

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ  
DEPARTAMENTO ACADÊMICO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA

VANESSA PADILHA SALLA

DIVERSIDADE E ESTRUTURA GENÉTICA POPULACIONAL EM  
JABOTICABAIS NATIVOS NO SUDOESTE DO PARANÁ

TESE

PATO BRANCO

2019

VANESSA PADILHA SALLA

**DIVERSIDADE E ESTRUTURA GENÉTICA POPULACIONAL EM JABOTICABAIS  
NATIVOS NO SUDOESTE DO PARANÁ**

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

Orientador: Prof. Dr. Moeses Andriago Danner.

Co-Orientador: Prof. Dr. Joel Donazzolo.

Co-Orientador: Prof. Dr. Valdir Marcos Stefenon.

PATO BRANCO

2019

S168d Salla, Vanessa Padilha.  
Diversidade e estrutura genética populacional em jaboticabais nativos  
no sudoeste do Paraná / Vanessa Padilha Salla. -- 2019.  
98 f. : il. ; 30 cm.

Orientador: Prof. Dr. Moeses Andrigo Danner  
Coorientador: Prof. Dr. Joel Donazzolo  
Coorientador: Prof. Dr. Valdir Marcos Stefenon  
Tese (Doutorado) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná.  
Programa de Pós-Graduação em Agronomia. Pato Branco, PR, 2019.  
Inclui bibliografia

1. Jaboticabeira. 2. Genética de populações. 3. Recursos naturais -  
Conservação. I. Danner, Moeses Andrigo, orient. II. Donazzolo, Joel,  
coorient. III. Stefenon, Valdir Marcos, coorient. IV. Universidade  
Tecnológica Federal do Paraná. Programa de Pós-Graduação em  
Agronomia. V. Título.

CDD (22. ed.) 630

Ficha Catalográfica elaborada por  
Suélem Belmudes Cardoso CRB9/1630  
Biblioteca da UTFPR Campus Pato Branco



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



## **TERMO DE APROVAÇÃO**

**Título da Tese n.º 060**

### **DIVERSIDADE E ESTRUTURA GENÉTICA POPULACIONAL EM JABOTICABAIS NATIVOS NO SUDOESTE DO PARANÁ**

Por

**VANESSA PADILHA SALLA**

Tese apresentada às treze horas e trinta minutos do dia dez de outubro de dois mil e dezanove, como requisito parcial para obtenção do título de DOUTORA EM AGRONOMIA, Linha de Pesquisa – Horticultura, Programa de Pós-Graduação em Agronomia (Área de Concentração: Produção Vegetal), Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Câmpus Pato Branco. A candidata foi arguida pela Banca Examinadora composta pelos membros abaixo designados. Após deliberação, a Banca Examinadora considerou o trabalho APROVADO.

Banca examinadora:

---

**Dr. Idemir Citadin**  
UTFPR/Pato Branco

---

**Dra. Juliana Vitoria Messias Bittencourt**  
UTFPR/Ponta Grossa

---

**Dra. Lilian de Oliveira Machado**  
UFSC/Florianópolis

---

**Dr. Luciano Medina Macedo**  
Universidade Paul Sabatier III/Toulouse,  
França

---

**Dr. Moeses Andriago Danner**  
UTFPR/Pato Branco  
Orientador

---

**Dr. Alcir José Modolo**  
UTFPR/Pato Branco  
**Coordenador do PPGAG**

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

## **AGRADECIMENTOS**

Primeiramente a Deus por me lembrar de quem Eu sou e por nunca desistir de mim, a Nossa Senhora Aparecida, que sempre me guiou e me cuidou para que tudo ocorresse da melhor maneira possível em minha vida.

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

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

Ao professor Dr. Joel Donazzolo pela co-orientação e ensinamentos passados.

Ao professor Dr. Valdir Marcos Stefenon pela co-orientação por ter me recebido na Unipampa em São Gabriel, pelos ensinamentos passados, pelo auxílio com os programas estatísticos e a interpretação dos dados, pelo respeito e amizade que me tratou e tratou as minhas dificuldades. Um exemplo de ser humano e profissional, minha gratidão.

A todos que me ajudaram na realização deste trabalho em campo, Amanda Pacheco Cardoso Moura, Bruna Gil, José Carlos Holub, Gean Vesselovitz, Demetrios Maroli, obrigada pela disponibilidade de tempo em me ajudarem nas atividades e a amizade.

Ao grupo de pesquisa Fruteiras Nativas da Região Sudoeste do Paraná (UTFPR), pela amizade e carinho nos demais trabalhos e companhias no laboratório de fruticultura.

Ao Rafael Matielo pelo auxílio nas atividades de laboratório na (UNIPAMPA) o meu muito obrigado.

A minha colega da Pós-Graduação Amanda Pacheco Cardoso Moura, por compartilhar dificuldades, experiências e conhecimento e sempre estar ao meu lado nestes 10 anos de amizade, tens meu carinho, respeito e gratidão.

À UTFPR e ao PPGAG, pela oportunidade da realização da Tese.

À CAPES, pela concessão de bolsa.

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

“Determinação, coragem e autoconfiança são fatores decisivos para o sucesso. Não importam quais sejam os obstáculos e as dificuldades. Se estamos possuídos de uma inabalável determinação, conseguimos superá-los. Independente das circunstâncias, devemos ser sempre humildes, recatados e despidos de orgulho.”

(Dalai-Lama).



## RESUMO

SALLA, Vanessa P. Diversidade e estrutura genética populacional em jaboticabais nativos no sudoeste do Paraná. 98f. Tese (Doutorado em Agronomia) Programa de Pós-Graduação em Agronomia (Área de Concentração: Produção Vegetal), Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Pato Branco, 2019.

As jaboticabeiras (*Plinia* sp.) pertencem à família Myrtaceae e são nativas das regiões Centro-Sul/Sudeste do Brasil. Seu fruto apresenta um grande potencial de comercialização, pois são muito apreciadas para consumo in natura. O objetivo deste trabalho foi verificar a organização e distribuição da variabilidade genética entre e dentro de seis populações de jaboticabeiras (*Plinia. cf. peruviana*) nativas do Sudoeste do Paraná, e duas populações com gerações de adultos e juvenis, visando definir estratégias de conservação *in situ* e a coleta de germoplasma para a conservação *ex situ*. A amostragem foi composta por um total de 190 indivíduos adultos e 80 indivíduos juvenis, sendo coletadas nas cidades de Vitorino (n= 30 Adul.; n= 40 Juv.), Chopinzinho (n= 40), Clevelândia (n<sub>1</sub>= 40 Adul.; n= 40 Juv. e n<sub>2</sub>= 25), Coronel Vivida (n= 30) e Pato Branco (n= 25). Foram coletadas amostras de folhas maduras de jaboticabeira em cada local e genotipadas com 10 marcadores microssatélites. Os dez locos analisados exibiram alta diversidade genética para as seis populações, tanto para jaboticabeiras adultas quanto juvenis. Para a população de Vitorino a heterozigose nos locos foi alta, sugerindo seleção a favor de heterozigotos. Foram detectados clones nas populações, isto sugere que a população foi formada por poucos indivíduos geradores (efeito fundador), seguida de multiplicação de indivíduos por clonagem através das sementes geradas por apomixia. Houve sinais significativos de gargalo genético para as seis populações naturais de jaboticabeira. A diferenciação genética entre as populações foi significativa e de intensidade variando de alta a moderada ( $F_{st} = 0,176$ ). A estrutura genética das seis populações de jaboticabeira mostrou que a maior parte da variabilidade genética se encontra dentro dos indivíduos. A análise de estrutura genética espacial demonstra que os genótipos apresentam distribuição aleatória nas populações. Os indivíduos juvenis apresentam o *pool gênico* semelhante aos adultos nas duas populações estudadas. Os resultados deste trabalho indicam que as populações de jaboticabeiras apresentam alta diversidade genética, com alto número de alelos e alta heterozigose. Para a conservação *in situ*, deve-se incluir diversidade genética dentro das áreas, com a formação de corredores ecológicos entre fragmentos florestais próximos contendo jaboticabeira, levando em consideração as áreas de importância à conservação, em especial a população de Vitorino, que apresenta uma diferenciação genética em relação às demais populações. Para conservação *ex situ* de jaboticabeiras devem ser coletadas sementes de mais 50 árvores por populações distante uma matriz da outra por mais de 50 metros, evitando grau de parentesco entre os genótipos.

**Palavras-chave:** Jaboticabeira. Genética de populações. Conservação de Recursos Naturais. Efeito *Bottleneck*

## ABSTRACT

SALLA, Vanessa. P. Diversity and population genetic structure in native jaboticabais in southwestern Paraná. 98f. thesis doctoral Project (doctoral Degree in Agronomy) Postgraduation Program in Agronomy (Concentration Area: Crop Production), Federal University of Technology - Paraná. Pato Branco, 2019.

Jabotica trees (*Plinia* sp.) belong to the family Myrtaceae and are native to the Center-South/Southeast regions of Brazil. Its fruit has a great commercialization potential, as they are much appreciated for fresh consumption. The objective of this work was to verify the organization and distribution of genetic variability among and within six populations of jaboticabeiras (*Plinia* Cf. *peruviana*) native to southwestern Paraná, and two populations with generations of adults and juveniles, aiming to define conservation strategies. Situ and germplasm collection for ex situ conservation. The sample consisted of a total of 190 adult individuals and 80 juvenile individuals, being collected in the cities of Vitorino (n = 30 Adul .; n = 40 Juv.), Chopinzinho (n = 40), Clevelândia (n1 = 40 Adul. ; n = 40 Juv. and n 2 = 25), Colonel Vivida (n = 30) and Pato Branco (n = 25). Samples of mature jaboticabeira leaves were collected at each site and genotyped with 10 microsatellite markers. The ten loci analyzed showed high genetic diversity for the six populations, both for adult and juvenile jaboticaba trees. For the Vitorino population, heterozygous loci were high, suggesting selection in favor of heterozygotes. Clones were detected in the populations, this suggests that the population was formed by few generating individuals (founder effect), followed by multiplication of individuals by cloning through seeds generated by apomixia. There were significant signs of genetic bottleneck for the six natural jaboticaba tree populations. Genetic differentiation between populations was significant and of intensity ranging from high to moderate ( $F_{st} = 0.176$ ). The genetic structure of the six jaboticabeira populations showed that most of the genetic variability is within individuals. The analysis of spatial genetic structure shows that genotypes have a random distribution in populations. Juvenile individuals present similar gene pool to adults in the two populations studied. The results of this work indicate that the populations of jaboticabeiras present high genetic diversity, with high number of alleles and high heterozygosity. For in situ conservation, genetic diversity should be included within areas, with the formation of ecological corridors between nearby forest fragments containing jaboticabeira, taking into account areas of conservation importance, especially the Vitorino population, which presents a differentiation. genetics in relation to other populations. For ex situ conservation of jaboticabeira seeds should be collected from more than 50 trees by populations distant from each other for more than 50 meters, avoiding kinship between the genotypes.

**Keywords:** Jaboticabeira. Population Genetics. Conservation of Natural Resources *Bottleneck* Effect.

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1** - Representação das estruturas da espécie (*Plinia cf. peruviana*). UTFPR, Pato Branco - PR, 2019.....21
- Figura 2** - Localização dos remanescentes de *Plinia cf. peruviana* em seis municípios do sudoeste do Paraná. UTFPR, Pato Branco - PR, 2019.....30
- Figura 3**- Mapa dos seis fragmentos florestais de jaboticabeiras na região sudoeste do Paraná. UTFPR, Pato Branco - PR, 2019.....32
- Figura 4** - Gel de Poliacrylamida com intervalos para determinação da região específica do microsatélite. UTFPR, Pato Branco - PR, 2019.....35
- Figura 5** - Mapa dos dois fragmentos florestais adultos e juvenis de jaboticabeiras na região sudoeste do Paraná. UTFPR, Pato Branco - PR, 2019.....40
- Figura 6** - Valores de  $\Delta K$  para cada valor de  $K$  atribuído, calculado a partir de dados genotípicos de 119 indivíduos, pertencentes a seis populações de *Plinia cf. peruviana*. O maior valor de  $\Delta K$  corresponde ao  $K$  ótimo como proposto por Evanno et al. (2005). UTFPR, Pato Branco – PR, 2019.....44
- Figura 7** – Correlação do número de migrantes em relação a distância das seis populações de (*Plinia cf. peruviana*). UTFPR, Pato Branco – PR, 2019.....46
- Figura 8** - Determinação da estrutura das populações de *P. cf. peruviana* (n= 119) com base nas análises de agrupamento bayesiano e dendrograma UPGMA baseado distância genética de Nei (Nei et al. 1983) ao nível da população para  $K = 3$ . Valores dos nós é suporte de inicialização para os clusters. UTFPR, Pato Branco – PR, 2019.....46
- Figura 9** - Correlogramas das medidas do coeficiente de kinship ( $F_{ij}$ ) plotadas contra a distância entre as árvores (*Plinia cf. peruviana*) para as seis populações. A significância ( $p < 0.05$ ) foi testada para 10.000 permutações de Jackknifed. Os símbolos sem preenchimento são significativos ao nível de 5%. UTFPR, Pato Branco – PR,.....49
- Figura 10** - Correlogramas das medidas do coeficiente de kinship ( $F_{ij}$ ) plotadas contra a distância entre os indivíduos adultos e juvenis de (*Plinia cf. peruviana*), localizada em Clevelândia1-PR. A significância ( $p < 0.05$ ) foi testada para 10.000 permutações de Jackknifed. Os símbolos preenchimento não são significativos ao nível de 5%. UTFPR, Pato Branco – PR, 2019.....55
- Figura 11** - Correlogramas das medidas do coeficiente de kinship ( $F_{ij}$ ) plotadas contra a distância os indivíduos adultos e juvenis de (*Plinia cf. peruviana*), localizada em Vitorino-PR. A significância ( $p < 0.05$ ) foi testada para 10.000 permutações de Jackknifed. Os símbolos sem preenchimento são significativos ao nível de 5%. UTFPR, Pato Branco – PR, 2019.....56

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1</b> - Informações dos locos microssatélites utilizados no estudo. UTFPR, Pato Branco - PR, 2018.....	34
<b>Tabela 2</b> - Índices médios de diversidade genética nas seis populações naturais de jaboticabeiras ( <i>Plinia cf. peruviana</i> ) calculado para o total dos dez locos microssatélites. UTFPR, Pato Branco - PR, 2019.....	41
<b>Tabela 3</b> - Porcentagem de frequências alélicas, alelos exclusivos, alelos fixados por locos e alelos total de dez locos microssatélites em cada população nativa de jaboticabeiras ( <i>Plinia cf. peruviana</i> ) na região Sudoeste do Paraná. UTFPR, Pato Branco - PR, 2019.....	42
<b>Tabela 4</b> - Resumo da análise da variância molecular (AMOVA), mostrando a variação genética para seis populações de jaboticabeiras ( <i>Plinia cf. peruviana</i> ), com uso de dez locos microssatélites. UTFPR, Pato Branco – PR, 2019.....	44
<b>Tabela 5</b> - Número e frequência de clones, total de indivíduos clones e riqueza genotípica (R) em 190 indivíduos adultas em seis jaboticabais de ( <i>Plinia cf. peruviana</i> ) na região Sudoeste do Paraná. UTFPR, Pato Branco – PR, 2019.....	45
<b>Tabela 6</b> - Número de imigrantes/geração ( $N_m$ ) (através de sementes ou pólen), ocorrente nas seis populações de <i>Plinia cf. peruviana</i> . UTFPR, Pato Branco – PR, 2019.....	47
<b>Tabela 7</b> - Caracterização da estrutura espacial de ( <i>Plinia cf. peruviana</i> ) nos seis fragmentos, incluindo para cada população. UTFPR, Pato Branco – PR, 2019.....	47
<b>Tabela 8</b> - Teste de Wilcoxon para detecção assinatura de gargalo genético em seis populações ( <i>Plinia cf. peruviana</i> ), na região Sudoeste do Paraná. UTFPR, Pato Branco – PR, 2019.....	50
<b>Tabela 9</b> - Teste de Garza-Williamson index (M-ratio). Para detecção assinatura do <i>bottleneck</i> por um longo período em seis populações ( <i>Plinia cf. peruviana</i> ), na região Sudoeste do Paraná. UTFPR, Pato Branco – PR, 2019.....	51
<b>Tabela 10</b> - Índices de diversidade genética de indivíduos juvenis de jaboticabeiras nativas ( <i>Plinia cf. peruviana</i> ) do fragmento florestal de Clevelândia1 e Vitorino, para o total dos dez locos (SSR). UTFPR, Pato Branco – PR, 2019.....	52
<b>Tabela 11</b> - Porcentagem de frequências alélicas, alelos exclusivos, alelos fixados em cada locos e total de alelos de dez locos microssatélites em indivíduos juvenis em cada população nativa de jaboticabeiras ( <i>Plinia cf. peruviana</i> ) na região Sudoeste do Paraná. UTFPR, Pato Branco, 2019.....	53

<b>Tabela 12</b> - Caracterização da estrutura espacial em duas populações de ( <i>Plinia cf. peruviana</i> ) de indivíduos adultos e juvenis. UTFPR, Pato Branco – PR, 2019.....	54
<b>Tabela 13</b> - Número e frequência de clones, total de indivíduos clones e riqueza genotípica (R) em 80 indivíduos juvenis em jaboticabais de ( <i>Plinia cf. peruviana</i> ) na região Sudoeste do Paraná. UTFPR, Pato Branco – PR, 2019. ....	55
<b>Tabela 14</b> - Número de árvores necessárias para a coleta de sementes, com o tamanho efetivo de 25 ( $N_e = 25$ ), 50 ( $N_e = 50$ ) e 500 ( $N_e = 500$ ).UTFPR, Pato Branco – PR, 2019.....	70

## LISTA DE QUADRO

<b>Quadro 1</b> - Locais coordenadas geográficas, elevação (m), número total de jaboticabeiras adultas e número de indivíduos coletados nos seis remanescentes florestais localizados na região sudoeste do Paraná. UTFPR, Pato Branco - PR, 2019.....	31
--	----

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	<b>16</b>
<b>2 OBJETIVOS</b> .....	<b>19</b>
2.1 OBJETIVO GERAL .....	19
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	19
<b>3 REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	<b>20</b>
3.1 CONSIDERAÇÃO SOBRE AS JABOTICABEIRAS .....	20
3.2 CONSEQUÊNCIAS GENÉTICAS DA FRAGMENTAÇÃO FLORESTAL .....	23
3.3 GENÉTICA POPULACIONAL E SISTEMA DE REPRODUÇÃO .....	25
3.4 CONSERVAÇÃO DE ESPÉCIES ARBÓREAS .....	27
<b>4 MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	<b>30</b>
4.1 ÁREA DE ESTUDO E AMOSTRAGEM .....	30
4.2 EXTRAÇÃO DE DNA E GENOTIPAGEM POR MICROSSATÉLITES .....	33
4.3 ANÁLISE DA DIVERSIDADE GENÉTICA ENTRE JABOTICABEIRAS NATIVAS NO SUDOESTE DO PARANÁ .....	35
4.4 ANÁLISE DA ESTRUTURA GENÉTICA POPULACIONAL .....	36
4.5 DETECÇÃO DE GARGALO GENÉTICO .....	38
5 DIVERSIDADE E ESTRUTURA GENÉTICA ENTRE JABOTICABEIRAS ADULTAS E JUVENIS .....	39
<b>6 RESULTADOS</b> .....	<b>41</b>
6.1 DIVERSIDADE GENÉTICA ENTRE JABOTICABEIRAS NATIVAS NO SUDOESTE DO PARANÁ .....	41
6.2 ESTRUTURA GENÉTICA POPULACIONAL .....	43
6.3 DETECÇÃO DE SINAIS DE GARGALO GENÉTICO (BOTTLENECK) .....	50
7 DIVERSIDADE E ESTRUTURA GENÉTICA ENTRE JABOTICABEIRAS ADULTAS E JUVENIS .....	51
<b>8 DISCUSSÃO</b> .....	<b>57</b>
8.1 IMPACTOS DAS ANÁLISES DE DIVERSIDADE GENÉTICA PARA CONSERVAÇÃO DA ESPÉCIE .....	57
9 IMPLICAÇÕES PARA CONSERVAÇÃO DE <i>Plinia cf. peruviana</i> .....	68
<b>10 CONCLUSÃO</b> .....	<b>72</b>
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	<b>73</b>
<b>ÍNDICE DE APÊNDICES</b> .....	<b>83</b>

## 1 INTRODUÇÃO

As “Jaboticabeiras” (*Plinia* sp.) são plantas cultivadas, em todo Sul e Sudeste do Brasil, pelos seus deliciosos frutos. Em sua maioria, são cultivadas como plantas de fundo de quintal ou em pomares domésticos. A jaboticabeira pode ser encontrada em todo o país, produzindo melhor nos Estados de São Paulo, Minas Gerais, Rio de Janeiro, Paraná e Goiás (OLIVEIRA, 2002). Por ser considerada uma planta de “fundo de quintal”, com denominações bastante variáveis, observa-se na literatura grande confusão quanto à identificação botânica de diferentes espécies de jaboticabeira (MATTOS, 1983). Sendo assim a espécie do presente trabalho a *Plinia* cf. *peruviana* será assim denominada, com sua identificação a ser confirmar (cf.).

É uma espécie emblemática, de grande gosto da população e tipicamente brasileira. Contudo, a quantidade de informações sobre a jaboticabeira ainda é muito pequena, principalmente no que se referem as suas potencialidades na indústria alimentícia e farmacêutica. Esta apresenta grande potencial de comercialização, como para a fabricação de geléia, bebidas fermentadas, vinagre e licor de forma caseira, na região Sudoeste do Paraná são comercializadas na forma in natura às margens de rodovias, por famílias que coletam os frutos de plantas nativas (sistema extrativista), proporcionando renda adicional a essas famílias durante o período de colheita (setembro a novembro).

Além disso, esta espécie pode ser aproveitada pela indústria farmacêutica, devido seu alto teor de substâncias antioxidantes e alto teor de antocianinas (367 a 1419 mg 100 g<sup>-1</sup>) e flavonoides (196 a 571 mg 100 g<sup>-1</sup>) (DANNER et al., 2011). Estudos mostraram a eficiência das antocianinas e flavonoides encontradas em jaboticabas, no combate a radicais livres (LEITE-LEGATTI et al., 2012), na redução do colesterol (MOURA et al., 2018), diabetes (LENQUISTE et al., 2012) e nefropatia diabética (HSU et al., 2016). A presença de elevado teor de fibras, carboidratos, flavonoides, antocianinas e vitaminas (SANTOS et al., 2010; DANNER et al., 2011a;2011b; CAVALCANTI et al., 2011; MARQUETTI, 2014; DE ALMEIDA et al., 2018;), caracterizam a jaboticaba como alimento funcional.



No Sudoeste do Paraná as jaboticabeiras apresentam dispersão natural em cerca de 14 fragmentos florestais com áreas que variam de 1,6 a 78,3 ha. As jaboticabeiras adultas possuem variação média de 12,5 a 19,3 metros de altura e 32 a 54 cm de diâmetro do tronco totalizando 4.036 jaboticabeiras em 201,9 hectares (DANNER et al., 2010). Quase a totalidade destes locais se encontram como fragmentos de reserva legal de propriedades particulares, circundados por lavouras. Estes sofrem com a ação extrativista de colheita de frutos, além de outras ações como pastejo de gado e roçadas para auxiliar na colheita, as quais vêm comprometendo a regeneração natural nos renascentes florestais. Isso pode ocasionar grande risco de erosão genética, visto que foi observado baixo número de plantas jovens na maioria das populações.

Em função destes jaboticabais se encontrarem na condição de pequenos fragmentos isolados, faz-se importante os estudos genéticos, uma vez que este efeito torna-se prejudicial para a conservação, os quais podem ter ocorrido e ainda estarem ocorrendo nas populações estudadas. Estes efeitos decorrem porque os fragmentos são geralmente isolados uns dos outros por paisagens degradadas ou modificadas (PRIMACK e RODRIGUES, 2006). A fragmentação florestal causa redução do tamanho da população reprodutiva e da densidade populacional (efeito gargalo) das espécies vegetais e isto gera efeitos genéticos prejudiciais à evolução e à conservação, tais como: aumento da endogamia devido ao aumento da taxa de autofecundação e de cruzamentos entre indivíduos parentes; redução na distância de dispersão de pólen e sementes e na taxa de imigração de pólen e sementes (isolamento reprodutivo), e conseqüente redução da diversidade populacional por deriva genética (SEBBENN, 2006).

Os jaboticabais estão localizados em Ecossistema de Floresta com Araucária, que vem apresentando uma grave situação de desmatamento, em especial na região Sudoeste do Paraná (CASTELLA e BRITZ, 2004), isso torna grande o risco de erosão genética da jaboticabeira. Portanto as determinações dos parâmetros genéticos dos jaboticabais nativos do Sudoeste do Paraná influenciarão na coleta e na formação de bancos ativos de germoplasma, na conservação *in situ* e *ex situ* da espécie, auxiliando na futura recomendação de genótipos de jaboticabeira melhorados para cultivo aos agricultores familiares da região.

Além disso, já se observou no jaboticabal localizado no município de Vitorino, que há baixo número de indivíduos regenerantes, principalmente de tamanho intermediário entre plântulas e adultos, o que pode comprometer a sobrevivência da espécie em longo prazo (SALLA, 2016). Neste trabalho foram realizados estudos de Genética de Populações, nos jaboticabais do Sudoeste do Paraná, com a utilização de marcadores microssatélites (Simple Sequence Repeat - SSR), a fim de verificar a dinâmica da diversidade genética dentro e entre populações, fornecendo subsídios para a conservação, sobretudo de populações fragmentadas em subpopulações de tamanhos menores, o que pode ocasionar alterações em processos genéticos e ecológicos de uma população.

Devido aos resultados anteriores de genotipagem por microssatélites no jaboticabal de Vitorino (SALLA, 2016), têm-se como hipótese deste trabalho que as populações de jaboticabeiras se formaram por meio de um efeito fundador e que apresentam redução recente na diversidade genética (efeito gargalo), a qual ainda pode causar deriva genética e fluxo genético restrito, podendo aumentar ainda mais o isolamento e a divergência genética das populações e os efeitos de cruzamentos endogâmicos.

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 OBJETIVO GERAL

Verificar a organização e distribuição da variabilidade genética entre e dentro de seis populações de jaboticabeiras nativas do Sudoeste do Paraná, visando ampliar o entendimento da ecologia e demografia da espécie, de forma a subsidiar o manejo e conservação *in situ* e a coleta de germoplasma para a conservação *ex situ* da espécie.

### 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- a) Descrever os níveis de diversidade genética intra e interpopulacional de jaboticabeiras por meio de marcadores microssatélites;
- b) Estimar a contribuição relativa da migração de pólen e sementes na definição da estrutura genética das populações de jaboticabas;
- c) Estimar o fluxo gênico nas populações de jaboticabeiras.
- e) Propor estratégias de conservação para espécie com base em indicadores genéticos.

### 3 REVISÃO DE LITERATURA

#### 3.1 CONSIDERAÇÕES SOBRE AS JABOTICABEIRAS

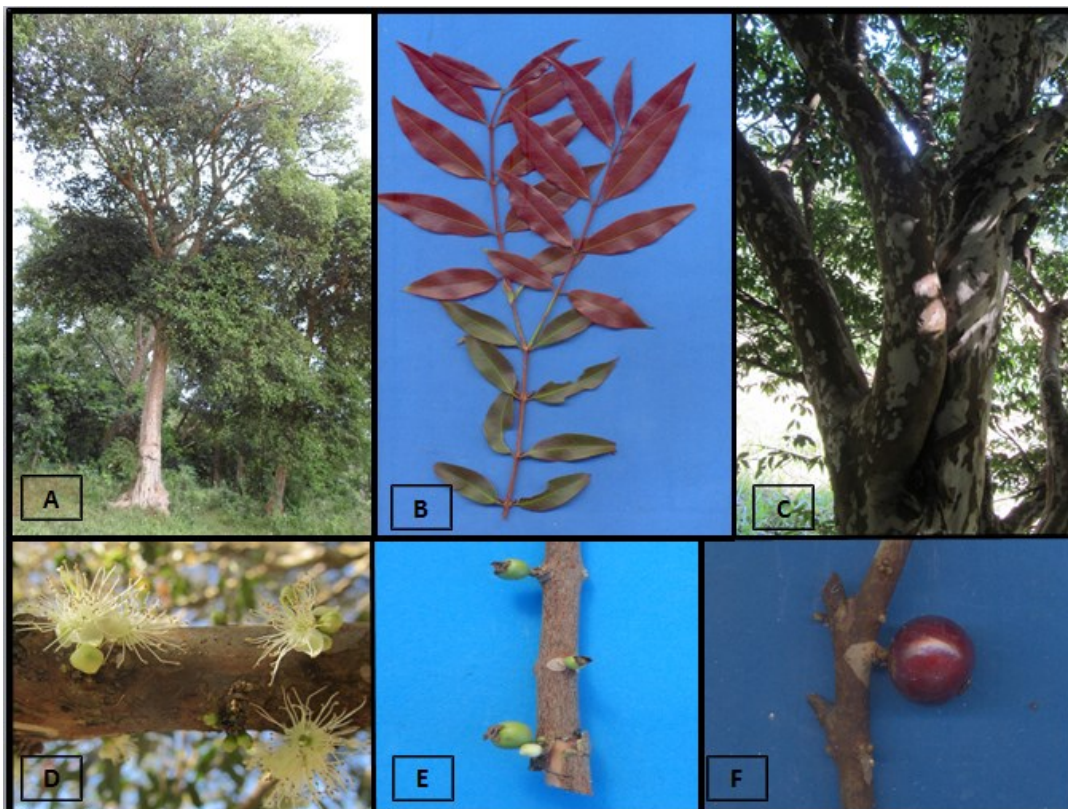
As jaboticabeiras pertencem à família Myrtaceae e são nativas das regiões Centro-Sul/Sudeste do Brasil. São conhecidas nove espécies, destas apenas três têm distribuição natural e são cultivadas no Brasil, *P. trunciflora* (Berg) Mattos, *P. cauliflora* (DC.) Berg., e *P. jaboticaba* (Vell.) Berg., (MATTOS, 1983; 1998). No entanto, são encontrados trabalhos utilizando o sinônimo *Myrciaria* ao gênero *Plinia* (VIEITES et al., 2011; VILELA et al., 2012). Houve uma alteração da nomenclatura do gênero *Myrciaria* para o gênero *Plinia*, proposta por Kausel (1956), sendo o gênero atualmente aceito como correto para as espécies de jaboticabeiras (SOBRAL et al., 2015).

Esta é considerada uma das frutas nativas mais conhecidas e apreciadas no Brasil, especialmente na Região Centro-Sul, participando do folclore nacional, em lendas e histórias infantis, as quais citam o consumo da fruta por jabutis e preguiças. Por certo, é a frutífera nativa mais cultivada, domesticamente, em quintais urbanos e rurais das regiões Sul e, notadamente, Sudeste do Brasil. Alguns autores a consideram como uma espécie do passado, inclusive, pré-colombiano, e do presente com um futuro promissor, se houver iniciativas para sua conservação (ANDERSEN et al., 1988, 1976; DUARTE et al., 1997a; VALDELY, 2011).

Nos jaboticabais da região Sudoeste do Paraná as Jaboticabeiras adultas apresentaram média de 15 metros de altura e 41 cm de diâmetro à altura do peito (DANNER et al., 2010). A folhagem é espessa e perenifólia, e no início da brotação as folhas apresentam coloração avermelhada. As flores apresentam coloração branca, e a floração ocorre em massa (tipo *big-bang*), quase todas as flores abrem ao mesmo tempo e isto ocorre das 3-5 horas da manhã. A floração ocorre de meados de agosto e início de setembro. Os frutos são do tipo bagas globosas de cor preto-arroxeadas, com diâmetro médio de 2,2 a 2,4 cm e peso médio

de 7,0 a 8,2 gramas (Figura 1). A polpa é branca e mucilaginosa, de sabor doce e apresenta de uma a quatro sementes, com média de 1,23 sementes por fruto. A maturação dos frutos ocorre de final de setembro à final de outubro, em um ciclo de desenvolvimento de 35-40 dias (DANNER et al., 2011 a, b, c).

**Figura 1** – Representação das estruturas da espécie (*Plinia cf. peruviana*). UTFPR, Pato Branco - PR, 2019.



**A.** Indivíduo Adulto **B.** Folhas jovens e velhas **C.** Detalhes do caule **D.** Flores abertura e botão floral **E.** Frutos verdes. **F.** fruto maduro.

**Fonte:** Salla (2019).

As abelhas africanizadas (*Apis mellifera*) são os principais insetos polinizadores da jaboticabeira (MALERBO-SOUZA et al., 2004). Em estudos realizados observou-se que as jaboticabeiras são autocompatíveis e podem ser autógamas (DANNER et al., 2011c; MALERBO-SOUZA et al., 2004; VILELA et al., 2012). O comportamento das abelhas na coleta de pólen permite que ocorra a autogamia (contato do pólen das anteras no estigma da mesma flor), à geitonogamia (contato do pólen de uma flor em outra da mesma planta) e a polinização cruzada (trazendo pólen de flores de outras plantas). Desta forma, as progênies oriundas de sementes de jaboticabeira podem ter uma mistura de irmãos de autofecundação,

meio-irmãos, irmãos-completos e irmãos de autofecundação e cruzamentos (FINKELDEY, 2005; SEBBENN, 2006). Além disso, as sementes de jaboticabeira apresentam poliembrionia (DANNER et al., 2011 a) pela formação de embriões por apomixia (assexuadamente), gerando plântulas clones da planta matriz.

A germinação das sementes da jaboticabeira pode ocorrer entre 10 a 40 dias após a semeadura (HARTMANN et al., 2002; DONADIO, 2000). Suas sementes são consideradas recalcitrantes (VALIO e FERREIRA, 1992) e em ambiente natural a viabilidade é de cinco dias (DANNER et al., 2011 a). Os principais agentes dispersores de sementes de jaboticabeira são aves e macacos (GRESSLER et al. 2006).

Acredita-se que o sistema de reprodução da jaboticabeira possa ser do tipo misto, onde as plântulas de uma progênie são geradas por mistura de embriões de autofecundação, de cruzamentos e de sapomixia. Quando buscamos entender as diversas espécies de jaboticabeira, sabe-se que suas sementes apresentam poliembrionia (DANNER et al., 2011; JÚNIOR et al., 2011; CAMPOS et al., 2012).

Mesmo sendo a poliembrionia evidente na espécie, não existem relatos sólidos que documentem a origem dessa característica na espécie. Fato que instiga a ampliação deste estudo com o uso de marcadores moleculares microssatélites, os quais auxiliam na detecção da taxa de plântulas geradas por apomixia, pois estas têm perfil genético idêntico à planta matriz. Trabalhos já apontam que a poliembrionia pode ser hipoteticamente o resultado do mecanismo apomítico em *Plinia sp.* (DANNER et al., 2011; CASSOL, 2013; VERNIER e CARDOSO, 2013).

A espécie também é muito utilizada como planta ornamental, devido à beleza da floração e frutificação no tronco e ramos - cauliflora (DEMATTÊ, 1997). Podendo ser utilizada pelas indústrias de cosméticos e farmacêuticos (ALVES, 2014). Contudo, devido à falta de informações sobre estas características funcionais e medicinais da espécie por parte da população torna-se grande o risco de erosão genética da jaboticabeira. Portanto a determinação dos parâmetros genéticos dos jaboticabais nativos do Sudoeste do Paraná influenciará na coleta e na formação de bancos ativos de germoplasma, na conservação in situ e ex situ da espécie, auxiliando na futura recomendação de genótipos de jaboticabeira melhorados para cultivo aos agricultores familiares da região.

### 3.2 CONSEQUÊNCIAS GENÉTICAS DA FRAGMENTAÇÃO FLORESTAL

A fragmentação florestal reduz o tamanho da população reprodutiva em longo prazo, podendo trazer consequências às espécies remanescentes no local (SAUNDERS et al., 1991; TURNER, 1996; FAHRIG, 2003). Como o aumento da taxa de autofecundação e cruzamentos correlacionados, redução na taxa de imigração de pólen e sementes (isolamento reprodutivo do fragmento), redução na distância de dispersão de pólen e sementes e redução da diversidade genética populacional (SEBBENN, 2006).

Os três efeitos genéticos mais claros da fragmentação são: a) perda de diversidade genética no nível de população e espécie; b) aumento da estrutura genética entre as populações e c) aumento da endogamia (YOUNG e BOYLE, 2000). A fragmentação reduz o tamanho das populações, ocasionando um efeito de gargalo na diversidade genética das espécies, pela redução no número de indivíduos nas populações. Esta redução pode causar a perda de alelos e redução na heterozigosidade (YOUNG et al., 1996). Isto afeta diretamente as futuras gerações das populações, com a redução do número de indivíduos reprodutivos, desencadeando a deriva genética no processo de recombinação dos gametas a cada geração.

Estes efeitos podem ser identificados através do estudo de genética de populações com o uso de marcadores moleculares. A diversidade genética pode ser caracterizada por meio de alguns índices como: porcentagem de locos polimórficos, número de alelo por loco ( $\hat{A}$ ), heterozigosidade esperada ( $H_e$ ) em equilíbrio de Hardy-Weinberg (EHW), heterozigosidade observada ( $H_o$ ) e índice de fixação ( $f$ ). Esses indicadores podem variar entre as populações de acordo com as taxas de mutação e recombinação, fluxo gênico, deriva genética, endocruzamentos e seleção natural (NEI, 1987). Altos níveis de diversidade genética em uma população natural garantem combinações genotípicas suficientes para manter o potencial evolutivo da espécie em decorrência de sua maior capacidade de adaptação a alterações ambientais (SEBBENN et al. 2000).

A deriva genética ocorre naturalmente em populações naturais, alterando as frequências alélicas de geração em geração (FUTUYMA, 2003). Porém,

é intensificada pela fragmentação florestal, diminuição do tamanho populacional, em poucos eventos reprodutivos pode fixar alelos comuns e excluir alelos raros, alterando as frequências em diferentes áreas (SOUZA et al., 2004; SEBBENN et al., 2011). Em longo prazo, as populações que permanecerem isoladas e pequenas por longas gerações ocorrem um aumento da estrutura genética espacial e, portanto, da endogamia por cruzamento entre parentes e, conseqüentemente, uma perda rápida de diversidade genética (SEBBENN, 2006).

Além da deriva genética, o isolamento pela fragmentação florestal limita o movimento de genes entre as populações remanescentes, ou seja, diminui o fluxo gênico via pólen e semente (SLATKIN, 1985; YOUNG et al., 1996; FAHRIG, 2003). O fluxo gênico tem por função a manutenção e/ou aumento da diversidade genética das populações. Quanto maior o fluxo gênico entre duas populações, menor a divergência entre elas (ROBLEDO-ARNUNCIO e GIL, 2005; FUCHS e HAMRICK, 2011). Em populações naturais e fragmentadas, é importante que se tenha altas taxas de fluxo gênico, assim há o aumento da diversidade genética e do tamanho efetivo dentro das populações (BURCZYK et al., 2004; BITTENCOURT e SEBBENN, 2007). O fluxo gênico via pólen e sementes é um dos fatores mais importantes, influenciando a estrutura genética de populações de espécies arbóreas (SMOUSE et al., 2001, SMOUSE e SORK, 2004, ROBLEDO-ARNUNCIO e GIL, 2005, SORK e SMOUSE, 2006).

Sob o ponto de vista evolutivo, o fluxo gênico é um processo migratório, compondo juntamente com a mutação e a seleção, os fatores essenciais para a evolução das espécies. Esse processo aumenta a variabilidade dentro das populações, pela introdução de novos alelos, que podem conferir novas características às populações. Uma vez que a seleção natural atua juntamente com o fluxo gênico, estes novos alelos somente permanecerão na população se conferirem alguma vantagem adaptativa a mesma (SCHUSTER, 2013).

Para as análises de variação genética em populações são utilizados marcadores moleculares e, em sua maioria, os microssatélites, com elevado poder de diferenciação entre indivíduos (altamente polimórficos) (HEDRICK, 2011). Em jaticabeiras, são limitados os trabalhos na literatura com aspectos de genética de populações com o uso de marcadores moleculares. Foram encontrados estudos, comparando quatro espécies de jaticabeira, usando marcadores moleculares



RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*), observando variação entre as espécies que podem auxiliar na sua classificação botânica (PEREIRA et al., 2005).

Os trabalhos mais recentes para a espécie utilizando marcadores moleculares microssatélites (SSR) foram realizados por Martins (2013), que caracterizou o Banco Ativo de Germoplasma de jaboticabeiras instalado na UTFPR - Campus Dois Vizinhos, composto por três espécies de jaboticabeiras nativas do Brasil. E por Salla (2016), avaliando a diversidade genética de uma população nativa de *Plinia cauliflora*, na região Sudoeste do Paraná.

Por isso, gera-se maior preocupação, pois na região, genótipos de jaboticabeira estão desaparecendo antes mesmo que se tenha conhecimento básico de sua biologia, antes que esta fruteira torne-se ameaçada de extinção. Os bancos de germoplasma de jaboticabeiras existentes no Brasil restringem-se a pequenas coleções de plantas em alguns órgãos de pesquisa. Portanto, a conservação *in situ* e *ex situ* e a caracterização dos recursos genéticos dessas espécies são pontos fundamentais nas estratégias de minimizar os danos já causados e aumentar a exploração dessa fruteira em cultivos comerciais.

### 3.3 GENÉTICA POPULACIONAL E SISTEMAS DE REPRODUÇÃO

A genética populacional pode ser entendida como o conjunto de indivíduos que compartilham o mesmo “*pool*” gênico, ou seja, os genes são transmitidos para gerações futuras através da reprodução (hereditariedade) (FRANKHAM, 2002; HARLT e CLARK 2006; HAMILTON, 2009; HEDRICK, 2010). Esta ciência busca estudar o comportamento dos genes em populações naturais, de modo que estes não sofram influência humana, proporcionando a mistura de genótipos, cruzamentos aleatórios, com vista à conservação da variabilidade genética (HARTL e CLARK, 2010).

Em populações naturais, a estrutura genética populacional é afetada pela densidade populacional, relação entre indivíduos e o ambiente, interações entre indivíduos e populações locais. Geneticamente, é classificada pela variabilidade morfológica e quantitativa que ocorre entre os indivíduos, pelo seu sistema reprodutivo, pelos padrões de fluxo gênico, proporcionando a homogeneização e a

composição genética entre as populações, por tanto, se este for o único fator operante, todas as populações irão apresentar as mesmas frequências alélicas (MARTINS, 1987; FUTUYMA, 1992).

O sistema de reprodução determina a forma como as plantas recombina seus genes a cada geração para formar a população descendente. Como consequência, afeta os níveis de endogamia e de diversidade genética da espécie. O conhecimento do sistema de reprodução é de fundamental importância no melhoramento genético, principalmente para a coleta e produção de sementes melhoradas de espécies florestais (SEBBENN, 2006). O conhecimento do fluxo de pólen e do sistema de reprodução de espécies florestais é de fundamental importância na conservação e no melhoramento genético, pois afeta os níveis de endogamia e de diversidade genética.

Estudos do sistema de reprodução e do fluxo de pólen podem ser conduzidos para conhecer qual é a taxa de cruzamento, taxa de autofecundação, a proporção de cruzamentos entre indivíduos parentes (cruzamentos endogâmicos), ou que envolvem os mesmos parentais mais de uma vez (cruzamentos biparentais), o número de doadores de pólen envolvidos na reprodução de uma planta, a distância de dispersão do pólen e das sementes e a taxa de imigração de sementes nas populações da espécie. Tais estudos podem ser eficientemente realizados com a utilização de marcadores moleculares codominantes e altamente polimórficos, tais como os marcadores microssatélites, comparando a planta matriz com sua progênie (SEBBENN, 2006). Nestas análises é necessário também utilizar modelos genéticos para descrever padrões de reprodução, como o modelo misto de cruzamentos (RITLAND e JAIN, 1981) e o modelo de cruzamentos correlacionados (RITLAND, 1989).

O aspecto mais importante para definir de maneira precisa o sistema de reprodução de uma espécie florestal é através da correta caracterização do seu sistema reprodutiva biológica. Espécies dióicas (árvores com sexos separados) se reproduzem sempre por cruzamentos. Por outro lado, as plantas monóicas podem apresentar mistura de cruzamentos e autofecundação (SEBBENN, 2006). Ressalta-se que os processos que envolvem a transferência de pólen entre diferentes flores, independente se as flores são da mesma ou de diferentes plantas, é conhecido como alogamia. Por isso, uma planta alógama não necessariamente é de

cruzamentos, pois todos os filhos podem ter sido gerados por geitonogamia (SEBBENN, 2006).

Para a espécie de jaboticabeiras ainda é necessário verificar se a polinização ocorre preferencialmente por autogamia, geitonogamia ou por xenogamia. A geitonogamia tem mesma consequência genética que a autogamia, pois é uma autofecundação e gera endogamia. Por sua vez, a xenogamia pode gerar maior diversidade genética na progênie, pois pode formar combinações de alelos não existentes nos genitores (SEBBENN, 2006).

Com relação ao sistema de reprodução, Danner et al. (2011b) e Vilela et al. (2012) verificaram que quatro espécies de jaboticabeira (*Plinia cauliflora*, *P. trunciflora* e *P. jaboticaba* e *P. coronata*) foram autocompatíveis, comparando-se a frutificação efetiva de flores isoladas e não isoladas. Apesar disso, o potencial de hibridação cruzada pode ser alto, uma vez que a visitação de insetos aumenta a produção de frutos (DANNER et al., 2011b). Porém, ainda faltam informações sobre a taxa de cruzamentos e de autofecundação da jaboticabeira em ambiente florestal.

### 3.4 CONSERVAÇÃO DE ESPÉCIES ARBÓREAS

Qualquer programa de melhoramento ou conservação de recursos genéticos, com a intenção de dar condições efetivas para a manutenção de espécies nativas, depende do conhecimento da ocorrência do fluxo gênico, do sistema reprodutivo da espécie e da variabilidade genética existente nas populações (NASS et al., 2001). Portanto, o conhecimento dessas características genéticas, visando traçar estratégias de manutenção da diversidade genética de interesse atual e o potencial para a utilização econômica e sustentável é fundamental para o sucesso de conservação de uma espécie.

Deste modo as coleções de germoplasma podem ser utilizadas como um método de conservação *in situ* e *ex situ*, a fim de aumentar a variabilidade genética de determinada espécie (NASS, 2007). De tal modo, quando se almeja manipular coleções de germoplasma em programas de melhoramento e conservação genética, uma das principais informações a serem obtidas é o conhecimento do sistema reprodutivo da espécie (RITLAND e JAIN, 1981;

OLIVEIRA et al., 2002). Este permite a regulação e a distribuição da diversidade genética entre e dentro de progênies, populações e das subdivisões de uma população (HAMRICK, 1987). Além disso, este pode ter inferência na dinâmica de estruturação genética populacional, bem como na heterogeneidade espacial dentro das populações e no grau onde as populações podem ser subdivididas geneticamente em consequência da seleção e da deriva genética (SEOANE et al., 2005).

Para obtenção da estimativa da endogamia e a taxa de cruzamento ou de autofecundação de forma eficiente é necessário analisar o sistema reprodutivo de um conjunto de progênies através do uso de marcadores genéticos (CLEGG, 1980). Neste aspecto os marcadores moleculares microssatélites se destacam, por permitirem quantificar o processo de transmissão de genes entre plantas, e também descrevem esta transmissão de genes entre gerações, permitindo assim uma ampla cobertura genômica para a espécie (OLIVEIRA et al. 2002).

Segundo Donadio (2000) a criação de bancos de germoplasma da espécie tanto em *in situ* quanto *ex situ*, pode ser uma solução para manter a espécie, porém estes se restringem a pequenas coleções de plantas em alguns órgãos de pesquisa. Deste modo, na conservação *in situ* as espécies são deixadas em seus habitats naturais de origem, de forma a garantir a proteção dos genes destas espécies, porém faz-se necessário preservar o ecossistema inteiro. Para que este meio de conservação se torne eficiente, é necessário se ter conhecimento científico da biologia reprodutiva da espécie que se deseja conservar, da ecologia e padrão de distribuição das mesmas. Estas informações são importantes, pois sem elas o pesquisador não saberia qual seria o tamanho da área a garantir a sobrevivência da espécie (BURLEY e NAMKOONG, 1980).

A conservação *ex situ* refere-se a genes ou complexos de genes em condições artificiais fora de seu habitat original. A conservação do material genético, para este método, pode ser feita através de coleções permanentes de pólen, sementes, cultura de tecidos e plantas vivas (pomares, jardins botânicos e arbóreos). Deve-se então levar certas espécies de seu habitat original e colocá-las numa coleção *ex situ* da qual se baseia em uma estimativa do valor potencial das espécies e um conhecimento satisfatório sobre elas, para que se possa assim

garantir sua sobrevivência em condições controladas (BURLEY e NAMKOONG, 1980; ZOBEL e TALBERT, 1984).

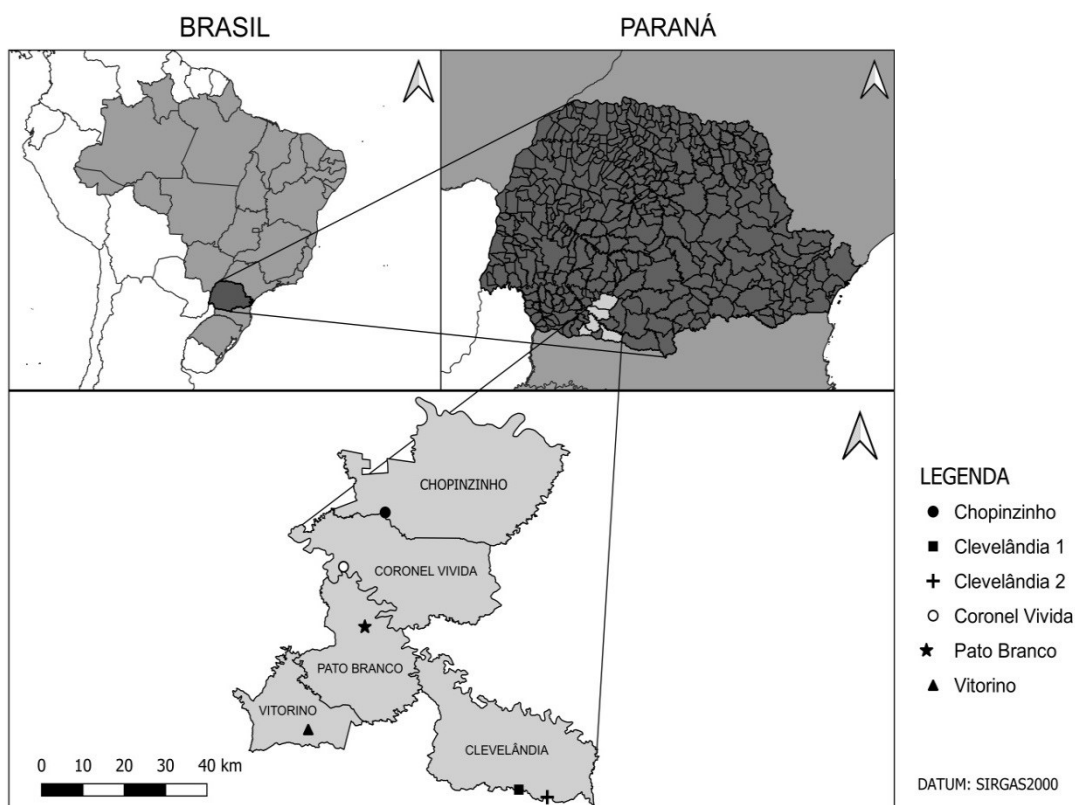
Atualmente não há propostas de conservação *in situ* para jaboticabeira e há poucas coleções de conservação *ex situ*, uma delas está na UTFPR, *Campus Dois Vizinhos*. Portanto, é necessário desenvolver a conservação e o melhoramento genético da espécie, pois com a fragmentação de habitat ocasionado através da urbanização assim como pouco habito cultural mantido entre as novas gerações, denotam esta importância de conservação.

## 4 MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1 ÁREA DE ESTUDO E AMOSTRAGEM

O presente estudo foi conduzido em seis diferentes fragmentos de Floresta de Araucária, contendo jaticabeiras nativas, na região Sudoeste do Paraná (Figura 2). Estas foram catalogadas no herbário da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, *campus* Dois Vizinhos, com número de registro (COR: DVPR 5838; CV1: DVPR 5546; CV2: DVPR 5545; PB: DVPR 6440; CHP: DVPR 5547 e VIT: DVPR 5548) respectivamente.

**Figura 2** - Localização dos remanescentes de *Plinia cf. peruviana* em seis municípios no Sudoeste do Paraná. UTFPR, Pato Branco - PR, 2019.



Fonte: SALLA, (2019).

Os remanescentes foram escolhidos conforme informações contidas em Danner et al. (2010) (Quadro 1). Devido à supressão das matas, estes se

encontram na condição de pequenos fragmentos florestais circundados por lavouras de grãos (soja/milho) e pastagens para alimentação de bovinos leiteiros.

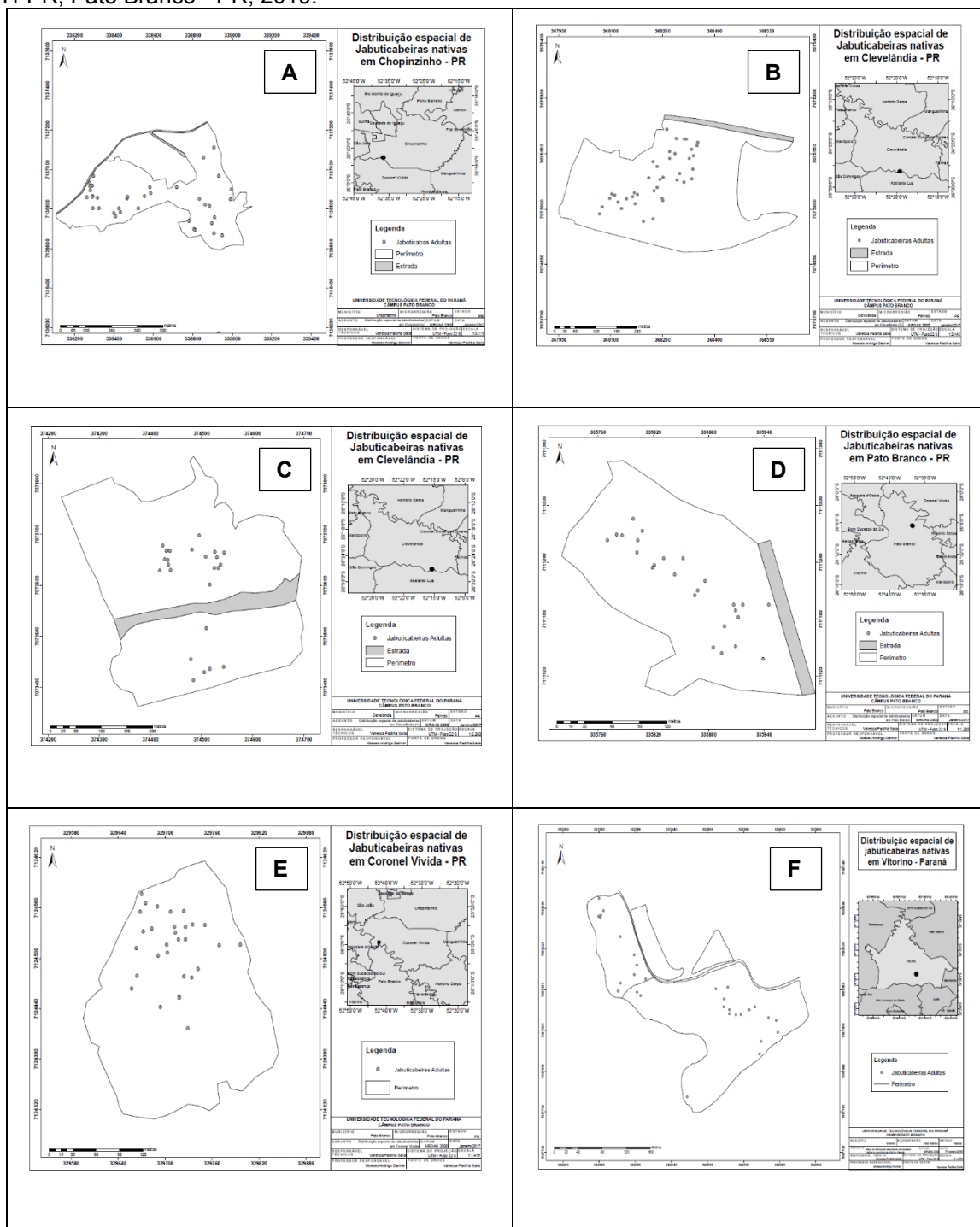
**Quadro 1** – Locais coordenadas geográficas, elevação (m), número total de jaboticabeiras adultas e número de indivíduos coletados nos seis remanescentes florestais localizados na região sudoeste do Paraná. UTFPR, Pato Branco - PR, 2019.

<b>Sítio de ocorrências (Nomenclatura)</b>	<b>Coordenadas Geográficas</b>	<b>Número Total plantas por área e indivíduos coletados</b>	<b>Densidade (plantas/ha)</b>
Fazenda Jaboticabal - Chopinzinho	25°52'35,6" S; 52°36'28,4" W 859 m	1400 (40)*	59,6
Marcolina – Coronel Vivida	25°59'20 " S, 52°45'05" W 577 m	320 (30)*	65,3
Klein – Clevelândia (1)	26°27'7,2" S; 52°15'36,2" W 1005 m	930 (40)*	75,6
Guimarães – Clevelândia (2)	26°27'7,2" S; 52°15'36,2" W 1005 m	70 (25)*	40,6
Zini - Pato Branco	26°06'34,4" S; 52°38'28,9"W 713 m	130 (25)*	46,4
José Silva - Vitorino	26°19'0,9" S, 52°46'42" W 818 m	241 (30)*	45,8

\*Número de indivíduos coletados para realização do presente trabalho.

Para este estudo foram coletadas folhas recém-expandidas e sadias de jaboticabeiras adultas (Figura 3), com distância mínima de 20 metros uma das outras, com total de 190 plantas (Quadro 1), ambas foram armazenadas em sacos plásticos contendo sílica gel. Todas as plantas amostradas foram mapeadas (coordenadas UTM – Universal Transversa de Mercator - com uso de GPS de navegação), mensuradas (altura e diâmetro) e genotipadas.

**Figura 3** – Mapas dos seis fragmentos florestais de jaboticabeiras na Região Sudoeste do Paraná. UTFPR, Pato Branco - PR, 2019.



**A.** Chopinzinho; **B.** Clevelândia1; **C.** Clevelândia 2; **D.** Pato Branco; **E.** Coronel Vivida e **F.** Vitorino. Na região sudoeste do Paraná. Fonte: SALLA, (2019).



## 4.2 EXTRAÇÃO DE DNA E GENOTIPAGEM POR MICROSSATÉLITES

A extração de DNA e a análise por microssatélites foram conduzidas no Laboratório Centro Interdisciplinares de Pesquisa em Biotecnologia da Universidade Federal do Pampa, em São Gabriel, Rio Grande do Sul. Das folhas desidratadas realizou-se a extração do DNA com o Kit *NucleoSpin® Plant II*, conforme o protocolo do fabricante (*Machereu-Nagel*). O DNA foi quantificado em espectrofotômetro NanoVue™ Plus (GE Healthcare), e a qualidade do DNA foi avaliada por eletroforese em gel de agarose 1,5%, sendo então diluído à concentração de 5 ng  $\mu\text{L}^{-1}$  e estocado em freezer (-18 °C).

Foram utilizados dez locos microssatélites (Tabela 1), desenvolvidos de uma biblioteca genômica de jaboticabeira (*Plinia sp.*) no laboratório de Fisiologia do Desenvolvimento e Genética Vegetal, da Universidade Federal de Santa Catarina (LFDGV) (MACHADO et al., 2014). As reações de amplificação do DNA via reação em cadeia da polimerase (PCR), foram realizadas com volume total de 12  $\mu\text{L}$ , contendo 2  $\mu\text{L}$  de DNA, 0,5  $\mu\text{L}$  de iniciador Pst fluorescente, 0,2 mM de cada dNTP, 0,2  $\mu\text{M}$  de cada *primer* microssatélite e 0,8 U da enzima *Taq polimerase* (GENET BIO Prime Taq DNA Polymerase, Daejeon, Korea) em tampão 10X (100 mM KCl; 0,5 mM EDTA; 20 mM Tris-HCl, pH 9,0; 0,1 mM DTT; 0,5% Tween 20; 0,5% Nonidet P-40; 20 mM de  $\text{MgCl}_2$ ; 50% glicerol). O iniciador Pst-GAG foi marcado com AlexaFluor® 680 nm (Invitrogen).

As amplificações foram realizadas usando Thermal Cycler C1000™ com o seguinte programa: desnaturação inicial do DNA a 95 °C por 3 minutos, seguido de 35 ciclos de 95 °C (desnaturação) por 30 segundos, temperatura de anelamento (56 °C a 62 °C) por 30 segundos e 72 °C (polimerização) por 30 segundos, seguido da extensão final a 72 °C por 10 minutos. Os produtos de amplificação foram submetidos à eletroforese em gel de agarose 1,5% e a visualização em transiluminador sob luz ultravioleta, para verificar a efetividade da PCR. As amostras foram mantidas a 4 °C.

**Tabela 1** - Informações dos locos microssatélites utilizados no estudo. UTFPR, Pato Branco - PR, 2019.

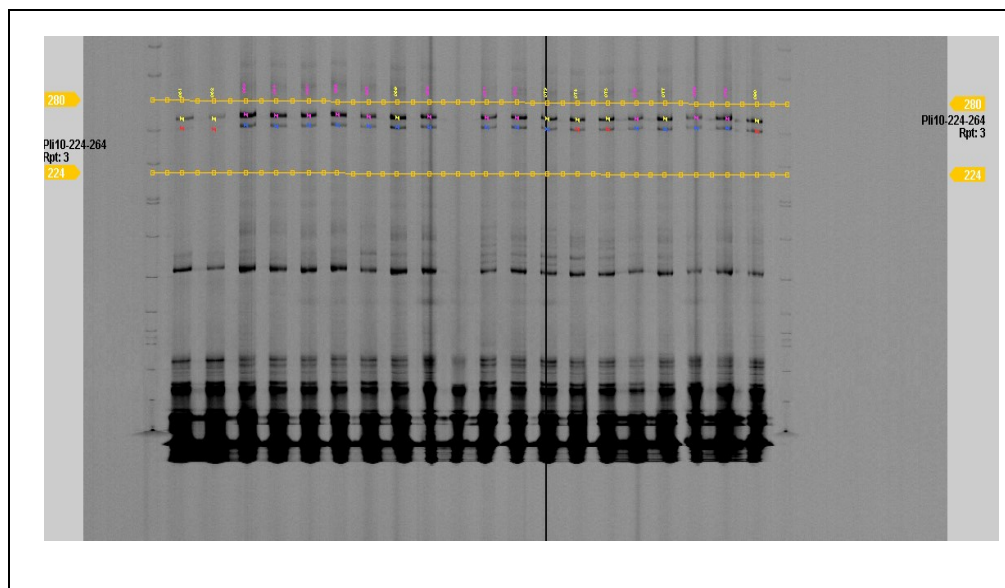
Locos	Sequência*	T (°C)	Tamanho esperado (pb)
Pli_01	F:GAGAGCCGCGAAATTAACAG R: ATGCGTTCAGCGACCATAG	62	130-170
Pli_02	F: CATCGGCTTACGCTTCTTTC R:CTCGCTCGCTCTCTCAATCT	62	136-176
Pli_05	F: CGCGTGGACCTAACATTAA R: CAAGAGGTTTCATTCCCATG	59	151-191
Pli_09	F: GTGATCCTCCTTGCTTACGC R: GGCACGACGCATAAAGAGTA	56	152-192
Pli_10	F: TGGCTGAGGTTTACTCGTGA R: AACGAAAGATGAGGCACTGA	62	222-264
Pli_12	F: CAACCTGCCACGTAGTTCAA R:TGGGAGAGGACTGTGAAACC	62	169-209
Pli_15	F: GCCGTCTCCTACACCAGATT R:CTGTATGTTGATGTCGGTGCT	56	165-205
Pli_16	F: TCGCATTATTTGAAGCCAGA R: TTCCTCGCCCTTAACTCTGT	59	167-207
Pli_18	F: CTCCTCATCGCTCACTCTCC R:CACCCTCAAGCAACCTACCA	62	188-228
Pli_19	F: CTCCTCATCGCTCACTCTCC R: CACCCTCAAGCAACCTACCA	55	145-185

T (°C): temperatura de anelamento. Todos os alelos tem o motivo de repetição dinucleotídeos, com exceção de PLI\_02 e PLI\_10 (trinucleotídeos). Para o (F)\* de cada primer foi acrescentada 18 pb (TGT AAA ACG ACG GCC AGT) devido a marcação Pst fluorescente. Ambos tiveram eletroforese individual.

Fonte: SALLA, (2019).

A genotipagem foi realizada por eletroforese capilar, com a determinação de faixa com intervalo em relação ao tamanho esperado do primer variando de (30 bases para menos e 30 bases para mais) para identificação dos alelos de acordo o tamanho esperado de cada alelo para aquele loco (Tabela 1 e Figura 4), em sequenciador, DNA-Sequencer® Li-Cor 4300L automatizado (Li-Cor Inc.) e automaticamente marcados e analisados no SAGAGT Software®. A reação foi realizada através de gel de poliácridamida com, 24 ml de TBE 5X, 5,75 ml de ACRYLAMIDE/BIS 19:1 40%(W/V) SOLUTION, 173 µL de APS (Persulfato de Amônia) e 33 µL de Temed (N,N,N',N'- Tetrametiletilenodiamina). Com uma corrida com duração de uma hora e trinta minutos, temperatura de 45,1 °C, voltagem de 1499,4 V, corrente de 32,3 mA e um final de 48,4 W.

**Figura 4:** Gel de Poliacrilamida com intervalos para determinação de regiões específica do marcador microssatélite. UTFPR, Pato Branco - PR, 2019.



Fonte: SALLA, (2019).

#### 4.3 ANÁLISES DA DIVERSIDADE GENÉTICA ENTRE JABOTICABEIRAS NATIVAS NO SUDOESTE DO PARANÁ

Para os padrões de diversidade genética das seis populações foram avaliados: número de alelos ( $A$ ) por locos, número efetivo de alelos ( $A_e$ ), heterozigosidade observada ( $H_o$ ), heterozigosidade esperada ( $H_e$ ) e coeficiente de endogamia ( $f$ ) de Weir e Cockerham (1984), através do software GENALEX 6.5 (PEAKALL e SMOUSE 2006, 2012). O significado estatístico de  $f$  foi com base em valores de Jackknife após 1200 permutações usando a versão do software FSTAT 2.9.3 (GOUDET, 2001).

Foram calculadas as frequências de alelos privados por população e locos com o software GENALEX 6.5 (PEAKALL e SMOUSE 2006, 2012). E a frequência de alelos em todos os locos foi calculada e classificada em três categorias de frequência: (a) baixa ( $p < 0,05$ ); b) intermediária ( $0,05 < p \leq 0,25$ ); e (c) alta ( $p > 0,25$ ). Os alelos exclusivos e fixados para cada população também foram identificados (WRIGHT, 1965).

Para a estimativa do tamanho efetivo populacional foi utilizada a equação proposta por Li (1976):

$$\widehat{N_e} = \frac{n}{1 + \hat{f}}$$

Em que  $n$  é o número de indivíduos analisados na população e  $\hat{f}$  o índice de fixação.

Com base no  $\widehat{N_e}$  de cada população, foi estimado o número mínimo de árvores de sementes a serem amostradas, conforme proposto por Sebbenn (2002). Portanto, a razão entre a amostra tamanho ( $n$ ) e o  $\widehat{N_e}$  de cada população foi multiplicado por 50, 100 e 500.

#### 4.4 ANÁLISE DA ESTRUTURA GENÉTICA POPULACIONAL

A fim de investigar a estrutura das populações, análogas às estatísticas  $F$  de Wright, foram definidas grupos *a posteriori*, para a análise da variância molecular (AMOVA). Também foi implementado um modelo bayesiano (PRITCHARD et al., 2000). Nesta análise, os genótipos multilocos individuais são atribuídos de forma probabilística para um número definido  $K$  de clusters, de acordo com um determinado coeficiente de associação, ou em vários grupos com Coeficientes de associação resumidos a um grupo.

A análise bayesiana da estrutura populacional foi realizada usando a não mistura, sendo utilizadas 10.000 simulações de Cadeias de Markov Monte Carlo com *burn in* de 50.000, modelo de ancestralidade *admixture* usando o software STRUCTURE versão 2.1 (PRITCHARD et al., 2000). O número de  $K$  foi definido a partir de 1 a 20 e dez repetições foram executadas para cada  $K$ . O melhor número de clusters  $K$  foi selecionado usando a abordagem sugerida por Evanno et al. (2005). Este método é baseado na computação de  $\Delta K$ , a taxa de mudança de segunda ordem da probabilidade função em relação a  $K$ , e é assumido como confiável quando os valores de  $\ln(X | K)$  aumentam continuamente com o número de clusters.

Além disso, a relação entre as populações foi analisada por meio de uma análise de cluster usando o algoritmo UPGMA com base na distância genética de Nei (NEI et al. 1983), estimado com o software POPULATIONS 1.2.28

(LANGELLA 2002). Os valores de Bootstrap foram obtidos após 1.000 permutações sobre loci. A diferenciação de população emparelhada também foi calculada como R.S.T tendo em consideração as diferenças no tamanho do alelo (SLATKIN 1995) usando o software ARLEQUIN 3.01 (EXCOFFIER et al., 2005).

Uma análise não hierárquica Locos-por-Locos da variância molecular (AMOVA, EXCOFFIER et al., 1992), implementada no ARLEQUIN 3.01, foi aplicada para estimar a diferenciação entre populações (teste de significância em 10.000 permutações de genótipos de microsátélites) e dentro da diferenciação da população. Com base nos resultados obtidos com a distância genética de Nei e as análises de agrupamento bayesiano, foi realizada uma análise hierárquica de AMOVA, definindo três grupos de populações posteriores (Clevelândia 2, Coronel Vivida e Pato Branco; Clevelândia 1 e Chopinzinho; e Vitorino).

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

Para caracterização do fluxo gênico inter e intra-populacional, foi calculada as taxas de migração através da estrutura bayesiana baseada na teoria coalescência (BEERLI e FELSENSTEIN 1999) no software MIGRATE 2.1.2 (BEERLI, 2004). Os modelos baseados em coalescência levam em consideração as diferenças nos tamanhos de população, permitindo a computação do fluxo de genes direcionais. A quantidade de fluxo de genes foi estimada como,  $N_m = M \times \theta_i / 4$ , onde  $M = m / \theta_i \times \mu$  é a taxa de imigração escalada e  $\theta_i = 4 \times N_e \times \mu$  é o tamanho da população receptora condicional na genealogia subjacente. É importante notar que a taxa de mutação desconhecida ( $\mu$ ) é absorvida nos parâmetros  $\theta_i$  e  $M$ , que foram inicialmente gerados a partir de cálculos  $F_{st}$ .

Os cálculos foram realizados assumindo taxas de mutação constantes para todos os loci, usando um modelo de mutação de movimento browniano. As simulações de Monte Carlo em cadeia de Markov foram executadas usando 30 cadeias curtas (10.000 genealogias amostradas, 500 genealogias registradas por cadeia) e cinco cadeias compridas (100.000 genealogias amostradas, 5.000

genealogias registradas por cadeia). Um "esquema de aquecimento" adaptativo foi usado para procurar genealogias compatíveis adicionais usando quatro cadeias com temperaturas de início 1.0, 1.5, 3.0 e 100.000.

Para o fluxo de genes intra-população foi computado usando o software SPAGEDI 1.4 (HARDY e VEKEMANS 2002). O coeficiente de endogamia ( $f$ ) foi estimado para cada população como um coeficiente de parentesco entre cópias de genes em indivíduos. A significância estatística de  $f$  foi determinada por meio de 10 mil permutações de cópias de genes entre indivíduos, independentemente para cada locus. A Estrutura Genética Espacial (EGE) de escala fina foi analisada em cada população usando o coeficiente de parentesco ( $F_{ij}$ ) de acordo com Loiselle et al. (1995).

A relação de similaridade genética e distância geográfica entre indivíduos foram calculadas para cada população com a inclinação de regressão ( $b_f$ ) dos coeficientes de parentesco em distâncias log-transformadas. O erro padrão foi estimado usando o método jackknife. Além disso, a estatística  $S_p$  (VEKEMANS e HARDY 2004) foi calculada para cada população, com base na inclinação de regressão dos coeficientes de parentesco como  $S_p = -b_f / (1 - F_1)$ , onde  $F_1$  é o coeficiente de parentesco médio entre indivíduos pertencentes a primeira classe de distância. Esta medida deve resumir a intensidade da EGE, permitindo uma comparação quantitativa entre espécies ou populações (VEKEMANS e HARDY, 2004). A significância estatística de  $F_1$  e  $b_f$  foi determinada através dos limites superior e inferior do intervalo de confiança de 95% de  $F_{ij}$  definido após 10.000 permutações de indivíduos entre locais.

#### 4.5 DETECÇÃO DE GARGALO GENÉTICO

Foi testado o excesso de heterozigosidade, a fim de detectar os gargalos populacionais recentes usando o programa *Bottleneck* 1.2.02 (CORNUET e LUIKART 1996; PIRY et al. 1999). Este teste é somente sensível aos distúrbios muito recentes e é baseado na expectativa de populações que experimentaram um *bottleneck* recente exibem uma mais rápida redução da diversidade alélica do que de heterozigosidade. (Utilizando os modelos de mutação: (step-wise mutation –

SMM), Modelo simples de mutação, onde em cada mutação ocorre o ganho ou a perda de um repetição; e (Two Phase Model) - TPM), modelo de duas fases de mutação, foram considerados 70%TPM. Pollegioni et al. (2009) determinou que o TPM refletia com maior precisão a mutação mecanismo dos locos microssatélites utilizados neste estudo. A significância do excesso de diversidade genética ( $H_e > H_{eq}$ ) foi avaliada por meio do teste de Wilcoxon por ser robusto quando utilizado para poucos locos (< 20) (PIRY et al., 1999), baseando-se em 1.0000 replicações.

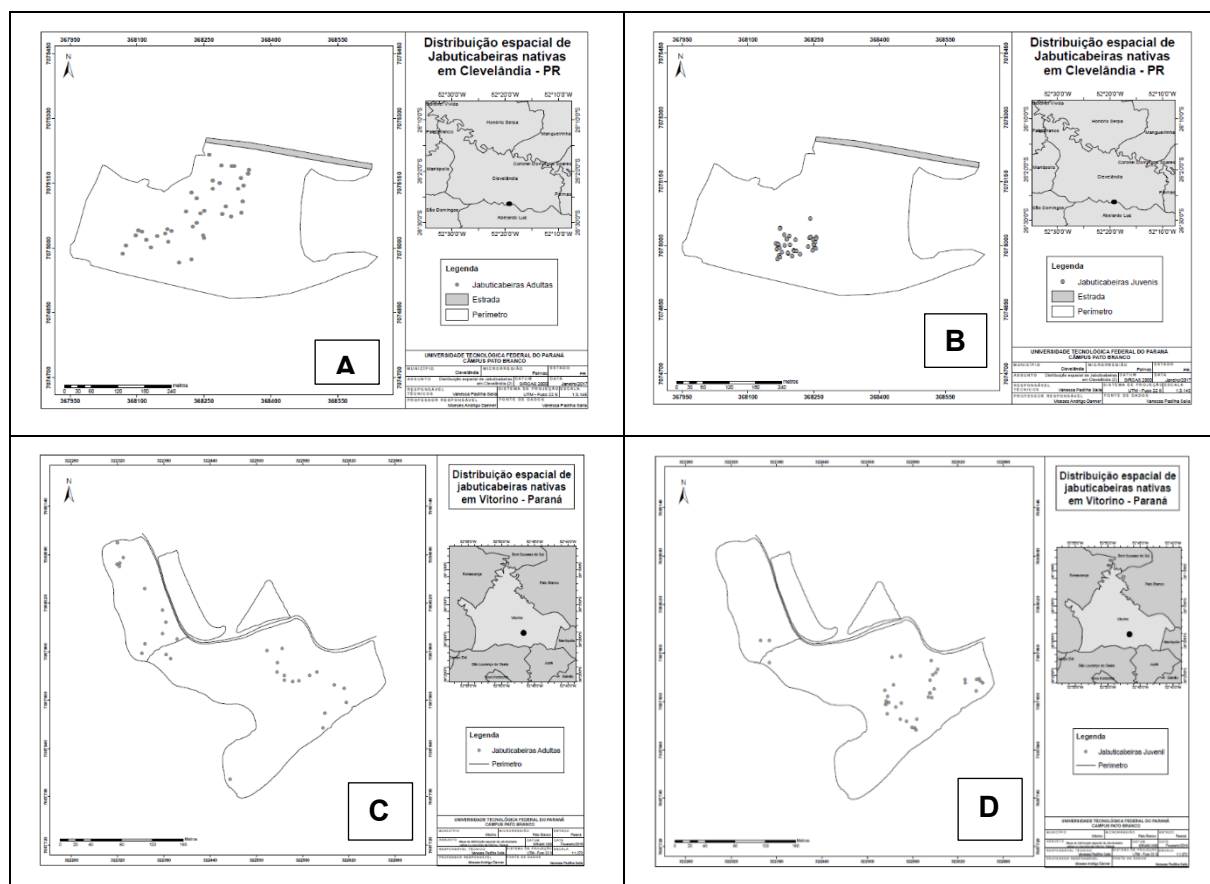
Também foi aplicado o teste do índice modificado de Garza-Williamson (M-ratio test) usando o software Arlequin v3.5.1.2 (EXCOFFIER e LISCHER 2010). O método compreende a análise da razão entre o número total de alelos (k) e o intervalo global no tamanho do alelo (r) como:  $M = k/r$ . O qual é capaz de reter a assinatura do *bottleneck* por um longo tempo, e tem como expectativa que o número de alelos declina mais rápido que a distribuição do alelo durante o *bottleneck* (GARZA e WILLIAMSON 2001; PEERY et al. 2012). Calculado então as M-ratios médios em todos os locos para cada população. Esses valores médios foram comparados com, M-ratio menores que 0,68 (valor crítico) sugerindo a ocorrência de *bottleneck* na população presumindo que uma população sofreu uma redução recente no seu tamanho (GARZA e WILLIAMSON 2001).

## 5 DIVERSIDADE E ESTRUTURA GENÉTICA ENTRE JABOTICABEIRAS ADULTAS E JUVENIS

Foi estimada a diversidade genética e a estrutura genética espacial de duas populações de jaboticabeiras, contento indivíduos adultos e juvenis, a fim de verificar se havia diferença ou semelhança no comportamento da diversidade e EGE, entre as duas classes de plantas.

Para está análise foram amostradas duas gerações de duas populações, Clevelândia1, sendo coletados 40 indivíduos adultos e 40 indivíduos juvenis e Vitorino, coletados 30 indivíduos adultos e 40 indivíduos juvenis (Figura 5). Sob as mesmas condições de armazenamento e mapeamento das seis populações. Para a diferenciação das árvores adultas de juvenis, foram observadas á presença de estruturas reprodutivas (flores e/ou frutos) ao longo do tronco.

**Figura 5** – Mapa dos dois fragmentos florestais adultos e juvenis de jaboticabeira na região sudoeste do Paraná. UTFPR, Pato Branco - PR, 2019.



**A.** Clevelândia1, indivíduos adultos; **B.** Indivíduos juvenis, **C.** Vitorino, indivíduos adultos; **D.** indivíduos juvenis.

Fonte: SALLA, (2019).

A extração de DNA e genotipagem das amostras das folhas foram realizadas conforme o tópico (4.0). As análises foram realizadas conforme os tópicos (4.3) e (4.4) somente a estrutura genética espacial, já descrita anteriormente.



## 6 RESULTADOS

### 6.1 DIVERSIDADE GENÉTICA ENTRE JABOTICABEIRAS NATIVAS NO SUDOESTE DO PARANÁ

Os dez locos analisados exibiram alta diversidade genética para o total de plantas genotipadas. O número médio de alelos por locos foi ( $\hat{A}= 5$ ) para as populações de jaboticabeiras, variando de 3 a 7 (Apêndice A). Este número pode parecer baixo se tratando de marcadores microssatélites, que normalmente são altamente polimórficos (multialélicos). Mas quando analisadas as populações no total de plantas genotipadas (190), foram observados 295 alelos (Tabela 2). O número total de alelos entre locos variou de 28 a 66 alelos, com média de 49 alelos/locos (Apêndice A).

**Tabela 2** – Índices médios de diversidade genética nas seis populações naturais de jaboticabeiras (*Plinia. cf. peruviana*) calculado para o total dos dez locos microssatélites. UTFPR, Pato Branco - PR, 2019.

	Populações						Média	Total
	COR	PB	CV1	CV2	CHP	VIT		
n	30	25	40	25	40	30	-	190
$\hat{A}$	5,0	5,0	7,0	5,0	5,0	3,0	5,0	-
$A_e$	2,7	3,4	3,7	2,9	3,0	2,1	3,0	-
$A_r$	4,0	5,4	6,1	5,0	4,3	2,7	4,6	-
$H_o$	0,617	0,568	0,654	0,578	0,667	0,711	0,633	-
$H_e$	0,594	0,520	0,711	0,599	0,648	0,477	0,591	-
$f$	-0,081 <sup>ns</sup>	-0,089 <sup>ns</sup>	0,087*	0,050 <sup>ns</sup>	-0,038 <sup>ns</sup>	-0,485*	-0,075	-
$\bar{N}_e$	32	27	37	24	41	58	-	-
Total (A)	45	54	66	52	50	28	49	295

Tamanho da amostra (n) Número de alelos ( $A$ ), número efetivo de alelos por Locos ( $A_e$ ), Riqueza alélica ( $A_r$ ), heterozigosidade observada ( $H_o$ ), heterozigosidade esperada ( $H_e$ ) e coeficiente de endogamia ( $f$ ). (COR) Coronel Vivida, (PB) Pato Branco, (CV1) Clevelândia um (CV2) Clevelândia dois, (CHP) Chopinzinho e (VIT) Vitorino. Significância ( $P \leq 0,05$ ) baseada em 1.200 permutações de Monte Carlo, com dados na tabela de 0.00083 (FSTAT). Significativo\*  $p < 0,05$ ; ns: não significativo.

A média do número efetivo de alelos por locos analisados ( $\hat{A}_e = 3,0$ ) apresentou valor menor que a média do número de alelos por locos ( $\hat{A} = 5,0$ ), indicando que alguns alelos são raros ( $p < 0,05$ ) ou de baixa frequência ( $0,05 > p < 0,25$ ). Embora tenham sido observados alelos de baixa frequência nas populações, a maioria apresenta alelos com frequência média ( $0,05 < p \leq 0,25$ ) COR, PB, CV1 e CV2 com (46,7%, 57,4%, 42,3% e 42,4%), respectivamente (Tabela 3). A população

de VIT apresentou a maior parte de seus alelos com frequência alta ( $p > 0,25$ ) (60%). A população de CHP apresentou a mesma proporção de alelos de baixa e alta frequência (34%).

Houve a fixação dos alelos (173) no locus Pli02 e (178) no locus Pli16 para as populações de PB e VIT respectivamente (Tabela 3). Foram detectados alelos exclusivos em todas as populações estudadas. As populações de CV1 e PB apresentaram o maior número de alelos exclusivos (8 e 7), nesta ordem (Tabela 3).

**Tabela 3** – Porcentagem de frequências alélicas, alelos exclusivos, alelos fixados por locos e alelos totais de dez locos microssatélites em cada população nativa de jaboticabeiras (*Plinia cf. peruviana*) na região Sudoeste do Paraná. UTFPR, Pato Branco - PR, 2019.

Frequências Alélicas (%)	Populações Individuos Adultos					
	COR	PB	CV1	CV2	CHP	VIT
Baixa (Raros)	10 (22,2%)	14 (25,9%)	24 (36,4%)	15(28,8%)	17 (34%)	4 (14,3%)
Média	21 (46,7%)	31 (57,4%)	28(42,4%) )	22 (42,3%)	16 (32%)	6 (21,4%)
Alta	14 (31,1%)	8 (14,8%)	14 (21,2%)	15 (28,8%)	17 (34%)	17 (60,7%)
Exclusivos	1	7	8	3	1	3
Fixados (Locos)	---	173 (Pli02) (1,8%)	---	---	---	178 (Pli16) (3,8%)
Total (Alelos)	45	54	66	52	50	28

(COR) Coronel Vivida, (PB) Pato Branco, (CV1) Clevelândia um (CV2) Clevelândia dois, (CHP) Chopinzinho e (VIT) Vitorino.

Nas seis populações, a média de riqueza alélica ( $A_r$ ) 4,6 foi similar à média de alelos por locos ( $\hat{A} = 5,0$ ), sugerindo que a frequência alélica é semelhante entre os alelos de mesmos locos (Tabela 2). Os dados da riqueza alélica também mostraram alta diversidade genética nas populações.

A análise multilocos revelou uma diversidade alta, com uma heterozigiosidade esperada de  $H_e = 0,591$  e uma heterozigiosidade observada média de  $H_o = 0,633$  (Tabela 2). Para as seis populações estudadas em relação às proporções de equilíbrio de Hardy-Weinberg, ( $> 0,5$ ) (HAMRICK e MURAWSKI,1991).

A população de CV1 apresentou o maior valor de diversidade genética  $H_e = 0,711$ . Em favor ao seu maior número de alelos total encontrados nos dez locos ( $A = 66$ ), quando o número de alelos nos locos aumenta, esse limite sobe, sendo mais próximo de 1,0 quanto maior for o número de alelos. Porém, esse exibiu um heterozigiosidade observada menor ( $H_o = 0,654$ ) que a heterozigiosidade

esperada ( $H_e = 0,711$ ), com o índice de fixação positivo e significativo ( $f = 0,087$ ), indicando um excesso de homozigoto e a ocorrência de endogamia (WRIGHT, 1931). A população VIT apresentou os menores valores dos índices de diversidade genética ( $A_e = 2,1$ ), ( $H_e = 0,477$ ) em consequência do seu menor número de alelos total ( $A = 28$ ). No entanto, essa população apresentou um excesso de heterozigoto, sendo reforçado pelo índice de fixação negativo e significativo ( $f = -0,485$ ) com heterozigosidade observada maior ( $H_o = 0,711$ ) que a heterozigosidade esperada ( $H_e = 0,477$ ) (Tabela 2).

Um parâmetro importante nas atividades de conservação é a determinação do tamanho efetivo ( $N_e$ ), tendo em vista que esse traz a representatividade genética das amostras. Entretanto, é preciso considerar que este parâmetro toma como base as estimativas dos índices de fixação para cada população. Desse modo, as estimativas aqui apresentadas servem como um indicativo da representatividade da amostra caracterizada de cada população. A população de CV1 apresentou um ( $N_e = 37$ ) menor em relação ao número de árvores amostradas ( $n = 40$ ) (Tabela 2). Para as demais populações, o tamanho efetivo populacional foi maior do que o número de árvores amostradas (Tabela 2), indicando a ausência de parentesco e um número maior de árvores heterozigóticas.

## 6.2 ESTRUTURA GENÉTICA POPULACIONAL

O valor de divergência genética interpopulacional foi ( $F_{ST} = 0,176$ ), o que indica uma moderada diferenciação genética entre as seis populações de jaboticabeiras estudadas.

Nesse sentido, análogas às estatísticas  $F$  de Wright, foram definidos grupos *a posteriori* para a análise da variância molecular (AMOVA), os quais revelaram uma maior variação genética dentro dos indivíduos (72,18%) e uma baixa variação entre os indivíduos dentro das populações (2,56%) (Tabela 4).

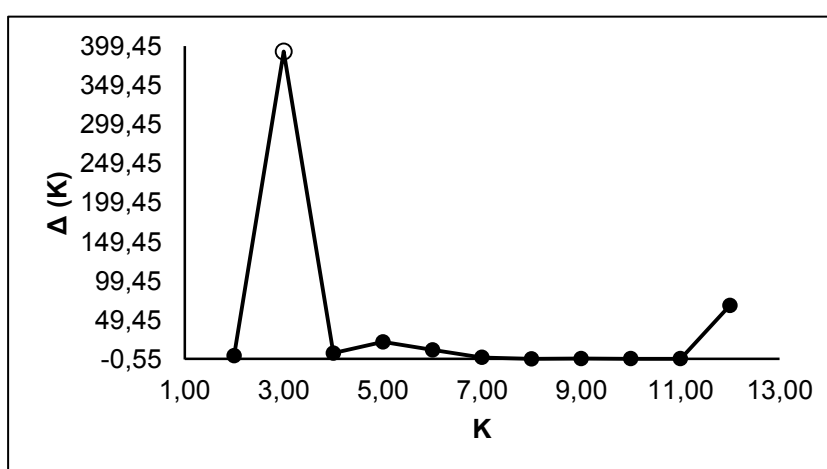
**Tabela 4-** Resumo da análise da variância molecular (AMOVA), mostrando a variação genética para seis populações de jaboticabeiras (*Plinia cf. peruviana*), com uso de dez locos microssatélites. UTFPR, Pato Branco – PR, 2019.

Fonte de Variação	GL	Var. C <sup>a</sup> .	Variação
Entre Grupos	2	0,752	17,52%
Entre as populações dentro dos grupos	3	0,332	7,74%
Entre indivíduos dentro das populações	689	0,11	2,56%
Dentro dos indivíduos	695	3,102	72,18%
<b>Total</b>	<b>1389</b>	<b>4,298</b>	<b>-</b>

Graus de Liberdade (GL), Variância dos Componentes (Var.C<sup>a</sup>). Nível de significância após 10000 permutações:  $p < 0,001$  para todas as análises.

A formação de apenas três grupos ( $K=3$ ) (Figura 6) corrobora com os resultados da AMOVA, com uma variação entre os grupos (17,52%). Tal fato demonstra a alta similaridade de frequências alélicas que ocorreu nas populações de jaboticabeiras estudadas.

**Figura 6-** Valores de  $\Delta K$  para cada valor de  $K$  atribuído, calculado a partir de dados genotípicos de 119 indivíduos, pertencentes a seis populações de *P. cf. peruviana*. O maior valor de  $\Delta K$  corresponde ao  $K$  ótimo como proposto por Evanno et al. (2005). UTFPR, Pato Branco – PR, 2019.



Por meio dos dados de diversidade clonal na Tabela 5, observa-se a ocorrência de clones nas populações de jaboticabeiras. A diversidade clonal foi representada pela riqueza genotípica, sendo alta nas seis populações, variando ( $\hat{R} = 0,103$  a  $\hat{R} = 0,208$ ) devido a relação entre o número de genótipos distintos em cada população (apenas cinco, seis e sete) e o número de indivíduos genotipados ( $n= 25$ ,  $n= 30$  e  $n= 40$ ). Isso representa uma taxa de clonagem nas populações de: COR 36,7%, PB 40%, CV1 27,5%, CV2 48%, CHP 35% e VIT 43,3%, respectivamente.

**Tabela 5** – Número e frequência de clones, total de indivíduos clones e riqueza genotípica (R) em 190 indivíduos adultos em seis jaboticabais de (*Plinia cf. peruviana*) na região Sudoeste do Paraná. UTFPR, Pato Branco – PR, 2019.

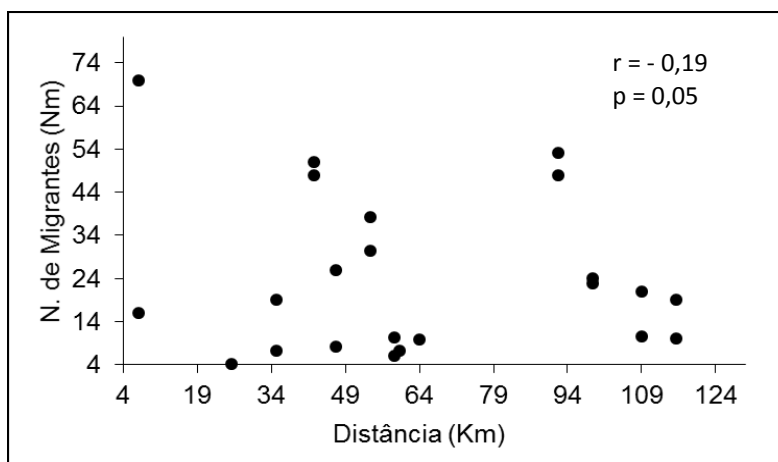
	Populações					
	COR (n:30)	PB (n:25)	CV1 (n:40)	CV2 (n:25)	CHP (n:40)	VIT (n:30)
Clone 1	2	2	2	2	2	2
Clone 2	2	2	3	2	2	2
Clone 3	2	2	2	2	2	3
Clone 4	3	2	2	2	2	2
Clone 5	2	2	2	2	2	2
Clone 6	-	-	-	2	2	2
Clone 7	-	-	-	-	2	-
Total de indivíduos clones	11(36,7%)	10(40%)	11(27,5%)	12(48%)	14(35%)	13(43,3%)
$\hat{R}$	0,138	0,167	0,103	0,208	0,154	0,172

$\hat{R}$  é a riqueza genotípica. n: Tamanho da amostra.

O número total de indivíduos clones variou de 10 a 14 nas seis populações de jaboticabeiras, sendo essa considerada média quando comparada ao tamanho da amostra (n) de cada população. O número de clones variou entre as populações, cinco clones nas populações de (COR, PB, CV1), seis clones nas populações de (CV2 e VIT) com dois a três indivíduos sendo idênticos nos dez locos em cada clone. A população de CHP apresentou maior número de clones em relação às demais populações (sete clones), sugerindo uma maior ocorrência de apomixia nesta população. (Tabela 5).

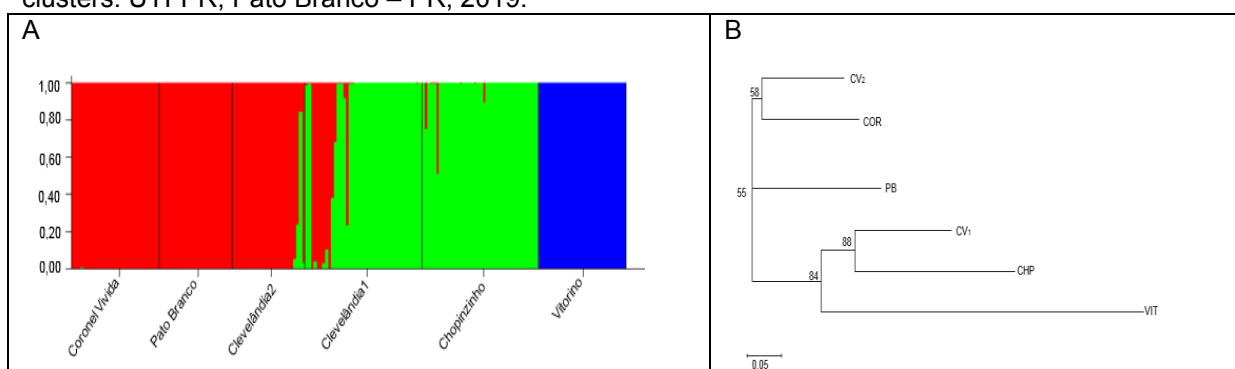
Em relação à distância genética entre as populações estudadas o dendrograma (Figura 8 B) mostrou que as populações CV1 e CHP são as mais semelhantes geneticamente e as mais distantes geograficamente (109 km), sugerindo que a estrutura genética não é um fator determinado pela distância geográfica. Como visto na Figura 7, a correlação foi fraca ( $r = -0,019$ ) e não significativa. Em função dessa longa distância, o fluxo gênico não poderia ser explicado por fluxo através da dispersão por animais, mesmo os de grande porte, pois não conseguiriam se deslocar a distâncias tão grandes ou mesmo pelo fluxo de migrantes. Nesse viés, esse foi baixo como observado na Tabela 6, variando de ( $N_m = 2$ ,  $N_m = 1$ ).

**Figura 7:** Correlação do número de migrantes em relação à distância das seis populações de (*Plinia cf. peruviana*). UTFPR, Pato Branco – PR, 2019.



A população de VIT se destaca por ser a mais geneticamente distante das outras populações (Figura 9 A e B e Apêndice H). A análise bayesiana evidência bem a divisão das populações em três grupos distintos. Destacando a individualidade da população de VIT, pode-se observar que a diferenciação genética entre os grupos é pequena e ocorre uma mistura somente entre os indivíduos do grupo um dentro do grupo dois (Figura 8A).

**Figura 8-** Determinação da estrutura das populações de (*Plinia cf. peruviana* (n= 119) com base nas análises de agrupamento bayesiano e dendrograma UPGMA baseado distância genética de Nei (Nei et al. 1983) ao nível da população para K = 3. Valores dos nós é suporte de inicialização para os clusters. UTFPR, Pato Branco – PR, 2019.



Apesar de estarem próximas geograficamente (7 km), as populações de CV1 e CV2 não compartilham as mesmas cargas genéticas e o mesmo *pool* gênico. A população de CV1 compartilha o maior número de migrantes/geração  $N_m = 7$  para CV2. Para as demais populações, o número de imigrantes/geração foi baixo, variando de  $N_m = 0,1$  a  $N_m = 5$  (Tabela 6). O número de migrantes só é detectado

quando tem diferenças entre as populações. Dessa forma, se tem efeito fundador de uma população para outra, ocorre à homogeneização e, conseqüentemente, o menor número de migrantes, como observados para as seis populações de jaboticabeiras.

**Tabela 06** - Número de migrantes/geração ( $N_m$ ) (através de sementes ou pólen), ocorrente nas seis populações de *Plinia cf. peruviana*. UTFPR, Pato Branco – PR, 2019.

Populações Doadoras	Populações					
	COR	PB	CV1	CV2	CHP	VIT
COR		5	5	2	0,7	0,1
PB	5		0,8	4	0,6	0,1
CV2	2	3	2		1	0,1
CV1	5	3		7	2	0,1
CHP	2	1	1	2		0,1
VIT	0,7	0,4	0,3	1	0,3	

(COR) Coronel Vivida, (PB) Pato Branco, (CV1) Clevelândia um, (CV2) Clevelândia dois, (CHP) Chopinzinho e (VIT) Vitorino.

Para as estimativas da estrutura genética espacial (EGE), o número de pares variou de 37 (população COR) a 112 (população VIT) ao longo das classes de distância, com participação de 85,5% (população PB) a 89,5% (população COR). Valores negativos foram reportados para a inclinação de regressão de  $F_{ij}$  ( $b_f$ ; Tabela 7) para as seis populações de *Plinia cf. peruviana*, sendo estatisticamente significativa nas populações de CV2 e VIT.

**Tabela 7** - Caracterização da estrutura espacial de (*Plinia cf. peruviana*) nos seis fragmentos, incluído para cada população. UTFPR, Pato Branco – PR, 2019.

Populações	n	$F_{ij}$	$b_f$	$S_p$	Pares	%
Coronel Vivida	30	0,0301	-0,0095 <sup>ns</sup>	0,0098	37-38	89,5
Pato Branco	25	0,0313	-0,0095 <sup>ns</sup>	0,0098	40	85,5
Clevelândia1	40	0,0112	-0,0342 <sup>ns</sup>	0,0034	78	90
Clevelândia2	25	0,0016	-0,0125*	0,0125	50	91
Chopinzinho	40	0,0185	-0,0056 <sup>ns</sup>	0,0057	72-73	86
Vitorino	30	0,0295	-0,0107*	0,0109	110-112	89

n=número de indivíduos coletados; o coeficiente *kinship* ( $F_{ij}$ ) para primeira classe de distância;  $b_f$  é a inclinação da curva de regressão do coeficiente de coancestria;  $S_p$  para comparar a extensão da estrutura genética espacial entre as populações. Pares faixa de número mínimo e máximo de indivíduos pares nas classes de distância, % percentual mínimo de participação de indivíduos em classes de distância e valor de significância ( $P$ ) ( $p < 0.05$ ) 10000 permutações de Jackknifed.

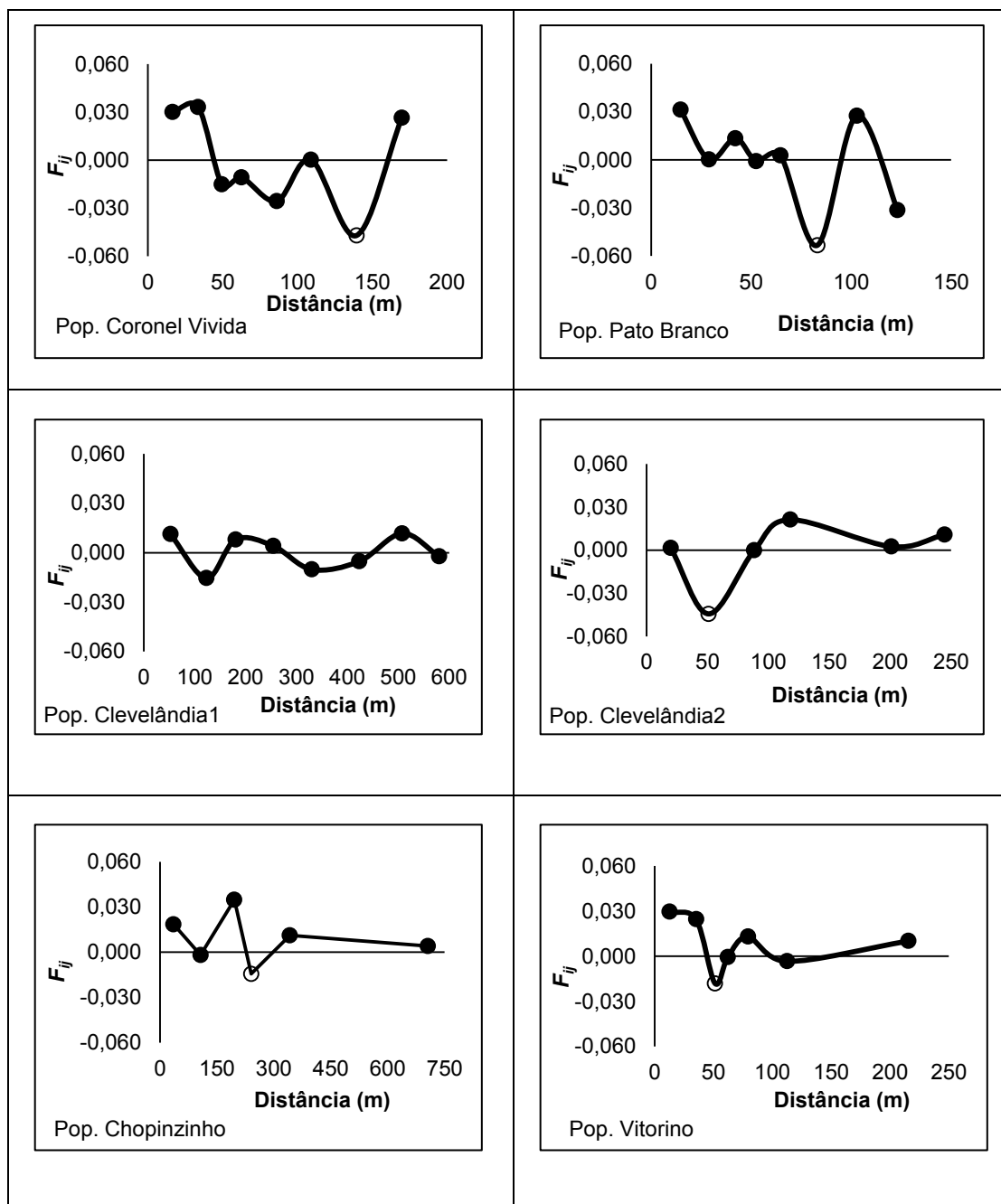
Os valores negativos e significativos de  $b_f$  para as populações de CV2 e Vitorino indicam um isolamento por distância. Em média, os indivíduos que estão espacialmente próximos são geneticamente mais semelhantes entre si do que indivíduos separados por distâncias maiores. A média  $F_{ij}$  entre indivíduos para a primeira classe de distância ( $F_1$ ) variou de 0,0016 a 0,0313 (Tabela 7). Há uma diminuição do coeficiente de parentesco médio com o aumento da distância somente nas populações (PB e CV1) (Figura 9).

Ademais, não foi detectado EGE significativa nas primeiras classes de distância para as seis populações. Porém, para cinco populações, a EGE foi significativa à distâncias maiores (COR= 140m, PB= 83m, CV2= 50m, CHP= 240m e VIT= 51m), com exceção da população CV1, que não apresentou EGE significativa em nenhuma das classes de distâncias. Essa população apresenta maior densidade (76,6 plantas/ha) com indivíduos mais distribuídos dentro da população (Figura 9). Assim, para as cinco populações, a estruturação não ocorre em distâncias inferiores a 30m e a 45m, sugerindo a presença de dispersores secundários de sementes.

Comparando a EGE das populações com a estatística  $S_p$ , é possível fazer a comparação da magnitude da EGE entre populações ou mesmo espécies (VEKEMANS e HARDY, 2004). As populações de CV2 ( $S_p = 0,0125$ ) e VIT ( $S_p = 0,0109$ ) apresentaram uma EGE mais pronunciada. As populações de COR ( $S_p = 0,0098$ ), PB ( $S_p = 0,0098$ ), CV1 ( $S_p = 0,0034$ ) e CHP ( $S_p = 0,0057$ ) apresentaram uma EGE mais fraca (Tabela 7).



**Figura 9** – Correlogramas das medidas do coeficiente de kinship ( $F_{ij}$ ) plotadas contra a distância entre as árvores (*Plinia cf. peruviana*) para as seis populações. A significância ( $p < 0.05$ ) foi testada para 10.000 permutações de Jackknifed. Os símbolos sem preenchimento são significativos ao nível de 5%. UTFPR, Pato Branco – PR, 2019.



As populações apresentaram uma distribuição aleatória, sugerindo que o fluxo de pólen e a dispersão de sementes ocorrem de maneira semelhante entre elas, ao menos na escala de amostragem realizada.

### 6.3 DETECÇÃO DE GARGALO GENÉTICO (*BOTTLENECK*)

Foi detectado sinal significativo de gargalo genético ( $p < 0.001$ ) em cinco das populações estudadas através dos modelos utilizados. Com exceção da população de CHP, que apresentou valor não significativo para o modelo *stepwise* (S.M.M.) (Tabela 8).

Apesar de serem apresentados, os dois modelos serão levados em consideração para testar a hipótese de recente *bottleneck* demográfico (declínio no tamanho efetivo populacional), somente o modelo de *two-phase* (T.P.M.).

**Tabela 8** - Teste de Wilcoxon para detecção assinatura de gargalo genético em seis populações (*Plinia cf. peruviana*), na região Sudoeste do Paraná. UTFPR, Pato Branco – PR, 2019.

Populações	T.P. M	S.M. M
Coronel Vivida	0,00098*	0,00293*
Pato Branco	0,00049*	0,00098*
Clevelândia2	0,00098*	0,00684*
Clevelândia1	0,00195 <sup>ns</sup>	0,01855 <sup>ns</sup>
Chopinzinho	0,00098*	0,00195 <sup>ns</sup>
Vitorino	0,00049*	0,00049*

Sob modelos mutacionais: modelo de mutação *stepwise* (S.M.M.), modelo mutacional *two-phase* (T.P.M.) com proporção de 70% para T.P.M. \* Probabilidade a 99% de ocorrência de Bottleneck, após 1000 permutações  $p < 0.001$ .

Para determinar se uma população exibe um número significativo de locos com heteroziguidade em excesso, foi utilizado o teste estatístico de Wilcoxon com 1.000 permutações ( $p < 0.001$ ) (LUIKART e CORNUET, 1998), como recomendado para análise com menos de 20 locos SSR. Portanto, pode-se observar que as populações de COR, PB, CV2, CHP e VIT passaram por um processo de gargalo genético (Bottleneck) recente (menos de 4 gerações atrás). A maioria dos seus locos exibirá um excesso temporário de heteroziguidade ( $H_e > H_{eq}$ ) (LUIKART e CORNUET, 1998). Em concordância o Apêndice D, apresenta a distorção na distribuição das frequências de alelo (Mode-Shift).

**Tabela 9** - Teste de Garza-Williamson index (M-ratio). Para detecção assinatura do *bottleneck* por um longo período em seis populações (*Plinia cf. peruviana*), na região Sudoeste do Paraná. UTFPR, Pato Branco – PR, 2019.

Locos	COR	PB	CV1	CV2	CHP	VIT
Pli_01	0,545	0,533	0,538	0,545	0,467	0,444
Pli_02	0,500	1,000	0,200	0,286	0,368	0,750
Pli_05	0,533	0,471	0,333	0,556	0,545	0,026
Pli_09	0,231	0,200	0,308	0,235	0,154	0,154
Pli_10	0,375	0,385	0,375	0,308	0,385	0,286
Pli_12	0,800	0,667	0,211	0,600	0,800	0,600
Pli_15	0,273	0,545	0,267	0,156	0,412	0,300
Pli_16	0,462	0,368	0,405	0,533	0,556	0,333
Pli_18	0,333	0,333	0,571	0,455	0,109	0,125
Pli_19	0,263	0,154	0,286	0,231	0,304	0,333
<b>Média</b>	0,432	0,406	0,349	0,390	0,410	0,335
<b>SD</b>	0,174	0,166	0,126	0,164	0,201	0,219

(COR) Coronel Vivida, (PB) Pato Branco, (CV1) Clevelândia um, (CV2) Clevelândia dois, (CHP) Chopinzinho e (VIT) Vitorino. SD= desvio padrão.

Porém, como observado na análise de *bottleneck*, a população de CV1 não apresentou sinal significativo de gargalo genético ( $p < 0.001$ ) (Tabela 8). Contudo, essa população passa por uma assinatura do *bottleneck* por um longo período de tempo, com M-ratio menores que 0,68 (valor crítico) (Tabela 9).

## 7 DIVERSIDADE E ESTRUTURA GENÉTICA ENTRE JABOTICABEIRAS ADULTAS E JUVENIS

As análises de diversidade genética mostraram que não há uma diferença muito grande no número de alelos na geração de adultos quando comparados com a geração de juvenis para ambas as populações (CV1 e VIT), sugerindo bom fluxo gênico dentro das áreas de jaboticabeiras estudadas (Tabela 10 e 2).

Em termos de frequência alélica, nas duas gerações de adultos e juvenis, em ambas as populações (CV1 e VIT), o número efetivo de alelos por loco foi menor do que o número médio de alelos por loco (CV1). Além disso, esse foi semelhante entre adultos e juvenis para população de Vitorino (Tabela 10), indicando que muitos alelos são de baixa frequência ( $< 0,05$ ) (Tabela 11).

Para as gerações de adultos e juvenis, a média de riqueza alélica ( $A_r$ ) verificada para as duas populações de adultos foi (CV1= 6,1 e VIT= 2,7) e para as duas populações de juvenis (CV1= 4,5 e VIT= 2,5), sendo similar à média de alelos por locos (Tabela 2 e Tabela 10). Isso indica que as frequências alélicas são semelhantes entre os indivíduos de mesmo locos.

**Tabela 10** - Índices de diversidade genética de indivíduos juvenis de jabuticabeiras nativas (*Plinia cf. peruviana*) do fragmento florestal de Clevelândia1 e Vitorino, para o total dos dez Locos (SSR). UTFPR, Pato Branco – PR, 2019.

	CV1	VIT	Total
n	40	40	80
A	4,8	2,5	-
$A_e$	3,0	1,8	-
$A_r$	4,5	2,5	-
$H_o$	0,476	0,619	-
$H_e$	0,633	0,398	-
f	0,341*	-0,437*	-
Total (A)	48	25	73

Tamanho da amostra (n) Número de alelos (A), número efetivo de alelos por Locos ( $A_e$ ), Riqueza alélica (AR), heterozigiosidade observada ( $H_o$ ), heterozigiosidade esperada ( $H_e$ ) e coeficiente de endogamia (f). Significância ( $P \leq 0,05$ ) baseada em 6000 permutações de Monte Carlo, com dados na tabela de 0,00083 e 0,00250 (FSTAT). Significativo\*  $p < 0,05$ ; ns: não significativo.

A heterozigiosidade esperada ( $H_e$ ) em Equilíbrio de Hardy-Weinberg (EHW) foi alta para ambas as populações, tanto nos indivíduos adultos quanto nos juvenis, o que indica boa diversidade genética nas duas populações (Tabela 2 e 10). A estimativa de ( $H_o$ ) para a população de Clevelândia1 foi inferior a ( $H_e$ ), revelando um excesso de homozigotos, tanto nos indivíduos adultos ( $H_o = 0,654$  e  $H_e = 0,711$ ) quanto nos juvenis ( $H_o = 0,476$  e  $H_e = 0,633$ ), o qual foi reforçado pelo índice de fixação positivo e significativo.

Dessa forma, para a população de Vitorino, a estimativa de ( $H_o$ ) foi superior a ( $H_e$ ), em ambos os indivíduos adultos ( $H_o = 0,711$  e  $H_e = 0,477$ ) e juvenis ( $H_o = 0,619$  e  $H_e = 0,398$ ) (Tabela 2 e 10). Havia índice de fixação (f) negativo e significativo para ambas às classes de jabuticabeiras, indicando um excesso de heterozigotos nas duas gerações.

**Tabela 11** - Porcentagem de frequências alélicas, alelos exclusivos, alelos fixados em cada locos e total de alelos de dez locos microssatélites em indivíduos juvenis em cada população nativa de jaboticabeiras (*Plinia cf. peruviana*) na região Sudoeste do Paraná. UTFPR, Pato Branco, 2019.

Populações Indivíduos Juvenis		
Frequências Alélicas (%)	CV1	VIT
Baixa (Raros)	11 (29,9%)	5 (20%)
Média	20 (41,7%)	3 (12%)
Alta	17 (35,4%)	15 (60%)
Exclusivos (Só nos Juv.)	20	18
Faltantes (Só nos adultos)	31	21
Fixados (Locos)	---	197 (Pli12); 178 (Pli16) (8%)
Total (Alelos_Juv.)	48	25

(CV1) Clevelândia um e (VIT) Vitorino.

Quanto às frequências alélicas de adultos e juvenis, verifica-se em Clevelândia1 a presença de 31 alelos nos adultos e ausentes nos juvenis e 20 alelos presente nos juvenis e ausentes nos adultos. Em Vitorino, observam-se nos adultos 21 alelos ausentes nos juvenis e 18 alelos presentes nos juvenis e ausentes nos adultos (Tabela 11). Em termos de alelos fixados, a população de Clevelândia1 não apresentou em nenhuma das gerações. Enquanto a população de Vitorino apresentou alelos fixados nas duas gerações, adultos (alelo178, locos Pli16) e juvenis (alelo197, locos Pli12 e alelo178, locos Pli16).

Foram detectados genótipos idênticos (clones) tanto na geração de adultos (Tabela 12), quanto de juvenis de ambas as populações (CV1 e VIT). Na população de CV1, foram detectados seis genótipos multilocos nos juvenis com 12 indivíduos clones nos dez locos analisados de (n= 40) indivíduos amostrados, tem-se 34 genótipos distintos nos juvenis (Tabela 12), assim como observado para os adultos. Para população de VIT, foi detectada a presença de nove genótipos multilocos nos juvenis com 12 indivíduos clones nos dez locos analisados de (n= 40) indivíduos amostrados, com 21 genótipos distintos nos juvenis, resultado semelhantes quando comparado com os adultos da população, com apenas seis genótipos multilocos apresentou 23 genótipos distintos. Não foram detectados juvenis clones dos adultos, fato esse relacionado ao método de amostragem, sendo coletada de forma aleatória na parcela, a probabilidade de indivíduos distantes não serem clones é maior. Portanto, as matrizes destes juvenis não foram genotipadas.

**Tabela 12** – Número e frequência de clones, total de indivíduos clones e riqueza genotípica (R) em 80 indivíduos juvenis em jaboticabais de (*Plinia cf. peruviana*) na região Sudoeste do Paraná. UTFPR, Pato Branco – PR, 2019.

	Populações	
	CV1 (n:40)	VIT (n:40)
Clone 1	2	2
Clone 2	2	2
Clone 3	2	4
Clone 4	2	2
Clone 5	2	6
Clone 6	2	4
Clone 7	-	2
Clone 8	-	2
Clone 9	-	4
Total de indivíduos clones	12	28
$\hat{R}$	0,205	0,077

$\hat{R}$  : é a riqueza genotípica. n: Tamanho da amostra.

Nas estimativas de EGE e dispersão de genes intrapopulacional, o número de pares variou de 78 (população CV1 adul.) a 112 (população VIT adul.) ao longo das classes de distância, com participação de 89% (população CV1 juv. e VIT juv.). Valores negativos foram reportados para a inclinação de regressão de  $F_{ij}(b_f$ ; Tabela 13), para as duas populações de jaboticabeiras nas duas gerações, sendo estatisticamente significativas na população de VIT.

Os valores negativos e significativos de  $b_f$  para a população de VIT indica um isolamento por distância, no qual os indivíduos mais próximos são mais semelhantes entre si. A média  $F_{ij}$  entre indivíduos para a primeira classe de distância ( $F_1$ ) variou na população de CV1 ( $F_{ij} = 0,0112$  para adultos) e ( $F_{ij} = 0,0171$  para juvenis) sendo iguais para as duas gerações na população de VIT ( $F_{ij} = 0,0295$ ) (Tabela 13).

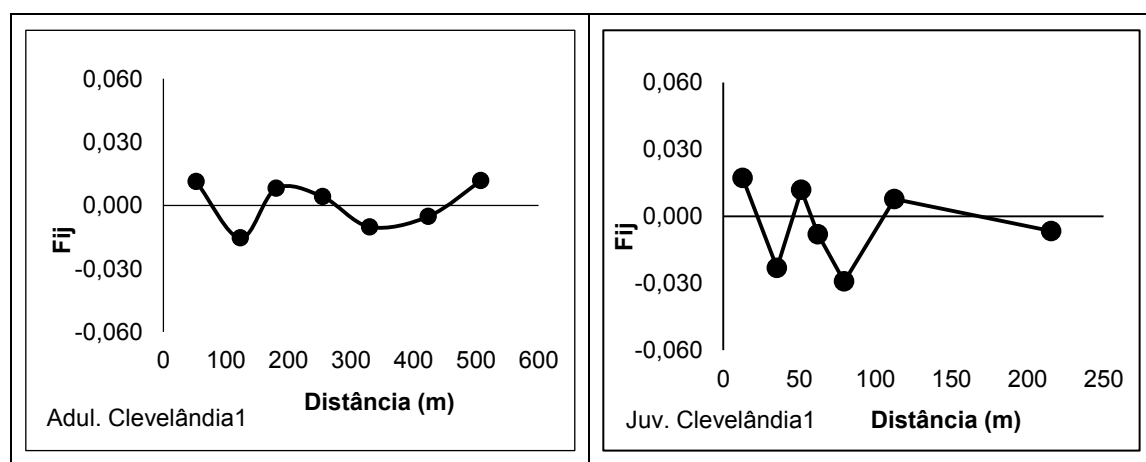
**Tabela 13** - Caracterização da estrutura espacial em duas populações de (*Plinia cf. peruviana*) de indivíduos adultos e juvenis. UTFPR, Pato Branco – PR, 2019.

Populações/Cat.	n	$F_{ij}$	$b_f$	$S_p$	Pares	%
Clevelândia1(Adul.)	40	0,0112	-0,0342 <sup>ns</sup>	0,0034	78	90
Clevelândia1 (Juv.)	40	0,0171	-0,0072 <sup>ns</sup>	0,0073	110-112	89
Vitorino (Adul.)	30	0,0295	-0,0107*	0,0109	110-112	89
Vitorino (Juv.)	40	0,0295	-0,0107*	0,0109	110-112	89

n (número de indivíduos coletados), o coeficiente *kinship* ( $F_{ij}$ ) para primeira classe de distância,  $b_f$  é a inclinação da curva de regressão do coeficiente de coancestria,  $S_p$  para comparar a extensão da estrutura genética espacial entre as populações, Pares faixa de número mínimo e máximo de indivíduos pares nas classes de distância, % percentual mínimo de participação de indivíduos em classes de distância e valor de significância ( $P$ ) ( $p < 0.05$ ) 10000 permutações de Jackknifed.

Não foi detectado EGE significativo em nenhuma das classes de distâncias para as gerações da população de CV1(Figura 10). É importante ressaltar que a estruturação genética espacial detectada na geração adulta se manteve nos juvenis. De fato, a intensidade da EGE, medida pela estatística  $S_p$ , foi maior para juvenis ( $S_p = 0,0073$ ) do que para adultos ( $S_p = 0,0034$ ), sugerindo que a população esteja sofrendo os efeitos da deriva genética devido à fragmentação. Contudo, os índices não foram significativos ( $P < 0,05$ ) em ambas as classes, o que demonstra a distribuição aleatória dos genótipos na área, sem formação de estruturação genética (VEKEMANS e HARDY, 2004).

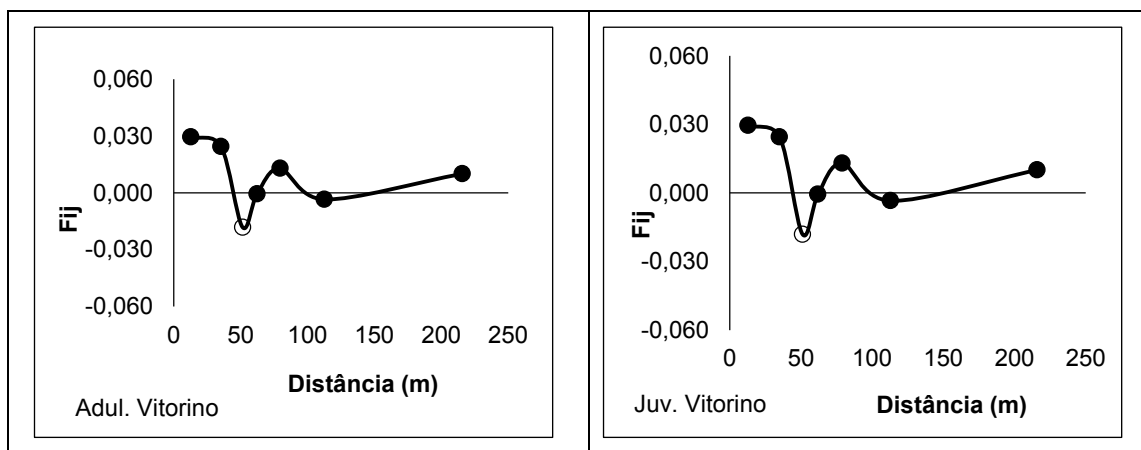
**Figura 10** – Correlogramas das medidas do coeficiente de kinship ( $F_{ij}$ ) plotadas contra a distância entre os indivíduos adultos e juvenis de (*Plinia cf. peruviana*), localizada em Clevelândia1-PR. A significância ( $p < 0.05$ ) foi testada para 10.000 permutações de Jackknifed. Os símbolos preenchimento não são significativos ao nível de 5%. UTFPR, Pato Branco – PR, 2019.



A população de VIT apresentou uma EGE significativa em distância de 51 m para ambas as gerações (adultos e juvenis) (Figura 11). Assim, comparando a

EGE das gerações com a estatística de  $S_p$ , os valores foram idênticos para ambas às gerações ( $S_p = 0,0109$ ), o que pode sugerir que o fluxo gênico permaneceu estável ao longo das gerações (Tabela 12). A estrutura genética não ocorre em distâncias inferiores a 30 m e a 45 m, indicando a presença de dispersores secundários de sementes, como foi observado na estrutura genética avaliando somente os indivíduos adultos (Item 6.2).

**Figura 11** – Correlogramas das medidas do coeficiente de kinship ( $F_{ij}$ ) plotadas contra a distância os indivíduos adultos e juvenis de (*Plinia cf. peruviana*), localizada em Vitorino-PR. A significância ( $p < 0.05$ ) foi testada para 10.000 permutações de Jackknifed. Os símbolos sem preenchimento são significativos ao nível de 5%. UTFPR, Pato Branco – PR, 2019.





## 8 DISCUSSÃO

### 8.1 IMPACTOS DAS ANÁLISES DA DIVERSIDADE GENÉTICA PARA CONSERVAÇÃO DA ESPÉCIE

Os dez locos microssatélites analisados exibiram alta diversidade genética para o total de plantas genotipadas ( $n= 190$ ), com um total de 295 alelos variando de 28 a 66 alelos. Esses parâmetros indicam que os dez locos microssatélites utilizados representaram bem a diversidade genética nas seis populações de jaboticabiras nativas. Em outras espécies arbóreas pertencentes à família Myrtaceae, a alta diversidade genética foi verificada em Cagaita (*Eugenia dysenterica*) ( $n= 736$ ), com um total de 539 alelos variando de 11 a 35 alelos, e em goiabeira-serrana (*Acca sellowiana*) ( $n= 122$ ), com 173 alelos no total variando de 29 a 41 alelos (BARBOSA et al., 2015; DOS SANTOS et al., 2011).

A diversidade genética está relacionada ao número total de alelos, e a heterozigosidade esperada ( $H_e$ ) em uma população. Nota-se que estes parâmetros foram mais consideráveis na população de CV1, apresentando os maiores valores de diversidade, ( $\hat{A}= 66$ ) e ( $H_e= 0,711$ ) e que podem ser resultado de sua maior densidade (76,6 plantas/ha) com indivíduos mais distribuídos dentro da população. A população apresentou um valor maior de  $H_e$  em relação à  $H_o$  e um índice de fixação ( $f$ ) positivo e significativo, indicando um excesso de homozigoto e ocorrência de endogamia na população (WRIGHT, 1931). Esse excesso de homozigoto e o grau de parentesco na população, teve influência no tamanho efetivo populacional ( $N_e$ ), sendo menor ( $N_e= 37$ ) em relação ao número de indivíduos amostrados ( $n= 40$ ). Sugere-se, desse modo, que essa população apresenta uma redução na variabilidade genética pela endogamia ou deriva genética, em relação a uma população panmítica ideal.

Por sua vez, a população de VIT apresentou os menores valores de diversidade genética, resultante de seu menor número de alelos ( $\hat{A}= 28$ ). Essa possuiu uma  $H_o$  maior em relação à  $H_e$  e um índice de fixação negativo e significativo, resultando em um excesso de heterozigotos. Esse, pode ser decorrente da fragmentação florestal e drástica redução populacional de jaboticabeiras,

condizente com o histórico da área e da região, onde se encontram na condição de pequenos fragmentos florestais.

Em decorrência deste excesso de heterozigotos, essa população apresentou um tamanho efetivo populacional ( $N_e$ ) duplicado ( $N_e = 58$ ), quando comparado com o número de indivíduos amostrados ( $n = 30$ ), advertindo o impacto da heterozigose. De acordo com Sebbenn et al. (2003), a representatividade genética dos indivíduos em uma população está associada com as condições de heterozigotos. Nesse sentido, implica à essa população uma maior atenção referente à conservação, visto que embora ela tenha o menor número de alelos e teoricamente menor diversidade, exibe uma boa representatividade genética.

Outro fator importante na manutenção da diversidade genética em uma população é a frequência de seus alelos. Como observado nas seis populações de jaboticabeiras, foi detectado a ocorrência de alelos de baixa frequência. A presença de alelos de baixa frequência ( $p < 0,05$ ) indica a perda da diversidade genética por meio da deriva genética (KAGEYAMA et al., 1998). Contudo, a maioria das populações apresentam seus alelos com frequência média ( $0,05 < p \leq 0,25$ ), o que indica que, mesmo com a deriva e a redução da população pela fragmentação, os alelos estão segregando para as próximas gerações, mesmo que ocorra a diminuição das frequências dos alelos.

A população de VIT apresentou a maior parte de seus alelos (60%) com frequência alta ( $p > 0,25$ ). As maiores probabilidades de perda são associadas aos alelos raros ou de baixa frequência, enquanto os alelos comuns possuem maior probabilidade de serem fixados. Foi observada a fixação de alelos para as populações de PB e VIT, sendo que esses podem ser importantes para o fitness destas populações. Deste modo, a incidência de alelos raros nas seis populações de jaboticabeiras, atrelado ao fato de terem sido observados alelos exclusivos, sugere que a variabilidade se encontra também dispersa, tornando essas populações complementares quanto à manutenção da diversidade genética.

De acordo com a riqueza alélica detectada nas seis populações de jaboticabeiras, nota-se que as frequências alélicas são semelhantes entre os alelos de mesmo locos, com a aparente perda de alelos e redução do tamanho populacional (*Bottleneck*). A riqueza alélica é mais sensível à redução no tamanho populacional do que a heterozigosidade, devido à eliminação preferencial de alelos

raros, os quais contribuem pouco para a estimativa de  $H_e$  (NEI et al., 1975; VARVIO et al., 1986; COURNUET e LUIKART, 1996). Em longo prazo, a redução da riqueza alélica pode limitar o potencial evolutivo dessas populações, ou seja, a habilidade da espécie em responder às mudanças ambientais (ELLSTRAND e ELAM, 1993).

Com isso, foi averiguada que as seis populações de jaboticabeiras apresentam uma redução do tamanho populacional, com ocorrência de gargalo genético (*Bottleneck*) recente e por um longo período. No entanto, as ações antrópicas podem influenciar na formação de gargalos genéticos, com a redução drástica no tamanho das populações. Como observado neste estudo, os jaboticabais sofreram redução em seu tamanho efetivo populacional, bem como influência das ações antrópicas.

Ademais, em *Luehea divaricata*, espécie que apresenta uma vida útil de 60 anos, os autores destacam que, depois de 100 anos, será observada uma redução drástica da variabilidade genética se não forem tomadas medidas para recuperação das populações (DA SILVA et al., 2012). No entanto, se tratando das jaboticabeiras que apresentam um ciclo de vida longo podendo passar dos 300 anos (DONADIO 2000), a redução da diversidade genética já está ocorrendo nas populações estudadas e se não forem tomadas medidas para minimizar essa perda, respostas negativas mais acentuadas desses distúrbios ecológicos poderão ser confirmados.

Portanto, para minimizar o efeito Bottleneck e aumentar a variabilidade genética das populações de jaboticabeiras, pode-se fazer uso de procedimentos mitigatórios, tais como: o aperfeiçoamento do habitat ou a introdução de imigrantes, para aumento do fluxo gênico. Embora a população de Vitorino tenha excesso de heterozigotos, essa pode perder ou mesmo manter fixados seus alelos diminuindo a variabilidade genética das populações em suas gerações seguintes.

A semelhança das frequências alélicas entre os alelos de mesmo locos pode ser observada na estrutura genética das populações, com a formação de apenas três grupos ( $K = 3$ ) e com a análise da variância molecular (AMOVA), a qual revelou uma maior variação genética dentro dos indivíduos e uma menor variação entre os indivíduos dentro das populações. Essa variação está de acordo com o esperado para espécies que se reproduzem predominantemente por cruzamentos, nos quais a divergência genética é menor entre as populações do que espécies que

se reproduzem predominantemente por autofecundação. As espécies de cruzamentos geram indivíduos com parte dos seus locos polimórficos em heterose (pelo menos 50%) e mantêm a variabilidade genética nas populações distribuídas entre os locos dentro dos indivíduos e entre indivíduos (SEBBENN, 2006).

Contudo, ainda não há informações claras sobre o sistema de reprodução da jaboticabeira. Dificilmente a espécie seja de cruzamento, uma vez que as flores da jaboticabeira são hermafroditas e aparentemente não apresentam autoincompatibilidade (VILELA et al., 2012). Em experimentos com polinização controlada e ensacamento de ramos é demonstrado que as espécies de jaboticabeira são aparentemente autocompatíveis (DANNER et al., 2011b; VILELA et al., 2012).

A floração em massa (tipo *big-bang*) das jaboticabeiras também sugere que a espécie não possa ser de cruzamento, uma vez que esse fenômeno acaba alterando o comportamento do forrageamento das abelhas africanizadas - *Apis mellifera* considerada o principal inseto polinizadores da espécie, a curtas distâncias (DANNER et al., 2011b; MALERBO-SOUZA et al., 2004). Este forrageamento permite que ocorra tanto a autogamia, quanto à geitonogamia e a polinização cruzada. Desta forma, as progênies oriundas de sementes de jaboticabeira podem ter uma mistura de irmãos de autofecundação, meio-irmãos, irmãos-completos e irmãos de autofecundação e cruzamentos (FINKELDEY, 2005; SEBBENN, 2006). Além disso, as sementes de jaboticabeira apresentam poliembrião (DANNER et al., 2011a), o que pode ser devido a formação de embriões por apomixia (assexualmente), os quais geram plântulas clones da planta matriz.

A baixa variação entre os indivíduos dentro das populações pode estar relacionada à autofecundação, mantendo a variabilidade genética nas populações distribuídas apenas entre os indivíduos (SEBBENN, 2006). No entanto, o efeito da autofecundação foi muito reduzido nas populações de jaboticabeiras, pois os locos se encontram em sua maioria em alta heterozigose.

Se essa alta variação dentro dos indivíduos e baixa entre os indivíduos dentro das populações de jaboticabeira não é explicada pelo sistema de cruzamento nem autofecundação, supõe-se, através dos resultados encontrados no presente estudo, que três fatores possam explicar essa variação: a) Efeito fundador; b) Multiplicação por apomixia e c) Seleção a favor de heterozigidade.

O efeito fundador usualmente ocorre em uma população originada por um ou poucos genótipos (FUTUYMA, 1992). Logo, se essas populações de jaboticabeiras foram inicialmente formadas por um número restrito de indivíduos e geneticamente semelhantes, pode-se explicar a homogeneidade entre indivíduos e a alta diversidade dentro dos locos. Assim como observado para duas populações de florestal tropical, *Corythophora alta* e *Ocotea tenera*, sua fundação ocorreu por meio de uma única linhagem materna, ou seja, ocorrência de efeito fundador (HAMILTON, 1999; GIBSON e WHEELWRIGHT, 1995).

Para as populações de jaboticabeiras, este efeito foi verificado por meio da alta diversidade, alto índice de heterozigose nos locos, baixo número de alelos e a possibilidade clonal (apomixia), sendo um indicativo de que as plantas fundadoras já estavam nesta condição. A clonagem possibilita a formação do efeito fundador, que é verificado também pra outras espécies frutíferas, como *Magnolia tomentosa*, *Prunus serotina*, *Theobroma cacao*. Ambas apresentam baixo número de alelos e alta heterozigose, bem como a capacidade de clonagem no cacauero ocorre através de brotações de rizomas, assim como foi observado ocorrência de apomixia nas sementes das demais espécies (SETSUKO et al., 2004; GUADALUPE et al., 2015; SERENO et al., 2006; MOTAMAYOR et al., 2008; 2003; BARTLEY, 2005; SILVA et al., 2011). A formação por indivíduos aparentados e a possibilidade de clonagem por apomixia na espécie, traz a condição que se observa hoje nas populações de jaboticabeiras.

A multiplicação por apomixia também pode ser tratada como uma hipótese para explicar a maior variação dentro dos indivíduos e menor entre os indivíduos. Devido à alta similaridade entre os alelos dos indivíduos, mantendo-se a alta heterozigose e a alta diversidade potencial dentro dos locos, a formação de apenas três grupos demonstra a proximidade entre os indivíduos estudados. Nas jaboticabeiras, a poliembrionia parece ser resultado de apomixia dependente da fecundação. Portanto, além do sistema reprodutivo e do método de dispersão de sementes, o sistema de poliembrionia por apomixia (capacidade de clonagem da planta mãe), contribuem com aumentando a similaridade entre os indivíduos. Entre as causas dessas limitações, a mais provável deve ser a fragmentação do habitat, com a redução do tamanho populacional das populações de jaboticabeiras.

Por meio dos dados de diversidade clonal pode-se observar a ocorrência de clones nas populações de jaboticabeira, o que evidencia a ocorrência de apomixia. Diante disso, a geração de sementes com embriões apomíticos parece ser a provável causa da clonagem nas populações de jaboticabeiras, uma vez que a clonagem natural por outros propágulos não ocorre na espécie, e mesmo a estaquia em ambiente controlado apresenta muito baixo enraizamento (SASSO et al., 2010a).

Nessa perspectiva, a ocorrência de apomixia pode ser vantajosa no caso de não haver disponibilidade ou haver baixa disponibilidade de pólen de outras plantas, de forma a evitar a ocorrência de autofecundação em espécies autocompatíveis, além de manter um genótipo parental com alta adaptação ao ambiente e o aumento do sucesso de polinização quando a densidade populacional é muito baixa (MCMULLEN 1987; RAMÍREZ e BRITO 1990, RICHARDS 1996; JAIMES e RAMÍREZ, 1999). Este efeito de ocorrência de apomixia e manutenção da heterozigosidade foi verificado nas populações de jaboticabeiras do presente estudo, o que poderia ser uma estratégia desenvolvida pela espécie na população para evitar a autofecundação ou cruzamentos de poucos genótipos distintos.

Quando se pensa em conservação da espécie, é preciso levar em consideração que, além do sistema reprodutivo e do método de dispersão de sementes, limitações físicas também podem dificultar o cruzamento de indivíduos mais distantes e contribuem para cruzamentos com indivíduos mais próximos aumentando a similaridade entre eles. Como observado no dendrograma que representa às distâncias genéticas, as populações de CV1 e CHP (grupo dois) são as mais semelhantes geneticamente e as mais distantes geograficamente. Assim como a presença de indivíduos do grupo um (CV2, COR e PB) dentro do grupo dois e o isolamento da população de VIT. Essas condições delimitam as estratégias para conservação *in situ*.

A conservação *in situ* da espécie pode ser ampliada através da inserção de genótipos de uma população para outra que divergem entre si, ou seja, entre grupos. Por exemplo, pelo plantio de mudas produzidas de sementes coletadas da população CHP dentro da população VIT. Em alguns casos, a formação de corredores ecológicos entre fragmentos florestais que contém as jaboticabeiras também é uma estratégia importante de conservação *in situ*. Por exemplo, poderiam ser conectadas as populações CV1 e CV2, distantes 7Km uma

da outra, mas que não compartilham o mesmo *pool* gênico. Assim, estes corredores ecológicos auxiliariam no aumento da taxa de intercâmbio genético (migração) entre as duas populações. Outra estratégia importante seria evitar a presença do gado bovino, o que ocorre principalmente no interior das populações CHP e PB, pois o gado prejudica o desenvolvimento das jaboticabeiras regenerantes.

Esta inserção da diversidade genética dentro das populações se justifica em consequência dessa longa distância e de os jaboticabais se encontram como pequenos fragmentos florestais circundados por lavouras com culturas anuais (trigo, soja e milho). Alguns são localizados as margens de rodovias com fluxo intenso de veículos e, com isso, o fluxo gênico dificilmente poderia ser fluxo com dispersão por animais mesmo os de grande porte, uma vez que não conseguiriam se deslocar a distâncias tão grandes.

Como observado na análise da estatística  $S_p$  média estimada para as populações de jaboticabeiras ( $S_p = 0,0138$ ), a espécie está mais próxima a espécies de cruzamento com dispersão de pólen e sementes por animais. No Brasil, os principais dispersores de Myrtaceae são aves e macacos, porém outros mamíferos e répteis podem contribuir para a dispersão de sementes (PIZO, 2003; GRESSLER et al., 2006). No entanto, devido aos fatores supracitados, acredita-se que os humanos sejam os agentes dispersores de sementes mais eficientes para as jaboticabeiras.

Logo, este fluxo poderia ser explicado pela dispersão por humanos, a qual ajudaria efetivamente na conservação *in situ* da espécie, pois mesmo que a fragmentação do habitat não interfira na abundância de espécies polinizadoras, essa pode modificar o comportamento do polinizador (forrageamento), diminuindo, assim, as taxas de movimento de pólen entre populações (SORK et al., 1999).

Observando os resultados do dendrograma e análise bayesiana, nota-se a individualidade da população de VIT, que é a mais geneticamente distante das outras populações. A ocorrência de seleção a favor de heterozigotos na população, alelos de alta frequência e alelos privados exclusivos desta área, também de alta frequência, denotam que essa população pode ter sido fundada por indivíduos ou sementes vindas de outras regiões diferentes das demais populações, não contribuindo para fundação das demais por não possuir o mesmo *pool* gênico. Essa condição delimita as estratégias de coleta de germoplasma para conservação *ex situ*.

Nesse viés, ao ressaltar a eficiência da dispersão da espécie em áreas mais abertas, por meio de plantios por populações humanas (indígenas e/ou caboclos que habitavam a região), essa seria uma boa prática da conservação *ex situ* desta população, com introdução desses genótipos diferentes nas demais populações. Contudo, outro fator importante para esta conservação *ex situ*, é conhecer a estrutura genética espacial das populações, a qual é muito importante principalmente quando se pensa nas estratégias de amostragem, uma vez que essas informações permitem maximizar a diversidade populacional ou da espécie (EPPERSON e ALLARD, 1989). Além disso, quando se tratar de manejo, a estrutura espacial indicaria a distância mínima entre os indivíduos a serem amostrados, seja para programas de melhoramento genético, ou coleta de sementes, aumentando assim a variabilidade genética (CLOUTIER et al., 2007; KELLY et al., 2004).

Embora seja bastante comum observar frutos desta espécie caídos embaixo da árvore matriz, os resultados sugerem a existência de dispersores que conduzem tais frutos e sementes a distâncias maiores dentro das populações, ou seja, a dispersão de sementes ocorre de 50 m a 240 metros. Com isso, para algumas das populações de jaboticabeiras estudadas, a presença de estruturação espacial ocorre a longas distâncias, portanto para trabalhar com a conservação *ex situ* e melhoramento da espécie devem-se coletar indivíduos distantes entre si, mais de 50m, pois em distâncias menores há ocorrência de estruturação de família.

Quando comparando a distribuição da diversidade e estrutura genética entre jaboticabeiras adultas e juvenis. Observou-se que a diversidade genética foi alta para ambas as gerações de adultos e juvenil nas duas populações estudadas (CV1 e VIT). A semelhança entre o número médio de alelos por loco observado nos indivíduos adultos e juvenis sugere que a área reprodutiva das populações pode ser representada pelos indivíduos amostrados.

No presente estudo, o potencial evolutivo da população de Vitorino, como demonstrado por  $H_o$ , poderia permitir a adaptação de genótipos para futuras mudanças ambientais, devido ao grande número de novos genótipos com recombinações que poderiam ser geradas. Além disso, os valores similares encontrados para  $A$ ,  $A_e$ ,  $H_o$  e  $H_e$  nas duas populações de jaboticabeiras indicam que os indivíduos adultos e juvenis pertencem ao mesmo *poll gênico*. A semelhança dos parâmetros genéticos entre as duas gerações na população de Vitorino, está em



concordância com as análises dos parâmetros genéticos interpopulacionais realizados anteriormente.

Pode-se observar o isolamento genético das populações pela falta de imigração de pólen e sementes, que poderia introduzir novos alelos. Vários estudos de genética de populações indicam que a fragmentação florestal pode causar vários danos a uma população, principalmente nas progênies. A principal consequência desses processos é a redução da diversidade genética, que pode acarretar redução na adaptabilidade de populações remanescentes e na extinção da espécie (ENGLAND et al., 2002). Todavia, nota-se que, apesar da população de VIT apresentar menor diversidade nas duas gerações estudadas, essa consegue passar quase que na totalidade seus alelos para as próximas gerações, com a presença do mesmo alelo fixado (alelo 178) para o mesmo loco, indicando que este pode ser importante para manutenção do fitness da população.

Além disso, há baixa regeneração de jabuticabeira observada nas duas populações estudadas, que pode estar relacionada a fatores como: a recalcitrância nas sementes de jabuticabeiras e perda rápida da viabilidade (DANNER et al., 2011c), o que reduz a probabilidade de emergência de plântulas, a falta de animais dispersores efetivos da espécie. Os fragmentos são pequenos e se encontram próximos a lavouras e estradas com fluxo intenso de carros, (GRESSLER et al., 2006; JORDANO et al., 2006) e mesmo pela ação antrópica de coleta excessiva de frutos para comercialização reduz a quantidade de sementes disponíveis para a regeneração (PIZO e VIEIRA, 2004) e, ainda, as roçadas realizadas no sub-bosque para facilitar a coleta de frutos ocasiona o corte de juvenis de jabuticabeira.

Outros fatores importantes a serem observados nas populações para ambas as gerações de adultos e juvenis, são a presença de alelos raros e alelos fixados. Sendo identificados alelos raros nas populações, estratégias para a conservação *in situ* e *ex situ* devem ser desenvolvidas para garantir a manutenção da variabilidade genética da espécie (GUIDUGLI, 2011).

Em termos de alelos exclusivos, nota-se que maioria dos alelos foi encontrada nos adultos de ambas as populações e com frequências médias a altas, sugerindo que esses alelos conseguiram passar para próxima geração, em especial na população de Vitorino onde o *pool gênico* dos adultos é passado quase que integralmente para os juvenis, devido aos alelos exclusivos terem alta frequência.

Por sua vez, os alelos exclusivos presentes somente nos juvenis, possivelmente vieram de fora, através de fluxo de pólen ou sementes. Também pode ter sido ocasionado pelo método de amostragem, ou seja, não foram genotipadas as matrizes destes juvenis, uma vez que não é possível saber qual árvore matriz é de cada juvenil.

Os resultados das frequências alélicas indicam que para a efetiva sobrevivência da espécie, deveria haver juvenis de jaboticabeira de estágios ontogenéticos (estratos) intermediários, de forma a proporcionar recrutamento (passagem do estágio de juvenil para adulto reprodutivo), para substituição das jaboticabeiras adultas quando morrerem. Quando verificada a estrutura genética especial desses indivíduos juvenis dentro das duas populações de adultos, verificou-se que o padrão espacial se manteve o mesmo para ambas as gerações das suas populações.

A EGE significativa em um raio de 51 m, para ambas as gerações da população de VIT, pode também estar associada à correlação espacial significativa com a presença de clones e o padrão agregado de indivíduos dentro da área de estudo, fortalecendo a hipótese que a população formou-se por apomixia nas sementes (clones das matrizes), seguida de seleção a favor de clones. Embora o número de genótipos distintos seja igual em ambas às gerações, não foram detectados juvenis clones dos adultos.

Nota-se que os padrões genéticos se mantêm nas gerações de adultos e juvenis nos dois jaboticabais estudados, em especial a população de VIT. Com isso, devem-se montar estratégias de coleta de germoplasma para conservação *ex situ*. Para fins de amostragem, tanto para o melhoramento quanto para a conservação genética, a estruturação detectada na população de VIT mostra a necessidade de se coletarem sementes em árvores distanciadas entre si por mais de 51 m, para evitar coletar sementes de árvores aparentadas. A coleta de sementes em árvores distantes 100 m entre si tem sido preconizada para evitar árvores aparentadas, em programas de melhoramento e conservação genética (SHIMIZU et al., 1982; ELDRIDGE et al., 1993). Porém, para as populações estudadas os resultados indicam que essa estratégia pode ser ineficiente, pois, provavelmente, as matrizes amostradas sejam descendentes de poucos indivíduos remanescentes e

por tratar-se de uma espécie com capacidade clonal (apomixia) os indivíduos juvenis carregam as características da planta-materna.

A avaliação da estrutura genética espacial para a jaboticabeira, em um número maior de amostras (pelo menos 50 a 100 indivíduos por população) do que as utilizadas no presente estudo (30 a 40) são desejáveis para o melhor entendimento da escala espacial da estruturação. A amostragem de 50 indivíduos adultos permitiria que número maior de classes de distâncias fosse utilizado no estudo da distribuição espacial de genótipos da espécie e conseqüentemente, entender melhor a escala de estruturação.

## 9 IMPLICAÇÕES PARA A CONSERVAÇÃO DE *Plinia cf. peruviana*

A jaboticabeira, aparentemente, é uma espécie conhecida basicamente em cultivo. Na natureza, ocorrem em populações agregadas e, relativamente homogêneas, chamadas de jaboticabais. No presente trabalho, foi verificada a característica de agrupamento nos seis jaboticabais estudados. Sugerindo que estes aglomerados “naturais” de *Plinia cf. peruviana* possam ser remanescentes de roças indígenas.

Dentre as principais ameaças e vulnerabilidade da espécie destacam-se a erosão genética, causada pela destruição dos habitats e a destruição de áreas de jaboticabeiras silvestres, sem que esses germoplasmas sejam resgatados, cultivados e lançados no mercado pela carência de estudos aprofundados de longo prazo, com as frutíferas nativas. Os jaboticabais estudados se encontram em pequenos fragmentos florestais de 2,4 hectares a 28,9 hectares, criados do desmatamento e queimadas para abertura de áreas de lavouras e pastagens, ocorridas há mais de 60 anos. Antes deste período, os jaboticabais tinham um tamanho muito maior. Os resultados do presente trabalho indicam a ocorrência de erosão genética, reflexo desta redução dos habitats naturais e a consequente redução de emigrantes de pólen e sementes que poderia introduzir novos alelos não presentes nestes jaboticabais.

Portanto, medidas de conservação devem ser impostas a esses jaboticabais. A mais importante medida está na valorização e divulgação do potencial econômico imediato da espécie, possibilitando o manejo sustentável nos ambientes naturais, encorajando e financiando o cultivo em pomares comerciais. Hoje se percebe que a espécie ficou muito esquecida na cultura da nova geração, poucos conhecem seu potencial na indústria, em especial na farmacêutica, com todas as suas propriedades medicinais já comprovadas, como o elevado teor de antocianinas e flavonoides.

No entanto, pela importância econômica e cultural da espécie no Brasil, em especial na região Sudoeste do Paraná, torna-se imprescindível a formação de Bancos Ativos de Germoplasma (BAG) contendo genótipos dos vários locais de ocorrência da jaboticabeira, em cultivos ou em populações naturais, visando à

conservação *ex situ* e proporcionando o uso futuro da espécie. O que torna ainda mais importante à conservação do germoplasma são os estudos já realizados com essa espécie na região Sudoeste do Paraná, os quais contêm pelo menos 14 fragmentos florestais com mais de 4 mil jaboticabeiras adultas nativas (DANNER et al., 2010). Essas devem ser mantidas, uma vez que os proprietários não irão cortar por estarem em suas propriedades como área de reserva legal, o que contribui para a manutenção da variabilidade genética da espécie, permitindo sua dispersão e seu recrutamento natural.

Como já explicitado, a jaboticabeira tem todos os atributos para tornar-se a fruta símbolo da valorização da biodiversidade alimentar brasileira. Mas, para isso, é necessário investir em cultivo em larga escala, tendo em vista que a espécie apresenta mercado nacional e internacional garantidos, desde que com produção em quantidades e qualidades satisfatórias. A frutífera precisa sair do imaginário e da memória alimentar das pessoas, assim como dos quintais e pomares domésticos para plantios em larga escala nas diferentes regiões com aptidão para sua produção.

Assim, faz-se importante o investimento em coletas de germoplasma nas diferentes populações para o resgate da maior variabilidade genética ainda disponível. Sugerem-se, assim, duas condições de conservação: uma *in situ*, outra *ex situ*, amostrando-se populações e indivíduos cujos propágulos (sementes ou partes vegetativas) serão multiplicados em coleções de germoplasma posteriormente. A conservação em *in situ* contará com a interferência do homem, pois, como visto nas análises dos parâmetros genéticos, as populações não têm capacidade de se conservarem sozinhas. A partir disso, procura-se estabelecer algumas estratégias de coleta e manutenção deste material.

Diante dos resultados dos parâmetros genéticos dos seis jaboticabais e do histórico das áreas, propõem-se, para redução da erosão genética, fomentar os migrantes para dentro destas populações por meio da ação do homem, inserindo genótipos distintos dentro das populações. Tudo com o objetivo de aumentar o fluxo gênico e a variabilidade genética, haja visto que este é limitado entre e dentro das populações (Tabela 6). Para inserção destes migrantes pode-se usar as análises de agrupamento bayesiano e dendrograma UPGMA baseado na distância genética (Figura 7), neste observa-se que algumas populações, em especial nas populações

de CV1 e CHP, somente uma população pode ser utilizada para conservação *in situ*, uma vez que estas apresentam uma sobreposição genética muito grande, ou seja, maior número de indivíduos geneticamente iguais.

Porém, a população de Vitorino é geneticamente mais distante das demais populações, o que permite a inserção de um número maior de genótipos dentro das demais áreas. Para a conservação *ex situ*, deve-se levar em consideração alguns fatores para a manutenção do germoplasma e a consequente redução da erosão genética nas seis populações estudadas. Em primeiro lugar, deve se analisar o número de plantas matrizes a ser coletadas. Sebbenn (2002) sugere a coleta de sementes para adequada conservação *ex situ* da variabilidade genética no curto prazo, ou 10 gerações ( $N_e = 50$  e  $100$ ), para áreas de 40 a 100 ha e logo prazo, ou 100 gerações ( $N_e = 500$ ), para áreas acima 500 ha.

No entanto, o número de árvores coletadas deve ser correspondentemente, mais alto ( $N_e$ ), conforme mostrado na Tabela 14. Para as populações de jaboticabiras estudadas, com coleta de sementes de 50 a 100 árvores, ou até 10 gerações, acima disto não seria possíveis, pois não teria área suficiente para a conservação *ex situ*. Embora os jaboticabais tenham menos de 40 há, a semelhança genética entre elas é muito grande, por isso sugere-se um número maior de árvores a serem coletadas, em especial para população de VIT com um ( $N_e = 100$ ).

**Tabela 14-** Número de árvores necessárias para a coleta de sementes, com o tamanho efetivo de 50 ( $N_e = 50$ ), 100 ( $N_e = 100$ ) e 500 ( $N_e = 500$ ). UTFPR, Pato Branco – PR, 2019.

Pop.	n	$N_e$	$n/N_e$	$N_e = 50$	$N_e = 100$	$N_e = 500$
COR	30	32	0,94	47	94	469
PB	25	27	0,93	46	93	463
CV1	40	37	1,08	54	108	541
CV2	25	24	1,04	52	104	521
CHP	40	41	0,98	49	98	488
VIT	30	58	0,52	26	52	259

n = tamanho da amostra;  $N_e$  = tamanho efetivo

Com base na análise bayesiana da estrutura genética e da diversidade genética, a população de VIT se destaca como prioridade para a conservação por apresentar uma seleção a favor de heterozigotos e alelos fixados em ambas às gerações de adultos e juvenis, bem como a diferenciação das demais populações, fazendo parte de um agrupamento genético distinto. Esse quadro é altamente

favorável à coleta de sementes em populações naturais por garantir variabilidade genética nas sementes coletadas. Essa seleção a favor de heterozigotos refletiu no valor do tamanho efetivo populacional, duplicando o valor ( $N_e = 58$ ) quando comparado com o número de indivíduos amostrados ( $n = 30$ ) advertindo o impacto da heterozigose (Tabela 14). Portanto, os dados sugerem a coleta de sementes de mais 100 árvores nesta população distantes acima de 50 metros para coletar entre uma matriz e outra dentro da mesma população, reduzindo assim as chances de serem indivíduos aparentados, pois acima de 50 metros a estrutura genética espacial é significativa.

Deste modo, essas seriam boas práticas de instalação destes novos genótipos dentro do Banco Ativo de Germplasma (BAG), os quais seriam determinados nas mesmas condições da conservação *ex situ* através das plantas que apresentam alelos distintos dentro das populações. A diferença é que no BAG as plantas estariam dispostas mais próximas entre si para monitoramento de troca de fluxo gênico entre elas, aumentando a diversidade genética e diminuindo a erosão genética.

## 10 CONCLUSÃO

As populações de jaboticabeiras (*Plinia. cf. peruviana*) apresentam alta diversidade genética, com alto número de alelos e alta heterozigose. A maior parte da variabilidade genética dessa espécie se encontra dentro dos indivíduos e menor entre indivíduos, como consequência do efeito fundador, apomixia por clonagem e seleção a favor de heterozigotos.

Há ocorrência de estrutura genética espacial significativa a longas distâncias em cinco das seis populações, o que sugere a existência de dispersores dentro das populações.

Ademais, houve sinais significativos de gargalo genético recente e assinatura por um longo tempo nas *P. cf. peruviana*, evidenciando a importância da conservação da espécie para manutenção da diversidade genética.

Nesse sentido, as jaboticabeiras juvenis apresentam o mesmo *pool gênico* que as jaboticabeiras adultas, indicando uma efetiva segregação dos alelos para as próximas gerações.

Pela identificação de alelos raros nas populações, as estratégias para a conservação *in situ* e *ex situ* supracitadas devem ser desenvolvidas. Em especial para a população de Vitorino, que apresenta uma diferenciação genética em relação às demais populações, ou seja, não compartilha o mesmo *pool gênico*.

Para a conservação *in situ*, deve-se incluir diversidade genética dentro das áreas, com a formação de corredores ecológicos entre fragmentos florestais próximos contendo jaboticabeira, levando em consideração as áreas de importância a conservação, particularmente nas populações de CV1 e CHP, que apresentam uma sobreposição genética muito grande. Ou seja, para fins de conservação, somente a população de Chopinzinho pode ser utilizada, pois apresenta uma maior área.

Para conservação *ex situ* de jaboticabeiras, devem ser coletadas sementes de mais 50 árvores por populações distantes uma das outras por mais de 50 metros evitando grau de parentesco entre os genótipos.



## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALVES, Ana. Paula. DE C. **Farinha de Casca de Jabuticaba: Armazenamento e Aplicações**. 104f. Tese (Doutorado em Agroquímica) - Universidade Federal de Lavras, Lavras-MG. 2014.
- ANDERSEN, Otto.; GOMES, Fernanda. R. Propagação vegetativa da jabuticabeira (*Myrciaria* sp.). In: **Congresso Brasileiro de Fruticultura**. 1976. p. 423-427.
- ANDERSEN, Otto; ANDERSEN, Verônica Ulup. **As frutas silvestres brasileiras**. Editora Globo, 1988.
- BARBOSA, Ana Clara de Oliveira Ferraz et al. Range-wide genetic differentiation of *Eugenia dysenterica* (Myrtaceae) populations in Brazilian Cerrado. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 59, p. 288-296, 2015.
- BITTENCOURT, Juliana. M.; SEBBENN, Alexandre. M. Patterns of pollen and seed dispersal in a small fragmented population of a wind pollinated *Araucaria angustifolia* in southern Brazil. **Heredity**, v.99, p.580-591, 2007.
- BURCZYK, Jaroslaw.; DIFAZIO, Stephen. P.; ADAMS, W. T. Gene flow in forest trees: how far do genes really travel? **Forest Genetics**, v. 11, n. 3/4, p. 179, 2004.
- BURLEY, J. e NAMKOONG, G. **Conservation of forest genetic resources**. Eleventh Commonwealth Forestry Conference, Trinidad, Sept., 1980. (Datilografado).
- CAMPOS, Adriano. G. D. et al. **Germinação de sementes de diferentes acessos de jabuticabeira**. In XXII Congresso Brasileiro de Fruticultura, p. 5530–5533, 2012.
- CARVALHO, Ana Cristina Magalhães de et al. Diversidade genética, endogamia e fluxo gênico em pequena população fragmentada de *Copaifera langsdorffii*. **Brazilian Journal of Botany**, p. 599-606, 2010.
- CASSOL, Darcieli. A. **Propagação de jabuticabeira [Plinia cauliflora (DC.) Kausel] por enxertia, alporquia e estaquia**. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Pato Branco, 110 p., 2013.
- CASTELLA, Paulo Roberto; DE BRITIZ, Ricardo Miranda. **A floresta com araucária no Paraná: conservação e diagnóstico dos remanescentes florestais**. Ministério do Meio Ambiente, Centro de Informação, Documentação Ambiental e Editoração-CID Ambiental, 2004.
- CLEGG, Michael T. Measuring plant mating systems. **Bioscience**, v. 30, n. 12, p. 814-818, 1980.

CLOUTIER, Dominic. 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.

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

Da SILVA, Daniela.C.G. et al. Genetic structure and diversity of Brazilian tree species from fragments and riparian woods. In: Çaliskan M, editor. **Genetic Diversity in Plants**, 1 edition. Thech Open Sci, p 319-412, 2012.

DANNER, Moeses. A. et al. Modo de reprodução e viabilidade de pólen de três espécies de jabuticabeira. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 33, n. 2, p. 345- 352 2010c.

DANNER, Moeses. A. et al. Modo de reprodução e viabilidade de pólen de três espécies de jabuticabeira. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.33, n.2, p.345-352, 2011b.

DANNER, Moeses. A. et al. Genetic dissimilarity among jaboticaba trees native to Southwestern Paraná, Brazil. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.33, n.2, p.517-525, 2011a.

DANNER, Moeses. A. et al. Ecogeográfico da ocorrência de jabuticabeiras nativas no Sudoeste do Paraná. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.32, n.3, p.746-753, 2010.

DE ALMEIDA, Eraldo. S.; SILVA, R. José. N.; GONÇALVES, Estrela. M. Compostos fenólicos totais e características físico-químicas de frutos de jaboticaba. **Gaia Scientia**, v. 12, n. 1, p. 81-89, 2018.

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

DONADIO, Luiz. C. Jaboticaba (*Myrciaria jaboticaba* (Vell.) Berg). Jaboticabal: **Funep**.(Série Frutas Nativas, 3).p. 55, 2000.

DORKEN, Marcel E.; ECKERT, Christopher G. Severely reduced sexual reproduction in northern populations of a clonal plant, *Decodon verticillatus* (Lythraceae). **Journal of Ecology**, v. 89, n. 3, p. 339-350, 2001.

DOS SANTOS, Karine. L; DUCROQUET, Jean. P. H. J; NODARI, Rubens O. Caracterização genética de populações naturais de goiabeira serrana (*Acca sellowiana*) com marcadores microssatélites heterólogos. **Biotemas**, v. 24, n. 4, p. 75-83, 2011.

DUARTE, Odilo; HUETE, Mauricio; LÜDDERS, Peter. Propagation of jaboticaba (*Myrciaria cauliflora* (Mart.) Berg) by terminal leafy cuttings. **In: International Symposium on Myrtaceae** 452. 1996. p. 123-128.

ELLSTRAND, Norman C.; ELAM, Diane R. Population genetic consequences of small population size: implications for plant conservation. **Annual review of Ecology and Systematics**, v. 24, n. 1, p. 217-242, 1993.

ENGLAND, Phillip R. et al. Microsatellite diversity and genetic structure of fragmented populations of the rare, fire-dependent shrub *Grevillea macleayana*. **Molecular Ecology**, v. 11, n. 6, p. 967-977, 2002.

EPPERSON, B. K.; ALLARD, R. W. Spatial autocorrelation analysis of the distribution of genotypes within populations of lodgepole pine. **Genetics**, v. 121, n. 2, p. 369-377, 1989.

EXCOFFIER, Laurent; SMOUSE, Peter E.; QUATTRO, Joseph M. Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: application to human mitochondrial DNA restriction data. **Genetics**, v. 131, n. 2, p. 479-491, 1992.

FAHRIG, Lenore. Effects of habitat fragmentation on biodiversity. **Annual review of ecology, evolution, and systematics**, v. 34, n. 1, p. 487-515, 2003.

FINKELDEY, Reiner. and Hattemer, Hans.H. **An introduction to tropical forest genetics**. Göttingen: Institute of Forest Genetics and Forest Tree Breeding, 241p, 2005.

FRANKHAM, Richard; BRISCOE, David A.; BALLOU, Jonathan D. **Introduction to conservation genetics**. Cambridge university press, 2002.

FUCHS, Eric J.; HAMRICK, James. L. Mating system and pollen flow between remnant populations of the endangered tropical tree, *Guaiacum sanctum* (Zygophyllaceae). **Conservation Genetics**, v. 12, n. 1, p. 175-185, 2011.

FUTUYMA, Douglas J. **Biologia evolutiva**. 2. ed. Ribeirão Preto: SBG, 1992.

FUTUYMA, Duoglas. J. **Biologia evolutiva**. Ribeirão Preto: **FUNPEC**. 2003.

GARZA, Jonh. C.; WILLIAMSON, Ellen. G. Detection of reduction in population size using data from microsatellite loci. **Molecular ecology**, v. 10, n. 2, p. 305-318, 2001.

GIBSON, J. Phil; WHEELWRIGHT, Nathaniel T. Genetic structure in a population of a tropical tree *Ocotea tenera* (Lauraceae): influence of avian seed dispersal. **Oecologia**, v. 103, n. 1, p. 49-54, 1995.

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

GOUDET, Jérôme. **FSTAT, a program to estimate and test gene diversities and fixation indices (version 2.9.3)**. Disponível em: <<http://www.unil.ch/izea/software/fstat.html>>. Acessado: 25 Set. 2018.

GRESSLER, Eliana; PIZO, Marco A.; MORELLATO, Patrícia C. Polinização e dispersão de sementes em Myrtaceae do Brasil. **Brazilian Journal of Botany**, p. 509-530, 2006.

GUADALUPE, Juan J. et al. Genetic diversity and distribution patterns of Ecuadorian capuli (*Prunus serotina*). **Biochemical systematics and ecology**, v. 60, p. 67-73, 2015.

GUIDUGLI, Marcela. C. **Estudos Genéticos da Espécie Florestal Cariniana estrellensis (Raddi) Kuntze: Diversidade, Sistema de Cruzamento e Fluxo Gênico Contemporâneo**. 2011. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo.

HAMILTON, Matthew B. Tropical tree gene flow and seed dispersal. **Nature**, v. 401, n. 6749, p. 129, 1999.

HAMILTON, Matthew.B. **Population genetics**. Oxford: Wiley-Blackwell, 2009. 407p.

HAMRICK, James. L. Gene flow and distribution of genetic variation in plant populations. In: Differentiation patterns in higher plants. **Academic press**, p. 53 67, 1987.

HARDY, Olivier J. et al. Fine-scale genetic structure and gene dispersal inferences in 10 Neotropical tree species. **Molecular ecology**, v. 15, n. 2, p. 559-571, 2006.

HARTL, Daniel L.; CLARK, Andrew G. **Princípios de Genética de Populações-4**. Artmed Editora, 2010.

HARTL, Daniel.L. e CLARK, Andrew.G. **Principles of Population Genetics**. 4ª ed. Sinauer Associates, Sunderland, MA. 545p, 2006.

HARTMANN, Hudson.T. et al. **Plant propagation: principles and practices**. 7. ed. New Jersey: Prentice Hall, 880p.2002.

HEDRICK, Philip.W. **Genetics of populations**. 4.ed. Sudbury, MA: Jones and Bartlett Publishers, 675p, 2010.

HEDRICK, Philip.W. **Genetics of populations**. 4<sup>th</sup> Ed. Massachusetts: Jones and Bartlett Publishers. 675p, 2011.

HSU, Jeng-Dong et al. Myrciaria cauliflora extract improves diabetic nephropathy via suppression of oxidative stress and inflammation in streptozotocin-nicotinamide mice. **Journal of food and drug analysis**, v. 24, n. 4, p. 730-737, 2016.

JAIMES, Iván; RAMÍREZ, Nelson. Breeding systems in a secondary deciduous forest in Venezuela: the importance of life form, habitat, and pollination specificity. **Plant Systematics and Evolution**, v. 215, n. 1, p. 23-36, 1999.

JORDANO, Pedro et al. Ligando frugivoria e dispersão de sementes à biologia da conservação. **Biologia da conservação: essências**, p. 411-436, 2006.

JÚNIOR, Américo. W. et al. Germinação e desenvolvimento inicial de duas espécies de jaboticabeira em função do tamanho de sementes. **Acta Scientiarum**. Agronomy, 33(1), p.105–109, 2011.

KAGEYAMA, Paulo. Y., GANDARA, Flávio. B. Indicadores de sustentabilidade de florestas naturais. Série Técnica **IPEF, Piracicaba**, v. 12, n. 31, p. 79-84, 1998.

KALINOWSKI, STEVEN T.; TAPER, Mark L.; MARSHALL, Tristan C. Revising how the computer program CERVUS accommodates genotyping error increases success in paternity assignment. **Molecular ecology**, v. 16, n. 5, p. 1099-1106, 2007.

KELLY, Bokary. A. et al. Temporal and spatial genetic structure in *Vitellaria paradoxa* (shea tree) in an agroforestry system in southern Mali. **Molecular ecology**, v. 13, n. 5, p. 1231-1240, 2004.

KAUSEL, Eberhard. **Beitrag zur Systematik der Myrtaceen**. Almqvist & Wiksell, 1956.

KINUPP, VALDELY F. et al. **Plinia peruviana Jaboticaba**. In: Espécies nativas da flora brasileira de valor econômico atual ou potencial: plantas para o futuro: região sul. Ministério do Meio Ambiente, 2011.

LANGELLA, O. Populations (Version 1.2.28). **Centre National de la Recherche Scientifique**, 2002.

LEITE-LEGATTI, Alice Vieira et al. Jaboticaba peel: Antioxidant compounds, antiproliferative and antimutagenic activities. **Food Research International**, v. 49, n. 1, p. 596-603, 2012.

LENQUISTE, Sabrina Alves et al. Freeze-dried jaboticaba peel added to high-fat diet increases HDL-cholesterol and improves insulin resistance in obese rats. **Food Research International**, v. 49, n. 1, p. 153-160, 2012.

LI, Ching. C. **Population genetics**. Chicago: University of Chicago Press, 1976. 366 p.

LUIKART, Gordan. et al. Distortion of allele frequency distributions provides a test for recent population bottlenecks. **Journal of Heredity**, v. 89, n. 3, p. 238-247, 1998.

MACHADO, Lilian. Oliveira. et al. Caracterización de marcadores microsatélites en *plinia jaboticaba* (vell.) kausel. In: **XLIII Argentine Congress of Genetics**. San Carlos de Bariloche. p.270, 2014.

MALERBO-SOUZA, Darcler Terezinha et al. Abelhas visitantes nas flores da jaboticabeira (*Myrciaria cauliflora* Berg.) e produção de frutos. **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, v. 26, n. 1, p. 1-4, 2004.

MANOEL, Ricardo. O. et al. Low levels of pollen and seed flow in a riparian forest fragment of the dioecious tropical tree *Genipa americana* L. **Forestry Research and Engineering: International Journal**, v. 1, n. 00003, 2017.

MARCHIORI, José Newton Cardoso. **Dendrologia das angiospermas**. Myrtales. Ed. UFSM, 1997.

MARQUETTI, Carline. **Obtenção e caracterização de farinha de casca de jaboticaba (*Plinia cauliflora*) para adição em biscoito tipo cookie**. 2014. Dissertação de Mestrado. Universidade Tecnológica Federal do Paraná.

MARSHALL, Tristan.C. et al. Statistical confidence for likelihood-based paternity inference in natural populations. **Molecular Ecology**, v.7, p.639-655, 1998.

MARTINS, Diego. A. **Caracterização molecular de acessos de jaboticabeiras do ecossistema floresta com araucária com marcadores microssatélites (SSR)**. 2007. 69f. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia), Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Paraná, Pato Branco, 2013.

MARTINS, Paulo. S. Estrutura populacional, fluxo gênico e conservação" in situ. **IPEF**, v. 35, p. 71-78, 1987.

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

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

MCMULLEN, Conley K. Breeding systems of selected Galapagos Islands angiosperms. **American Journal of Botany**, v. 74, n. 11, p. 1694-1705, 1987.

MOTAMAYOR, Juan C. et al. Geographic and genetic population differentiation of the Amazonian chocolate tree (*Theobroma cacao* L). **PloS one**, v. 3, n. 10, p. e3311, 2008.

MOTAMAYOR, Juan Carlos et al. Cacao domestication I: the origin of the cacao cultivated by the Mayas. **Heredity**, v. 89, n. 5, p. 380, 2003.

NASS, Luciano. L. et al. **Recursos genéticos e melhoramento - Plantas**. Fundação MT, Rondonópolis, Mato Grosso.1143p, 2001.

NASS, Luciano. L. **Recursos Genéticos Vegetais**. Embrapa Recursos e Biotecnologia, Brasília, DF, p. 193-224, 2007.

NEI, Masatoshi. F-statistics and analysis of gene diversity in subdivided populations. **Annals of human genetics**. 41(2). 225-233, 1977.

NEI, Masatoshi et al. The bottleneck effect and genetic variability in populations. **Evolution**, v.29, p.1-10, 1975.

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

OLIVEIRA, Alessandro F.; CARVALHO, Dulcinéia. de; ROSADO, SEBASTIÃO CS. Taxa de cruzamento e sistema reprodutivo de uma população natural de *Copaifera langsdorffii* Desf. na região de Lavras (MG) por meio de isoenzimas. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 25, n. 3, p. 331-338, 2002.

OLIVEIRA, Luís. A. **Caracterização morfológica e molecular da jabuticabeira (*Myrciaria* sp)**. Ituverava: FAFRAM, (Relatório Científico – FAPESP).190p. 2002.

PEAKALL, Rod.; SMOUSE, Peter. E. GenAEx 6: Genetic Analysis in Excel. Population genetics software for teaching and research. **Molecular Ecology**. 6: Weir BS e Cockerham CC (1984). Estimating F-statistics for the analysis of population structure. **Evolution**. v. 38.p.1358–1370. p. 288-295. 2006.

PEREIRA, Márcio et al. Morphologic and molecular characterization of *Myrciaria* spp species. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 27, n. 3, p. 507-510, 2005.

PIRY, Sylvain et al. BOTTLENECK: a computer program for detecting recent reductions in the effective population size using allele frequency data. **Journal of heredity**, v. 90, p. 502-503, 1999.

PIZO, Marco.A. Padrão de deposição de sementes e sobrevivência de sementes e plântulas de duas espécies de Myrtaceae na Mata Atlântica. **Revista Brasileira de Botânica** 2003.

POLLEGIONI, Paola et al. Landscape genetics of Persian walnut (*Juglans regia* L.) across its Asian range. **Tree Genetics & Genomes**, v. 10, n. 4, p. 1027-1043, 2014.

PR (COORD.). CASTELA. **Subprojeto Conservação do Bioma Floresta com Araucária: diagnóstico dos remanescentes florestais: relatório final**. FUPEF, 2001.

PRIMACK, Richard B.; RODRIGUES, Efraim. Biologia da conservação. In: **Biologia da conservação**. 2006.

PRITCHARD, Jonathan. K., STEPHENS, Matthew., AND DONNELLY, Peter. Inference of population structure using multiLocus genotype data. **Genetics** 155, 945–959. 2000.

RAMIREZ, Nelson; BRITO, Ysaleny. Reproductive biology of a tropical palm swamp community in the Venezuelan llanos. **American Journal of Botany**, v. 77, n. 10, p. 1260-1271, 1990.

RICHARDS, Adrian John. **Plant breeding systems**. Garland Science, 1986.

RITLAND, Kermit. Correlated matings in the partial selfer *Mimulus guttatus*. **Evolution**, v.43, p.848-859, 1989.

RITLAND, Kermit; JAIN, Subodh. A model for the estimation of outcrossing rate and gene frequencies using n independent loci. **Heredity**, v. 47, n. 1, p. 35, 1981.

ROBLEDO-ARNUNCIO, Juan. J.; GIL, Luis. Patterns of pollen dispersal in a small population of *Pinus sylvestris* L. revealed by total-exclusion paternity analysis. **Heredity**, v. 94, n. 1, p. 13, 2005.

SALLA, Vanessa. P. **Apomixia determinando a estrutura genética de uma população de *Plinia peruviana* no sudoeste do paraná**. 2016. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Federal do Paraná, Pato Branco.

SANTOS, Diego T.; VEGGI, Priscilla C.; MEIRELES, Maria. A. Extraction of antioxidant compounds from Jaboticaba (*Myrciaria cauliflora*) skins: Yield, composition and economical evaluation. **Journal of Food Engineering**, v. 101, n. 1, p. 23-31, 2010.

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

SAUNDERS, Denis A.; HOBBS, Richard J.; MARGULES, Chris R. Biological consequences of ecosystem fragmentation: a review. **Conservation biology**, v. 5, n. 1, p. 18-32, 1991.

SCHUSTER, Ivan. Fluxo gênico e coexistência de lavouras com espécies transgênicas e convencionais. **Informativo Abrates**, v. 23, n. 1, p. 39-45, 2013.

SEBBENN, Alexandre M. et al. Sistema de cruzamento em populações de *Cariniana legalis* Mart. O. Ktze.: implicações para a conservação e o melhoramento genético. **Scientia Forestalis**, Piracicaba, v. 58, p. 25-40, 2000.

SEBBENN, Alexandre. M. Número de árvores matrizes e conceitos genéticos na coleta de sementes para reflorestamentos com espécies nativas. **Revista do Instituto Florestal**. 14:115–132, 2002.

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



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

SEBBENN, Alexandre. M. et al. Low levels 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**. 106:134–145, 2011.

SEOANE, Carlos. E. S.; SEBBENN, Alexandre. M.; KAGEYAMA, Paulo. Y. Sistema de reprodução em duas populações naturais de *Euterpe edulis* M. sob diferentes condições de fragmentação florestal. **Scientia Forestalis**, **69**: 13-24, 2005.

SERENO, Maria L. et al. Genetic diversity and natural population structure of cacao (*Theobroma cacao* L.) from the Brazilian Amazon evaluated by microsatellite markers. **Conservation Genetics**, v. 7, n. 1, p. 13-24, 2006.

SETSUKO, Suzuki. et al. Size distribution and genetic structure in relation to clonal growth within a population of *Magnolia tomentosa* Thunb.(Magnoliaceae). **Molecular Ecology**, v. 13, n. 9, p. 2645-2653, 2004.

SILVA, André Luiz Gomes; PINHEIRO, Maria Célia B. Biologia floral e da polinização de quatro espécies de *Eugenia* L.(Myrtaceae). **Acta bot. bras**, v. 21, n. 1, p. 235-247, 2007.

SILVA, Carlos. R. S. et al. Understanding the genetic diversity, spatial genetic structure and mating system at the hierarchical levels of fruits and individuals of a continuous *Theobroma cacao* population from the Brazilian Amazon. **Heredity**, v. 106, n. 6, p. 973, 2011.

SLATKIN, Montgomery. Gene flow in natural populations. **Annual review of ecology and systematics**, v. 16, n. 1, p. 393-430, 1985.

SMOUSE, Peter E. et al. Two-generation analysis of pollen flow across a landscape. I. Male gamete heterogeneity among females. **Evolution**, v. 55, n. 2, p. 260-271, 2001.

SMOUSE, Peter. E.; SORK, Victoria. L. Measuring pollen flow in forest trees: an exposition of alternative approaches. **For Ecol Manag**, v. 197, p. 21–38, 2004.

SOBRAL, Marcos. et al. Myrtaceae in lista de espécies da flora do Brasil. **Jardim Botânico do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro**, v. 10, 2015.

SORK, Victoria L. et al. Landscape approaches to historical and contemporary gene flow in plants. **Trends in Ecology & Evolution**, v. 14, n. 6, p. 219-224, 1999.

SORK, Victoria L.; SMOUSE, Peter E. Genetic analysis of landscape connectivity in tree populations. **Landscape ecology**, v. 21, n. 6, p. 821-836, 2006.

SOUZA, Flaviana Maluf; BATISTA, Joao Luis Ferreira. Restoration of seasonal semideciduous forests in Brazil: influence of age and restoration design on forest structure. **Forest ecology and Management**, v. 191, n. 1-3, p. 185-200, 2004.

TURNER Ian. M. Species loss in fragments of tropical rain forest: a review of the evidence. *Journal of Applied Ecology* 33:200–209, 1996.

VALIO, Ivany. F.M; FERREIRA, Zenith. de L. Germination of seeds of *Myrciaria cauliflora* (Mart.) Berg.(Myrtaceae). **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v. 4, n. 2, p. 95-98, 1992.

VARVIO, Sirkka-Liisa; CHAKRABORTY, Ranajit; MASATOSHI Nei.E.I.. Genetic variation in subdivided populations and conservation genetics. **Heredity**, v. 57, n. 2, p. 189, 1986.

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

VERNIER, Rafael. M.; CARDOSO, Susette. B. Influência do ácido indol-butírico no enraizamento de estacas em espécies frutíferas e ornamentais. **Revista Eletrônica de Educação e Ciência**, 3(2), p.11–16, 2013.

VIEITES, Rogério Lopes et al. Caracterização físico-química, bioquímica e funcional da jaboticaba armazenada sob diferentes temperaturas. **Revista Brasileira de Fruticultura**, p. 362-375, 2011.

VILELA, Regina. C. F. et al. Sistema reprodutivo e diversidade genética de quatro espécies de *Myrciaria* (Myrtaceae, jaboticabeiras). **Acta Botanica Brasilica**, v.26, n.4, p.727-734, 2012.

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

WRIGHT, Sewall. The interpretation of population structure by Fstatistics with special regard to system of mating. **Evolution**, Lawrence, v. 19, p.395-342, 1965.

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

YOUNG, Andrew Graham; BOSHIER, David; BOYLE, Timothy James Butler. **Forest conservation genetics: principles and practice**. Csiro Publishing, 2000.

ZOBEL, Breuce. e TALBERT, J. **Applied forest tree improvement**. New York, John Wiley and Sons. 505p, 1984.

## ÍNDICE DE APÊNDICES

<b>APÊNDICE A</b> – Índices de diversidade genética em seis populações naturais de jaboticabeiras ( <i>Plinia. cf. peruviana</i> ) calculado para os dez Locos microssatélites. UTFPR, Pato Branco-PR, 2019.....	86
<b>APÊNDICE B</b> – Índices de diversidade genética para indivíduos juvenis em duas populações naturais de jaboticabeiras ( <i>Plinia cf. peruviana</i> ), calculados para os dez Locos microssatélites. UTFPR, Pato Branco-PR, 2019.....	88
<b>APÊNDICE C</b> – Frequências alélicas e alelos exclusivos nos dez locos microssatélites nos indivíduos adultos de seis populações nativos de jaboticabeiras ( <i>Plinia cf. peruviana</i> ) na região Sudoeste do Paraná. UTFPR, Pato Branco-PR, 2019.....	90
<b>APÊNDICE D</b> - Distribuições de frequências de alelos em (Mode-Shift) para uma amostragem de 190 indivíduos de <i>P. cf. peruviana</i> , em 10 locos microssatélites para determinação de Baltoneck. UTFPR, Pato Branco – PR, 2019.....	93
<b>APÊNDICE E</b> – Frequências alélicas e alelos exclusivos nos dez locos microssatélites para indivíduos juvenis em duas populações nativas de jaboticabeiras ( <i>Plinia cf. peruviana</i> ) na região Sudoeste do Paraná. UTFPR, Pato Branco-PR, 2019. ....	94
<b>APÊNDICE F</b> – Genótipos multilocos (tamanho dos alelos, em pares de base) dos clones encontrados para os dez locos microssatélites, nos indivíduos adultos em cada uma das seis populações naturais de jaboticabeiras ( <i>Plinia. cf. peruviana</i> ). UTFPR, Pato Branco-PR, 2019.....	96
<b>APÊNDICE G</b> – Genótipos multilocos (tamanho dos alelos, em pares de base) dos clones encontrados para os dez locos microssatélites nos indivíduos juvenis em duas populações naturais de jaboticabeiras ( <i>Plinia. cf. peruviana</i> ). UTFPR, Pato Branco-PR, 2019.....	98
<b>APÊNDICE H</b> – Distância geográfica das seis populações de populações de ( <i>Plinia cf. peruviana</i> ). Localizadas no Sudoeste do Paraná. UTFPR, Pato Branco- PR, 2019.....	99
<b>APÊNDICE I</b> – Matriz de distância genética de Nei construída a partir dos 10 locos polimórficos usados na Genotipagem das populações de ( <i>Plinia. cf. peruviana</i> ). UTFPR, Pato Branco-PR, 2019.....	99

## APÊNDICES

**APÊNDICE A** – Índices de diversidade genética em seis populações naturais de indivíduos adultos de jaboticabeiras (*Plinia cf. peruviana*), calculados para os dez Locos microssatélites. UTFPR, Pato Branco-PR, 2019.

	COR	PB	CV2	CV1	CHP	VIT	Média
<b>PLI01</b> (150 – 168 pb)							
n	27	24	25	39	38	30	31
A	6	7	7	7	6	2	6
Ae	4,9	5,7	3,5	6,0	3,1	2,0	4,2
Ar	5,9	6,8	6,6	6,9	5,8	2,0	5,7
Ho	0,96	1,00	1,00	0,97	1,00	1,00	0,99
He	0,80	0,83	0,71	0,83	0,68	0,50	0,73
f	-0,207*	-0,211*	-0,406*	-0,170*	-0,467*	-1,000*	-0,410
<b>PLI02</b> (156 – 174 pb)							
n	30	25	25	37	40	30	31
A	2	1	2	9	7	2	4
Ae	1,6	1,0	1,0	4,3	4,1	2,0	2,3
Ar	2,0	1,0	1,8	8,2	5,7	2,0	3,5
Ho	0,00	0,00	0,04	0,35	0,28	1,00	0,28
He	0,39	0,00	0,04	0,77	0,75	0,50	0,41
f	1,000*	0,000 <sup>ns</sup>	-0,020 <sup>ns</sup>	0,541*	0,635*	-1,000*	0,193
<b>PLI05</b> (171 – 189 pb)							
n	29	25	25	40	37	30	31
A	8	8	8	8	7	7	8
Ae	5,6	6,4	5,4	5,5	4,1	3,9	5,2
Ar	7,6	8,0	7,8	7,6	2,0	6,9	6,6
Ho	1,00	1,00	1,00	0,93	1,00	0,93	0,98
He	0,82	0,84	0,82	0,82	0,76	0,75	0,80
f	-0,217*	-0,184*	-0,225 <sup>ns</sup>	-0,130*	-0,321*	-0,253*	-0,222
<b>PLI09</b> (172 – 190 pb)							
n	24	20	23	36	38	30	29
A	3	3	4	4	2	2	3
Ae	2,2	1,8	2,6	2,2	2,0	1,6	2,1
Ar	3,0	3,0	3,9	3,5	4,7	2,0	3,3
Ho	1,00	0,60	0,91	0,94	1,00	0,53	0,83
He	0,54	0,45	0,61	0,55	0,50	0,39	0,51
f	-0,858*	-0,322 <sup>ns</sup>	-0,498*	-0,712*	-1,000*	-0,364 <sup>ns</sup>	-0,626
<b>PLI10</b> (244 – 262 pb)							
n	28	25	24	40	39	30	31
A	6	5	4	6	5	2	5
Ae	5,4	3,6	3,9	4,1	2,9	2,0	3,7
Ar	6,0	5,0	4,0	5,7	2,6	2,0	4,2
Ho	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
He	0,81	0,72	0,75	0,76	0,66	0,50	0,70
f	-0,228*	-0,384*	-0,341*	-0,321*	-0,517*	-1,000*	-0,465
<b>PLI12</b> (189 – 207 pb)							
n	27	25	24	36	36	27	29
A	3	2	3	4	3	3	3
Ae	1,7	1,2	1,8	2,2	2,2	2,6	1,9
Ar	3,0	2,0	3,0	3,8	5,7	3,0	3,4
Ho	0,00	0,00	0,00	0,06	0,19	0,00	0,04
He	0,41	0,21	0,45	0,55	0,54	0,61	0,46
f	1,000*	-0,384 <sup>ns</sup>	1,000*	0,899*	0,652*	1,000*	0,695

<b>PLI15</b>	(185 – 203 pb)							
n	28	25	24	39	37	30	31	
A	3	6	7	4	6	2	5	
Ae	2,2	4,4	2,2	2,1	2,8	1,9	2,6	
Ar	3,0	6,0	6,6	3,9	4,9	2,0	4,4	
Ho	0,57	0,96	0,38	0,28	0,08	0,80	0,51	
He	0,54	0,77	0,55	0,62	0,64	0,48	0,60	
f	-0,062 <sup>ns</sup>	-0,242*	0,314*	0,715*	0,874*	-0,667*	0,155	
<b>PLI16</b>	(187 – 205 pb)							
n	26	24	25	32	28	30	28	
A	6	8	9	13	5	1	7	
Ae	2,4	4,4	6,0	8,2	3,6	1,0	4,3	
Ar	6,0	8,0	8,9	12,2	4,9	1,0	6,8	
Ho	0,00	0,00	0,00	0,25	0,79	0,00	0,17	
He	0,59	0,77	0,83	0,88	0,72	0,00	0,63	
f	1,000*	1,000*	1,000 <sup>ns</sup>	0,715 <sup>ns</sup>	-0,085 <sup>ns</sup>	0,000 <sup>ns</sup>	0,605	
<b>PLI18</b>	(208 – 226 pb)							
n	28	21	21	33	38	30	29	
A	3	12	4	4	5	2	5	
Ae	2,1	7,7	3,5	2,6	3,3	2,0	3,5	
Ar	2,9	11,8	4,0	3,6	3,6	2,0	4,6	
Ho	1,00	0,90	0,85	0,88	0,84	1,00	0,91	
He	0,53	0,87	0,71	0,62	0,70	0,50	0,66	
f	-0,876*	-0,039 <sup>ns</sup>	-0,195 <sup>ns</sup>	-0,419*	-0,205*	-1,000*	-0,456	
<b>PLI19</b>	(166 – 183 pb)							
n	28	23	25	39	36	26	30	
A	5	2	4	7	4	5	5	
Ae	2,0	1,2	2,1	3,3	2,1	2,2	2,2	
Ar	4,6	2,0	3,8	5,9	3,6	4,3	4,0	
Ho	0,64	0,22	0,60	0,87	0,50	0,85	0,61	
He	0,50	0,19	0,53	0,70	0,53	0,54	0,50	
f	-0,281*	-0,122 <sup>ns</sup>	-0,131 <sup>ns</sup>	-0,245*	0,051 <sup>ns</sup>	-0,567*	-0,216	
<b>Total (A)</b>	45	54	52	66	50	28	49	295

(COR) Coronel Vivida, (PB) Pato Branco, (CV1) Clevelândia um, (CV2) Clevelândia dois, (CHP) Chopinzinho e (VIT) Vitorino.

**APÊNDICE B** – Índices de diversidade genética para indivíduos juvenis em duas populações naturais de jaboticabeiras (*Plinia cf. peruviana*), calculados para os dez Locus microssatélites. UTFPR, Pato Branco-PR, 2019.

	CV1	VIT	Média
<b>PLI01</b>	(150 – 168 pb)		
n	37	40	-
A	4	2	3
Ae	2,9	2,0	2,5
Ar	4,0	2,0	3,0
Ho	1,00	1,00	1,00
He	0,59	0,50	0,55
f	-0,517*	-1,000*	-0,759*
<b>PLI02</b>	(156 – 174 pb)		
n	36	40	-
A	2	2	2
Ae	2,0	2,0	2,0
Ar	2,0	2,0	2,0
Ho	0,00	1,00	0,50
He	0,50	0,50	0,50
f	1,000*	-1,000*	0
<b>PLI05</b>	(171 – 189 pb)		
n	36	38	-
A	7	2	5
Ae	5,6	1,2	3,4
Ar	7,0	2,0	4,5
Ho	0,97	0,18	0,58
He	0,82	0,17	0,49
f	-0,185*	-0,101 <sup>ns</sup>	-0,143*
<b>PLI09</b>	(172 – 190 pb)		
n	39	37	-
A	4	7	6
Ae	3,6	4,8	4,2
Ar	4,0	6,8	5,4
Ho	0,95	0,95	0,95
He	0,73	0,79	0,76
f	-0,308*	-0,195*	-0,252*
<b>PLI10</b>	(244 – 262 pb)		
n	31	40	-
A	5	3	4
Ae	4,2	2,1	3,1
Ar	5,0	2,8	3,9
Ho	1,00	1,00	1,00
He	0,76	0,51	0,64
f	-0,310*	-0,952*	-0,631*
<b>PLI12</b>	(189 – 207 pb)		

n	36	40	-
A	7	1	4
Ae	2,4	1,0	1,7
Ar	6,7	1,0	3,9
Ho	0,33	0,00	0,17
He	0,58	0,00	0,29
f	0,427*	N/D	0,214 <sup>ns</sup>
<b>PLI15</b>	(185 – 203 pb)		
n	38	40	-
A	6	2	4
Ae	2,3	2,0	2,1
Ar	5,7	2,0	3,9
Ho	0,03	1,00	0,51
He	0,56	0,50	0,53
f	0,953*	-1,000*	-0,024*
<b>PLI16</b>	(187 – 205 pb)		
n	37	40	-
A	4	1	3
Ae	2,9	1,0	1,9
Ar	4,0	1,0	2,5
Ho	0,00	0,00	0,00
He	0,65	0,00	0,33
f	1,000*	0,00	0,500
<b>PLI18</b>	(208 – 226 pb)		
n	40	40	-
A	6	2	4
Ae	3,8	2,0	2,9
Ar	4,0	2,0	3,0
Ho	0,48	1,00	0,74
He	0,74	0,50	0,62
f	0,354*	-1,000*	-0,323
<b>PLI19</b>	(166 – 183 pb)		
n	37	32	-
A	3	3	3
Ae	1,7	2,0	1,9
Ar	3,0	3,0	3,0
Ho	0,00	0,06	0,03
He	0,41	0,51	0,46
f	1,000 <sup>ns</sup>	0,876 <sup>ns</sup>	0,938
<b>Total (A)</b>	48	25	73

(CV1) Clevelândia um e (VIT) Vitorino.



**APÊNDICE C** – Frequências alélicas e alelos exclusivos nos dez locos microssatélites nos indivíduos adultos de seis populações nativas de jaticabeiras (*Plinia cf. peruviana*) na região Sudoeste do Paraná. UTFPR, Pato Branco-PR, 2019.

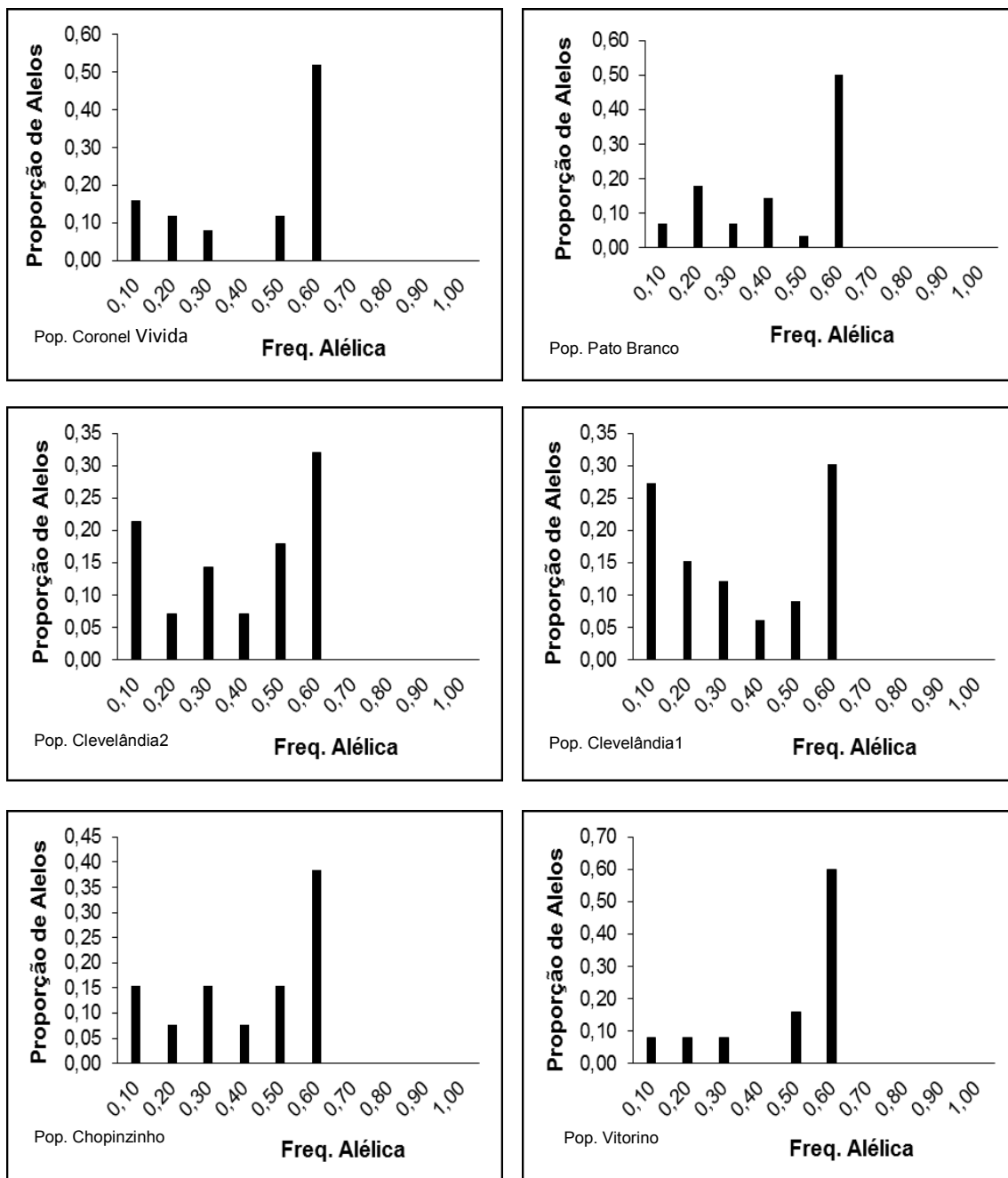
Locos	Alelos	COR	PB	CV1	CV2	CHP	VIT	Locos	Alelos	COR	PB	CV1	CV2	CHP	VIT
<b>PLI01</b>	168	0,00	0,00	0,05	0,02	0,00	0,50	<b>PLI02</b>	165	0,00	0,00	0,10	0,00	0,03	0,00
	170	0,04	0,21	0,23	0,42	0,43	0,00		169	0,00	0,00	0,07	0,00	0,33	0,00
	172	0,30	0,19	0,19	0,06	0,05	0,50		171	0,27	0,00	0,03	0,00	0,28	0,50
	174	0,17	0,15	0,18	0,12	0,07	0,00		173	0,73	100	0,35	0,98	0,21	0,50
	176	0,19	0,10	0,10	0,30	0,34	0,00		177	0,00	0,00	0,30	0,00	0,14	0,00
	178	0,19	0,02	0,15	0,06	0,04	0,00		181	0,00	0,00	0,07	0,02	0,01	0,00
	180	0,13	0,10	0,09	0,02	0,00	0,00		183	0,00	0,00	0,03	0,00	0,01	0,00
	182	0,00	0,23	0,00	0,00	0,07	0,00		-	-	-	-	-	-	-
	-	-	-	-	-	-	-		-	-	-	-	-	-	-
	<b>Exclusivos</b>	-	-	-	-	-	-		<b>Exclusivos</b>	-	-	-	-	-	-
<b>PLI05</b>	162	0,00	0,00	0,03	0,00	0,00	0,00	<b>PLI09</b>	179	0,00	0,00	0,00	0,11	0,00	0,00
	172	0,00	0,08	0,00	0,04	0,00	0,00		181	0,46	0,30	0,46	0,44	0,50	0,27
	174	0,28	0,24	0,00	0,10	0,00	0,00		187	0,04	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	176	0,17	0,14	0,06	0,08	0,01	0,10		189	0,00	0,00	0,01	0,00	0,00	0,00
	178	0,03	0,04	0,25	0,14	0,15	0,42		191	0,00	0,00	0,04	0,00	0,00	0,00
	180	0,12	0,00	0,21	0,24	0,35	0,03		193	0,50	0,68	0,49	0,44	0,50	0,73
	182	0,16	0,12	0,06	0,10	0,15	0,07		195	0,00	0,03	0,00	0,02	0,00	0,00
	184	0,02	0,14	0,04	0,02	0,27	0,07		-	-	-	-	-	-	-
	186	0,05	0,06	0,21	0,00	0,04	0,23		-	-	-	-	-	-	-
	188	0,17	0,18	0,14	0,28	0,03	0,08		-	-	-	-	-	-	-
	<b>Exclusivos</b>	-	-	1	-	-	-		<b>Exclusivos</b>	1	-	2	1	-	-
<b>PLI10</b>	253	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,50	<b>PLI12</b>	199	0,00	0,00	0,00	0,00	0,05	0,00
	257	0,25	0,40	0,25	0,21	0,36	0,00		201	0,07	0,00	0,11	0,08	0,42	0,15
	261	0,16	0,10	0,23	0,29	0,14	0,00		203	0,19	0,08	0,61	0,21	0,53	0,48

	263	0,11	0,16	0,03	0,00	0,03	0,50		205	0,74	0,92	0,25	0,71	0,00	0,37
	267	0,23	0,28	0,34	0,27	0,44	0,00		219	0,00	0,00	0,03	0,00	0,00	0,00
	269	0,14	0,06	0,11	0,23	0,04	0,00		-	-	-	-	-	-	-
	273	0,11	0,00	0,05	0,00	0,00	0,00		-	-	-	-	-	-	-
	-	-	-	-	-	-	-		-	-	-	-	-	-	-
	<b>Exclusivos</b>	-	-	-	-	-	1		<b>Exclusivos</b>	-	-	1	-	1	-
<b>PLI15</b>	197	0,00	0,00	0,00	0,02	0,00	0,40	<b>PLI16</b>	176	0,00	0,00	0,03	0,00	0,16	0,00
	201	0,11	0,14	0,64	0,17	0,03	0,00		178	0,00	0,00	0,19	0,00	0,41	100
	203	0,61	0,38	0,22	0,65	0,15	0,00		180	0,00	0,00	0,00	0,00	0,04	0,00
	205	0,00	0,12	0,00	0,00	0,54	0,60		182	0,00	0,00	0,05	0,00	0,16	0,00
	207	0,00	0,08	0,00	0,04	0,19	0,00		184	0,00	0,00	0,09	0,00	0,23	0,00
	209	0,00	0,10	0,00	0,02	0,00	0,00		186	0,00	0,00	0,08	0,00	0,00	0,00
	211	0,29	0,18	0,04	0,06	0,05	0,00		188	0,00	0,00	0,22	0,00	0,00	0,00
	213	0,00	0,00	0,10	0,04	0,04	0,00		190	0,00	0,00	0,09	0,00	0,00	0,00
	-	-	-	-	-	-	-		192	0,04	0,21	0,00	0,00	0,00	0,00
	-	-	-	-	-	-	-		194	0,62	0,04	0,00	0,00	0,00	0,00
	-	-	-	-	-	-	-		196	0,12	0,00	0,00	0,12	0,00	0,00
	-	-	-	-	-	-	-		198	0,08	0,00	0,03	0,04	0,00	0,00
	-	-	-	-	-	-	-		200	0,00	0,04	0,03	0,12	0,00	0,00
	-	-	-	-	-	-	-		202	0,12	0,04	0,06	0,28	0,00	0,00
	-	-	-	-	-	-	-		204	0,04	0,08	0,00	0,20	0,00	0,00
	-	-	-	-	-	-	-		206	0,00	0,17	0,06	0,04	0,00	0,00
	-	-	-	-	-	-	-		208	0,00	0,38	0,03	0,12	0,00	0,00
	-	-	-	-	-	-	-		210	0,00	0,04	0,03	0,00	0,00	0,00
	-	-	-	-	-	-	-		212	0,00	0,00	0,00	0,04	0,00	0,00
	-	-	-	-	-	-	-		220	0,00	0,00	0,00	0,04	0,00	0,00
	<b>Exclusivos</b>	-	-	-	-	-	1		<b>Exclusivos</b>	-	-	3	2	-	1

<b>PLI18</b>	189	0,00	0,19	0,00	0,00	0,00	0,00	<b>PII19</b>	157	0,14	0,00	0,00	0,02	0,00	0,00
	191	0,00	0,12	0,00	0,00	0,00	0,00		159	0,02	0,00	0,33	0,00	0,00	0,00
	197	0,00	0,02	0,00	0,00	0,00	0,00		161	0,04	0,00	0,01	0,00	0,01	0,00
	199	0,00	0,05	0,00	0,00	0,00	0,50		163	0,13	0,11	0,12	0,28	0,22	0,39
	201	0,00	0,12	0,00	0,00	0,00	0,50		169	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,02
	203	0,00	0,05	0,00	0,00	0,00	0,00		173	0,00	0,00	0,01	0,08	0,00	0,02
	205	0,00	0,02	0,00	0,00	0,00	0,00		175	0,68	0,89	0,41	0,62	0,64	0,56
	213	0,00	0,02	0,00	0,00	0,00	0,00		177	0,00	0,00	0,06	0,00	0,13	0,02
	221	0,00	0,05	0,00	0,00	0,00	0,00		179	0,00	0,00	0,05	0,00	0,00	0,00
	223	0,00	0,02	0,39	0,10	0,33	0,00		-	-	-	-	-	-	-
	225	0,50	0,17	0,14	0,35	0,11	0,00		-	-	-	-	-	-	-
	227	0,00	0,00	0,02	0,23	0,12	0,00		-	-	-	-	-	-	-
	229	0,46	0,17	0,46	0,33	0,41	0,00		-	-	-	-	-	-	-
	231	0,04	0,00	0,00	0,00	0,04	0,00		-	-	-	-	-	-	-
<b>Exclusivos</b>	-	7	-	-	-	-	-	<b>Exclusivos</b>	-	-	1	-	-	-	1

(COR) Coronel Vivida, (PB) Pato Branco, (CV2) Clevelândia dois, (CV) Clevelândia um, (CHP) Chopinzinho e (VIT) Vitorino.

**APÊNDICE D** - Distribuições de frequências de alelos em (Mode-Shift) para uma amostragem de 190 indivíduos de *P. cf. peruviana*, em 10 locos microssatélites para determinação de Baltoneck. UTFPR, Pato Branco – PR, 2019.



**APÊNDICE E** – Frequências alélicas e alelos exclusivos nos dez locos microssatélites para indivíduos juvenis em duas população nativa de jaboticabeiras (*Plinia cf. peruviana*) na região Sudoeste do Paraná. UTFPR, Pato Branco-PR, 2019.

Populações		CV1	VIT	Populações		CV1	VIT
Locos	Alelos			Locos	Alelos		
<b>PLI01</b>	168	0,00	0,50	<b>PLI02</b>	171	0,47	0,50
	170	0,49	0,00		173	0,53	0,50
	172	0,15	0,50		-	-	-
	174	0,27	0,00		-	-	-
	176	0,10	0,00		-	-	-
<b>Exclusivos</b>		3	1	<b>Exclusivos</b>		-	-
<b>PLI05</b>	172	0,00	0,91	<b>PLI09</b>	181	0,00	0,19
	174	0,00	0,09		183	0,00	0,05
	182	0,06	0,00		185	0,00	0,19
	184	0,08	0,00		187	0,00	0,04
	186	0,14	0,00		189	0,00	0,01
	188	0,07	0,00		191	0,32	0,00
	190	0,21	0,00		193	0,15	0,26
	192	0,26	0,00		195	0,33	0,00
	194	0,18	0,00		197	0,19	0,26
<b>Exclusivos</b>		7	2	<b>Exclusivos</b>		1	5
<b>PLI10</b>	236	0,00	0,01	<b>PLI12</b>	197	0,00	100
	253	0,00	0,50		201	0,03	0,00
	257	0,26	0,00		205	0,17	0,00
	261	0,24	0,00		207	0,61	0,00
	263	0,03	0,49		211	0,11	0,00
	267	0,26	0,00		213	0,01	0,00
	269	0,21	0,00		215	0,01	0,00
	-	-	-		217	0,06	0,00
	-	-	-		-	-	-
-	-	-	-	-	-		
-	-	-	-	-	-		
<b>Exclusivos</b>		5	2	<b>Exclusivos</b>		10	1
<b>PLI15</b>	197	0,00	0,50	<b>PLI16</b>	178	0,00	100
	201	0,03	0,00		188	0,49	0,00
	203	0,57	0,50		192	0,14	0,00
	205	0,01	0,00		194	0,30	0,00
	207	0,34	0,00		196	0,08	0,00
	209	0,03	0,00		-	-	-
	211	0,03	0,00		-	-	-
-	-	-	-	-	-		
-	-	-	-	-	-		
<b>Exclusivos</b>		3	1	<b>Exclusivos</b>		5	1
<b>PLI18</b>	199	0,00	0,50	<b>PLI19</b>	171	0,24	0,59

201	0,00	0,50	175	0,73	0,00
225	0,11	0,00	179	0,03	0,38
227	0,40	0,00	181	0,00	0,03
229	0,25	0,00	-	-	-
231	0,16	0,00	-	-	-
233	0,05	0,00	-	-	-
235	0,03	0,00	-	-	-
-	-	-	-	-	-
<b>Exclusivos</b>	<b>7</b>	<b>2</b>	<b>Exclusivos</b>	<b>1</b>	<b>1</b>

(CV) Clevelândia um e (VIT) Vitorino.

**APÊNDICE F** – Genótipos multilocos (tamanho dos alelos, em pares de base) dos clones encontrados para os dez locos microsatélites, nos indivíduos adultos em cada uma das seis populações naturais de jaticabeiras (*Plinia. cf. peruviana*). UTFPR, Pato Branco-PR, 2019.

Pop. Adul.		Coronel Vivida								
	Pli_01	Pli_02	Pli_05	Pli_09	Pli_10	Pli_12	Pli_15	Pli_16	Pli_18	Pli_19
Clone 1	174/180	173/173	176/188	181/193	261/269	205/205	203/211	194/194	225/229	157/175
Clone 2	174/180	171/171	178/188	181/193	263/273	205/205	203/211	194/194	225/229	175/175
Clone 3	172/178	173/173	176/188	181/193	257/267	205/205	203/211	194/194	225/229	175/175
Clone 4	172/176	173/173	174/180	181/193	257/267	205/205	203/211	194/194	225/229	175/175
Clone 5	172/172	171/171	176/186	181/193	261/269	203/203	203/203	202/202	225/229	175/175
Total	11									
Pop. Adul.		Pato Branco								
	Pli_01	Pli_02	Pli_05	Pli_09	Pli_10	Pli_12	Pli_15	Pli_16	Pli_18	Pli_19
Clone 1	174/180	173/173	176/188	193/193	261/269	205/205	203/211	192/192	225/229	175/175
Clone 2	172/182	173/173	174/184	181/193	257/263	205/205	203/209	208/208	189/189	175/175
Clone 3	172/176	173/173	176/188	193/193	257/267	205/205	203/211	192/192	225/229	175/175
Clone 4	170/176	173/173	172/182	181/193	257/267	205/205	203/211	202/202	191/201	175/175
Clone 5	170/174	173/173	176/188	193/193	257/267	205/205	201/207	208/208	191/201	175/175
Total	10									
Pop. Adul.		Clevelândia1								
	Pli_01	Pli_02	Pli_05	Pli_09	Pli_10	Pli_12	Pli_15	Pli_16	Pli_18	Pli_19
Clone 1	170/174	169/183	180/182	181/193	257/267	203/203	201/201	202/202	225/225	175/175
Clone 2	170/176	173/173	180/186	181/193	257/267	203/203	201/201	202/202	225/229	175/175
Clone 3	172/178	173/173	180/182	191/191	261/269	203/203	201/201	188/188	223/229	163/179
Clone 4	172/178	177/177	178/186	181/193	257/267	203/203	201/201	188/188	223/229	159/175
Clone 5	174/180	177/177	180/186	181/193	257/267	201/201	201/201	188/188	223/229	159/175
Total	11									
Pop. Adul.		Clevelândia2								





**APÊNDICE G** – Genótipos multilocos (tamanho dos alelos, em pares de base) dos clones encontrados para os dez locos microssatélites os indivíduos juvenis em duas populações naturais de jaboticabeiras (*Plinea. cf. peruviana*). UTFPR, Pato Branco-PR, 2019.

Pop. Juv.		Clevelândia1								
	Pli_01	Pli_02	Pli_05	Pli_09	Pli_10	Pli_12	Pli_15	Pli_16	Pli_18	Pli_19
Clone 1	170/176	173/173	186/192	191/195	257/263	205/205	203/203	196/196	225/225	175/175
Clone 2	170/174	173/173	186/192	191/195	257/263	207/207	203/203	194/194	227/231	175/175
Clone 3	170/174	173/173	184/190	191/195	257/267	207/207	203/203	192/192	227/231	175/175
Clone 4	170/174	171/171	190/194	193/197	261/269	207/207	207/207	188/188	227/233	175/175
Clone 5	170/174	171/171	184/190	193/197	261/269	207/207	203/203	194/194	229/229	175/175
Clone 6	170/172	173/173	188/192	191/195	267/267	207/213	207/207	188/188	227/227	171/171
Total	12									
Pop. Juv.		Vitorino								
	Pli_01	Pli_02	Pli_05	Pli_09	Pli_10	Pli_12	Pli_15	Pli_16	Pli_18	Pli_19
Clone 1	170/172	171/173	172/172	185/197	253/263	197/197	197/203	178/178	199/201	179/179
Clone 2	170/172	171/173	172/174	185/197	253/263	197/197	197/203	178/178	199/201	179/179
Clone 3	170/172	171/173	172/174	185/197	253/263	197/197	197/203	178/178	199/201	171/171
Clone 4	170/172	171/173	172/172	185/197	253/263	197/197	197/203	178/178	199/201	179/179
Clone 5	170/172	171/173	172/172	181/193	253/263	197/197	197/203	178/178	199/201	171/171
Clone 6	170/172	171/173	172/172	181/193	253/263	197/197	197/203	178/178	199/201	179/179
Clone 7	170/172	171/173	172/174	185/195	253/263	197/197	197/203	178/178	199/201	171/181
Clone 8	170/172	171/173	172/172	185/197	253/263	197/197	197/203	178/178	199/201	179/179
Clone 9	170/172	171/173	172/172	183/193	253/263	197/197	197/203	178/178	199/201	171/171
Total	28									

**APÊNDICE H** – Distância geográfica das seis populações de populações de (*Plinia cf. peruviana*). Localizadas no Sudoeste do Paraná. UTFPR, Pato Branco- PR, 2019.

Populações	Distância (Km)
COR - PB	42,6 km
COR - CHP	35 km
COR - VIT	60 km
PB - CHP	59 km
PB - VIT	26 km
CV2 - COR	99 km
CV2 - PB	54 km
CV2 - CHP	116 km
CV2 - VIT	64 km
CV1 - COR	92 km
CV1 - PB	47 km
CV1 - CHP	109 km
CV1 - CV2	7km
CV1 - VIT	57km
CHP - VIT	76,7 km

Coronel Vivida (COR), Pato Branco (PB), Clevelândia2 (CV2), Clevelândia1 (CV1), Chopinzinhos (CHP) e Vitorino (VIT).

**APÊNDICE I** – Matriz de distância genética de Nei construída a partir dos 10 locos polimórficos usados na Genotipagem das populações de (*Plinea. cf. peruviana*). UTFPR, Pato Branco-PR, 2019.

COR	PB	CV2	CV1	CHP	VIT
1,000					
0,851	1,000				
0,875	0,885	1,000			
0,670	0,631	0,722	1,000		
0,563	0,549	0,621	0,751	1,000	
0,457	0,511	0,427	0,479	0,570	1,000

(COR) Coronel Vivida, (PB) Pato Branco, (CV2) Clevelândia dois, (CV) Clevelândia um, (CHP) Chopinzinho e (VIT) Vitorino.