OLIVEIRA, A. F. *et al.* Outcrossing rate and mating system of a natural population of *Copaifera langsdorffii* Desf. in the region of Lavras, MG, starting from isozyme. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 25, p. 331-338, 2002.

OLIVEIRA-FILHO, A. T.; FONTES, M. A. Patterns of floristic differentiation among Atlantic Forest Southeastern Brazil and the influence of climate. **Biotropica**, v. 32, n. 4b, p.793-810, 2000. Edição especial.

OLIVEIRA-FILHO, A. T. *et al.* Composição florística e estrutura comunitária de um remanescente de floresta semidecídua montana em Lavras, MG. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 17, n. 2, p. 167-182, 1994.

VAN OOSTERHOUT, C. *et al.* Micro-Checker: software for identifying and correcting genotyping errors in microsatellite data. **Molecular Ecology Notes**, v. 4, p. 535-538, 2004.

PEAKALL, R. O. D.; SMOUSE, P. E. GENALEX 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. **Molecular Ecology Notes**, v. 6, n. 1, p. 288-295, 2006.

PEDRONI, F.; SANCHEZ, M.; SANTOS, F. A. M. Fenologia da copaíba (*Copaifera langsdorffii* Desf. – Leguminosae, Caesalpinioideae) em uma floresta semidecídua no sudeste do Brasil. **Brazilian Journal of Botany**, v. 25, n. 2, p. 183-194, 2002.

PETIT, R. J. *et al.* Invited review: comparative organization of chloroplast, mitochondrial and nuclear diversity in plant populations. **Molecular Ecology**, v. 14, n. 3, p. 689-701, 2005.

PIÑA-RODRIGUES, F. C. M. *et al.* Parâmetros genéticos para colheita de sementes de espécies florestais. In: PIÑA-RODRIGUES, F. C. M.; FREIRE, J. M.; LELES, P. S. S.; BRIER, T.B. (org.). **Parâmetros técnicos para produção de sementes florestais**. Seropédica: Editora da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, 2007. p. 51-102.

PINTO, S.I.C. *et al.* Variabilidade genética por isoenzimas em populações de *Copaifera langsdorffii* Desf. em dois fragmentos de mata ciliar. **Scientia Forestalis**, n. 65, p. 40-48, 2004.

PIRY, S. *et al.* GENECLASS2: a software for genetic assignment and first-generation migrant detection. **Journal of Heredity**, v. 95, n. 6, p. 536-539, 2004.

PIRY, S.; LUIKART, G.; CORNUET, J. M. BOTTLENECK: a computer program for detecting recent reductions in the effective population size using allele frequency data. **Journal of Heredity**, v. 90, n. 4, p. 502-503, 1999.

POSSINGHAM, Hugh P.; BODE, Michael; KLEIN, Carissa J. Optimal conservation outcomes require both restoration and protection. **PLoS Biology**, v. 13, n. 1, p. e1002052, 2015.

PRITCHARD, J. K.; STEPHENS, M.; DONNELLY, P. Inference of population structure using multilocus genotype data. **Genetics**, v. 155, n. 2, p. 945-959, 2000.

RAMEY, R. R. *et al.* Genetic bottlenecks resulting from restoration efforts: the case of bighorn sheep in Badlands National Park. **Restoration Ecology**, v. 8, n. 4S, p. 85-90, 2000.

RCORE Team. **R**: a language and environment for statistical computing. Viena: R Foundation for Statistical, 2013.

REFLORA. *Copaifera L.* Online. Disponível em: http://reflora.jbrj.gov.br/reflora/listaBrasil/ConsultaPublicaUC/BemVindoConsultaPublicaConsultar.do?invalidatePageControlCounter=1&idsFilhosAlgas=%5B2%5D&idsFilhosFungos=%5B1%2C11%2C10%5D&lingua=&grupo=5&genero=Copaifera&autor=&nomeVernaculo=&nomeCompleto=&formaVida=null&substrato=null&ocorreBrasil=QUALQUER&ocorrencia=OCORRE&endemismo= TODOS&origem= TODOS®iao=QUALQUER&estado=QUALQUER&ilhaOceanica=32767&domFitogeograficos=QUALQUER&bacia=QUALQUER&vegetacao= TODOS&mostrarAte=SUBESP_VAR&opcoesBusca= TODOS_OS_NOMES&loginUsuario=Visitante&senhaUsuario=&contexto=consulta-publica. Acesso em: 04 set. 2020.

REIS, T. S. *et al.* Elevation as a barrier: genetic structure for an Atlantic rain forest tree (*Bathysa australis*) in the Serra do Mar mountain range, SE Brazil. **Ecology and Evolution**, v. 5, n. 9, p. 1919-1931, 2015.

REYNOLDS, L. K.; MCGLATHERY, K. J.; WAYCOTT, M. Genetic diversity enhances restoration success by augmenting ecosystem services. **PloS one**, v. 7, n. 6, p. e38397, 2012.

- RITCHIE, A. L.; KRAUSS, S. L. A genetic assessment of ecological restoration success in *Banksia attenuata*. **Restoration Ecology**, v. 20, n. 4, p. 441-449, 2012.
- ROBERTSON, B. C.; GEMMELL, N. J. Defining eradication units to control invasive pests. **Journal of Applied Ecology**, v. 41, n. 6, p. 1042-1048, 2004.
- ROCHA, L. F. *et al.* Fine-scale analysis reveals a potential influence of forest management on the spatial genetic structure of *Eremanthus erythropappus*. **Journal of Forestry Research**, v. 32, n. 4, p. 1567-1578, 2021.
- RODRIGUES, R. R. *et al.* On the restoration of high diversity forests: 30 years of experience in the Brazilian Atlantic Forest. **Biological Conservation**, v. 142, n. 6, p. 1242-1251, 2009.
- ROHLF, F. J. **Numerical taxonomy and multivariate analysis system**: version 2.1. New York: Exeter Software, 2001. 38 p. Disponível em: <http://www.exetersoftware.com/downloads/ntsysguide21.pdf>. Acesso em: 12 set. 2014.
- SAIKI, R. K. *et al.* Enzymatic amplification of beta-globin genomic sequences and restriction site analysis for diagnosis of sickle cell anemia. **Science**, v. 230, n. 4732, p. 1350-1354, 1985.
- SALGADO, M. A. S *et al.* Crescimento e repartição de biomassa em plântulas de *Copaifera langsdorffii* Desf. submetidas a diferentes níveis de sombreamento em viveiro. **Brasil Florestal**, n. 70, jun. 2001.
- SCHWARCZ, K. D. *et al.* Shelter from the storm: restored populations of the neotropical tree *Myroxylon peruiferum* are as genetically diverse as those from conserved remnants. **Forest Ecology and Management**, v. 410, p. 95-103, 2018.
- SCHNABEL, A. *et al.* Understanding the population genetic structure of *Gleditsia triacanthos* L.: seed dispersal and variation in female reproductive success. **Molecular Ecology**, v. 7, n. 7, p. 819-832, 1998.
- SEBBENN, A. M. *et al.* 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.
- SEBBENN, A. M. *et al.* Conservação genética in situ e número de matrizes para a coleta de sementes em população de *Genipa americana* L. **Scientia Forestalis**, v. 63, p. 13-22, 2003.
- SIQUEIRA, M. *et al.* How can molecular ecology contribute to forest restoration? **Journal of Biotechnology and Biodiversity**, v. 14, n. 4, p. 316-321, 2013.
- SLATKIN, M. A measure of population subdivision based on microsatellite allele frequencies. **Genetics**, v. 139, n. 1, p. 457-62, 1995.
- SLOAN, S. *et al.* Remaining natural vegetation in the global biodiversity hotspots. **Biological Conservation**, v. 177, p. 12-24, 2014.
- SMITH, L. I. **A tutorial on principal components analysis**. Dunedin: Department of Computer Science, University of Otago, 2002. Relatório técnico.

SOCIETY FOR ECOLOGICAL RESTORATION SCIENCE & POLICY WORKING GROUP. **The SER international primer for ecological restoration**. Tucson, 2004. Disponível em: <http://www.ser.org/resources/resources-detail-view/ser-international-primer-on-ecological-restoration>. Acesso em: 15 out. 2019.

SUJII, P. S. *et al.* A genetic approach for simulating persistence of reintroduced tree species populations in restored forests. **Ecological Modelling**, v. 403, p. 35-43, 2019.

TARAZI, R. **Diversidade genética, estrutura genética espacial, sistema de reprodução e fluxo gênico em uma população de *Copaifera langsdorffii* Desf. no Cerrado**. 2009. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2009.

THOMAS, E. *et al.* Genetic considerations in ecosystem restoration using native tree species. **Forest Ecology and Management**, v. 333, p. 66-75, 2014. Edição especial.

TÓTH, G. *et al.* Microsatellites in different eukaryotic genomes: survey and analysis. **Genome Res.**, v. 10, n. 7, p. 967-81, 2000.

UN NEWS. Online. Disponível em: <https://news.un.org/en/>. Acesso em: 15 set. 2019.

VEKEMANS, X.; HARDY, O. J. New insights from fine-scale spatial genetic structure analyses in plant populations. **Molecular Ecology**, v. 13, n. 4, p. 921-935, 2004.

VELOSO, H. P. *et al.* **Classificação da vegetação brasileira, adaptado a um sistema universal**. Rio de Janeiro: IBGE, 1991.

VENCOVSKY, R. Tamanho efetivo populacional na coleta e preservação de germoplasma de espécies alógamas. **Instituto de Pesquisas e Estudos Florestais**, n. 35, p. 79-84, 1987.

VIANA, J. P. *et al.* Genomic diversity is similar between Atlantic Forest restorations and natural remnants for the native tree *Casearia sylvestris* Sw. **PloS One**, v. 13, n. 3, p. e0192165, 2018.

WANG, Z. *et al.* Effect of stand age and management regime on genetic diversity of *Thuidiumcymbi folium* in western China. **Biological Conservation**, v. 129, n. 4, p. 551-557, 2006.

WILLIAMS, B. L.; BRAUN, J. D.; PAIGE, K. N. Landscape scale genetic effects of habitat fragmentation on a high gene flow species: *Speyeria idália* (Nymphalidae). **Molecular Ecology**, v. 12, n. 1, p. 11-20, 2003.

WILLIAMS, S. L. Reduced genetic diversity in eelgrass transplantations affects both population growth and individual fitness. **Ecological Applications**, v. 11, n. 5, p. 1472-1488, 2001.

YANG, J. *et al.* Genetic diversity and structure among natural populations of *Sindora glabra* in Hainan Island, China as revealed by ISSR markers. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 69, p. 145-151, 2016.

ZANE, L.; BARGELLONI, L.; PATARNELLO, T. Strategies for microsatellite isolation: a review. **Molecular Ecology**, v. 11, n. 1, p. 1-16, 2002.

ZUCCHI, M. I. *et al.* Padrão espacial de divergência em populações de *Eugenia dysenterica* DC utilizando marcadores microssatélites. **Floresta e Ambiente**, v. 11, n. 1, p. 29-38, 2004.

ZUCCHI, M. I. *et al.* Genetic diversity of reintroduced tree populations in restoration plantations of the Brazilian Atlantic Forest. **Restoration Ecology**, v. 26, n. 4, p. 694-701, 2018.