



**FABRINA TEIXEIRA FERRAZ**

**GENÉTICA DA PAISAGEM E CONSERVAÇÃO DE  
POPULAÇÕES RELICTUAIS DE *Araucaria angustifolia*  
(Bertol.) Kuntze**

**LAVRAS - MG  
2022**

**FABRINA TEIXEIRA FERRAZ**

**GENÉTICA DA PAISAGEM E CONSERVAÇÃO DE POPULAÇÕES RELICTUAIS  
DE *Araucaria angustifolia* (Bertol.) Kuntze**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Florestal, área de concentração em Silvicultura e Genética Florestal, para a obtenção do título de Doutora.

Dra. Dulcinéia de Carvalho  
Orientadora  
Dra. Flávia Freire de Siqueira  
Coorientadora

**LAVRAS - MG  
2022**

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

Ferraz, Fabrina Teixeira.

Genética da Paisagem e Conservação de Populações Relictuais  
de *Araucaria angustifolia* (Bertol.) Kuntze / Fabrina Teixeira  
Ferraz. - 2022.

115 p. : il.

Orientador(a): Dulcinéia de Carvalho.

Coorientador(a): Flávia Freire de Siqueira.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Lavras, 2022.

Bibliografia.

1. Conservação genética. 2. Genética da paisagem. 3. Pinheiro  
brasileiro. I. Carvalho, Dulcinéia de. II. Siqueira, Flávia Freire de.  
III. Título.

**FABRINA TEIXEIRA FERRAZ**

**GENÉTICA DA PAISAGEM E CONSERVAÇÃO DE POPULAÇÕES RELICTUAIS  
DE *Araucaria angustifolia* (Bertol.) Kuntze**

**LANDSCAPE GENETICS AND CONSERVATION OF RELICT POPULATIONS OF  
*Araucaria angustifolia* (Bertol.) Kuntze**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Florestal, área de concentração em Silvicultura e Genética Florestal, para a obtenção do título de Doutora.

APROVADA em 17 de junho de 2022.

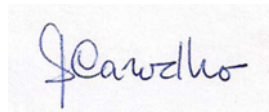
Dra. Dulcinéia de Carvalho (UFLA)

Dra. Flávia Freire de Siqueira (INSTITUTO GUACUY)

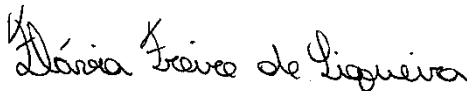
Dra. Marcela de Castro Nunes Santos Terra (UFLA)

Dr. Enéas Ricardo Konzen (UFRGS)

Dr. Lucas Fernandes Rocha (ELDORADO BRASIL CELULOSE)



Dra. Dulcinéia de Carvalho  
Orientadora



Dra. Flávia Freire de Siqueira  
Coorientadora

**LAVRAS - MG  
2022**

À minha mãe Silene, que muito fez para que eu chegasse até aqui.  
Ao meu pai (*in memoriam*), que sempre acreditou no poder transformador da educação.  
Dedico.

## AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal de Lavras (UFLA) e ao Departamento de Engenharia Florestal, pela oportunidade concedida para realização do doutorado.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001. Agradeço pela concessão da bolsa de estudos, sem a qual eu não conseguiria conduzir esta pesquisa.

Aos professores do Departamento de Engenharia Florestal da UFLA e externos a este, pelos ensinamentos transmitidos. Agradeço especialmente ao professor Dr. Eduardo van den Berg do Departamento de Ecologia e Conservação da UFLA, pela disponibilidade de laboratório e computador, o que tornou possível a execução de algumas análises desta Tese.

À banca examinadora desta Tese, pela disponibilidade e por todas as grandiosas contribuições fornecidas para a melhoria deste trabalho.

À professora Dra. Dulcinéia de Carvalho pela orientação, leveza, dedicação e por seus ensinamentos, que foram de grande relevância para a realização deste trabalho e para o meu crescimento profissional. Agradecimento especial pela liberdade a mim sempre concedida, com humanidade e respeito aos desafios de cada fase vivida durante o doutorado.

À Dra. Flávia Freire de Siqueira pela coorientação, cujas contribuições foram cruciais para a idealização e desenvolvimento desta pesquisa e muito me ajudaram a executar as análises de paisagem aqui apresentadas.

Ao Dr. e amigo Luciano França pelas contribuições com ideias e resolução de problemas operacionais ao longo desses anos, que me auxiliaram na realização deste trabalho.

Aos colegas do Laboratório de Conservação Genética de Espécies Florestais da UFLA pela ajuda concedida na condução de análises genéticas.

À minha mãe Silene, especialmente na reta final do doutorado, por ter me proporcionado condições preciosas de tempo e conforto para a plena dedicação à elaboração desta Tese.

À minha versão do passado, meu sincero agradecimento por nunca ter desistido, independentemente do quão assustadores pudessem parecer os desafios.

A Deus, por tudo o que me trouxe até aqui.

*“Nós podemos fazer qualquer coisa que quisermos,  
se mantivermos isso por tempo suficiente.”*  
Helen Keller, tradução livre

## RESUMO GERAL

A *Araucaria angustifolia* (Bert.) O. Kuntze é uma gimnosperma nativa da América do Sul, espécie-chave para a biodiversidade da Mata Atlântica brasileira e criticamente ameaçada de extinção. O Sudeste do Brasil é o limite norte de ocorrência da *A. angustifolia*, onde ela está distribuída em populações relictuais disjuntas, em uma paisagem heterogênea, fragmentada e antropizada. Este estudo apresenta uma avaliação da influência da paisagem sobre o fluxo gênico entre indivíduos e populações de *A. angustifolia* no seu limite norte de ocorrência. Como variáveis de análise, utilizaram-se parâmetros genéticos de diversidade, diferenciação, estrutura, distância e fluxo gênico histórico, além de camadas ambientais de altitude do terreno e uso do solo. Em uma abordagem inédita para a *A. angustifolia*, apresenta-se uma modelagem de resistência da paisagem, que informou sobre a permeabilidade dos elementos espaciais ao fluxo gênico. Adicionalmente, discute-se a respeito do potencial da paisagem e da influência de 48 áreas protegidas na região de estudo na conservação da *A. angustifolia* em seu limite norte. Como principais resultados desta pesquisa, evidenciou-se alto fluxo gênico histórico e alta diversidade genética nas populações estudadas, porém, há uma tendência à estruturação genética a longo prazo. Identificou-se que a distância geográfica e a altitude do terreno podem oferecer resistência às trocas genéticas da *A. angustifolia*, o que é desfavorável à manutenção da diversidade genética das suas populações nas futuras gerações. Observou-se que a influência do uso e ocupação do solo sobre as trocas genéticas da *A. angustifolia* pode ser inconclusiva quando considerada apenas uma geração de indivíduos adultos, levando-se a subestimar o efeito das mudanças antropogênicas na sua conservação genética. Por isso, recomenda-se que pelo menos mais uma geração de indivíduos seja analisada em investigações futuras. No contexto geral, as áreas protegidas têm sido determinantes para direcionar as transformações antropogênicas da paisagem no espaço e no tempo. Também, percebeu-se que incorporar os elementos da paisagem no planejamento da conservação das populações de *A. angustifolia* pode aumentar a sua efetividade. Finalmente, identificaram-se populações prioritárias que precisam de estratégias direcionadas para que se reduza os riscos de extinção local nas próximas gerações. Acredita-se que esta pesquisa amplie as discussões sobre a conservação genética da *A. angustifolia*, refletindo na melhoria da efetividade dos esforços conservacionistas para as suas populações, especialmente no seu limite norte de ocorrência.

**Palavras-chave:** Pinheiro brasileiro. Genética da paisagem. Conservação genética. ResistanceGA. Áreas protegidas.



## GENERAL ABSTRACT

*Araucaria angustifolia* (Bert.) O. Kuntze is a gymnosperm native to South America, a keystone species for biodiversity in the Brazilian Atlantic Forest, and a critically endangered species. Southeastern Brazil is the northern limit of occurrence of *A. angustifolia*, where it is distributed in disjunct and relict populations in a heterogeneous, fragmented, and anthropized landscape. This study evaluates the influence of landscape on gene flow between individuals and populations of *A. angustifolia* at its northern limit of occurrence. Genetic parameters of diversity, differentiation, structure, distance, and historical gene flow were used as analysis variables, and environmental layers like altitude and land use. In a novel approach for *A. angustifolia*, a landscape resistance modeling is presented, which informed the permeability of spatial elements to gene flow. Complementarily, the potential of the landscape and the influence of 48 protected areas in conserving natural habitats and favoring the gene flow of *A. angustifolia* in the study region are discussed. As the main results of this research, there was evidence of high historical gene flow and high genetic diversity in the populations studied, but there is a tendency for genetic structuring in the long term. We identified that geographical distance and altitude may provide resistance to genetic exchanges of *A. angustifolia*, which is unfavorable to maintaining the genetic diversity of its populations in future generations. The influence of land use on the genetic exchanges of *A. angustifolia* may be inconclusive when only one generation of adult individuals is considered, leading to underestimation of the effect of anthropogenic changes on its genetic conservation. Therefore, we do recommend that at least one more generation of individuals be analyzed in future investigations. We observed that protected areas have been decisive in directing the anthropogenic transformations of the landscape in space and time. In addition, we realized that integrating landscape elements in the conservation planning of *A. angustifolia* populations can increase their effectiveness. Finally, we identified priority populations that need targeted strategies in order to reduce the risk of local extinction in the next generations. We believe that this research will expand discussions about the genetic conservation of *A. angustifolia*, reflecting on improving the effectiveness of conservation efforts for its populations, especially in its northern limit of occurrence.

**Keywords:** Brazilian pine. Landscape Genetics. Genetic conservation. ResistanceGA. Protected areas.

## LISTA DE FIGURAS

### PRIMEIRA PARTE

Figura 1 – Níveis de análise executados nesse estudo genético da paisagem. .... 25

### SEGUNDA PARTE

#### ARTIGO 01

Figure 1 – Location of the study area. .... 38

Figure 2 – Genetic structure in *A. angustifolia* populations. .... 46

Figure 3 – Map of resistance for the terrain elevation model (IBR) in the studied landscapes.  
..... 49

#### ARTIGO 02

Figura 1 – Localização da área de estudo. .... 69

Figura 2 – Mapa temático do uso e ocupação do solo na paisagem de estudo para os anos de 1985 e 2020. .... 80

Figura 3 – Distribuição das áreas protegidas na paisagem de estudo em relação aos habitats favoráveis ao fluxo gênico da *A. angustifolia*. .... 81

Quadro 1 – Classes de uso e ocupação do solo admitidas para a análise da área de estudo, após a reclassificação do mapeamento. .... 73

## LISTA DE TABELAS

### SEGUNDA PARTE

#### ARTIGO 01

Table 1 – General characterization of the microsatellite loci for <i>A. angustifolia</i> .....	44
Table 2 – Genetic diversity parameters for <i>A. angustifolia</i> populations. ....	44
Table 3 – Matrix of genetic differentiation of paired <i>A. angustifolia</i> populations according to Wright's $F_{ST}$ (lower diagonal) and Hedrick's $G_{ST}$ (upper diagonal). ....	45
Table 4 – Spatial characterization of the analyzed landscapes.....	47
Table 5 – Resistance models for each landscape and respective population of <i>A. angustifolia</i> . .....	47

#### ARTIGO 02

Tabela 1 – Matriz de diferenciação genética entre os pares de populações de <i>A. angustifolia</i> , segundo o $F_{ST}$ de Wright (diagonal inferior) e o $G_{ST}$ de Hedrick (diagonal superior). ....	71
Tabela 2 – Áreas protegidas na paisagem de estudo, no sul de Minas Gerais. ....	74
Tabela 3 – Proporções das paisagens de estudo ocupadas por áreas protegidas. ....	75
Tabela 4 – Métricas de paisagem aplicadas às paisagens locais e à paisagem regional para os anos de 1985 e 2020. ....	77

## SUMÁRIO

### PRIMEIRA PARTE

1	INTRODUÇÃO .....	14
2	REFERENCIAL TEÓRICO .....	15
2.1	Conservação genética de espécies florestais.....	15
2.2	<i>A Araucaria angustifolia</i> (Bertoloni) Otto Kuntze e os desafios para a sua conservação .....	18
2.3	Genética da paisagem na conservação da <i>A. angustifolia</i> .....	22
3	MATERIAL E MÉTODOS .....	25
4	CONSIDERAÇÕES GERAIS .....	26
	REFERÊNCIAS .....	27

### SEGUNDA PARTE

	ARTIGO 01 .....	35
1	INTRODUCTION .....	35
2	MATERIALS AND METHODS .....	37
2.1	Study area .....	37
2.2	Genetic data .....	39
2.3	GIS data .....	39
2.4	Landscape delimitation .....	40
2.5	Population genetics analysis .....	41
2.6	Landscape genetics analysis .....	41
2.7	Landscape resistance analysis.....	42
3	RESULTS .....	43
3.1	Genetics analysis .....	43
3.2	Landscape analysis .....	46
3.2.1	Description of the landscape.....	46
3.2.2	Landscape resistance .....	47
4	DISCUSSION .....	50
4.1	Implications for the conservation of <i>A. angustifolia</i> .....	53
5	CONCLUSION.....	54
6	ACKNOWLEDGEMENTS .....	55
	REFERENCES .....	56

SUPPLEMENTARY MATERIAL .....	61
ARTIGO 02 .....	66
1 INTRODUÇÃO .....	67
2 MATERIAL E MÉTODOS .....	69
2.1 Área de estudo .....	69
2.2 Delimitação das paisagens .....	70
2.3 Dados genéticos .....	70
2.4 Dados de paisagem .....	71
2.5 Processamento das camadas espaciais .....	72
2.6 Análise da paisagem .....	73
3 RESULTADOS .....	74
3.1 Diagnóstico das áreas protegidas .....	74
3.3 Diagnóstico do uso e ocupação do solo na paisagem .....	76
3.2 Proteção de habitats favoráveis ao fluxo gênico da <i>A. angustifolia</i> .....	81
4 DISCUSSÃO .....	82
4.1 Diagnóstico das áreas protegidas .....	82
4.3 Diagnóstico do uso e ocupação do solo na paisagem .....	84
4.2 Proteção de habitats favoráveis ao fluxo gênico da <i>A. angustifolia</i> .....	86
4.4 Implicações para a conservação da <i>A. angustifolia</i> .....	87
5 CONSIDERAÇÕES FINAIS .....	89
6 AGRADECIMENTOS .....	90
REFERÊNCIAS .....	91
MATERIAL SUPLEMENTAR .....	96
APÊNDICE A – SCRIPT COMENTADO PARA A EXECUÇÃO DAS ANÁLISES GENÉTICAS NO R STUDIO .....	97
APÊNDICE B – SCRIPT COMENTADO PARA A EXECUÇÃO DA ANÁLISE DE RESISTÊNCIA DA PAISAGEM NO R STUDIO .....	105

**PRIMEIRA PARTE**  
**INTRODUÇÃO GERAL**

Seção redigida e formatada conforme Normas (NR) aplicáveis a trabalhos acadêmicos da Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT) e o Manual da UFLA de apresentação de teses e dissertações, edição 2020.

## 1 INTRODUÇÃO

Temas abordando a conservação da natureza mantêm-se atuais e necessários devido ao risco crescente de extinção global de espécies (PLATAFORMA INTERGOVERNAMENTAL DE POLÍTICA CIENTÍFICA SOBRE BIODIVERSIDADE E SERVIÇOS ECOSISTÊMICOS – IPBES, 2019) e cientistas têm investigado o impacto das ações humanas na biodiversidade e na melhoria da efetividade das estratégias de conservação (por exemplo, FAHRIG et al., 2019; HANSON; FULLER; RHODES, 2019; IPBES, 2019; MCRAE; BEIER, 2007;). No Brasil, um dos domínios florestais mais alterados pelas ações humanas e uma prioridade de conservação devido ao alto nível de biodiversidade, endemismo e habitats degradados, é a Mata Atlântica (MYERS et al., 2000). Após cinco séculos de devastação, a Mata Atlântica se apresenta, predominantemente, sob a forma de pequenos fragmentos e tem níveis de proteção de áreas insuficientes para garantir sua sustentabilidade no futuro (RIBEIRO et al., 2009; VIEIRA; PRESSEY; LOYOLA, 2019).

Dentre as muitas espécies da Mata Atlântica ameaçadas de extinção, a emblemática *Araucaria angustifolia* (Bertoloni) Otto Kuntze deve ser coerentemente uma espécie prioritária para as estratégias de conservação. Caracterizando a tipologia da Floresta Ombrófila Mista (INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA – IBGE, 2012), as florestas de *A. angustifolia* são altamente devastadas, com estimativas de que restem apenas 3% da sua cobertura original (FOREST et al., 2018; GUERRA et al., 2002; THOMAS, 2013). Além de ter o tamanho populacional drasticamente reduzido, a *A. angustifolia* é uma espécie-chave para a sobrevivência de outras plantas e animais (VIEIRA; IOB, 2009). Por causa do fornecimento de alimento em períodos de escassez de recursos (outono e inverno), a maior parte da fauna nas florestas de araucárias depende diretamente das suas sementes (BOGONI et al., 2020) e outros grupos de plantas são favorecidos com a ação de frugívoros dispersores devido ao fornecimento contínuo de alimento (BOGONI; GRAIPEL; PERONI, 2018).

A conservação das populações remanescentes de *A. angustifolia* tem sido beneficiada a partir da associação entre estudos genéticos e de paisagem, o que possibilita o entendimento, por exemplo, dos padrões de dispersão de propágulos, e conseqüentemente do fluxo gênico, conforme a distância e a qualidade das matrizes entre os habitats na paisagem (BITTENCOURT; SEBBENN, 2007, 2008, 2009; MANTOVANI; MORELLATO; DOS REIS, 2006; MEDINA-MACEDO et al., 2016). Em comum às distintas abordagens metodológicas possíveis nos estudos genéticos da paisagem, em geral, tem-se a possibilidade

de se identificar descontinuidades genéticas entre os indivíduos e as populações e suas correlações com as características ambientais (MANEL et al., 2003).

Este trabalho aborda o estudo genético da paisagem aplicado à conservação da *A. angustifolia*, objetivando-se verificar a influência dos elementos espaciais nos padrões genéticos de indivíduos e populações de araucárias. Como alvo deste estudo, têm-se populações de *A. angustifolia* situadas no seu limite norte de ocorrência, no sudeste brasileiro. Nessa região, as populações de *A. angustifolia* resistem como relictos climáticos de eras frias passadas, quando eram amplamente dispersas e então, conforme o clima aquecia, se retraíram em direção ao Sul do país ou foram confinadas a áreas mais altas e frias no Sudeste (OLIVEIRA-FILHO et al., 2015). Adicionalmente, trata-se de um ambiente heterogêneo e fragmentado da Mata Atlântica, e contemplado por uma rede de áreas protegidas.

Estruturalmente, esta tese está organizada em duas partes: a primeira parte contém o resumo, a introdução, o referencial teórico, o material e métodos e as considerações, todos contextualizados ao assunto abordado ao longo do trabalho; a segunda parte contém as investigações propostas, em formato de artigos, com contextualização teórica, metodologia própria e discussão dos resultados encontrados, possibilitando-se a divulgação posterior em periódico científico para a sociedade.

## **2 REFERENCIAL TEÓRICO**

Neste tópico são apresentados apontamentos teóricos e estudos científicos a respeito dos principais assuntos contidos nesta tese. São eles: a conservação genética de espécies florestais; a caracterização da espécie alvo deste estudo, a *A. angustifolia*, incluindo os principais desafios para a sua conservação; e a Genética da Paisagem enquanto ciência e abordagem metodológica, com menção à importância das áreas protegidas para a conservação da *A. angustifolia* em zonas estratégicas, como a sua ocorrência limítrofe norte.

### **2.1 Conservação genética de espécies florestais**

Durante o desenvolvimento e a expansão das sociedades humanas, as reflexões acerca da finitude dos recursos naturais e os possíveis impactos da exploração desenfreada da natureza se fizeram presentes. Com isso, esse tema se tornou foco de debates e pesquisas em todo o mundo. Em um levantamento de mais de 15.000 publicações científicas em conservação da biodiversidade, evidenciou-se que a extinção de espécies segue em ritmo



acelerado (IPBES, 2019). A exploração direta dos recursos naturais, as mudanças no uso e cobertura da terra e as alterações climáticas são as principais causas dessa ameaça que arrisca a existência de cerca de 1 milhão de espécies de fauna e flora do planeta (IPBES, 2019).

A perda dos recursos naturais e da quantidade e qualidade dos habitats representam uma cadeia de danos à biodiversidade. Dentre as consequências, estão os impactos aos recursos genéticos, que incluem a perda da diversidade genética, o aumento da endogamia dentro das populações e o aumento da diferenciação genética entre as populações de uma espécie, já que o aumento do isolamento restringe o fluxo gênico, reduzindo o compartilhamento da variação genética (YAMAMICHI; INNAN, 2012). Isso pode transformar as populações em unidades evolutivas independentes, com processos genéticos aleatórios, afastando-as (LEIMU et al., 2010), e reduzir o potencial de adaptação e evolução das espécies mediante as mudanças ambientais (REED, 2007).

As espécies florestais geralmente têm um longo intervalo de geração e um ciclo de vida que pode durar séculos. Como o aumento nos níveis de diversidade genética ocorre em longo prazo, pois depende de mutações, que ocorrem em taxas lentas (ALLENDORF; LUIKART, 2012), é esperado que as árvores tenham altos níveis de diversidade genética dentro das populações, além do alto potencial para o fluxo gênico, promovendo sua persistência em períodos de mudanças ambientais (HAMRICK, 1983). No entanto, nos últimos anos tem se discutido que a velocidade atual acelerada das mudanças ambientais segue além da capacidade de alteração genética das populações, dificultando a origem de novos genótipos. Com isso, populações previamente adaptadas se tornariam mais vulneráveis às novas condições e distúrbios locais, como fogo, inundação, pragas e doenças, aumentando-se os riscos de extinção local (ALFARO et al., 2014).

A fragmentação e a perda dos habitats naturais são atualmente questões bem debatidas no meio científico e demonstram ter uma relação complexa com os processos ecológicos e a diversidade genética das espécies (FAHRIG et al, 2019; FLETCHER et al., 2018; KRAMER et al., 2008). É possível que tamanhos populacionais reduzidos (devido à fragmentação e perda de habitats) diminua a diversidade genética dentro das populações de árvores e aumente a diferenciação genética entre as populações, favorecendo a endogamia e a deriva genética, por exemplo (LOVELESS; HAMRICK, 1984). Entre as explicações para isto, considera-se o efeito da distância geográfica entre os habitats, de modo que a polinização e a dispersão de sementes a longas distâncias são limitadas, restringindo-se o fluxo gênico (SAEKI et al., 2018).

As estratégias para a conservação genética das espécies florestais são predominantemente voltadas à conservação *in situ* (IPBES, 2019). Áreas florestais extensas, conservadas e conectadas entre si formam o cenário ideal para a conservação da biodiversidade e, analogamente, dos recursos genéticos florestais (FISHER; LINDENMAYER, 2007). Contudo, pequenos elementos distribuídos na paisagem, como árvores isoladas, também podem aumentar a conectividade entre os fragmentos, por promoverem pontos de pouso e apoio para dispersores (SIQUEIRA et al. 2017; 2021), o que seria especialmente útil em regiões já exploradas. Menciona-se, também, que o desenvolvimento tecnológico tem permitido a geração de técnicas mais avançadas, como a genômica moderna e a edição de genes, embora ainda sejam campos de avanço lento e que certamente não compensarão o problema da extinção em larga escala (DESALLE; AMATO, 2017).

Independentemente da estratégia de conservação, a definição de prioridades é uma decisão valiosa para otimizar a alocação de recursos e a efetividade da conservação. Essas prioridades normalmente incluem regiões muito exploradas e espécies endêmicas, raras e vulneráveis (MYERS et al., 2000). A Mata Atlântica brasileira é um exemplo de região prioritária para a conservação, pois tem alto nível de endemismo e habitats significativamente degradados e fragmentados, sendo um *hotspot* global (MYERS et al., 2000). Pela combinação única de biodiversidade e nível de ameaça, estudos de conservação realizados na Mata Atlântica podem fornecer perspectivas estendidas para outras áreas sujeitas ao intenso impacto humano (JOLY; METZGER; TABARELLI, 2014).

Após cinco séculos de exploração da Mata Atlântica, dos 150 milhões de hectares originais, calcula-se que restem cerca de 11% de vegetação fragmentada, onde a grande maioria dos fragmentos são menores que 50 ha (RIBEIRO et al., 2009). A predominância de muitos fragmentos de pequeno tamanho na Mata Atlântica intensifica o efeito de borda, que pode aumentar a vulnerabilidade de muitas espécies florestais a longo prazo, sobretudo aquelas tolerantes à sombra (PÜTZ et al., 2011). Além disso, muitos dos fragmentos remanescentes são situados em zonas de baixa estabilidade climática, o que poderia comprometer a existência de habitats aptos a muitas espécies no futuro, devido ao atual ritmo acelerado das mudanças no clima (SOBRAL-SOUZA et al., 2018).

Todas essas questões relacionadas direta ou indiretamente à conservação genética das espécies florestais podem ser especialmente relevantes para determinadas espécies da flora e fauna da Mata Atlântica. Nesse ponto, é possível destacar a emblemática *Araucaria angustifolia*, que pode ser considerada uma prioridade de conservação. Entre outros aspectos

que justificam isso estão o histórico de intensa exploração da *A. angustifolia* com redução drástica do seu tamanho populacional (FOREST et al., 2018; GUERRA et al., 2002; NODARI, 2016) e seu papel como uma espécie-chave para a sobrevivência de outras espécies de fauna e flora (VIEIRA; IOB, 2009). Tais aspectos corroboram com o padrão de devastação e importância ecológica da Mata Atlântica e fazem da conservação das populações remanescentes de *A. angustifolia* uma urgência e um desafio.

## **2.2 A *Araucaria angustifolia* (Bertoloni) Otto Kuntze e os desafios para a sua conservação**

A *Araucaria angustifolia* (Bertoloni) Otto Kuntze, popularmente conhecida como araucária, pinheiro-do-paraná ou pinheiro brasileiro, é uma gimnosperma nativa da América do Sul, de ocorrência predominante no Brasil. No território brasileiro, as populações de *A. angustifolia* estão concentradas nos estados da região Sul (Rio Grande do Sul, Paraná e Santa Catarina), mas há populações esparsas e disjuntas, com indivíduos isolados, no Sudeste do país, sendo a região do limite norte de ocorrência da espécie (GUERRA et al., 2002; HUECK, 1953; VEBLEN et al., 1995). Nessa região, as populações de *A. angustifolia* são consideradas relictos climáticos do Último Máximo Glacial, quando eram amplamente dispersas e então se retraíram em direção ao sul ou ocuparam áreas mais altas (e frias) do Sudeste conforme o clima aquecia (OLIVEIRA-FILHO et al., 2015).

A Floresta (ou Mata) de Araucária é também denominada de Floresta Ombrófila Mista e faz parte do domínio da Mata Atlântica (IBGE, 2012). Nessa tipologia florestal, a *A. angustifolia* é um dos determinantes da sua fitofisionomia, ocupando o estrato superior da floresta e possuindo alta densidade (MANTOVANI; MORELLATO; DOS REIS, 2006). As Florestas de Araucárias se situam predominantemente em clima pluvial subtropical, abaixo do trópico de Capricórnio, entre o quadrilátero 19°15'S e 31°30'S de latitudes e 41°30'W e 54°30'W de longitudes. Normalmente ocupam faixas de altitudes entre 500 m a 1200 m, mas podem ocorrer em áreas cuja altitude ultrapassa os 2000 metros, no Sudeste brasileiro (DETZEL CONSULTING, 2018; GUERRA et al., 2002).

A relevância atribuída à *A. angustifolia* envolve tanto aspectos antropogênicos quanto ecológicos. Nas florestas, a *A. angustifolia* é uma espécie-chave, pois o amadurecimento das suas sementes coincide com os períodos de outono e inverno, época em que outras espécies podem ter sua produção de frutos e sementes reduzida (VIEIRA; IOB, 2009). Nesse sentido, as sementes de *A. angustifolia* são uma fonte de alimento em períodos em que há menos

disponibilidade de recursos na floresta, o que significa que outras espécies de plantas e animais dependem direta ou indiretamente da sua existência para sobreviverem. A perda de espécies-chave pode intensificar cascatas de extinção, sobretudo quando associadas à redução e fragmentação de habitats (FISHER; LINDENMAYER, 2007).

A relação da *A. angustifolia* com grupos humanos é caracterizada por usos diretos e indiretos dos seus recursos. As sementes de *A. angustifolia* são muito apreciadas e têm alto valor nutricional, sendo benéficas para o consumo humano (BARBOSA et al., 2019). Para além do consumo das sementes, em muitas comunidades há uma conexão positiva com a *A. angustifolia*, que representa um conceito de territorialidade e identidade, sendo símbolo de tradições e festividades regionais (DETZEL CONSULTING, 2018; DOS REIS et al., 2014). Além disso, a madeira da *A. angustifolia* foi historicamente muito valorizada, o que contribuiu para a sua exploração e quase esgotamento (NODARI, 2016).

A exploração madeireira e a conversão de terras marcaram a história das populações de *A. angustifolia*, sendo responsáveis por dizimar quase toda a área de ocorrência natural da espécie. As estimativas indicam que cerca de 97% das Florestas de Araucária já foram dizimadas (FOREST et al., 2018; GUERRA et al., 2002). Atualmente, a *A. angustifolia* está na lista de espécies arbóreas com risco de extinção (ORGANIZAÇÃO DAS NAÇÕES UNIDAS PARA A ALIMENTAÇÃO E A AGRICULTURA – FAO, 1996), é considerada Criticamente Ameaçada pela Lista Vermelha da União Internacional para Conservação da Natureza (IUCN), a categoria de maior risco atribuído nesta classificação (THOMAS, 2013), e está em terceiro lugar entre as gimnospermas mais Evolutivamente Distintas e Globalmente Ameaçadas (EDGE) (FOREST et al., 2018).

No Brasil, a proibição do corte pela legislação ambiental e a conservação de áreas onde a espécie ocorre, a partir da criação de áreas protegidas, são mecanismos que auxiliam direta e indiretamente na proteção da *A. angustifolia*. O primeiro instrumento legal criado nesse sentido foi a Resolução do Conselho Nacional do Meio Ambiente n° 278 de 24 de maio de 2001, que dispõe sobre o corte e a exploração de espécies ameaçadas de extinção da flora da Mata Atlântica, admitindo-se apenas a exploração eventual para consumo, desde que respeitadas algumas diretrizes relacionadas à quantidade máxima de madeira retirada, tempo mínimo entre as intervenções e, aproveitamento dos indivíduos (BRASIL, 2001). Complementar a isso, a vigência da Lei 11.428/06, conhecida como a Lei da Mata Atlântica, surgiu como um novo instrumento, contribuindo para a proteção da vegetação nativa, incluindo-se as florestas de araucária (BRASIL, 2006).

A proteção contra o corte e a exploração predatória da *A. angustifolia* é uma estratégia valiosa para a sua conservação, mas pode não garantir a manutenção das florestas remanescentes, sobretudo em longo prazo. Há cenários de extração da *A. angustifolia* para fins comerciais e de conversão de terras mesmo mediante uma legislação mais rigorosa (SCHNEIDER et al., 2018), e são comuns os registros de apreensão de madeira de *A. angustifolia* desmatada ilegalmente (INSTITUTO BRASILEIRO DO MEIO AMBIENTE E DOS RECURSOS NATURAIS RENOVÁVEIS – IBAMA, 2017; 2018a; 2018b; 2020).

Por ser uma espécie protegida, a área útil ocupada pelo indivíduo deve permanecer protegida, o que estimula a remoção dos regenerantes em algumas propriedades privadas para evitar a perda futura de área para o desenvolvimento de atividades produtivas (QUINTEIRO et al., 2019). Também, o consumo de sementes de *A. angustifolia* pela população pode configurar um obstáculo para a manutenção das suas florestas caso a coleta seja indiscriminada. Não menos importante, os conflitos de uso da terra e o descumprimento das restrições ambientais nas áreas protegidas brasileiras são uma realidade (FRANÇOSO et al., 2015; PAYÉS; PAVÃO; DOS SANTOS, 2013) e dificultam estimar a real efetividade dessas áreas em proteger espécies, sobretudo aquelas já vulneráveis, como a *A. angustifolia*.

Aspectos não antropogênicos relacionados à *A. angustifolia* também contribuem para a sua vulnerabilidade, pois afetam as taxas de cruzamento, germinação e recrutamento. A *A. angustifolia* é uma espécie predominantemente dioica, com indivíduos monoicos em casos extremamente raros, cuja real frequência nas populações ainda é desconhecida (DANNER et al., 2013). A dioicidade da *A. angustifolia* pode levar a diferenças na proporção entre os sexos nas populações e à assincronia na fenologia da floração, acarretando em desequilíbrio na contribuição para com o número de gametas e de doadores efetivos de pólen (BITTENCOURT; SEBBENN, 2008; ZANON; FINGER; SCHNEIDER, 2009).

O grão de pólen da *A. angustifolia* não possui estruturas para facilitar a sua dispersão e é maior do que o grão de pólen de muitas outras espécies anemofílicas (SOUSA; HATTEMER, 2003). Por isso, sua dispersão a longas distâncias pode ser dificultada e muito dependente das condições climáticas, como a velocidade do vento, no momento em que o pólen é liberado (MANTOVANI; MORELLATO; DOS REIS, 2006). As sementes da *A. angustifolia* são grandes e sua dispersão primária é barocórica, por isso a dispersão a longas distâncias pode ser comprometida, sendo comum a formação de grupos de indivíduos geograficamente próximos entre si (BITTENCOURT; SEBBENN, 2008; SOUZA et al., 2008). Nesse sentido, o alcance de maiores distâncias de dispersão é muito dependente da ação da fauna dispersora.

Os principais grupos de dispersores das sementes da *A. angustifolia* são as aves e os mamíferos, incluindo pequenos roedores, mas normalmente a dispersão secundária pela fauna representa um alto custo para a espécie, pois as taxas de predação das sementes por esses dispersores costumam ser altas (IOB; VIEIRA, 2008; PEREIRA; GANADE, 2008; ROSA; HEGEL; PASSAMAMI, 2021; VIEIRA; IOB, 2009). Brocardo, Pedrosa e Galetti (2018) estudaram os efeitos da fragmentação, da extração madeireira e da comunidade animal na sobrevivência das sementes e no recrutamento da *A. angustifolia* e verificaram que são poucos os fragmentos de araucárias que conseguem saciar os predadores das sementes. A presença do javali exótico (*Sus scrofa*) em alguns locais acarretou alta perda de sementes viáveis para a germinação, necessitando-se de grandes bosques para compensar essa predação. O recrutamento nos fragmentos foi, em média, quatro vezes menor em relação à área de vegetação contínua.

A *A. angustifolia* é heliófila nas fases iniciais do desenvolvimento (SOUZA et al., 2008), o que significa que a regeneração natural em áreas florestais pode requerer longos períodos até que haja condições de luminosidade para o crescimento das plântulas. A competição com outras espécies no sub-bosque também pode comprometer a germinação e a sobrevivência de regenerantes (MEDINA-MACEDO et al., 2015). Além disso, no geral, as áreas de *A. angustifolia* são fragmentadas e dispersas, com distribuição etária direcionada para classes de idade mais avançada (WREGGE et al., 2009). A escassez de indivíduos de diferentes classes diamétricas e etárias pode comprometer a compensação dos efeitos da mortalidade dos indivíduos mais velhos, prejudicando a manutenção das suas populações.

A dificuldade no recrutamento natural de indivíduos associada à fragmentação e à perda de habitats pode reduzir ainda mais o tamanho das populações remanescentes de *A. angustifolia*, tornando-as mais isoladas espacialmente. O isolamento entre indivíduos e populações de *A. angustifolia* pode interferir nos processos ecológicos e evolutivos, por exemplo, o sistema de acasalamento e o fluxo gênico, afetando a diversidade genética (BITTENCOURT; SEBBENN, 2009). Além disso, a *A. angustifolia* é uma espécie de longo ciclo de vida, com indivíduos que podem ultrapassar 200 anos (BITTENCOURT; SEBBENN, 2007), o que significa que é possível que mudanças ambientais ocorram em velocidade maior do que a capacidade de adaptação da espécie, intensificando o declínio populacional em poucas gerações (ALFARO et al., 2014).

Nos últimos anos a conservação genética da *A. angustifolia* tem sido beneficiada pela incorporação de variáveis ambientais aos estudos genéticos, partindo-se do entendimento geral de que as espécies e o ambiente interagem (LEIMU, et al., 2010; MANEL et al., 2003).

As evidências da influência do ambiente nas dinâmicas genéticas da *A. angustifolia* indicam que a paisagem pode formar barreiras físicas ao fluxo gênico (AULER et al., 2002; BITTENCOURT; SEBBENN, 2008, 2009; LAUTERJUNG et al., 2019; MANTOVANI; MORELLATO; DOS REIS, 2006; WREGGE et al., 2017). Ainda, devido à especificidade da *A. angustifolia* quanto ao habitat (GUERRA et al., 2002), estima-se que os ambientes para a sua ocorrência natural sejam reduzidos, limitados a condições mais restritas de altitude e temperatura, em ocasião das mudanças no clima (CASTRO et al., 2019; MACHIORO et al., 2020; WILSON et al., 2019). Sendo assim, espera-se que os esforços voltados à compreensão da relação entre os padrões genéticos e espaciais ajudem a contornar os desafios relacionados à conservação da *A. angustifolia* e contribuam para reduzir os riscos de extinção da espécie a longo prazo.

### **2.3 Genética da paisagem na conservação da *A. angustifolia***

A complexidade das interações entre o ambiente e os padrões genéticos das espécies, inclusive da *A. angustifolia*, é investigada a partir da Genética da Paisagem, ciência multidisciplinar que incorpora princípios da ecologia da paisagem, da genética de populações e da estatística espacial (MANEL et al., 2003). As análises da Genética da Paisagem possibilitam obter informações quanto à conectividade genética entre indivíduos ou populações, partindo-se dos pressupostos de que a matriz entre os habitats é um dos principais determinantes de processos biológicos e ecológicos no nível da paisagem (HOLDEREGGER; WAGNER, 2008; MANEL et al., 2003; STORFER et al., 2010) e que a persistência das espécies depende da permeabilidade do ambiente ao movimento das espécies e, ou, dos seus materiais reprodutivos (SHIRK; LANDGUTH; CUSHMAN, 2018).

Como parte da Genética da Paisagem, a ecologia da paisagem envolve os padrões espaciais e os processos ecológicos das espécies, tratando das causas e consequências da heterogeneidade espacial, em diferentes escalas de análise (TURNER; GARDNER, 2015). A genética de populações aborda as diferenças genéticas e frequências alélicas dentro e entre populações e os fatores que as explicam, como padrões de acasalamento, tamanho e distribuição das populações, seleção natural, mutação e migração (JOHNSTON; KEATS; SHERMAN, 2019). Por fim, a estatística espacial inclui propriedades de localização, identifica padrões genéticos espaciais e testa a correlação entre variáveis genéticas e ambientais (MANEL et al., 2003).

A interdisciplinaridade associada à Genética da Paisagem atribui aos pesquisadores a tomada de decisão sobre as ferramentas e os métodos de análises dos dados, uma vez que não há roteiro definido sobre como conduzir um estudo genético da paisagem. Como ferramentas genéticas, têm-se o uso dos marcadores moleculares (STORFER et al., 2010) e, no âmbito da paisagem, os Sistemas de Informações Geográficas (SIG) permitem o mapeamento da paisagem e a sobreposição de planos de informações ambientais com os padrões genéticos, resultando em mapas temáticos intuitivos (MANEL; HOLDEREGGER, 2013).

Na condução de estudos genéticos da paisagem são formuladas hipóteses (ou modelos) de permeabilidade, que informam o quanto a paisagem impede ou facilita o fluxo gênico. Tais hipóteses se referem ao isolamento genético pela distância geográfica (modelo IBD) (SLATKIN, 1994), ou ao isolamento genético pela resistência da paisagem (modelo IBR) (MCRAE, 2006), mais comum para paisagens complexas e heterogêneas. Além disso, podem ser empregadas superfícies (ou mapas) de resistência, que são camadas espaciais onde cada feição da paisagem recebe um valor numérico que expressa o quanto a conectividade entre locais é facilitada ou impedida para um organismo (SPEAR et al., 2010).

Nesse sentido, com os estudos genéticos da paisagem é possível identificar discontinuidades genéticas e correlacioná-las com os elementos da paisagem, como barreiras físicas (por exemplo, montanhas) e gradientes ambientais (por exemplo, variação de umidade). Outras aplicações incluem: determinar processos ecológicos que influenciem a estrutura genética espacial (por exemplo, dispersão, abundância ou sobrevivência); realizar designs de corredores ecológicos ou reservas; e prever os efeitos de futuras mudanças ambientais na conectividade genética ou movimento de alelos dentro e entre populações (SPEAR et al., 2010).

Muitas das barreiras da subjetividade das análises de permeabilidade da paisagem foram superadas (ou reduzidas) a partir do emprego de algoritmos de otimização (HANSON; FULLER; RHODES, 2019; PETERMAN, 2018). Como exemplo, tem-se o pacote R *ResistanceGA* proposto por Peterman (2018), que realiza a otimização e parametrização imparcial e objetiva de superfícies de resistência a partir de um algoritmo genético, sem a admissão de premissas ou “pesos” de permeabilidade da paisagem baseados na opinião de especialistas. Estudos têm empregado o *ResistanceGA* e obtido resultados robustos, confirmando sua aplicação para a pesquisa em conservação dos recursos genéticos (CARVALHO et al., 2019; HANSON; FULLER; RHODES, 2019; JIMÉNEZ; LI; TUCKER, 2020; WINIARSKI; PETERMAN; MCGARIGAL, 2020).



Em ambientes heterogêneos, o estudo da influência da paisagem sobre os padrões genéticos pode ser ainda mais informativo para a conservação de espécies, pois no atual nível de fragmentação e perda de habitat em que se encontram as paisagens naturais, pode-se evidenciar variáveis ambientais específicas que facilitem ou impeçam o fluxo gênico (STORFER et al., 2010). Para a *A. angustifolia*, isso é especialmente valioso, já que a espécie passou por intensa perda de habitat original e intenso declínio populacional nas últimas décadas (GUERRA et al., 2002; NODARI, 2016; VEBLEN et al., 1995). Atualmente, uma das áreas de ocorrência natural da *A. angustifolia* de maior heterogeneidade espacial é o seu limite norte, na região Sudeste do Brasil, particularmente o sul do estado de Minas Gerais. Isto porque trata-se de uma região altamente antropizada e fragmentada, a qual contempla distintas fitofisionomias vegetais e tem alta variação de relevo, de terras baixas a cadeias montanhosas (IBGE, 2012; DETZEL CONSULTING, 2018; INSTITUTO ESTADUAL DE FLORESTAS – IEF, 2008).

Além da heterogeneidade espacial, a região limite no sul de Minas Gerais pode ser estratégica aos estudos de conservação genética da *A. angustifolia* também por outro atributo: o sistema diferenciado de gestão ambiental, onde o uso dos recursos naturais é, teoricamente, regulado e condicionado a formas mais sustentáveis, já que a região contempla a Reserva da Biosfera da Mata Atlântica (ORGANIZAÇÃO DAS NAÇÕES UNIDAS PARA A EDUCAÇÃO, A CIÊNCIA E A CULTURA – UNESCO, 2020) e uma rede de áreas protegidas (MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE – MMA, 2021). Inclusive, uma parte dessas áreas protegidas é composta pela Área de Proteção Ambiental da Serra da Mantiqueira e pelo Parque Nacional do Itatiaia, consideradas a oitava área insubstituível do planeta (LE SAOUT et al., 2013).

O sul de Minas Gerais pode conter populações de *A. angustifolia* ainda bem conservadas, pois os efeitos das áreas protegidas sobre a conservação da natureza costumam ser positivos e superiores em relação a áreas não protegidas (FRANÇOSO et al., 2015; GELDMANN et al., 2019). Contudo, nem sempre o cenário de conservação proporcionado por áreas protegidas atinge objetivos esperados (PAYÉS; PAVÃO; DOS SANTOS, 2013), especialmente no Brasil, onde questões políticas e conflitos de interesses podem se sobrepor à representatividade ecológica no estabelecimento dessas áreas (MASCIA; PAILLER, 2010; VIEIRA; PRESSEY; LOYOLA, 2019). Assim, fica evidente a complexidade envolvida na relação entre o ambiente e os padrões genéticos das populações remanescentes de *A. angustifolia* nessa região limítrofe de ocorrência. Portanto, o estudo genético da paisagem

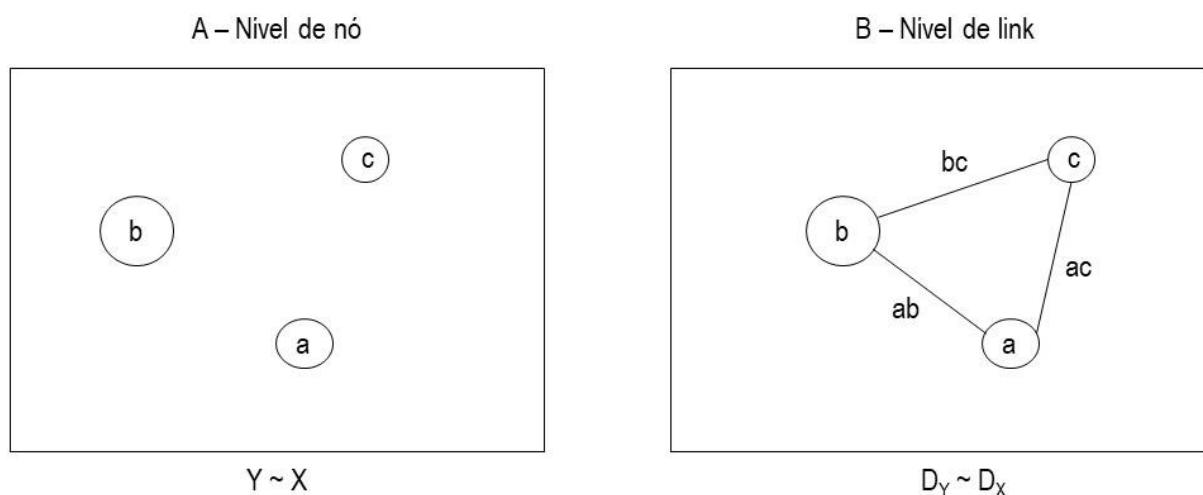
pode fornecer considerações inovadoras, acrescentando à literatura informações mais precisas para a elaboração de estratégias de conservação da *A. angustifolia*.

### 3 MATERIAL E MÉTODOS

Para estudar a relação entre a paisagem e os padrões genéticos das populações de *A. angustifolia*, em comum a ambos os artigos, utilizaram-se dados genéticos obtidos por marcadores microssatélites de 450 indivíduos adultos de *A. angustifolia* distribuídos em nove diferentes localidades do sul de Minas Gerais. Também, utilizaram-se dados de localização espacial desses indivíduos e dados de feições da paisagem, como a elevação do terreno e o uso do solo.

Estruturou-se as análises genéticas da paisagem considerando dois níveis: nós e links. No nível de nós os alelos de cada local se relacionam à paisagem e condições do mesmo local, abordando os fatores que determinam a presença de alelos ou a diversidade genética em uma determinada localização espacial. No nível de link, são analisadas as distâncias genéticas entre pares de locais, relacionando-as à paisagem presente ao longo de cada link, avaliando-se a probabilidade de fluxo gênico entre dois locais (FIGURA 1) (WAGNER; FORTIN, 2013). A partir desses níveis de análise, exploraram-se os mecanismos que sustentam a diversidade genética e o fluxo gênico entre e dentro de diferentes populações de *A. angustifolia*.

Figura 1 – Níveis de análise executados nesse estudo genético da paisagem.



Legenda: A) Nível de nó, em que os alelos (Y) das populações (*a*, *b*, *c*) se relacionam às condições da própria paisagem local (X); e B) Nível de link, em que a distância genética ( $D_Y$ ) entre pares de populações (*ab*, *ac* e *bc*) se relaciona à distância na paisagem ( $D_X$ ), considerando a matriz ao longo de cada link. Fonte: adaptado de Wagner e Fortin (2013).

#### **4 CONSIDERAÇÕES GERAIS**

Neste trabalho, realizou-se uma investigação de como os padrões genéticos de populações de *A. angustifolia* podem ser influenciados pela paisagem. As evidências apresentadas neste estudo contribuem para com o arcabouço teórico da conservação genética da *A. angustifolia* e ampliam as discussões sobre a complexidade da relação entre a paisagem e os padrões genéticos da espécie, bem como sobre a efetividade das estratégias conservacionistas, sobretudo para as populações relictuais do seu limite norte de ocorrência.

## REFERÊNCIAS

- ALFARO, R. I. et al. The role of forest genetic resources in responding to biotic and abiotic factors in the context of anthropogenic climate change. **Forest Ecology and Management**, v. 333, p. 76–87, 2014.
- ALLENDORF, F.; LUIKART, G. **Conservation and the genetics of populations**. 2. ed. New York: Willey-Blackwell, 2012. 624 p.
- AULER, N. M. F. et al. The genetics and conservation of *Araucaria angustifolia*: I. Genetic structure and diversity of natural populations by means of non-adaptive variation in the state of Santa Catarina, Brazil. **Genetics and Molecular Biology**, v. 25, n. 3, p. 329–338, 2002.
- BARBOSA, J. Z. et al. Elemental composition and nutritional value of *Araucaria angustifolia* seeds from subtropical Brazil. **Journal of Food Science and Technology-Mysore**, v. 56, n. 2, p. 1073-1077, 2019.
- BITTENCOURT, J. V. M.; SEBBENN, A. M. Genetic effects of forest fragmentation in high-density *Araucaria angustifolia* populations in Southern Brazil. **Tree Genetics and Genomes**, v. 5, n. 4, p. 573–582, 2009.
- BITTENCOURT, J. V. M.; SEBBENN, A. M. Patterns of pollen and seed dispersal in a small, fragmented population of the wind-pollinated tree *Araucaria angustifolia* in southern Brazil. **Heredity**, v. 99, n. 6, p. 580–591, 2007.
- BITTENCOURT, J. V. M.; SEBBENN, A. M. Pollen movement within a continuous forest of wind-pollinated *Araucaria angustifolia*, inferred from paternity and TwoGener analysis. **Conservation Genetics**, v. 9, n. 4, p. 855–868, 2008.
- BOGONI, J. A.; GRAIPEL, M. E.; PERONI, N. The ecological footprint of *Acca sellowiana* domestication maintains the residual vertebrate diversity in threatened highlands of Atlantic Forest. **PLOS ONE**, v. 13, n. 4, p. 1-24, 2018.
- BOGONI, J. A. et al. Testing the keystone plant resource role of a flagship subtropical tree species (*Araucaria angustifolia*) in the Brazilian Atlantic Forest. **Ecological Indicators**, v. 118, p. 1-9, 2020.
- BRASIL. Lei nº 11.428, de 22 de dezembro de 2006. Dispõe sobre a utilização e proteção da vegetação nativa do Bioma Mata Atlântica, e dá outras providências. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 26 dez. 2006. Disponível em: <[http://www.planalto.gov.br/ccivil\\_03/\\_Ato2004-2006/2006/Lei/L11428.htm](http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_Ato2004-2006/2006/Lei/L11428.htm)>. Acesso em: 5 maio 2019.
- BRASIL. Ministério do Meio Ambiente, Conselho Nacional do Meio Ambiente, CONAMA. **Resolução CONAMA nº 278**, de 24 de maio de 2001. Dispõe sobre o corte e a exploração de espécies ameaçadas de extinção da flora da Mata Atlântica. Publicado no D.O.U de 18 julho 2001. Disponível em: <<http://www2.mma.gov.br/port/conama/legiabre.cfm?codlegi=276>>. Acesso em: 28 abr. 2019.

BROCARD, C. R.; PEDROSA, F.; GALETTI, M. Forest fragmentation and selective logging affect the seed survival and recruitment of a relictual conifer. **Forest Ecology and Management**, v. 408, p. 87–93, 2018.

CARVALHO, C. DA S. et al. Habitat loss does not always entail negative genetic consequences. **bioRxiv**, v. 55, n. 91, p. 528430, 2019.

CASTRO, M. B. et al. Will the emblematic southern conifer *Araucaria angustifolia* survive to climate change in Brazil? **Biodiversity and Conservation**, v. 29, p. 591-607, 2019.

DANNER, M. A. et al. Impact of monoecy in the genetic structure of a predominately dioecious conifer species, *Araucaria angustifolia* (Bert.) O. Kuntze. **Plant Systematics and Evolution**, v. 299, n. 5, p. 949–958, 2013.

DESALLE, R.; AMATO, G. Conservation Genetics, Precision Conservation, and De-extinction. **The Hastings Center Report**, v. 47, p. 18–23, July-August, 2017.

DETZEL CONSULTING. Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade. **Plano de manejo da Área de Proteção Ambiental da Serra da Mantiqueira**. Detzel Consultores Associados S/S EPP. Brasília, 2018. 371 p. Disponível em: <[http://www.icmbio.gov.br/portal/images/stories/plano-de-manejo/plano\\_de\\_manejo\\_serra\\_da\\_mantiqueira\\_2018.pdf](http://www.icmbio.gov.br/portal/images/stories/plano-de-manejo/plano_de_manejo_serra_da_mantiqueira_2018.pdf)>. Acesso em: 01 maio 2019.

DOS REIS, M. S. et al. Landscapes with *Araucaria* in South America: evidence for a cultural dimension. **Ecology and Society**, v. 19, n. 2, p. 1-14, 2014.

FAHRIG, L. et al. Is habitat fragmentation bad for biodiversity? **Biological Conservation**, v. 230, p. 179–186, 2019.

FISHER, J.; LINDENMAYER, D. B. Landscape modification and habitat fragmentation: a synthesis. **Global Ecology and Biogeography**, v. 16, p. 265-280, 2007.

FLETCHER, R. J. et al. Is habitat fragmentation good for biodiversity? **Biological Conservation**, v. 226, p. 9-15, 2018.

FOREST, F. et al. Gymnosperms on the EDGE. **Scientific Reports**, v. 8, n.1, p. 1-11, 2018.

GUERRA, M. P. et al. Exploração, manejo e conservação da araucária (*Araucaria angustifolia*). In: SIMÕES, L. L.; LINO, C. F. (Eds.). **Sustentável Mata Atlântica: a exploração de seus recursos florestais**. 1. ed. São Paulo: SENAC São Paulo, 2002. p. 85–102.

HAMRICK, J. L. The distribution of genetic variation within and among natural plant population. In: C. M. SCHONE-WALD-COX, S.H. CHAMBERS, B. MacBYDE; L. THOMAS. **Genetics and conservation**. Benjamin Cummings Publishing Company, Menlo Park, California, p. 335–348. 1983.

HANSON, J. O.; FULLER, R. A.; RHODES, J. R. Conventional methods for enhancing connectivity in conservation planning do not always maintain gene flow. **Journal of Applied Ecology**, v. 56, n. 4, p. 913–922, 2019.

HOLDEREGGER, R.; WAGNER, H. H. Landscape genetics. **Encyclopedia of Biodiversity**, v. 58, n. 3, p. 199–207, 2008.

HUECK, K. Distribuição e habitat natural do Pinheiro do Paraná (*Araucaria angustifolia*). Boletim da Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras da Universidade de São Paulo. **Botânica**, v. 10, n. 156, p. 5-24. 1953.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA – IBGE. **Manual técnico da vegetação brasileira**. 2. ed. Rio de Janeiro, RJ, 271 p. 2012. Disponível em: <<https://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/livros/liv63011.pdf>>. Acesso em: 05 maio 2019.

INSTITUTO BRASILEIRO DO MEIO AMBIENTE E DOS RECURSOS NATURAIS RENOVÁVEIS – IBAMA. **Ibama embarga 600 hectares e apreende mil toneladas de soja na Mata Atlântica (PR)**. 2017. Disponível em: <<http://www.ibama.gov.br/noticias/422-2017/1289-ibama-embarga-600-hectares-e-apreende-mil-toneladas-de-soja-na-mata-atlantica-pr>>. Acesso em: 20 abr. 2022.

INSTITUTO BRASILEIRO DO MEIO AMBIENTE E DOS RECURSOS NATURAIS RENOVÁVEIS – IBAMA. **Ibama embarga 10 empresas por exploração ilegal de araucárias no PR**. 2018a. Disponível em: <<http://www.ibama.gov.br/ultimas-3/1432-ibama-embarga-10-empresas-por-exploracao-ilegal-de-araucarias-no-pr>>. Acesso em: 20 abr. 2022.

INSTITUTO BRASILEIRO DO MEIO AMBIENTE E DOS RECURSOS NATURAIS RENOVÁVEIS – IBAMA. **Ibama realiza operação conjunta com o MPE para proteção da Mata Atlântica no PR**. 2018b. Disponível em: <<http://www.ibama.gov.br/ultimas-3/1768-ibama-realiza-operacao-conjunta-com-o-mpe-para-protecao-da-mata-atlantica-no-pr>>. Acesso em: 20 abr. 2022.

INSTITUTO BRASILEIRO DO MEIO AMBIENTE E DOS RECURSOS NATURAIS RENOVÁVEIS – IBAMA. **Ibama interrompe desmatamento ilegal em floresta de araucária no Paraná durante pandemia de coronavírus**. 2020. Disponível em: <<http://www.ibama.gov.br/ultimas/2201-ibama-interrompe-desmatamento-ilegal-em-floresta-de-araucaria-no-parana-durante-pandemia-de-coronavirus>>. Acesso em: 20 abr. 2022.

INSTITUTO ESTADUAL DE FLORESTAS – IEF. **Plano de gestão da Área de Proteção Ambiental Fernão Dias**. Belo Horizonte: 2008. Disponível em: <<http://www.ief.mg.gov.br/areas-protegidas/gestao/1692-plano-de-manejo-apa-fernao-dias>>. Acesso em: 09 maio 2019.

IOB, G.; VIEIRA, E. M. Seed predation of *Araucaria angustifolia* (Araucariaceae) in the Brazilian Araucaria Forest: influence of deposition site and comparative role of small and ‘large’ mammals. **Plant Ecology**, v. 198, p. 185-196, 2008.

JIMÉNEZ, B. O.; LI, K.; TUCKER, P. K. Landscape drivers of connectivity for a forest rodent in a coffee agroecosystem. **Landscape Ecology**, v. 35, p. 1249-1261, 2020.

- JOHNSTON, H. R.; KEATS, B. J. B.; SHERMAN, S. L. Population Genetics. In: **Emery and Rimoin's principles and practice of medical genetics and genomics: foundations**. Seventh Ed ed. [s.l.] Elsevier Inc., 2019. p. 359–373.
- JOLY, C. A.; METZGER, J. P.; TABARELLI, M. Experiences from the Brazilian Atlantic Forest: ecological findings and conservation initiatives. **N. Phytol.**, v. 204, p. 459–473. 2014.
- LAUTERJUNG, M. B. et al. Temporal changes in population genetics of six threatened Brazilian plant species in a fragmented landscape. **Forest Ecology and Management**, v. 435, n. January, p. 144–150, 2019.
- LE SAOUT, S. et al. Protected Areas and Effective Biodiversity Conservation. **Science**, v. 342, p. 803–805, 2013.
- LEIMU, R. et al. Habitat fragmentation, climate change, and inbreeding in plants. **Annals of The New York Academy of Sciences**, v. 1195, n. 1, p. 84–98, 2010.
- LOVELESS, M. D.; HAMRICK, J. L. Ecological determinants of genetic structure in plant population. **Annual Review of Ecology and Systematics**, v. 15, p. 65–95, 1984.
- MACHIORO, C. A. et al. Present and future of the critically endangered *Araucaria angustifolia* due to climate change and habitat loss. **Forestry**, v. 93, p. 401–410, 2020.
- MANEL, S. et al. Landscape genetics: Combining landscape ecology and population genetics. **Trends in Ecology and Evolution**, v. 18, n. 4, p. 189–197, 2003.
- MANEL, S.; HOLDEREGGER, R. Ten years of landscape genetics. **Trends in Ecology and Evolution**, v. 28, n. 10, p. 614–621, 2013.
- MANTOVANI, A.; MORELLATO, L. P. C.; DOS REIS, M. S. Internal genetic structure and outcrossing rate in a natural population of *Araucaria angustifolia* (Bert.) O. Kuntze. **Journal of Heredity**, v. 97, n. 5, p. 466–472, 2006.
- MASCIA, M.B.; PAILLER, S. Protected area downgrading, downsizing, and degazettement (PADDD) and its conservation implications. **Conservation Letters**, v. 4, n. 1, p. 9–20, 2010.
- MCRAE, B. H. Isolation by resistance. **Evolution; international journal of organic evolution**, v. 60, n. 8, p. 1551–61, 2006.
- MCRAE, B. H.; BEIER, P. Circuit theory predicts gene flow in plant and animal populations. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 104, n. 50, p. 19885–19890, 2007.
- MEDINA-MACEDO, L. et al. High levels of genetic diversity through pollen flow of the coniferous *Araucaria angustifolia*: a landscape level study in Southern Brazil. **Tree Genetics and Genomes**, v. 11, n. 1, p. 1–14, 2015.
- MEDINA-MACEDO, L. et al. Using genetic diversity and mating system parameters estimated from genetic markers to determine strategies for the conservation of *Araucaria angustifolia* (Bert.) O. Kuntze (Araucariaceae). **Conserv. Genet.**, v. 17, p. 413–423, 2016.

- MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE – MMA. **Cadastro Nacional de Unidades de Conservação**. Painel Unidades de Conservação Brasileiras. 2021. Disponível em: <<https://antigo.mma.gov.br/areas-protetidas/cadastro-nacional-de-ucs>>. Acesso em: 23 maio 2022.
- MYERS, N. et al. Biodiversity hotspots for conservation priorities. **Nature**, v. 403, p. 853–858, 2000.
- NODARI, E. Historia de la devastación del Bosque de Araucaria en el sur del Brasil. **Revista Internacional de Ciencias Sociales**, v. 35, p. 75-85, 2016.
- OLIVEIRA-FILHO, A. T. et al. Delving into the variations in tree species composition and richness across South American subtropical Atlantic and Pamean forests. **Journal of Plant Ecology**, v. 8, n. 3, p. 242-260, 2015.
- ORGANIZAÇÃO DAS NAÇÕES UNIDAS PARA A ALIMENTAÇÃO E A AGRICULTURA – FAO. **Panel of experts and forest gene resources**. Roma: FAO, 1996. 64 p.
- PEREIRA, F; GANADE, G. Spread of a Brazilian keystone-species in a landscape mosaic. **Forest Ecology and Management**, v. 255, p. 1674-1683, 2008.
- PETERMAN, W. E. ResistanceGA: An R package for the optimization of resistance surfaces using genetic algorithms. **Methods in Ecology and Evolution**, v. 9, n. 6, p. 1638–1647, 2018.
- PLATAFORMA INTERGOVERNAMENTAL DE POLÍTICA CIENTÍFICA SOBRE BIODIVERSIDADE E SERVIÇOS ECOSISTÊMICOS – IPBES. **The global assessment report on biodiversity and ecosystem services: summary for policymakers**. IPBES secretariat, Bonn, Germany. 56 p. 2019. Disponível em: <<https://zenodo.org/record/3553579#.YABWk1VKi00>>. Acesso em: 14 jan 2021.
- PÜTZ, S. et al. Fragmentation drives tropical forest fragments to early successional states: a modelling study for Brazilian Atlantic forests. **Ecological Modelling**, v. 222, p. 1986–1997, 2011.
- QUINTEIRO, M. M. C. et al. Brazilian Pine (*Araucaria angustifolia* (Bertol.) Kuntze) Ethnoecology in the Mantiqueira Atlantic Forest. **Floresta e Ambiente**, v. 26, n. 1, p. 1-7, 2019.
- REED. D.H. Natural selection and genetic diversity. **Heredity**, v. 99, pp. 1–2, 2007.
- RIBEIRO, M. C. et al. The Brazilian Atlantic Forest: how much is left, and how is the remaining forest distributed? Implications for conservation. **Biological Conservation**, v. 142, p. 1141–1153, 2009.
- ROSA, C; HEGEL, C. G. Z; PASSAMAMI, M. Seed removal of *Araucaria angustifolia* by native and invasive mammals in protected areas of Atlantic Forest. **Biota Neotropica**, v. 21, n. 1, p. 1-6, 2021.



- SAEKI, I. et al. Landscape genetics of a threatened maple, *Acer miyabei*: Implications for restoring riparian forest connectivity. **Biological Conservation**, v. 220, p. 299–307, 2018.
- SCHNEIDER, L. C. A. et al. Deforestation in Mixed Ombrophilous Forest in the Serrana Region of Santa Catarina. **Revista Árvore**, v. 42, n. 2, 2018.
- SHIRK, A. J.; LANDGUTH, E. L.; CUSHMAN, S. A. A comparison of regression methods for model selection in individual-based landscape genetic analysis. **Molecular Ecology Resources**, v. 18, n. 1, p. 55–67, 2018.
- SIQUEIRA, F. F. et al. How scattered trees matter for biodiversity conservation in active pastures. **Agriculture, Ecosystems & Environment**, 250, p. 12–19, 2017.
- SIQUEIRA, F. F. et al. Small Landscape Elements Double Connectivity in Highly Fragmented Areas of the Brazilian Atlantic Forest. **Front. Ecol. Evol.**, v. 9, p. 1–14, 2021.
- SLATKIN, M. Gene flow and population structure. **Ecological genetics**, p. 3-17, 1994.
- SOBRAL-SOUZA, T.; VANCINE, M. H.; RIBEIRO, M. C.; LIMA-RIBEIRO, M. S. Efficiency of protected areas in Amazon and Atlantic Forest conservation: a spatio-temporal view. **Acta Oecol.**, v. 87, p. 1-7, 2018.
- SOUSA, V. A.; HATTEMER, H. H. Pollen dispersal and gene flow by pollen in *Araucaria angustifolia*. **Australian Journal of Botany**, v. 51, p. 309-317, 2003.
- SOUZA, A. et al. Regeneration patterns of a long-lived dominant conifer and the effects of logging in southern South America. **Acta Oecologica**, v. 34, n. 2, p. 221–232, 2008.
- SPEAR, S. F. et al. Use of resistance surfaces for landscape genetic studies: considerations for parameterization and analysis. **Molecular Ecology**, v. 19, n. 17, p. 3576–3591, 2010.
- STORFER, A. et al. Landscape genetics: Where are we now? **Molecular Ecology**, v. 19, n. 17, p. 3496–3514, 2010.
- THOMAS, P. 2013. *Araucaria angustifolia*. The IUCN Red List of Threatened Species 2013. Disponível em: <<https://www.iucnredlist.org/species/32975/2829141>>. Acesso em: 25 abr. 2019.
- TURNER, M. G.; GARDNER, R. H. **Landscape Ecology in Theory and Practice: pattern and process**. 2. ed. New York: Springer, 2015.
- VEBLEN, T. T., et al. The ecology of the conifers of southern South America. In: R. S. ENRIGHT N. J.; HILL, ed., **Ecology of Southern Conifers**: Victoria, Melbourne University Press, p. 120-155, 1995.
- VIEIRA, E. M; IOB, G. Dispersão e predação de sementes da araucária (*Araucaria angustifolia*) p. 85-95. In: FONSECA, C. R.; SOUZA, A. F., LEAL-ZANCHET, A. M.; DUTRA, T.; BACKES, A.; GANADE, G., Eds. **Floresta de Araucária: ecologia, conservação e desenvolvimento sustentável**. Editora Holos. Ribeirão Preto, SP, Brasil. 2009.

VIEIRA, R. R. S.; PRESSEY, R. L.; LOYOLA, R. The residual nature of protected areas in Brazil. **Biological Conservation**, v. 233, p. 152–161, 2019.

WAGNER, H. H.; FORTIN, M. J. A conceptual framework for the spatial analysis of landscape genetic data. **Conservation Genetics**, v. 14, n. 2, p. 253–261, 2013.

WILSON, O. J. et al. Cold spot microrefugia hold the key to survival for Brazil's Critically Endangered Araucaria tree. **Global Change Biology**, v. 25, p. 4339–4351, 2019.

WINIARSKI, J. K.; PETERMAN, W. E.; MCGARIGAL, K. Evaluation of the R package ‘resistancega’: a promising approach towards the accurate optimization of landscape resistance surfaces. **Molecular Ecology Resources**, v. 20, p. 1583–1596, 2020.

WREGGE, M. S. et al. Climate change and conservation of *Araucaria angustifolia* in Brazil. **Unasylva**, v. 60, n. 231/232, p. 30–33, 2009.

WREGGE, M. S. et al. Distribuição natural e habitat da araucária frente às mudanças climáticas globais. **Pesquisa Florestal Brasileira**, v. 37, n. 91, p. 331, 2017.

YAMAMICHI, M.; INNAN, H. Estimating the migration rate from genetic variation data. **Heredity**, v. 108, p. 362–363, 2012.

ZANON, M. L. B.; FINGER, C. A. G.; SCHNEIDER, P. R. Proporção da dioiccia e distribuição diamétrica de árvores masculinas e femininas de *Araucaria angustifolia* (Bertol.) Kuntze, em povoamentos implantados. **Ciência Florestal**, v. 19, n. 4, p. 425–431, 2009.

**SEGUNDA PARTE**  
**ARTIGOS**

Artigos redigidos e formatados conforme a NBR 6022 de 2018 da ABNT e o Manual da UFLA de apresentação de teses e dissertações, edição 2020. Por esse formato, têm-se artigos padrão que poderão atender, em qualquer momento, qualquer norma de revista científica.

## ARTIGO 01

**LANDSCAPE INFLUENCES GENETIC EXCHANGE OF RELICT POPULATIONS  
OF THE BRAZILIAN PINE, *Araucaria angustifolia* (Pinales: Araucariaceae)**

Fabrina Teixeira Ferraz<sup>1</sup>  
Flávia Freire de Siqueira<sup>2</sup>  
Jeffrey Owen Hanson<sup>3</sup>  
Dulcineia de Carvalho<sup>4</sup>

**ABSTRACT**

We performed a landscape resistance analysis to understand the permeability of spatial elements to gene flow of relict populations of *Araucaria angustifolia* tree, a keystone species for the biodiversity of the Brazilian Atlantic Forest – and critically endangered. The study region was the northern limit of *A. angustifolia*'s occurrence, where it is distributed in isolated populations in higher altitude areas. We used genetic data from adult individuals of *A. angustifolia* for the analysis of gene flow, genetic diversity, genetic differentiation, genetic structure, and genetic distance. Also, we used terrain elevation and land use data as landscape variables. We evidenced historical gene flow and high genetic diversity in the populations studied, but there is a tendency for long-term structuring and reduction of genetic diversity. One of the populations requires priority conservation efforts. Regarding the landscape, we found that not all high-altitude areas are favorable to the maintenance of biodiversity and connectivity of *A. angustifolia* and we found that regions of 1300 m altitude may be more favorable for gene flow of *A. angustifolia* populations. Geographic distance is an important determinant of genetic distance between individuals of *A. angustifolia*, which makes its populations more vulnerable to isolation by distance. Finally, we found that the effects of land use on the gene flow among the populations of this study require the evaluation of at least one additional generation; thus, future studies should include the remaining populations. We believe this research allows reassessment of the conditions for gene flow and protection of *A. angustifolia* and we hope our findings may advise further conservation efforts for the species.

**Keywords:** genetics conservation; endangered species; ResistanceGA.

## 1 INTRODUCTION

*Araucaria angustifolia* (Bert.) O. Kuntze is one of the most threatened tree species native to the Brazilian Atlantic Forest (GUERRA et al., 2002; NODARI, 2016), a global

---

<sup>1</sup> Forestry Department, Federal University of Lavras, Lavras, Brazil; Corresponding author: [fabrina.ferraz@hotmail.com](mailto:fabrina.ferraz@hotmail.com);

<sup>2</sup> Guaicuy Institute, Belo Horizonte, Brazil;

<sup>3</sup> CIBIO/InBIO, Research Center for Biodiversity and Genetic Resources, University of Porto, Campus Vairão, Vairão, Portugal;

<sup>4</sup> Forestry Department, Federal University of Lavras, Lavras, Brazil.

biodiversity hotspot (MYERS et al., 2000). This long-lived species (VEBLEN et al., 1995) towers above the forest canopy in a candelabrum shape, with a rectilinear trunk and a crown with branches in verticils and inflorescences at its ends (GARCIA, 2002). With this unique aspect, *A. angustifolia* is visually attractive in the places where it occurs and this contributed to the beginning of its devastation (NODARI, 2016). It is estimated that 97% of the original area where *A. angustifolia* grows was decimated in the last century and that its populations are severely fragmented and continuously reduced, which places it under the status of Critically Endangered on the Red List (THOMAS, 2013). Furthermore, *A. angustifolia* is in third place among the most Evolutionarily Distinct and Globally Endangered (EDGE) gymnosperms (FOREST et al., 2018).

Because *A. angustifolia* is a key species that provides shelter and food in times of forest resource scarcity, the threat to its survival implies a threat to the survival of other plants and animals (VIEIRA; IOB, 2009). More than two-thirds of fauna in *A. angustifolia* forests depend on its seeds, forming a large and diverse interaction network (BOGONI et al., 2020). Small rodents are strongly related to the consume of *A. angustifolia* seeds (IOB; VIEIRA, 2008; RIBEIRO; VIEIRA, 2013). Parrot species – many of which are also threatened – may have their seasonal movements influenced by the availability of these seeds (ZULIAN; MILLER; FERRAZ, 2021). In addition, *A. angustifolia* occurs in association with other plants of the Atlantic Forest. For example, Myrtaceae, which alternate with *A. angustifolia* in providing food resources for dispersing frugivores, in a chain of mutualisms (BOGONI et al., 2020; BOGONI; GRAIPEL; PERONI, 2018).

Although Brazilian law has prohibited *A. angustifolia* to be harvested (BRASIL, 2001; 2006), several ecological, reproductive and anthropogenic factors still endanger *A. angustifolia*. For example, it has a relatively long reproductive cycle – requiring at least two years for seeds to mature following cone formation (ANSELMINI; ZANETTE, 2008) – and it experiences a high level of seed predation (VIEIRA; IOB, 2009). With a relatively large pollen grains (61.50 µm) that are not winged, and large seeds, it likely has limited dispersal capabilities (BITTENCOURT; SEBBENN; 2008; SOUSA; HATTEMER, 2003). Additionally, it requires a high level of light during early development, which can hinder natural regeneration within dense forests (SOUZA et al., 2008). Furthermore, there is evidence that landowners remove regenerants to prevent the legal protection of this species – that result in loss of productive area (QUINTEIRO et al., 2019). Finally, *A. angustifolia* seeds are intensely collected by people for consumption, as a cultural practice.

Previous genetic research on *A. angustifolia* showed a tendency for genetic structuring of populations and reduction of diversity between generations, as an effect of population decline – caused by loss and fragmentation of natural habitats (BITTENCOURT; SEBBBENN, 2009; COSTA et al, 2021; FERREIRA et al, 2012; MEDINA-MACEDO et al., 2015; MEDINA-MACEDO et al., 2016; PÁDUA, 2015; PATREZE; TSAI, 2010; SANT'ANNA et al., 2013; SOUZA et al. 2009). However, little is known about how changing land use patterns and natural spatial elements shape genetic diversity and alter gene flow. This is particularly useful in heterogeneous landscapes, as it could provide information on the permeability potential (for genetic exchange) of different land features (MANEL et al., 2003; SHIRK; LANDGUTH; CUSHMAN, 2018).

Currently, one of the most heterogeneous areas where *A. angustifolia* occurs is southeastern Brazil. The region is the northern limit of occurrence of the species, where the remaining populations are relicts of past climates (OLIVEIRA-FILHO et al., 2015) and are dispersed and isolated amid mountain ranges (GUERRA et al., 2002; VEBLEN et al., 1995) and a highly fragmented and anthropized landscape. Therefore, in this study, we aimed to investigate the levels of genetic diversity in dispersed populations of *A. angustifolia* in that region and the effects of land use, altitude, and geographic distance on gene flow in these populations. We followed a landscape genetics and resistance modeling approach (MANEL et al., 2003; SHIRK; LANDGUTH; CUSHMAN, 2018; PETERMAN, 2018) to understand the influence of spatial elements on genetic patterns and address the complexity of genetic exchanges among individuals and populations. This study is the first to apply landscape genetics and resistance modeling to *A. angustifolia*.

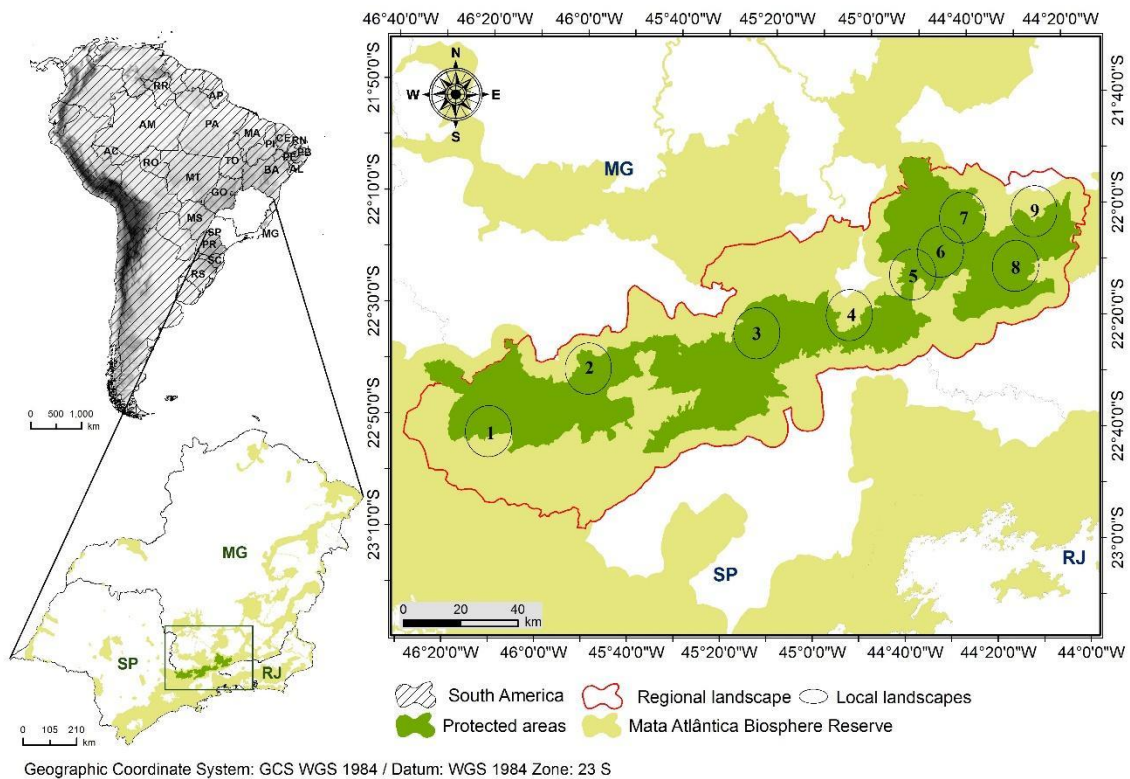
Specifically, we hypothesize that (i) anthropogenic land use hampers gene flow of *A. angustifolia*; (ii) high altitudes also impair gene flow of the species; and (iii) geographic distance limits gene flow between populations of *A. angustifolia*, so that geographically more distant populations are also more genetically distant. By providing a greater understanding of the relationship between landscape attributes and the genetic patterns of these populations, this research is important for reevaluating the conditions for gene flow and protection of *A. angustifolia*, and our findings may advise further conservation efforts for the species.

## **2 MATERIALS AND METHODS**

### **2.1 Study area**

The study area is located in southern Minas Gerais state, in southeastern Brazil, a strategic location for biodiversity and *A. angustifolia* conservation. This is because the region is a boundary area for the natural occurrence of *A. angustifolia* (GUERRA et al., 2002), is highly affected by human activities (DETZEL CONSULTING, 2018), and is part of a set of protected areas, where sustainable use of natural resources is allowed in most areas. This region also features the Atlantic Forest Biosphere Reserve, which is part of a global network of ecosystems managed to reconcile sustainable use with the conservation of natural resources and cultural heritage (UNITED NATIONS EDUCATIONAL, SCIENTIFIC AND CULTURAL ORGANIZATION – UNESCO, 2020) (FIGURE 1). With large mountain ranges, the region exhibits variations in altitude and different forest compositions. The predominant climate types are subtropical highland climate, with dry winters and temperate summers (Cwb) and temperate oceanic climate, with temperate summers and no dry season (Cfb). The regional annual rainfall ranges from 1300 mm to 2200 mm (ALVARES et al., 2013).

Figure 1 – Location of the study area.



Legend: the numbers 1 to 9 represent the populations of *Araucaria. angustifolia*, and circles denote the landscapes corresponding to each population. Source: prepared by the author (2022).

## 2.2 Genetic data

This study examined nine populations of adult *A. angustifolia* individuals (FIGURE 1), located in different and geographically distant towns in Minas Gerais state (Supplementary Material). In each population, 50 individuals were georeferenced and sampled at a minimum distance of 100 meters to reduce the probability of kinship (BITTENCOURT; SEBBENN, 2008), totaling 450 individuals. We used genotyping data provided by the Laboratory of Genetic Conservation of Tree Species (LCGEA), Department of Forest Sciences (DCF), Federal University of Lavras (UFLA), Minas Gerais, Brazil. For DNA amplification, eight microsatellite markers (Supplementary Material) were used. A detailed description of the steps followed to obtain these genetic data is provided by Pádua (2015).

## 2.3 GIS data

We ran a resistance modeling approach using resistance surfaces, which are spatial layers where each landscape feature receives a numerical value that expresses how much the feature facilitates or prevents connectivity among sites for an organism (SPEAR et al., 2010). As resistance surfaces, we used land use and terrain elevation.

For the land-use surface, we used mapping from the Brazilian Annual Land Use and Land Cover Mapping Project (MapBiomas), collection 4.1 (<https://mapbiomas.org>), which can be freely accessed. The data from this mapping are referenced in Landsat images with 30 meters of spatial resolution and use cloud processing and automated classifiers developed and operated from Google Earth Engine (MAPBIOMAS, 2019). When such images generated questionable interpretation, we validated the identification using images from the Google Earth Professional version 7.3 digital platform. For the terrain elevation surface, we used the Shuttle Radar Topographic Mission (SRTM) digital elevation model (DEM) with 30 meters of spatial resolution, provided free of charge by the United States Geological Survey (USGS) (<https://earthexplorer.usgs.gov>).

The operations related to the development of the resistance surfaces were performed in ArcGIS 10.5 (ENVIRONMENTAL SYSTEMS RESEARCH INSTITUTE – ESRI, 2016). To optimize the resistance analysis, we combined similar classes of land use on the categorical surface (*Reclassify* tool) and retained the following classes: Forest Formation, Savanna Formation, Forest Plantation, Farming, Rocky Outcropping, Non-Vegetated Area and Water Bodies. Thus, we consider it possible to know the influence of anthropized areas and different



forest typologies on gene flow in *A. angustifolia*. The details of each class, provided by MapBiomass, can be found in the Supplementary Material. For both surfaces, we used landscape polygons (next subtopic) as crop masks to define the boundaries of the areas of interest (*Extract by Mask* tool). To reduce computational burden, we resized the pixels of the resistance surfaces to 50-m spatial resolution (*Resample* tool), also in ArcGIS 10.5 (ESRI, 2016).

## 2.4 Landscape delimitation

We conducted our analyses at two different levels: the node-level and link-level (per Wagner and Fortin, 2013). At the node level, the alleles at each site are related to the landscape and environmental conditions of that site, addressing the factors that determine the presence of alleles or genetic diversity at a given spatial location. At the link level, the genetic distances between pairs of sites are analyzed, relating them to the landscape attributes present along each link and evaluating the probability of gene flow between two sites (WAGNER; FORTIN, 2013). By explicitly accounting for these two levels, our analysis could fully explore the mechanisms that underpin genetic diversity and gene flow between and within different populations of *A. angustifolia*.

We defined nine local landscapes to guide the node-level analysis. These nine local landscapes represented the geographic area occupied by each of the nine sampled populations. In particular, the spatial extent of these landscapes was defined by applying a spatial buffer of 8,500 meters around the centroid of the sampling sites for each population. This buffer size was chosen because it represented the smallest possible size that would ensure that all local landscapes fully contain all of their respective sampling sites. Each local landscape has an area of 22,680 ha. Geospatial data processing was completed using ArcGIS 10.5 (ESRI, 2016).

The area of each local landscape was sufficiently large to include the mean distances of *A. angustifolia* pollen and seed dispersal. Although pollen dispersal has been reported beyond 2000 m for the species, in most cases, average distances range between 100 and 200 m (BITTENCOURT; SEBBENN, 2007; 2008). A landscape area exceeding dispersal distances allowed us to have more detailed knowledge about the spatial configuration and to consider the movement of possible predators and seed dispersers that can travel long distances.

For the link-level analysis, we generated the regional landscape in a free mode of polygon creation and editing. We used the boundaries of the Atlantic Forest Biosphere Reserve as a rough guide and considered aspects of the landscape, such as mountain ranges and municipal boundaries, as criteria for the inclusion of areas. Thus, the useful area delimited was spatially referenced and as computationally feasible as possible, considering the extensive geographic range of the populations. The regional landscape is 1,296,493 ha in area.

## 2.5 Population genetics analysis

We determined the gene flow between populations and individuals directly, based on the calculation of first-generation migrants, and indirectly, based on parameters of genetic diversity, genetic differentiation, genetic structure and genetic distance. With the exception of the calculation of migrants, performed using GeneClass2 software, we performed all analyses in the R programming environment using packages for genetic analyses.

We performed initial tests on linkage disequilibrium, microsatellite statistic quality (package poppr), frequency of null alleles (package PopGenReport) and deviations from Hardy-Weinberg equilibrium (HWE) according to the classical chi-square ( $\chi^2$ ) statistic (package pegas). To characterize genetic diversity, we estimated the observed ( $H_o$ ) and expected ( $H_e$ ) heterozygosities (package adegenet), rarefied allele richness ( $A_r$ ) and the presence of private or exclusive alleles ( $A_p$ ) (PopGenReport), the total number of alleles ( $A$ ), the number of effective alleles ( $A_e$ ), the number of alleles with frequency lower than 5% ( $A_5$ ) to detect the presence of rare alleles, and the inbreeding coefficient fixation index ( $F_{IS}$ ) (gstudio package). We estimated the genetic differentiation from Wright's  $F_{ST}$  (package hierfstat) and Hedrick's  $G_{ST}$  (gstudio) statistics. For the genetic structure, we used discriminant analysis of principal components (DAPC) (adegenet) and cluster analysis following the unweighted pair-group method using arithmetic averages (UPGMA) with Euclidean genetic distances (package statistics).

## 2.6 Landscape genetics analysis

We computed genetic distances to landscape resistance analysis. For the node-level analysis, we created nine matrices of genetic distances between individuals, one for each population, with dimensions of 50×50; for the link analysis, we created only one 9×9 matrix of genetic distances between the populations. To construct these matrices, we used Euclidean

distances to describe genetic dissimilarity between the populations (*gstudio*). We used Euclidean distances because they do not require specific assumptions about population structure, ploidy, or inbreeding (SHIRK; LANDGUTH; CUSHMAN, 2017).

## 2.7 Landscape resistance analysis

For the landscape genetic analysis, hypotheses of landscape permeability to gene flow were initially formulated (see SHIRK; LANDGUTH; CUSHMAN, 2018), such as the isolation by distance (IBD) (SLATKIN, 1994) and isolation by resistance (IBR) models (MCRAE, 2006). In this study, we considered both hypotheses, in addition to a null model (absence of geographic structure).

To test the permeability models, we used the optimization and parameterization methodology of resistance surfaces proposed by Peterman (2018), which employs a genetic algorithm from the R package *ResistanceGA*. Studies have used *ResistanceGA* and obtained robust results, confirming its usefulness for research in conservation of genetic resources (for example, CARVALHO et al., 2019; HANSON; FULLER; RHODES, 2019; JIMÉNEZ; LI; TUCKER, 2020; WINIARSKI; PETERMAN; MCGARIGAL, 2020).

With *ResistanceGA*, the optimization of continuous surfaces (surfaces with more than 15 levels/feature, like the terrain elevation) and categorical surfaces (surfaces with 15 levels/feature or fewer, like the land use) is conducted without allowing assumptions or expert opinion, thus permitting an impartial parameterization and objective attribution of the resistance values (PETERMAN, 2018). A linear mixed effects model with maximum likelihood population effects (MLPE) parameterization was used for the selection of genetic models.

As input variables per landscape (local and regional), we used the Euclidean genetic distance matrices, the geographic coordinates of the individuals and the resistance surfaces. We ran the optimization process using the *commuteDistance* method to describe movement across resistance surfaces. The *commuteDistance* method calculates distances and routes by a random path, permitting movement (in our case, of alleles) without a predefined route or destination (VAN ETTEN, 2017). This distance method was chosen – instead of *costDistance* method – because it is more likely to reflect the broad range of animals that disperse *A. angustifolia* seeds –, including birds, rodents, and other mammals (VIEIRA; IOB, 2009) – that have very different dispersal abilities.

In the transformation of the continuous surface (terrain elevation), we chose to include all eight transformations implemented in *ResistanceGA* based on the Ricker and Monomolecular functions (BOLKER, 2008). Thus, the genetic algorithm would find the best combination of the transformations and their parameters according to the trend in our dataset, which was different in each landscape.

When implementing the optimization, we used the analysis of multiple resistance surface combinations based on the *all\_comb* function, since the optimization of multiple surfaces can lead to substantially improved resistance surfaces (PETERMAN, 2018). With the *all\_comb* function, we automatically start the optimization of the surfaces alone and then combine them.

We performed a bootstrap analysis with 1000 replicates to evaluate the optimized resistance surfaces. To achieve this, we used the Akaike information criterion corrected for small populations (AICc) to assess the level of support for each resistance surface and the  $\Delta$ AICc statistic (BOLKER, 2008; CONNER; SEBORG, 2004). Additionally, we recorded the number of bootstrap replicates where each model was measured as the best performing model. To verify that our results are robust to stochasticity in the optimization process, we conducted the optimization of each landscape twice and found very similar results.

### 3 RESULTS

#### 3.1 Genetics analysis

The linkage disequilibrium test was not significant, allowing the use of the eight loci in genetic analyses. All loci and populations showed significant deviations from the proportions expected under HWE (Supplementary Material), and all were polymorphic. We found a total of 65 alleles, with an overall mean of 8.1 alleles per locus. The estimation of null alleles indicated the presence of these alleles in low proportions at the loci Ag45 (11.61%), Ag56 (3.20%) and CRC2 (0.71%) without affecting the results of the subsequent analyses (TABLE 1).

Table 1 – General characterization of the microsatellite loci for *A. angustifolia*.

Loci	Total alleles	Polymorphism	Null alleles*	Ho	He	Fis
Aang14	13	0.834	-0.062	0.956	0.818	-0.146
Aang28	7	0.826	-0.049	0.919	0.813	-0.113
Ag20	10	0.848	-0.066	0.978	0.826	-0.154
Ag45	2	0.458	0.116	0.307	0.436	0.331
Ag56	7	0.786	0.032	0.724	0.763	0.070
AS190	7	0.803	-0.055	0.908	0.789	-0.130
CRC1	4	0.669	-0.109	0.872	0.658	-0.304
CRC2	15	0.901	0.007	0.888	0.877	0.015

\*Observed frequencies of null alleles for each locus based on the observed homozygosity and heterozygosity. Source: prepared by the author (2022).

The calculation of probable first-generation migrants revealed historical gene flow. A total of 36 migrant individuals were detected among the *A. angustifolia* populations, with both unidirectional and bidirectional allele exchange, and all populations included at least one likely migrant (Supplementary Material). The genetic diversity parameters revealed high diversity in the populations, with values similar to each other (TABLE 2). The negative Fis values for all populations and the similarity between the observed and expected heterozygosity values indicate the absence of deviations from panmixia. Heterozygote deficiency was not detected. Among the nine populations studied, four exhibited exclusive alleles, and of these, population 3 caught our attention, with almost 30% of its alleles occurring with very low frequency, considered rare ( $A_5$ ), in addition to having the lowest value of He.

Table 2 – Genetic diversity parameters for *A. angustifolia* populations.

Populations	A	Ae	Ar	$A_5$	Ap	Ho	He	Fis
1	51	36.387	49.194	10		0.859	0.740	-0.146
2	52	39.797	49.949	6		0.809	0.761	-0.054
3	54	36.235	51.141	15	0.02	0.798	0.727	-0.086
4	57	40.839	54.632	14		0.838	0.759	-0.083
5	57	42.301	54.109	12	0.02	0.810	0.757	-0.043
6	54	40.142	51.996	10	0.014 and 0.016	0.839	0.765	-0.068
7	53	37.854	50.765	8		0.772	0.730	-0.032
8	53	39.320	50.567	8	0.01	0.812	0.756	-0.071
9	50	38.431	49.392	5		0.833	0.732	-0.130

Legend: A: total number of alleles; Ae: effective number of alleles; Ar: rarefied allelic richness;  $A_5$ : number of alleles with frequency less than 5%; Ap: absolute frequency of exclusive alleles;  $H_o$ : observed heterozygosity;  $H_e$ : expected heterozygosity; Fis: inbreeding coefficient fixation index. Source: prepared by the author (2022).

The  $F_{ST}$  and  $G_{ST}$  statistics showed that the genetic divergence between populations was low and that the variability was uniformly distributed (TABLE 3). Overall, common to both methods, populations 3, 6, and 9 showed higher levels of genetic differentiation. For all populations, the total  $F_{ST}$  was 0.013 (1.3%), and the total  $G_{ST}$  was 0.033 (3.3%).

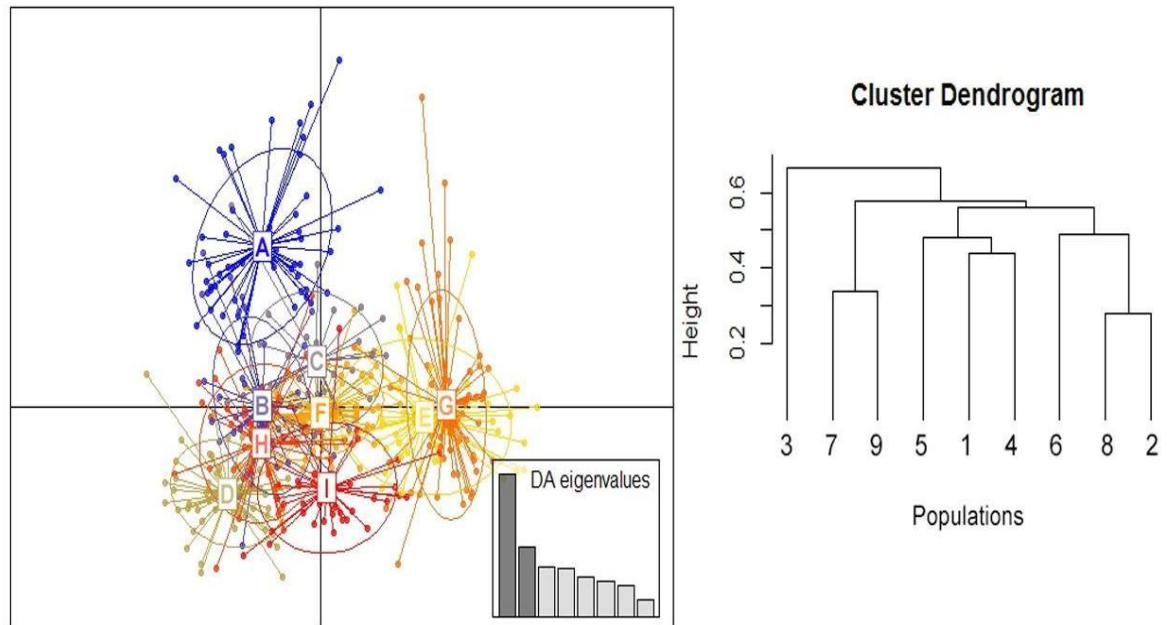
Table 3 – Matrix of genetic differentiation of paired *A. angustifolia* populations according to Wright's  $F_{ST}$  (lower diagonal) and Hedrick's  $G_{ST}$  (upper diagonal).

$F_{ST}$	$G_{ST}$								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
1	0	0.028	0.053	0.000	0.012	0.038	0.026	0.016	0.025
2	0.012	0	0.013	0.021	0.043	<b>0.096</b>	<b>0.093</b>	0.025	0.016
3	<b>0.021</b>	0.020	0	0.017	0.028	0.066	0.013	0.056	<b>0.080</b>
4	0.008	0.013	0.013	0	0.044	0.040	0.068	0.007	0.062
5	0.011	0.013	0.013	0.008	0	0.025	0.001	0.042	0.018
6	0.014	0.011	<b>0.021</b>	0.018	0.012	0	0.012	0.021	0.037
7	0.012	0.017	0.019	0.017	0.010	0.009	0	0.014	0.027
8	0.011	0.003	0.019	0.012	0.010	0.009	0.013	0	0.029
9	0.013	0.018	<b>0.022</b>	0.018	0.011	0.013	0.005	0.013	0

Legend: the numbers from 1 to 9 represent the populations. The highest values are in bold. Source: prepared by the author (2022).

DAPC detected that the genetic structure of *A. angustifolia* populations was described by nine genetic groups, representing the actual number of populations (Supplementary Material). The scatterplot provides a visualization of the structure among the groups and the distribution of individuals among groups (FIGURE 2). We obtained a hierarchical structure, where most of the genetic groups were genetically close to each other (Clusters B, C, D, F, H and I) with two more distant aggregations ({E and G} and {A}). All groups contained alleles shared among individuals. The dendrogram of the UPGMA cluster confirmed the structuring and enabled identification of the populations that composed the three aggregations. They were populations 1, 2, 4, 5, 6 and 8 belonging to the first aggregation; populations 7 and 9 in the second; and population 3, more distant, in the third (FIGURE 2).

Figure 2 – Genetic structure in the *A. angustifolia* populations.



Legend: Graphical representation of the DAPC (left) and the UPGMA cluster (right). In DAPC, the colored ellipses represent the genetic groups, and the dots represent the individuals of each group. In the dendrogram, the branches represent the populations. Source: prepared by the author (2022).

## 3.2 Landscape analysis

### 3.2.1 Description of the landscape

In this study, we analyzed nine local landscapes (1 to 9) at the node level and a regional landscape at the link level. In general, they are landscapes dominated by pastures and agricultural crops (Farming class), and the remaining native forest is fragmented. More extensive and continuous forest areas were associated with the presence of mountain ranges; for example, landscape 5 (48.5%, 10,989 ha of forest) was the only area with native forest cover as the predominant feature. The range of elevation in the region is high, especially on a regional scale (TABLE 4).

Table 4 – Spatial characterization of the analyzed landscapes.

Landscape	Forest Formation		Farming		Other uses		Max. elevation	Min. elevation	Mean elevation
	(ha)	(%)	(ha)	(%)	(ha)	(%)	(m)	(m)	(m)
1	6135	27.1	16249	71.6	296	1.3	1591	853	1105
2	6227	27.5	16360	72.1	93	0.4	2037	867	1354
3	8638	38.1	12674	55.9	1369	6.0	2002	848	1363
4	7853	34.6	14482	63.9	345	1.5	2360	820	1292
5	10989	48.5	10411	45.9	1280	5.6	2389	900	1553
6	7644	33.7	12487	55.1	2549	11.2	2353	1094	1543
7	8693	38.3	13107	57.8	880	3.9	2261	1033	1443
8	9246	40.8	13268	58.5	166	0.7	1652	659	1190
9	5861	25.8	16327	72.0	492	2.2	1544	1012	1192
Regional	475808	36.7	773121	59.6	47547	3.7	2787	393	1158

Legend: the “Other uses” column shows the sums of the classes Savanna Formation, Forest Plantation, Rocky Outcropping, Non-Vegetated Area and Water Bodies. In landscape 6, the highest percentage found (11.2%) corresponded almost exclusively to the rocky outcropping class (2544 ha). Source: prepared by the author (2022).

### 3.2.2 Landscape resistance

In the node-level approach (landscapes 1 to 9), landscape resistance modeling revealed support for the resistance (IBR) and geographic distance (IBD) models in some landscapes, which did not appear in the link-level approach (regional landscape) (TABLE 5).

Table 5 – Resistance models for each landscape and respective population of *A. angustifolia* (Continue).

Landscape	Model	LL	k	AICc	$\Delta$ AICc	Percent.top
1	Distance	80.02	2	-155.78	0	93.5
	Elevation	80.88	4	-152.87	2.91	6.5
	Null	76.20	1	-150.32	5.46	NA
	Landcover	79.36	7	-142.06	13.72	0
	Land.Elevation	80.04	10	-134.45	21.33	0
2	Elevation	-82.29	4	173.47	0	51.8
	Null	-85.82	1	173.72	0.24	NA
	Distance	-85.10	2	174.45	0.98	48.2
	Landcover	-84.16	6	182.27	8.80	0
	Land.Elevation	-84.14	9	190.78	17.31	0
3	Null	-136.73	1	275.54	0	NA
	Distance	-136.49	2	277.24	1.70	NA
	Elevation	-136.06	4	281.00	5.46	NA
	Landcover	-136.63	7	289.92	14.38	NA
	Land.Elevation	-136.05	10	297.75	22.20	NA



Table 5 – Resistance models for each landscape and respective population of *A. angustifolia* (Conclusion).

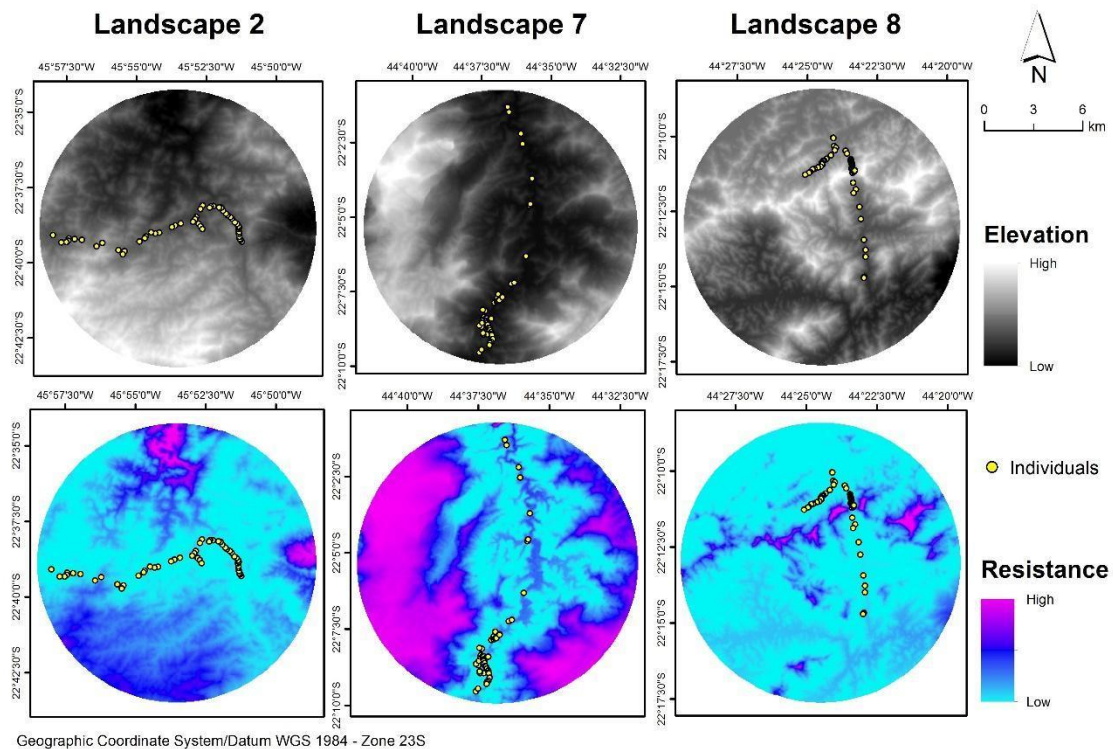
Landscape	Model	LL	k	AICc	$\Delta$ AICc	Percent.top
4	Distance	84.91	2	-165.56	0	99.9
	Elevation	85.33	4	-161.77	3.79	0.1
	Landcover	84.98	6	-156.00	9.55	0
	Land.Elevation	85.59	9	-148.67	16.88	0
	Null	72.43	1	-142.78	22.78	NA
5	Distance	23.41	2	-42.56	0	92.8
	Elevation	24.82	4	-40.76	1.80	4.7
	Landcover	25.33	5	-39.30	3.26	2.5
	Null	18.31	1	-34.54	8.02	NA
	Land.Elevation	26.64	8	-33.77	8.79	0
6	Null	-173.58	1	349.24	0	NA
	Distance	-173.46	2	351.17	1.93	NA
	Elevation	-172.97	4	354.84	5.59	NA
	Landcover	-173.40	7	363.48	14.23	NA
	Land.Elevation	-173.09	10	371.81	22.57	NA
7	Elevation	3.90	4	1.08	0	68.8
	Null	2.38	1	1.32	0.24	NA
	Distance	2.54	2	3.18	2.10	28.6
	Landcover	3.31	7	4.05	2.96	2.6
	Land.Elevation	3.28	10	7.08	6.00	0
8	Elevation	47.37	4	-85.86	0	83.5
	Null	44.65	1	-83.21	2.65	NA
	Distance	45.48	2	-82.71	3.15	16.5
	Landcover	45.50	6	-81.04	4.82	0
	Land.Elevation	46.69	9	-80.88	4.98	0
9	Null	55.52	1	-108.96	0	NA
	Distance	55.73	2	-107.21	1.75	NA
	Elevation	56.78	4	-104.68	4.28	NA
	Landcover	55.87	8	-92.22	16.74	NA
	Land.Elevation	56.88	11	-84.80	24.16	NA
Regional	Null	32.61	1	-62.64	0	NA
	Distance	32.65	2	-59.29	3.35	NA
	Elevation	33.16	4	-48.32	14.32	NA
	Landcover	32.79	8	94.42	157.06	NA
	Land.Elevation	32.79	11	220.42	283.06	NA

Legend: LL: log likelihood; k: number of parameters in the model; AICc: corrected Akaike information criterion;  $\Delta$ AICc: difference between the AICc values of two models; Percent.top: percentage of times in which the alternative hypothesis model was the best fit in bootstrap replications; NA: indicates that the null model was not rejected, but this does not support the null hypothesis, and the contribution percentages are presented only for the accepted alternative hypotheses. Source: prepared by the author (2021).

Terrain elevation (under IBR) was an important predictor of genetic diversity for populations 2, 7, and 8, indicating historical spatial effects on the distribution of *A. angustifolia* populations. The evidence that elevation between individuals explains gene flow

patterns was strongest in landscape 8 ( $\Delta AICc > 2$ ; 83.5% Percent.Top) (TABLE 5). In common among these landscapes, we observed that lower resistance to gene flow was associated with intermediate elevations, approximately 1300 m in altitude. Higher areas (above 2000 m) and lower areas (below 1000 m) were poorly permeable and/or poorly favorable to the establishment of the species in the region (FIGURE 3). The land use model (IBR) was not accepted for any landscape, and addition of the *Land.Elevation* (land use + terrain elevation) composite surface did not influence the description of the genetic distance.

Figure 3 – Map of resistance for the terrain elevation model (IBR) in the studied landscapes.



Legend: the images of elevation (top of the figure, in black and white) and resistance (bottom of the figure, in blue and pink) show that landscapes 2, 7 and 8 showed a pattern. The highest (white) and lowest (black) areas were more resistant to gene flow of *A. angustifolia* (pink), while the least resistant and most favorable areas (light blue) correspond to intermediate altitudes (gray), about 1300 meters.

The yellow dots are the individuals sampled in each population. Source: prepared by the author (2022).

The geographical distance model (IBD), when supported, showed the best fit more than 90% of the time in the bootstrap replications. Additionally, in landscape 2, geographical distance also influenced genetic diversity, and the model with the best fit was found 48.2% of the time in the bootstrap resampling. In landscapes 3, 6, and 9 (local) and in the regional landscape, the null model showed the best fit. However, the secondary models of geographical distance for landscapes 3, 6 and 9 were equivalent to the main models ( $\Delta AICc$

<2.00) and can also characterize genetic distance for these landscapes. Overall, bootstrap resampling elucidated the differences between the relative support of each competing model for the alternative IBD and IBR hypotheses; for example,  $\Delta\text{AICc}$  was low for landscape 5, but the main model was the best 92.8% of the time in resampling (TABLE 5).

#### 4 DISCUSSION

We investigated the relationship between landscape attributes and gene flow in *A. angustifolia* in a region near the boundary of natural occurrence of the species in the Brazilian Atlantic Forest. The analysis of gene flow from the calculation of probable migrants and genetic parameters revealed the genetic patterns within and among *A. angustifolia* populations. In some landscapes, we found support for the hypothesis that areas of higher elevation would be more resistant to gene flow. Contrary to our predictions, however, the genetic differences between populations (regional scale, link-level) were not significantly influenced by geographic distance and geographically more distant landscapes remain genetically close to each other. However, at the local scale (node-level), we detected significance of the geographic distance model in some landscapes, revealing that some populations of *A. angustifolia* are more susceptible to genetic isolation by distance. Furthermore, the relationship between land use and genetic patterns of the *A. angustifolia* populations did not provide conclusive results on the influence of anthropogenic changes on gene flow of *A. angustifolia* in the study area.

Within populations (node-level analysis), we obtained high estimates of genetic diversity, with values similar to or higher than those previously reported for the species in studies with microsatellites (BITTENCOURT; SEBBENN, 2007, 2008, 2009; COSTA et al., 2021; DE SOUSA et al., 2020; MEDINA-MACEDO et al., 2016; MEDINA-MACEDO et al., 2015; PATREZE; TSAI, 2010; SANT'ANNA et al., 2013). The allelic richness indices, including the total number of alleles identified (65) and the mean number of alleles per locus (8.1), were high and show that, in the presence of recombination, it is possible for new genotypic combinations to arise. These results may be indicative of the high evolutionary potential and adaptability of these populations, since the response of populations to selection forces is related to the genetic variation available (REED, 2007).

The deviations from HWE indicated by the excess of heterozygotes, revealed by the negative  $F_{IS}$ , allowed us to eliminate a role for inbreeding. Some hypotheses may explain cases of excess heterozygotes in the populations of tree species; for example, small

reproductive population size, selection in favor of heterozygotes, negative associative mating resulting from self-incompatibility systems or even asexual reproduction (STOECKEL et al., 2006). For *A. angustifolia*, a predominantly dioecious species with sexual reproduction, it is known that there is reproductive compatibility and synchrony in maturation in rare monoecious individuals, generating fertile seeds, but the species prioritizes crossbred embryos, keeping the self-fertilization rate low (DANNER et al., 2013).

Among the populations (link-level analysis), we observed genetic proximity and allele sharing, revealing gene flow. Most of the total variation occurred within the populations, which is expected for species that reproduce sexually, with long generation times and anemophilous pollination, and that are considered species of the final stages of ecological succession (HAMRICK, 1983; LOVELESS; HAMRICK, 1984), such as *A. angustifolia*. In addition, low genetic divergence among populations ( $F_{ST} < 5\%$ ) is common for the species (COSTA et al., 2021). In general, our results suggest efficient mechanisms of dispersal of seeds and pollen, even among the most geographically distant populations (for example, populations 1 and 9). However, the subdivision into three main genetic aggregations may indicate a tendency to reduce the influence of random crosses between populations in subsequent generations.

The analyses of the influence of spatial barriers on gene flow were clarified through landscape resistance modeling. The genetic consequences of habitat fragmentation include reduction in genetic variation and increased inbreeding and differentiation among populations due to the reduction in population sizes and the isolation among landscapes (LEIMU et al., 2010), and this is the actual context of the region under study, which is highly anthropized and fragmented. In this sense, we expected land use (IBR model) to be one of the main variables related to gene flow. Contrary to our predictions, the models with the land-use surface showed the worst fit in all landscapes.

The failure to detect a relationship between land use and genetic patterns is most likely due to the delay in genetic responses in long-lived organisms such as trees. Thus, a decrease in genetic diversity would only be detected over successive generations following a disturbance, which can take hundreds of years (KRAMER et al., 2008). Another perspective that reinforces this assumption is that common alleles are usually historical, and estimates of diversity and differentiation based on the frequencies of these alleles, for example, heterozygosity and  $F_{ST}$ , usually reflect less recent migration (YAMAMICHI; INNAN, 2012). Additionally, temporal variation in *A. angustifolia* genetic patterns has been reported in the literature (COSTA et al., 2021).

Thus, we believe that the high diversity and low genetic differentiation found may still reflect the conditions that preceded the establishment of *A. angustifolia* individuals in the study region. Because the long-life cycle of the species enables the existence of individuals older than 200 years (BITTENCOURT; SEBBENN, 2007), it is likely that the population decline of *A. angustifolia* in the region occurred less than 150 years ago. Historically, deforestation and exploitation of Pine Forests in Brazil began in the early twentieth century and intensified over a few years (NODARI, 2016). In the region of this study, there are few and uncertain records at the beginning of the exploitation of *A. angustifolia*, but there is talk of widespread depletion of these forests around the 1970s (DETZEL CONSULTING, 2018).

The elevation of the terrain (under the IBR model) influenced genetic distances in some landscapes. We observed that intermediate elevations (approximately 1300 m) offer greater permeability to the gene flow of *A. angustifolia* and that the resistance of the landscape increases as the altitude moves toward the two extremes. In fact, altitudes close to 1200 m are conducive to the natural occurrence of the species (GUERRA et al., 2002), and the current distribution of *A. angustifolia* in the tropical zone does not include lowlands due to the historical expansion of populations toward the north during the Last Glacial Maximum in search of cold and wet locations at higher altitudes (OLIVEIRA-FILHO et al., 2015). Furthermore, the reduction in the occurrence and movement of predators/dispersers, such as mammals, through mountain ranges may explain the greater resistance of these areas to the flow of alleles.

There are predictions that, as a consequence of climate change, the remaining populations of *A. angustifolia* will tend to expand to higher altitudes in search of lower temperatures and humidity (CASTRO et al., 2019; MACHIORO et al., 2020; WILSON et al., 2019). For the populations of this study, located at the boundary of occurrence, expansion to higher areas would require the occupation of territories more resistant to gene flow, which would be an ecologically and evolutionarily unsuccessful strategy. Thus, availability of appropriate niches for the species would decrease, and the conservation of populations in the future would be highly compromised.

The geographical distance (IBD model) influenced genetic distances at the local scale (node level) in most landscapes. Therefore, geographically more distant individuals are also genetically more distant. In fact, isolation by distance is an important determinant of genetic patterns for *A. angustifolia*, commonly identified in population genetics studies (DE SOUSA et al., 2020). The barochoric dispersal of the large seeds of *A. angustifolia* contributes to the tendency of populations to remain closely spaced. There are reports that the formation of

aggregates of young or adult individuals is not rare (SOUZA et al., 2008). Thus, dispersal over long distances would depend almost exclusively on secondary dispersal by animals. As a key species, *A. angustifolia* provides seeds as an essential food resource for many species of birds and mammals in periods of scarcity of fruits and seeds in the forest, such as in winter, which makes efficient secondary dispersal costly because levels of seed predation are usually very high (VIEIRA; IOB, 2009).

At the regional scale (link level), no significant influence of the IBD or IBR models on genetic distances was detected. Considering the broad extent of this landscape (1,296,493 ha), it is likely that the scale effect influenced the strength of the correlations between environmental parameters and the genetic patterns of *A. angustifolia* populations. Thus, we hope that technological advances will facilitate the use of increasingly finer scales in studies of landscape genetics for large areas, enabling greater precision in the determination of significance of models and generating more conclusive information for the genetic conservation of species.

#### **4.1 Implications for the conservation of *A. angustifolia***

Considering the gene flow, high genetic variability, absence of inbreeding and low interpopulation divergence, the *A. angustifolia* populations evaluated hold the potential to constitute a valuable source of germplasm for *ex situ* genetic conservation and breeding programs. However, our investigation also revealed differences among populations, which may be intensified over generations. In particular, population 3, located in Delfim Moreira, Minas Gerais state, deserves special consideration due to the high number of rare alleles, presence of exclusive alleles, higher levels of genetic differentiation, relatively low diversity ( $H_e$ ) and separation from the other populations in DAPC.

Although the influence of geographic distance on genetic patterns on a regional scale (IBD model with  $\Delta AICc = 3.35$ ) was not clear, we believe that because population 3 is centrally located relative to the other populations (FIGURE 1), the conservation of population 3 can be strategic for reducing the chances of genetic drift over the long term. In addition, population 3 is at an average altitude of 1363 m (TABLE 4), which is favorable to the gene flow of *A. angustifolia* in the region and makes this population a potential donor of propagules. There is evidence that in the Atlantic Forest, rows of trees or even isolated trees can double the functional connectivity between landscapes (SIQUEIRA et al., 2021), so it is possible to plan and technically conduct the planting of genetically distinct *A. angustifolia*

individuals in landscape 3 as a way to increase gene flow and genetic diversity. In this sense, we suggest that population 3 is a priority for studies and conservation actions for the species in the region.

In Brazil, conservation efforts have focused on prohibiting the use of the *A. angustifolia* and the territory it occupies. As a result, the presence of remnants is often seen as a hindrance to productive activity and income generation, discouraging the maintenance of individuals outside protected areas (QUINTEIRO et al., 2019). Here, instead of directing our comments toward the importance of preserving protected areas or creating new areas for *in situ* conservation of these relict populations (which are undeniably important strategies), we believe that political participation can provide promising results.

Sustainable seed management projects that include the choice of more productive matrices and planned and rational extraction should be incorporated, thus ensuring the maintenance of propagule sources for the perpetuation of the species, food for the fauna and added financial value. Thus, *A. angustifolia* is considered an alternative for income production, and producers are encouraged to keep individuals on their property and become active agents of conservation. A change in perspective should be implemented so that the maintenance of Araucaria Forest stands is not only imposed but also encouraged and desired.

## 5 CONCLUSION

We present an example of how landscape resistance modeling can provide an understanding of gene flow among tree populations at local and regional scales, and this is the first study using this approach focused on the conservation of *A. angustifolia*. Our findings add to the literature indicating that *A. angustifolia* populations can relate to landscapes in non-generalizable ways; therefore, it is important to consider a regional spatial context for conservation strategies. We emphasize that a deeper understanding of the effects of land use on the gene flow among the populations of this study requires the evaluation of at least one additional generation; thus, future studies should include the remaining populations. Geographic distance was an important determinant of genetic distance to *A. angustifolia* populations on a local scale (node-level), indicating that isolation by distance may have more severe effects on gene flow in some populations. Finally, the mountainous region of the northern limit of occurrence of *A. angustifolia* may actually hinder gene flow, thus emphasizing that not all high-altitude areas are favorable to the maintenance of biodiversity and connectivity among individuals and populations of Brazilian pine. The detection of an

altitude region potentially more favorable for the maintenance of gene flow of *A. angustifolia* in its limit zone of occurrence, as we did in this research, can be incorporated into the planning of *A. angustifolia* conservation strategies, enhancing efforts to reduce its risk of extinction.

## **6 ACKNOWLEDGEMENTS**

To Federal University of Lavras (UFLA) for all the support. This study was financed in part by the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Finance Code 001.



## REFERENCES

- ALVARES, C. A. et al. Köppen's climate classification map for Brazil. **Meteorologische Zeitschrift**, v. 22, n. 6, p. 711–728, 2013.
- ANSELMINI, J. I.; ZANETTE, F. Development and Growth Curve of the Pine Cones of *Araucaria angustifolia* (Bert.) O. Ktze, in the Region of Curitiba – PR. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 51, n. 4, p. 665-669, 2008.
- BITTENCOURT, J. V. M.; SEBBENN, A. M. Genetic effects of forest fragmentation in high-density *Araucaria angustifolia* populations in Southern Brazil. **Tree Genetics and Genomes**, v. 5, n. 4, p. 573–582, 2009.
- BITTENCOURT, J. V. M.; SEBBENN, A. M. Patterns of pollen and seed dispersal in a small, fragmented population of the wind-pollinated tree *Araucaria angustifolia* in southern Brazil. **Heredity**, v. 99, n. 6, p. 580–591, 2007.
- BITTENCOURT, J. V. M.; SEBBENN, A. M. Pollen movement within a continuous forest of wind-pollinated *Araucaria angustifolia*, inferred from paternity and TwoGener analysis. **Conservation Genetics**, v. 9, n. 4, p. 855–868, 2008.
- BOGONI, J. A.; GRAIPEL, M. E.; PERONI, N. The ecological footprint of *Acacia sellowiana* domestication maintains the residual vertebrate diversity in threatened highlands of Atlantic Forest. **PLOS ONE**, v. 13, n. 4, p. 1-24, 2018.
- BOGONI, J. A. et al. Testing the keystone plant resource role of a flagship subtropical tree species (*Araucaria angustifolia*) in the Brazilian Atlantic Forest. **Ecological Indicators**, v. 118, p. 1-9, 2020.
- BOLKER, B. M. **Ecological Models and Data in R**. Princeton, Oxford: Princeton University Press, 2008. 408 p.
- BRASIL. Lei nº 11.428, de 22 de dezembro de 2006. Dispõe sobre a utilização e proteção da vegetação nativa do Bioma Mata Atlântica, e dá outras providências. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 26 dez. 2006. Available at: <[http://www.planalto.gov.br/ccivil\\_03/\\_Ato2004-2006/2006/Lei/L11428.htm](http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_Ato2004-2006/2006/Lei/L11428.htm)>. Accessed on: 5 maio 2019.
- BRASIL. Ministério do Meio Ambiente, Conselho Nacional do Meio Ambiente, CONAMA. **Resolução CONAMA nº 278**, de 24 de maio de 2001. Dispõe sobre o corte e a exploração de espécies ameaçadas de extinção da flora da Mata Atlântica. Publicado no D.O.U de 18 julho 2001. Available at: <<http://www2.mma.gov.br/port/conama/legiabre.cfm?codlegi=276>>. Accessed on: 28 abr. 2019.
- CARVALHO, C. DA S. et al. Habitat loss does not always entail negative genetic consequences. **bioRxiv**, v. 55, n. 91, p. 528430, 2019.
- CASTRO, M. B. et al. Will the emblematic southern conifer *Araucaria angustifolia* survive to climate change in Brazil? **Biodiversity and Conservation**, v. 29, p. 591-607, 2019.

CONNER, J. S.; SEBORG, D. E. Analysis of the  $\Delta$ AIC Statistic for Optimal Detection of Small Changes in Dynamic Systems. **Proceeding of the 2004 American Control Conference**, 2004. 4408-4413.

COSTA, N. C. F. et al. Spatiotemporal variation in mating system and genetic diversity of *Araucaria angustifolia*: Implications for conservation and seed collection. **Forest Ecology and Management**, v. 481, p. 1-11, 2021.

DANNER, M. A. et al. Impact of monoecy in the genetic structure of a predominately dioecious conifer species, *Araucaria angustifolia* (Bert.) O. Kuntze. **Plant Systematics and Evolution**, v. 299, n. 5, p. 949–958, 2013.

DE SOUSA, V. A. et al. Genetic diversity and biogeographic determinants of population structure in *Araucaria angustifolia* (Bert.) O. Ktze. **Conservation Genetics**, v. 21, p. 217-219, 2020.

DETZEL CONSULTING. Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade. **Plano de manejo da Área de Proteção Ambiental da Serra da Mantiqueira**. Detzel Consultores Associados S/S EPP. Brasília, 2018. 371 p. Available at: <[http://www.icmbio.gov.br/portal/images/stories/plano-de-manejo/plano\\_de\\_manejo\\_serra\\_da\\_mantiqueira\\_2018.pdf](http://www.icmbio.gov.br/portal/images/stories/plano-de-manejo/plano_de_manejo_serra_da_mantiqueira_2018.pdf)>. Accessed on: 01 maio 2019.

ENVIRONMENTAL SYSTEMS RESEARCH INSTITUTE – ESRI. **ArcGis Professional GIS for the desktop**, version 10.5. Software. 2016.

FERREIRA, D. K. et al. Genetic analysis of 50-year-old Brazilian pine (*Araucaria angustifolia*) plantations: implications for conservation planning. **Conservation Genetics**, Amsterdam, v. 13, n. 2, p. 435-442, Apr. 2012.

FOREST, F. et al. Gymnosperms on the EDGE. **Scientific Reports**, v. 8, n.1, p. 1-11, 2018.

GARCIA, R. J. F. Araucariaceae. In: WANDERLEY, M. G. L.; SHEPHERD, G. J.; GIULIETTI, A. M.; MELHEM, T. S.; BITTRICH, V.; KAMEYAMA, C. (eds.) **Flora Fanerogâmica do Estado de São Paulo**. Instituto de Botânica, São Paulo, v. 2, p: 1-2, 2002.

GUERRA, M. P. et al. Exploração, manejo e conservação da araucária (*Araucaria angustifolia*). In: SIMÕES, L. L.; LINO, C. F. (Eds.). **Sustentável Mata Atlântica: a exploração de seus recursos florestais**. 1. ed. São Paulo: SENAC São Paulo, 2002. p. 85–102.

HANSON, J. O.; FULLER, R. A.; RHODES, J. R. Conventional methods for enhancing connectivity in conservation planning do not always maintain gene flow. **Journal of Applied Ecology**, v. 56, n. 4, p. 913–922, 2019.

HAMRICK, J.L. The distribution of genetic variation within and among natural plant population. In: C. M. SCHONE-WALD-COX, S.H. CHAMBERS, B. MacBYDE; L. THOMAS. **Genetics and conservation**. Benjamin Cummings Publishing Company, Menlo Park, California, p. 335-348. 1983.

IOB, G.; VIEIRA, E. M. Seed predation of *Araucaria angustifolia* (Araucariaceae) in the Brazilian Araucaria Forest: influence of deposition site and comparative role of small and 'large' mammals. **Plant Ecology**, v. 198, p. 185-196, 2008.

JIMÉNEZ, B. O.; LI, K.; TUCKER, P. K. Landscape drivers of connectivity for a forest rodent in a coffee agroecosystem. **Landscape Ecology**, v. 35, p. 1249-1261, 2020.

KRAMER, A. T. et al. The paradox of forest fragmentation genetics. **Conservation Biology**, v. 22, n. 4, p. 878–885, 2008.

LEIMU, R. et al. Habitat fragmentation, climate change, and inbreeding in plants. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 1195, n. 1, p. 84-98, 2010.

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

MACHIORO, C. A. et al. Present and future of the critically endangered *Araucaria angustifolia* due to climate change and habitat loss. **Forestry**, v. 93, p. 401-410, 2020.

MANEL, S. et al. Landscape genetics: Combining landscape ecology and population genetics. **Trends in Ecology and Evolution**, v. 18, n. 4, p. 189–197, 2003.

MCRAE, B. H. Isolation by resistance. **Evolution; international journal of organic evolution**, v. 60, n. 8, p. 1551–61, 2006.

MEDINA-MACEDO, L. et al. High levels of genetic diversity through pollen flow of the coniferous *Araucaria angustifolia*: a landscape level study in Southern Brazil. **Tree Genetics and Genomes**, v. 11, n. 1, p. 1–14, 2015.

MEDINA-MACEDO, L. et al. Using genetic diversity and mating system parameters estimated from genetic markers to determine strategies for the conservation of *Araucaria angustifolia* (Bert.) O. Kuntze (Araucariaceae). **Conserv. Genet.**, v. 17, p. 413-423, 2016.

MAPBIOMAS. Projeto MapBiomass – **Coleção 4.1 da Série Anual de Mapas de Cobertura e Uso de Solo do Brasil**. 2019. Available at: <<https://mapbiomas.org>>. Accessed on: 2 abr. 2020.

MYERS, N. et al. Biodiversity hotspots for conservation priorities. **Nature**, v. 403, p. 853-858, 2000.

NODARI, E. Historia de la devastación del Bosque de Araucaria en el sur del Brasil. **Revista Internacional de Ciencias Sociales**, v. 35, p. 75-85, 2016.

OLIVEIRA-FILHO, A. T. et al. Delving into the variations in tree species composition and richness across South American subtropical Atlantic and Pamean forests. **Journal of Plant Ecology**, v. 8, n. 3, p. 242-260, 2015.

PÁDUA, J. A. R. **Diversidade e estrutura genética de populações naturais de *Araucaria angustifolia* (Araucariaceae) no estado de Minas Gerais**. 2015. 127 f. Tese (Doutorado em Engenharia Florestal) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG, 2015.

- PATREZE, C. M.; TSAI, S. M. Intrapopulational genetic diversity of *Araucaria angustifolia* (Bertol.) Kuntze is different when assessed on the basis of chloroplast or nuclear markers. **Plant Systematics and Evolution**, New York, v. 284, n. 1-2, p. 111 -122, Jan. 2010.
- PETERMAN, W. E. ResistanceGA: An R package for the optimization of resistance surfaces using genetic algorithms. **Methods in Ecology and Evolution**, v. 9, n. 6, p. 1638–1647, 2018.
- QUINTEIRO, M. M. C. et al. Brazilian Pine (*Araucaria angustifolia* (Bertol.) Kuntze) Ethnoecology in the Mantiqueira Atlantic Forest. **Floresta e Ambiente**, v. 26, n. 1, p. 1-7, 2019.
- REED, D.H. Natural selection and genetic diversity. **Heredity**, v. 99, pp. 1-2, 2007.
- RIBEIRO, J. F.; VIEIRA, E. M.; Interactions between a seed-eating neotropical rodent, the Azara's agouti (*Dasyprocta azarae*), and the Brazilian 'pine' *Araucaria angustifolia*. **Austral Ecology**, v. 39, p. 279-287, 2013.
- SANT'ANNA, C. S. et al. Realized pollen and seed dispersal within a continuous population of the dioecious coniferous Brazilian pine [*Araucaria angustifolia* (Bertol.) Kuntze]. **Conservation Genetics**, Amsterdam, v. 14, n. 3, p. 601 -613, June 2013.
- SHIRK, A. J.; LANDGUTH, E. L.; CUSHMAN, S. A. A comparison of individual-based genetic distance metrics for landscape genetics. **Molecular Ecology Resources**, v. 17, p. 1308-1317, 2017.
- SHIRK, A. J.; LANDGUTH, E. L.; CUSHMAN, S. A. A comparison of regression methods for model selection in individual-based landscape genetic analysis. **Molecular Ecology Resources**, v. 18, n. 1, p. 55–67, 2018.
- SIQUEIRA, F. F. et al. Small Landscape Elements Double Connectivity in Highly Fragmented Areas of the Brazilian Atlantic Forest. **Front. Ecol. Evol.**, v. 9, p. 1-14, 2021.
- SLATKIN, M. Gene flow and population structure. **Ecological genetics**, p. 3-17, 1994.
- SOUSA, V. A.; HATTEMER, H. H. Pollen dispersal and gene flow by pollen in *Araucaria angustifolia*. **Australian Journal of Botany**, v. 51, p. 309-317, 2003.
- SOUZA, A. et al. Regeneration patterns of a long-lived dominant conifer and the effects of logging in southern South America. **Acta Oecologica**, v. 34, n. 2, p. 221-232, 2008.
- SOUZA, M. I. F. et al. Patterns of genetic diversity in southern and southeastern *Araucaria angustifolia* (Bert.) O. Kuntze relict populations. **Genetics and Molecular Biology**, v. 32, n. 3, p. 546-556, 2009.
- SPEAR, S. F. et al. Use of resistance surfaces for landscape genetic studies: Considerations for parameterization and analysis. **Molecular Ecology**, v. 19, n. 17, p. 3576–3591, 2010.
- STOECKEL, S. et al. Heterozygote excess in a self-incompatible and partially clonal forest

tree species - *Prunus avium* L. **Molecular Ecology**, v. 15, p. 2109-2118, 2006.

THOMAS, P. 2013. *Araucaria angustifolia*. The IUCN Red List of Threatened Species 2013. Available at: <<https://www.iucnredlist.org/species/32975/2829141>>. Accessed on: 25 abr. 2019.

UNITED NATIONS EDUCATIONAL, SCIENTIFIC AND CULTURAL ORGANIZATION – UNESCO. **Biosphere Reserves**. 2020. Available at: <<https://en.unesco.org/node/314143>>. Accessed on: 07 Jan. 2021.

VAN ETTEN, J. R Package gdistance: distances and routes on geographical grids. **Journal of Statistical Software**, v. 76, n. 13, p. 2-21, 2017.

VEBLEN, T. T., et al. The ecology of the conifers of southern south America. In: R. S. ENRIGHT N. J.; HILL, ed., **Ecology of Southern Conifers**: Victoria, Melbourne University Press, p. 120-155, 1995.

VIEIRA, E. M; IOB, G. Dispersão e predação de sementes da araucária (*Araucaria angustifolia*) p. 85-95. In: FONSECA, C. R.; SOUZA, A. F., LEAL-ZANCHET, A. M.; DUTRA, T.; BACKES, A.; GANADE, G., Eds. **Floresta de Araucária**: ecologia, conservação e desenvolvimento sustentável. Editora Holos. Ribeirão Preto, SP, Brasil. 2009.

WAGNER, H. H.; FORTIN, M. J. A conceptual framework for the spatial analysis of landscape genetic data. **Conservation Genetics**, v. 14, n. 2, p. 253–261, 2013.

WILSON, O. J. et al. Cold spot microrefugia hold the key to survival for Brazil's Critically Endangered Araucaria tree. **Glob. Change. Biol.**, v. 25, p. 4339-4351, 2019.

WINIARSKI, J. K.; PETERMAN, W. E.; MCGARIGAL, K. Evaluation of the R package ‘resistancega’: A promising approach towards the accurate optimization of landscape resistance surfaces. **Molecular Ecology Resources**, v. 20, p. 1583-1596, 2020.

YAMAMICHI, M.; INNAN, H. Estimating the migration rate from genetic variation data. **Heredity**, v. 108, p. 362-363, 2012.

ZULIAN, V.; MILLER, D. A. W.; FERRAZ, G. Endemic and threatened amazona parrots of the atlantic forest: an overview of their geographic range and population size. **Diversity**, v. 13, n. 9, p. 1-15, 2021.

## SUPPLEMENTARY MATERIAL

### Material and Methods support information

Table S1 – Location of each *Araucaria angustifolia* population of this study, in Minas Gerais state, in Brazil.

Population	Town	Central Coordinates
1	Extrema	W 46°13'41.507"; S 22°51'44.689"
2	Gonçaves	W 45°53'32.929"; S 22°38'53.859"
3	Delfim Moreira	W 45°18'14.541"; S 22°29'42.342"
4	Passa Quatro	W 44°58'50.566"; S 22°24'49.307"
5	Itamonte	W 44°46'11.631"; S 22°16'24.595"
6	Alagoa	W 44°40'45.356"; S 22°11'50.474"
7	Aiuruoca	W 44°36'48.252"; S 22°5'19.702"
8	Bocaina	W 44°24'27.334"; S 22°13'0.029"
9	Liberdade	W 50°21'46.494"; S 22°2'53.584"

Source: prepared by the author (2022).

Table S2 – Geographical distance matrix (km) between pairs of the *A. angustifolia* populations.

Population	Population									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	
1	0									
2	41,84	0								
3	103,28	62,83	0							
4	137,48	97,29	34,47	0						
5	163,49	122,72	60,21	26,69	0					
6	175,48	134,47	72,28	39,21	12,58	0				
7	186,90	145,52	84,16	52,21	26,04	13,08	0			
8	200,39	160,1	97,31	62,93	37,86	28,08	25,51	0		
9	212,03	170,93	108,85	75,43	48,81	36,57	26,23	19,21	0	

Legend: the distances shown refer to the linear geographic distances between the centroids of the populations, in kilometers. Source: prepared by the author (2022).

Table S3 – Microsatellite markers used for DNA amplification of *A. angustifolia*.

Primer	T <sub>a</sub> (°C)	Dye	Size range (pb)	Species	Author	GenBank Access
Ag45	57.8	Fam	154–168	<i>A. angustifolia</i>	Salgueiro et al. (2005)	AJ749966
Ag20	59.3	Fam	240–258	<i>A. angustifolia</i>	Salgueiro et al. (2005)	AJ749964
Ag56	59.3	Ned	146–156	<i>A. angustifolia</i>	Salgueiro et al. (2005)	AJ749967
Aang14	56.5	Fam	150–190	<i>A. angustifolia</i>	Schmidt et al. (2007)	AY865583
Aang28	56.5	Hex	130–170	<i>A. angustifolia</i>	Schmidt et al. (2007)	AY865592
AS 190	57.8	Ned	125–162	<i>A. subulata</i>	Robertson et al. (2004)	AY426083
CRCAc1	57.8	Fam	207–233	<i>A. cunninghamii</i>	Scott et al. (2003)	AF522871
CRCAc2	57.8	Ned	177–181	<i>A. cunninghamii</i>	Scott et al. (2003)	AF522867

Source: adapted from Pádua (2015).

Table S4– Main steps to obtain the genotyped genetic data of *A. angustifolia*.

Step	Method
Polymerase chain reactions (PCR)	Qiagen Multiplex PCR Master Mix (10 µL), with: 5 µL of PCR Master Mix (2x); 1 µL of pairs of primers (2 mM of each primer); 2 µL of genomic DNA (10 ng/µL); 1 µL of Q-solution; e Milli-Q water.
PCR Program	(1) an initial DNA denaturation and Taq polymerase activation step at 95 °C for 15 min; (2) 35 cycles of three-stage amplification (94° C for 30 s, annealing temperature for 90 s and extension at 72 °C for 60 s); and (3) a final extension at 72 °C for 10 min.
Genotyping	10 µL of solution, with: 2 µL of the solution of the amplified fragments of each sample, 0,125 µL of sequencing standard LIZ GS 600 and the remaining volume with Hi-Di formamide.
Electrophoresis	Capillary electrophoresis, performed on an ABI 3500xL GeneticAnalyzer automated sequencer. The size of the amplified fragments was determined using GeneMapper 4.1 software.

Source: adapted from Pádua (2015).

### Results support information

Table S5 – Description of land-use classes for the study landscapes.

Class	Description
Forest Formation	Dense Ombrophilous Forest, Open Ombrophilous Forest, Mixed Ombrophilous Forest, Semi-deciduous Seasonal Forest, Deciduous Seasonal Forest and Pioneer Tree.
Savanna Formation	Savannas, Steppe Savanna and Forested Savannas.
Forest Plantation	Tree species planted for commercial purposes.
Farming	Areas of natural or planted pastures, related to agricultural and cattle raising activities. Areas of annual and perennial crops. Areas of agricultural use where it was not possible to distinguish between pasture and agriculture.
Rocky Outcropping	Naturally exposed rocks on the ground surface without soil cover, often with partial presence of rupicolous vegetation and high slope.
Non-Vegetated Area	Urbanized areas with a predominance of non-vegetated and non-permeable surfaces, including roads, streets, and buildings. Areas of mineral extraction, with soil exposure due to the action of heavy machinery.
Water Bodies	Rivers, lakes, dams, reservoirs and other water bodies.

Source: adapted from Mapbiomas (2019).

Tabela S6 – Probabilities of deviations from Hardy-Weinberg equilibrium per locus in each population of *A. angustifolia*, according to the  $\chi^2$  test.

Populations	Loci							
	Ag45	CRC1	AS190	Ag20	Ag56	Aang14	Aang28	CRC2
1	0.331	0*	0.002*	0*	0.014*	0.001*	0*	0*
2	0.032*	0*	0*	0*	0.358	0*	0*	0*
3	0.15	0*	0.004*	0*	0*	0.066	0.041*	0*
4	0.006*	0*	0.016*	0*	0.004*	0.001*	0.004*	0*
5	0.002*	0.007*	0.076	0*	0.107	0*	0*	0*
6	0*	0*	0*	0*	0.028*	0*	0*	0*
7	0.007*	0.088	0*	0*	0.464	0*	0*	0*
8	0.337	0.007*	0*	0*	0.083	0*	0*	0*
9	0.858	0*	0*	0*	0.002*	0*	0.016*	0*

\*Significant p-value:  $p < 0,05$ . Source: prepared by the author (2022).

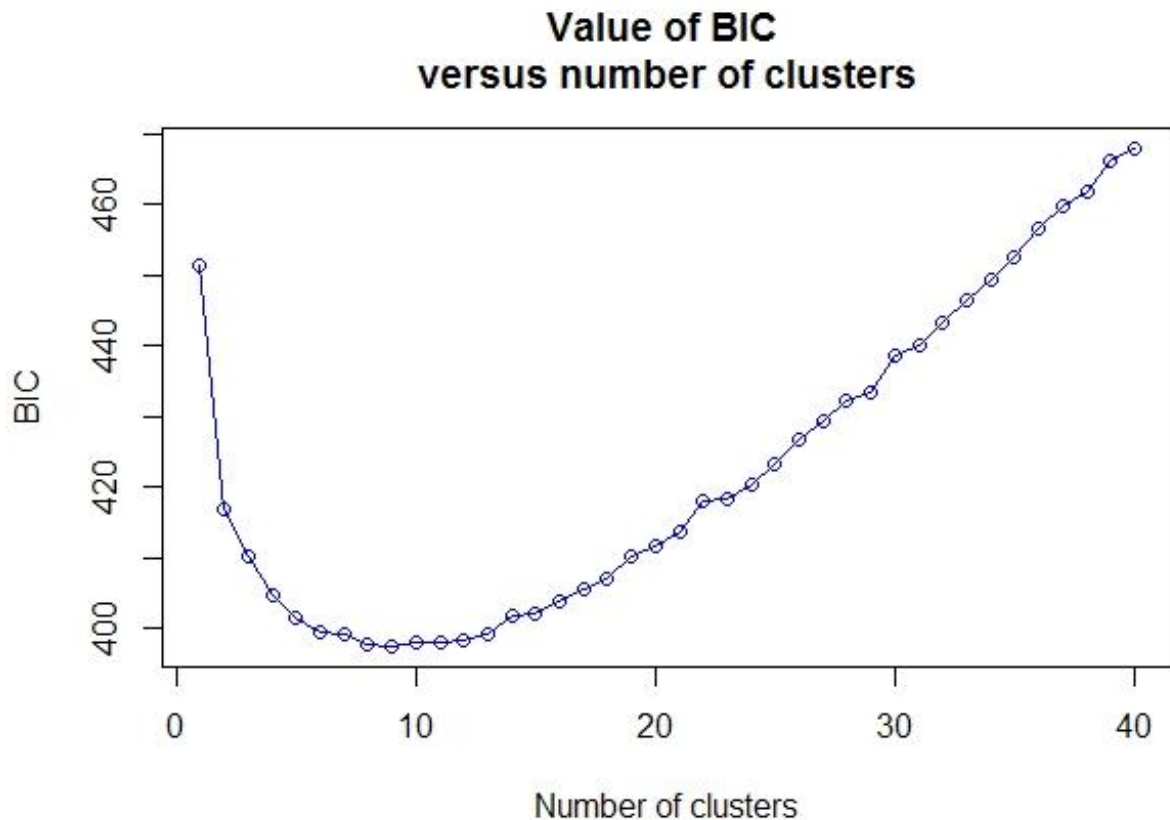


Tabela S7 – Probable first-generation migrants between the populations of *A. angustifolia*.

Source population	Target population	Identification of the Migrant	p-Value*
1	9	2	0.0200
1	5	4	0.0240
1	2	7	0.0130
1	6	50	0.0245
2	7	5	0.0398
2	1	23	0.0137
2	9	41	0.0101
3	4	4	0.0297
3	9	13	0.0339
3	5	19	0.0133
3	1	37	0.0440
3	9	6	0.0136
4	3	19	0.0047
4	1	28	0.0318
4	5	31	0.0128
5	3	7	0.0002
5	3	14	0.0414
5	2	24	0.0178
5	6	31	0.0158
5	1	36	0.0315
5	9	37	0.0370
6	2	43	0.0226
7	1	4	0.0114
7	4	19	0.0383
7	2	39	0.0346
7	1	45	0.0351
7	6	46	0.0359
7	3	47	0.0228
8	9	1	0.0477
8	7	7	0.0267
8	6	37	0.0051
8	4	49	0.0111
9	6	14	0.0351
9	6	20	0.0465
9	4	23	0.0170
9	8	48	0.0463

\*Significant p-value:  $p < 0,05$ . Source: prepared by the author (2022).

Figure S1 – Curve of Bayesian Information Criterion (BIC) values.



Source: prepared by the author (2022).

### Supplementary material references

MAPBIOMAS. Projeto MapBiomas – **Coleção 4.1 da Série Anual de Mapas de Cobertura e Uso de Solo do Brasil**. 2019. Available at: <<https://mapbiomas.org>>. Accessed on: 2 abr. 2020.

PÁDUA, J. A. R. **Diversidade e estrutura genética de populações naturais de *Araucaria angustifolia* (Araucariaceae) no estado de Minas Gerais**. 2015. 127 f. Tese (Doutorado em Engenharia Florestal) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG, 2015.

ROBERTSON, A. et al. Characterization of nuclear microsatellites in New Caledonia *Araucaria* species. **Molecular Ecology Notes**, Oxford, v. 4, n. 1, p. 62-63, Mar. 2004.

SALGUEIRO, F. et al. Characterization of nuclear microsatellite loci in South American *Araucariaceae* species. **Molecular Ecology Notes**, Oxford, v. 5, n. 2, p. 256-258, 2005.

SCHMIDT, A. B. et al. Isolation and characterization of microsatellite markers for *Araucaria angustifolia* (Araucariaceae). **Molecular Ecology Notes**, Oxford, v. 7, n. 2, p. 340-342, 2007.

SCOTT, L. J. et al. Characterization of highly conserved microsatellite loci in *Araucaria cunninghamii* and related species. **Plant Systematics and Evolution**, New York, v. 236, n. 3-4, p. 115-123, Feb. 2003.

## ARTIGO 02

**AS ÁREAS PROTEGIDAS FAVORECEM A CONSERVAÇÃO DA *Araucaria angustifolia* (BERTOL.) O. KUNTZE?**

Fabrina Teixeira Ferraz<sup>1</sup>  
Flávia Freire de Siqueira<sup>2</sup>  
Dulcineia de Carvalho<sup>3</sup>

**RESUMO**

Este estudo foi conduzido para avaliar o potencial da paisagem e a influência das áreas protegidas na conservação da *Araucaria angustifolia* (Bertol.) O. Kuntze. A *A. angustifolia* é uma gimnosperma nativa criticamente ameaçada de extinção, espécie-chave para a biodiversidade na Mata Atlântica. A área de estudo é o Sudeste do Brasil, no Sul de Minas Gerais, uma região limítrofe norte para a ocorrência da espécie. Em seu limite norte, a *A. angustifolia* resiste sob a forma de populações relictuais disjuntas e isoladas, em uma paisagem modificada pelas atividades humanas. Utilizamos dados das áreas protegidas brasileiras, mapeamentos do uso do solo em momentos distintos no tempo (anos de 1985 e 2020), e dados da altitude do terreno. Com isso, conduzimos um diagnóstico da cobertura de áreas protegidas e da ocupação antropogênica, abordando a influência dessas áreas protegidas nas transformações espaciais e temporais na paisagem, bem como avaliamos a proporção de habitats adequados e favoráveis ao fluxo gênico da *A. angustifolia* sob proteção formal. Nossos resultados revelaram que há uma extensa e numerosa rede de áreas protegidas, com 48 Unidades de Conservação, ocupando 62,3% da área de estudo. Também, detectamos que a antropização da paisagem é alta, porém, observamos, que essa antropização antecede a delimitação da maioria das áreas protegidas, indicando que, embora não tenham impedido as transformações na paisagem, esses espaços territoriais controlaram a expansão das atividades humanas. Descobrimos que os habitats adequados ao fluxo gênico da *A. angustifolia* são minoria na paisagem (17,9%), mas possuem uma proporção relativamente alta sob proteção formal por áreas protegidas (71,1%). Adicionalmente, identificamos duas populações prioritárias e propusemos medidas complementares para sua conservação genética. A combinação dos resultados evidencia que a paisagem atual tem potencial para a efetiva conservação genética e manutenção das populações remanescentes de *A. angustifolia* a longo prazo.

**Palavras-chave:** Espécies arbóreas ameaçadas. Conservação genética. Pinheiro brasileiro. Unidades de Conservação.

---

<sup>1</sup> Universidade Federal de Lavras, Departamento de Ciências Florestais, Lavras, Minas Gerais, Brasil.  
Autor para correspondência: [fabrina.ferraz@hotmail.com](mailto:fabrina.ferraz@hotmail.com);

<sup>2</sup> Instituto Guaicuy, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil;

<sup>3</sup> Universidade Federal de Lavras, Departamento de Ciências Florestais, Lavras, Minas Gerais, Brasil.

## 1 INTRODUÇÃO

A *Araucaria angustifolia* (Bertol.) O. Kuntze tem seu limite norte de ocorrência no Sudeste do Brasil, onde suas populações estão concentradas nas terras altas e frias e são distribuídas em manchas esparsas e áreas disjuntas (GUERRA et al., 2002; VEBLEN et al., 1995). Na região, as populações de *A. angustifolia* são relictos climáticos do Último Máximo Glacial, quando eram amplamente dispersas, mas desapareceram em algumas áreas e se retraíram em direção ao sul conforme o clima aquecia (OLIVEIRA-FILHO et al., 2015). Muito difundida em tempos passados, a *A. angustifolia* persiste em um nicho climático favorável menor, o que se tornou um problema intensificado pelas pressões antropogênicas dos últimos séculos.

Além da limitação climática e de altitude para a colonização, o histórico de exploração madeireira e de conversão de florestas nativas levou ao declínio populacional de *A. angustifolia* (GUERRA et al., 2002; NODARI, 2016), tornando-a uma espécie presente nas listas globais dentre as ameaçadas de extinção (FOREST et al., 2018; THOMAS, 2013). Dentre as áreas do limite norte de ocorrência da *A. angustifolia*, o sul do estado de Minas Gerais contempla populações relictuais complexas, as quais estão inseridas em redutos de biodiversidade e espécies endêmicas, além de Áreas Protegidas – AP (MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE – MMA, 2021; MYERS et al., 2000), e circundadas por matrizes heterogêneas, predominantemente ocupadas por atividades humanas.

A legislação ambiental brasileira (Resolução CONAMA nº 278/01 e Lei nº 11.428/06) dispõe de mecanismos para a conservação da *A. angustifolia*, como o impedimento da extração das reservas nativas da espécie (BRASIL, 2001; 2006) e a criação de áreas protegidas, amparada pela Lei do Sistema Nacional de Unidades de Conservação da Natureza (SNUC) (BRASIL, 2000). No entanto, a real efetividade dessas políticas é de difícil estimativa, devido à realidade dos desmatamentos ilegais da *A. angustifolia* (INSTITUTO BRASILEIRO DO MEIO AMBIENTE E DOS RECURSOS NATURAIS RENOVÁVEIS – IBAMA, 2017; 2018a; 2018b; 2020), dos conflitos de uso da terra e do descumprimento das restrições ambientais nas áreas protegidas brasileiras (FRANÇOSO et al., 2015; PAYÉS; PAVÃO; DOS SANTOS, 2013).

As populações relictuais de *A. angustifolia* do sul de Minas Gerais são caracterizadas por um paradoxo: à medida em que há uma extensa rede de áreas protegidas, há também uma intensa antropização, em que a ocupação desordenada e o manejo inadequado do solo constituem grandes pressões sobre a biodiversidade local (DETZEL CONSULTING, 2018;

INSTITUTO ESTADUAL DE FLORESTAS – IEF, 2008). Além do impacto direto pela redução de habitats naturais, essa ocupação antropogênica molda a paisagem, tornando-a mais heterogênea. Sabendo-se que a paisagem e as matrizes que separam os habitats naturais são determinantes de processos biológicos e ecológicos (HOLDEREGGER; WAGNER, 2008; STORFER et al., 2010) os elementos da paisagem podem informar sobre descontinuidades populacionais e seus efeitos sobre os padrões genéticos das espécies (LEIMU et al., 2010; LOVELESS; HAMRICK, 1984; STORFER et al., 2010).

Para a *A. angustifolia*, há evidências da influência das alterações espaciais nas dinâmicas ecológicas e genéticas das populações (AULER et al., 2002; BITTENCOURT; SEBBENN, 2009; GROSS et al., 2018; LAUTERJUNG et al., 2019). Por exemplo, a dispersão de sementes e pólen da *A. angustifolia* pode ser limitada entre fragmentos distantes, tornando a distância geográfica um fator condicionante do fluxo gênico ( BITTENCOURT; SEBBENN, 2008; DE SOUSA et al., 2020; FERRAZ, 2022; MANTOVANI; MORELLATO; DOS REIS, 2006). Também, a configuração do relevo pode facilitar ou dificultar as trocas genéticas (FERRAZ, 2022).

Este estudo contempla uma análise genética da paisagem para populações relictuais de *A. angustifolia* em seu limite norte de ocorrência. Para isso, objetivamos avaliar o potencial da paisagem e a influência das áreas protegidas na conservação da *A. angustifolia*. Nesta investigação, nós consideramos duas abordagens: i) a quantificação da rede de áreas protegidas na região de estudo, para visualizarmos o cenário de proteção formal da paisagem; e ii) a caracterização da paisagem, considerando a evolução da ocupação antropogênica no tempo e a presença e nível de proteção de habitats favoráveis ao fluxo gênico da *A. angustifolia*. Dessa forma, pudemos fornecer perspectivas acerca do potencial da paisagem em garantir habitats seguros e propícios para a conservação genética e manutenção das populações de *A. angustifolia* nesta e nas próximas gerações.

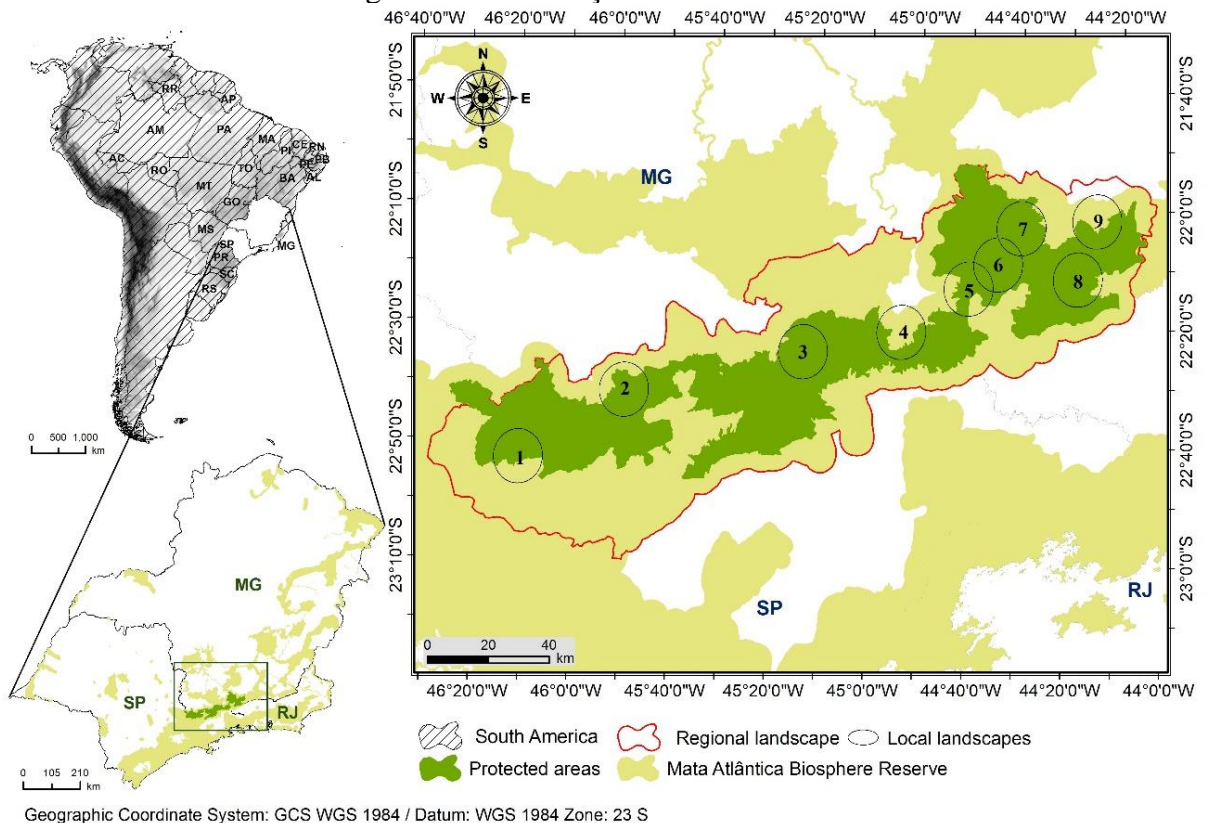
Inicialmente, admitimos que: i) por se tratar de uma região historicamente muito alterada, como uma estratégia para conservar os habitats remanescentes, acreditamos haver alta cobertura de áreas protegidas contemplando as populações de *A. angustifolia*; ii) pelas constantes pressões do crescimento e desenvolvimento das sociedades, acreditamos que as áreas protegidas não protegem as populações de *A. angustifolia*, comprometendo sua conservação genética. Esperamos que este estudo contribua para otimizar as estratégias de conservação das populações relictuais de *A. angustifolia* na região analisada, sobretudo a longo prazo.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1 Área de estudo

A área de estudo está localizada no sul do estado de Minas Gerais, Sudeste do Brasil, e contempla a região de ocorrência natural de populações relictuais de *A. angustifolia*. Essa região é uma zona geográfica limite para a ocorrência da espécie (GUERRA et al., 2002) e faz parte de um conjunto de áreas protegidas, onde o uso dos recursos naturais é limitado. A região também faz parte da Reserva da Biosfera da Mata Atlântica, que compõe uma rede mundial de ecossistemas geridos para conciliar o uso sustentável à conservação dos recursos naturais e do patrimônio cultural (ORGANIZAÇÃO DAS NAÇÕES UNIDAS PARA A EDUCAÇÃO, A CIÊNCIA E A CULTURA – UNESCO, 2020) (FIGURA 1).

Figura 1 – Localização da área de estudo.



Legenda: em vermelho, o contorno da área total de estudo, denominada paisagem regional. Os números de 1 a 9 representam as populações de *A. angustifolia* e os círculos representam as paisagens correspondentes a cada população. Fonte: Ferraz (2022).

## 2.2 Delimitação das paisagens

Este estudo contempla nove populações de indivíduos adultos de *A. angustifolia*, localizadas em diferentes e geograficamente distantes cidades do estado de Minas Gerais (Material Suplementar). Cada população foi composta por 50 indivíduos georreferenciados e amostrados com a distância mínima de 100 metros para reduzir a probabilidade parentesco (BITTENCOURT; SEBBENN, 2008), totalizando 450 indivíduos.

Como unidades espaciais das análises, nós delimitamos uma paisagem regional e nove paisagens locais, a fim de compreendermos o contexto geral das interações entre as populações e as eventuais especificidades de cada população em sua relação com a paisagem circundante. Os procedimentos operacionais relacionados a esta etapa foram executados em ambiente de SIG (Sistemas de Informações Geográficas), a partir do software ArcGIS 10.8.

A paisagem regional foi delimitada em modo livre de criação e edição de polígonos. Nós utilizamos os limites da Reserva da Biosfera da Mata Atlântica como referência territorial aproximada e consideramos aspectos da paisagem (ex.: cadeias montanhosas e limites municipais), como critério de inclusão de locais. Assim, delimitamos uma área útil de 1.296.493 ha.

Para as paisagens locais, nós determinamos o centroide entre os indivíduos, a partir do qual geramos um buffer com raio de 8.500 metros. Esta dimensão de raio foi a menor possível de modo que todas as paisagens fossem do mesmo tamanho e incluíssem todos os seus respectivos indivíduos. Cada paisagem local possui área de 22.680 ha (FIGURA 1).

## 2.3 Dados genéticos

Para entender sobre a proximidade genética das populações de *A. angustifolia* e direcionar a discussão dos resultados e eventuais propostas de conservação na paisagem, os dados genéticos deste trabalho incluíram uma matriz de diferenciação interpopulacional derivada de Ferraz (2022), voltada para essas mesmas populações (TABELA 1). A matriz foi determinada a partir das estatísticas clássicas  $F_{ST}$  de Wright e  $G_{ST}$  de Hedrick, calculadas em ambiente de programação R (pacotes genéticos *hierfstat* e *gstudio*).

Tabela 1 – Matriz de diferenciação genética entre os pares de populações de *A. angustifolia*, segundo o  $F_{ST}$  de Wright (diagonal inferior) e o  $G_{ST}$  de Hedrick (diagonal superior).

F <sub>ST</sub>	G <sub>ST</sub>								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
1	0	0.028	0.053	0.000	0.012	0.038	0.026	0.016	0.025
2	0.012	0	0.013	0.021	0.043	<b>0.096</b>	<b>0.093</b>	0.025	0.016
3	<b>0.021</b>	0.020	0	0.017	0.028	0.066	0.013	0.056	<b>0.080</b>
4	0.008	0.013	0.013	0	0.044	0.040	0.068	0.007	0.062
5	0.011	0.013	0.013	0.008	0	0.025	0.001	0.042	0.018
6	0.014	0.011	<b>0.021</b>	0.018	0.012	0	0.012	0.021	0.037
7	0.012	0.017	0.019	0.017	0.010	0.009	0	0.014	0.027
8	0.011	0.003	0.019	0.012	0.010	0.009	0.013	0	0.029
9	0.013	0.018	<b>0.022</b>	0.018	0.011	0.013	0.005	0.013	0

Legenda: os números de 1 a 9 representam as populações. Em negrito, os valores mais altos. Fonte: Ferraz (2022).

## 2.4 Dados de paisagem

Como variáveis da paisagem, utilizamos as seguintes camadas espaciais: i) vetores das áreas protegidas brasileiras, para verificarmos o cenário de proteção de terras na área de estudo; ii) mapeamentos do uso do solo em dois cenários temporais (anos de 1985 e 2020), para verificarmos o padrão de ocupação antropogênica atual e como tem sido o papel das áreas protegidas em conservar os habitats naturais ao longo dos anos; e iii) elevação do terreno, para verificarmos a proporção dos habitats favoráveis ao fluxo gênico da *A. angustifolia* abrangidos por áreas protegidas.

Os dados sobre as áreas protegidas foram adquiridos junto à base de dados do MMA (<http://mapas.mma.gov.br/i3geo/datadownload.htm>) de acesso público e gratuito. A fim de contemplar todas as possibilidades de áreas especiais disponíveis, incluímos no download as Unidades de Conservação (UC) de Proteção Integral e de Uso Sustentável municipais, estaduais e federais, os corredores ecológicos, os geoparques e os sítios geológicos. Adicionalmente, buscamos dados sobre terras indígenas homologadas e não homologadas junto à Fundação Nacional do Índio (<https://www.gov.br/funai/pt-br/atuacao/terras-indigenas>), disponibilizados também de forma gratuita e pública.

Para a elevação do terreno, utilizamos o Modelo Digital de Elevação (MDE), AlosPalsar, 12,5 metros de resolução espacial, adquirido gratuitamente junto ao Alaska Satellite Facility (UAF) (<https://www.asf.alaska.edu/sar-data/palsar/>). Utilizamos esta camada espacial como referência para a definição dos habitats potencialmente mais favoráveis às trocas genéticas da *A. angustifolia*, com base nos resultados de modelagem de resistência



da paisagem apresentados por Ferraz (2022). O estudo destaca que altitudes em torno de 1.300 metros tendem a ser menos resistentes às trocas genéticas, enquanto a resistência da paisagem aumenta conforme a altitude se encaminha para os extremos superiores e inferiores. Além disso, essa faixa de altitude é compatível com a altitude média de ocorrência natural da espécie no seu limite norte (GUERRA et al., 2002; OLIVEIRA-FILHO et al., 2015; VEBLEN, 1995).

Para o uso e ocupação do solo, nós utilizamos os mapeamentos provenientes do Projeto de Mapeamento Anual da Cobertura e Uso do Solo do Brasil (MapBiomas), coleção 6, com 30 metros de resolução espacial, de acesso livre e gratuito (<<https://mapbiomas.org>>). Os anos escolhidos para a comparação temporal foram 1985 e 2020, que correspondem, respectivamente, ao primeiro e último mapeamento completo disponível. Adicionalmente, o ano de 1985 é compatível com a homologação da maior faixa territorial de áreas protegidas na região, pela criação da Área de Proteção Ambiental (APA) da Serra da Mantiqueira (BRASIL, 1985).

## **2.5 Processamento das camadas espaciais**

O processamento das camadas espaciais para posterior análise foi executado a partir do software ArcGIS 10.8.

Para a camada de elevação, unimos as cenas do MDE em um mosaico (*Image Analysis Window*) e executamos o recorte (ferramenta *Extract by Mask*) da área de interesse usando a paisagem de estudo como máscara de corte. Na sequência, reclassificamos o MDE (ferramenta *Reclassify*), para as seguintes classes de altitude: Classe I: altitudes abaixo de 1200 m; Classe II: altitudes entre 1200 m e 1400 m; e Classe III: altitudes acima de 1400 m. O mapeamento do uso do solo também passou por uma reclassificação em ambos os anos (1985 e 2020), de modo a agrupar classes de usos semelhantes, conforme definições estabelecidas pelo MapBiomas (2022) (QUADRO 1).

Quadro 1 – Classes de uso e ocupação do solo admitidas para a análise da área de estudo, após a reclassificação do mapeamento.

Classe	Descrição
Floresta	Áreas de florestas naturais. Inclui as fitofisionomias típicas da Mata Atlântica, como Floresta Ombrófila Densa, Aberta e Mista e Floresta Estacional Semidecidual, Floresta Estacional Decidual, Formação Pioneira Arbórea e fragmentos de formações savânicas, como Savanas-Estépicas Florestadas e Arborizadas.
Área natural não florestal	Áreas naturais que incluem os campos alagados e áreas pantanosas, formações campestres e afloramentos rochosos.
Agropecuária	Áreas antropizadas onde são desenvolvidas atividades agropecuárias e silviculturais. Inclui áreas de pastagem, plantios de culturas agrícolas perenes e temporárias e florestas plantadas.
Área não vegetada	Áreas antropizadas relacionadas à urbanização e superfícies não permeáveis, como infraestrutura, expansão urbana ou mineração.
Corpo d'água	Inclui corpos d'água, como rios, lagos, represas, reservatórios e lagos artificiais, onde predominam atividades aquícolas e/ou de salicultura.

Legenda: a denominação e a descrição das classes correspondem às apresentadas pelo MapBiomias.

Fonte: adaptado de MapBiomias (2022).

## 2.6 Análise da paisagem

Realizamos uma análise temporal da ocupação antropogênica e executamos a sobreposição das camadas espaciais de áreas protegidas com o uso do solo e de áreas protegidas com a elevação do terreno. Isto porque, além de conhecer a proporção da paisagem contemplada por áreas protegidas, nós quisemos entender os padrões de ocupação humana no espaço e no tempo, bem como entender a relação das áreas protegidas com as transformações da paisagem e conhecer o nível de proteção dos habitats potencialmente adequados para o fluxo gênico da *A. angustifolia*.

As transformações do uso do solo na paisagem foram quantificadas a partir de métricas relacionadas ao tamanho das feições espaciais e ao grau de fragmentação, executadas no software Fragstats 4.2. Utilizamos as métricas: *Total Landscape Area (TA)*, que descreve a extensão total da paisagem ocupada por cada classe, em termos absolutos; *Percentage of Landscape (%LAND)*, que quantifica a área de cada classe em termos relativos; e *Number of Patches (NP)*, que informa sobre o grau de subdivisão ou fragmentação de uma classe na paisagem (MCGARIGAL; MARKS, 1985). A sobreposição de camadas foi executada em ambiente de SIG no software ArcGIS 10.8., gerando mapas temáticos como produtos. O cálculo de proporção dos habitats adequados cobertos pelas áreas protegidas foi executado a partir da tabela de atributos das camadas (*Calculate Geometry*).

### 3 RESULTADOS

#### 3.1 Diagnóstico das áreas protegidas

Identificamos 48 áreas protegidas na paisagem de estudo, todas na forma de Unidades de Conservação (UC). Dentre essas UC, 14 são de Proteção Integral (PI) e 34 são de Uso Sustentável (US) (TABELA 2). Não foram encontradas outras áreas especiais passíveis de proteção, como corredores ecológicos, geoparques, sítios geológicos ou terras indígenas. Em números, 807.892,8 ha (62,3%) da área de estudo são territorialmente cobertos por áreas protegidas. As Áreas de Proteção Ambiental (APA) Serra da Mantiqueira e Fernão Dias, ambas da categoria de uso sustentável, foram as maiores UC identificadas. Por paisagem local (nove paisagens), identificamos que as proporções de proteção territorial foram acima de 42%, chegando a 100% (TABELA 3).

Tabela 2 – Áreas protegidas na paisagem de estudo, no sul de Minas Gerais (Continua).

ID	Nome	Grupo	Área* (ha)	Ano de criação
1	MN Estadual da Pedra do Baú	PI	3154,0	2010
2	MN Estadual Mantiqueira Paulista	PI	10363,3	2021
3	MN Municipal do Pico do Itaguapé	PI	3329,0	2012
4	Parque Estadual da Pedra Selada	PI	8035,5	2012
5	Parque Estadual de Campos do Jordão	PI	8198,6	1941
6	Parque Estadual dos Mananciais de Campos do Jordão	PI	516,7	1993
7	Parque Estadual Serra do Papagaio	PI	25064,7	1998
8	Parque Natural Municipal do Brejo Grande	PI	223,2	1980
9	Parque Nacional do Itatiaia	PI	28064,2	1937
10	Parque Natural Municipal Augusto Ruschi	PI	243,5	2010
11	Parque Natural Municipal da Cachoeira da Fumaça e Jacuba	PI	363,0	1988
12	Parque Natural Municipal do Trabiçu	PI	583,4	1979
13	Refúgio de Vida Silvestre da Mata da Represa	PI	870,8	2008
14	Refúgio de Vida Silvestre Estadual do Médio Paraíba	PI	3,5	2016
15	APA Bacia do Paraíba do Sul	US	69086,5	1982
16	APA Campos do Jordão	US	28865,9	1984
17	APA da Serra Do Palmital	US	5763,0	2008
18	APA de Engenheiro Passos Apaep	US	2325,7	1997
19	APA Fernão Dias	US	171158,3	1997
20	APA Piracicaba/Juqueri-Mirim Área II	US	85409,7	1991
21	APA São Francisco Xavier	US	11973,0	2002
22	APA Sapucaí Mirim	US	38794,0	1998
23	APA Serra da Mantiqueira	US	437069,2	1985
24	APA Sistema Cantareira	US	75605,5	1998

Tabela 2 – Áreas protegidas na paisagem de estudo, no sul de Minas Gerais (Conclusão).

ID	Nome	Grupo	Área* (ha)	Ano de criação
25	Área de Relevante Interesse Ecológico da Pedra Branca	US	635,8	1987
26	Floresta Nacional de Lorena	US	281,2	1934
27	Floresta Nacional de Passa Quatro	US	335,1	1968
28	RPPN Berço de Furnas	US	5,3	2005
29	RPPN Células Verdes	US	6,9	2005
30	RPPN Campina	US	11,5	2007
31	RPPN Cachoeira do Tombo	US	12,0	2006
32	RPPN Agulhas Negras	US	16,1	2010
33	RPPN Alto da Mantiqueira	US	20,3	2011
34	RPPN Chalé Club do Alambary	US	2,4	2012
35	RPPN Dois Peões	US	60,0	2011
36	RPPN Fazenda Serra do Ribeirão	US	47,0	2011
37	RPPN Floresta do Pengá	US	56,8	2007
38	RPPN Gigante do Itaguareé	US	358,1	2018
39	RPPN Jacuaçú	US	43,3	2017
40	RPPN Jardim de Mukunda	US	21,7	2010
41	RPPN Kahena	US	5,8	2011
42	RPPN Pedra da Mina	US	639,3	2013
43	RPPN Reserva dos Muriquis	US	43,6	2018
44	RPPN Santa Rita de Cassia	US	197,8	2015
45	RPPN Santo Antônio	US	538,4	2009
46	RPPN Serrinha	US	245,0	2014
47	RPPN Sítio Manacá	US	25,1	2012
48	RPPN Ave Lavrinha I	US	23,2	2018

\*As dimensões correspondem às áreas dos polígonos presentes na paisagem de estudo, não sendo, necessariamente, o tamanho total da UC. Além disso, há casos de sobreposição entre os polígonos das UC, de modo que um mesmo local faça parte de mais de uma UC. Por isso a soma das áreas é superior ao calculado para a ocupação da paisagem por áreas protegidas. Legenda: PI: Proteção Integral; US: Uso Sustentável; MN: Monumento Natural; APA: Área de Proteção Ambiental; RPPN: Reserva Particular do Patrimônio Natural. Fonte: Da autora (2022).

Tabela 3 – Proporções das paisagens de estudo ocupadas por áreas protegidas.

Paisagem	Extensão das áreas protegidas (ha)	Proporção em relação à paisagem (%)	Áreas protegidas presentes (ID)*
1	22629,7	99,8	19, 20, 24 e 39
2	16589,3	73,1	19
3	22389,0	98,7	23
4	9531,5	42,0	2, 3, 15, 23 e 27
5	18822,8	83,0	7, 9 e 23
6	22676,9	100,0	7 e 23
7	21831,8	96,3	7, 23, 30 e 31
8	21139,1	93,2	4, 11, 23 e 40
9	10375,5	45,7	23
Regional	807892,8	62,3	1 a 48

\*Na coluna, as áreas protegidas presentes em cada paisagem estão identificadas pelos códigos ID apresentados anteriormente na Tabela 2. Fonte: Da autora (2022).

### **3.3 Diagnóstico do uso e ocupação do solo na paisagem**

Além de considerarmos o quantitativo das áreas protegidas na paisagem, adicionamos à análise a camada espacial de mapeamento do uso do solo em momentos distintos no tempo (anos de 1985 e 2020), o que nos permitiu caracterizar as paisagens e avaliar as transformações dos padrões de ocupação humana na região. Os resultados das métricas de paisagem para os mapeamentos de 1985 e 2020 estão apresentados na Tabela 4.

Tabela 4 – Métricas de paisagem aplicadas às paisagens locais e à paisagem regional para os anos de 1985 e 2020 (Continua).

<b>Total Landscape Area - TA (ha)</b>										
Paisagem	Floresta		Área natural não florestal		Agropecuária		Área não vegetada		Corpo d'água	
	1985	2020	1985	2020	1985	2020	1985	2020	1985	2020
1	7005,1	6924,9	N/A	N/A	15639,3	15434,6	36,8	321,9	4,6	4,3
2	9096,5	7657,7	4,0	6,3	13562,5	14970,2	18,1	46,1	1,0	1,7
3	10063,3	9134,9	19,6	36,5	12528,6	13411,9	63,4	91,2	2,2	2,5
4	8853,4	8474,0	82,8	94,4	13469,9	13715,6	268,7	385,9	0,0	4,8
5	11339,4	12510,8	1090,9	1232,6	10246,6	8933,4	N/A	0,2	0,4	0,3
6	8374,0	9470,0	2416,0	2935,0	11876,0	10240,7	11,2	31,5	N/A	N/A
7	10207,0	11828,3	674,5	1675,6	11795,3	9172,9	N/A	N/A	N/A	N/A
8	9985,1	10354,1	118,2	120,1	12556,5	12174,2	12,9	27,3	5,0	2,1
9	6784,0	8229,6	939,5	1101,1	14851,2	13215,1	84,7	115,8	18,8	16,7
Regional	544093,7	538052,8	18641,2	24270,4	719685,2	714244,6	8406,3	14747,6	5666,5	5177,6
<b>Percentage of Landscape - %LAND (%)</b>										
Paisagem	Floresta		Área natural não florestal		Agropecuária		Área não vegetada		Corpo d'água	
	1985	2020	1985	2020	1985	2020	1985	2020	1985	2020
1	30,9	30,5	N/A	N/A	68,9	68,0	0,2	1,4	0,0	0,0
2	40,1	33,8	0,0	0,0	59,8	66,0	0,1	0,2	0,0	0,0
3	44,4	40,3	0,1	0,2	55,2	59,1	0,3	0,4	0,0	0,0
4	39,0	37,4	0,4	0,4	59,4	60,5	1,2	1,7	0,0	0,0
5	50,0	55,2	4,8	5,4	45,2	39,4	N/A	N/A	0,0	0,0
6	36,9	41,8	10,7	12,9	52,4	45,2	0,0	0,1	N/A	N/A
7	45,0	52,2	3,0	7,4	52,0	40,5	N/A	N/A	N/A	N/A
8	44,0	45,7	0,5	0,5	55,4	53,7	0,1	0,1	0,0	0,0
9	29,9	36,3	4,1	4,9	65,5	58,3	0,4	0,5	0,1	0,1
Regional	42,0	41,5	1,5	1,9	55,4	55,1	0,6	1,1	0,4	0,4

Tabela 4 – Métricas de paisagem aplicadas às paisagens locais e à paisagem regional para os anos de 1985 e 2020 (Conclusão).

Paisagem	<i>Number of Patches - NP (adimensional)</i>									
	Floresta		Área natural não florestal		Agropecuária		Área não vegetada		Corpo d'água	
	1985	2020	1985	2020	1985	2020	1985	2020	1985	2020
1	600	654	N/A	N/A	113	122	9	22	6	3
2	486	552	4	4	192	159	1	3	2	2
3	385	517	9	18	176	239	11	10	3	3
4	402	435	25	27	189	157	9	9	N/A	4
5	309	269	203	191	271	288	N/A	1	2	1
6	480	453	258	267	278	329	1	1	N/A	N/A
7	459	295	258	289	246	393	N/A	N/A	N/A	N/A
8	459	396	53	56	170	210	1	1	6	4
9	489	427	419	265	127	199	11	4	6	5
Regional	20907	21517	3362	3219	9963	11396	584	534	591	504

Legenda: N/A: valor inexistente para a classe na paisagem. Fonte: Da autora (2022).

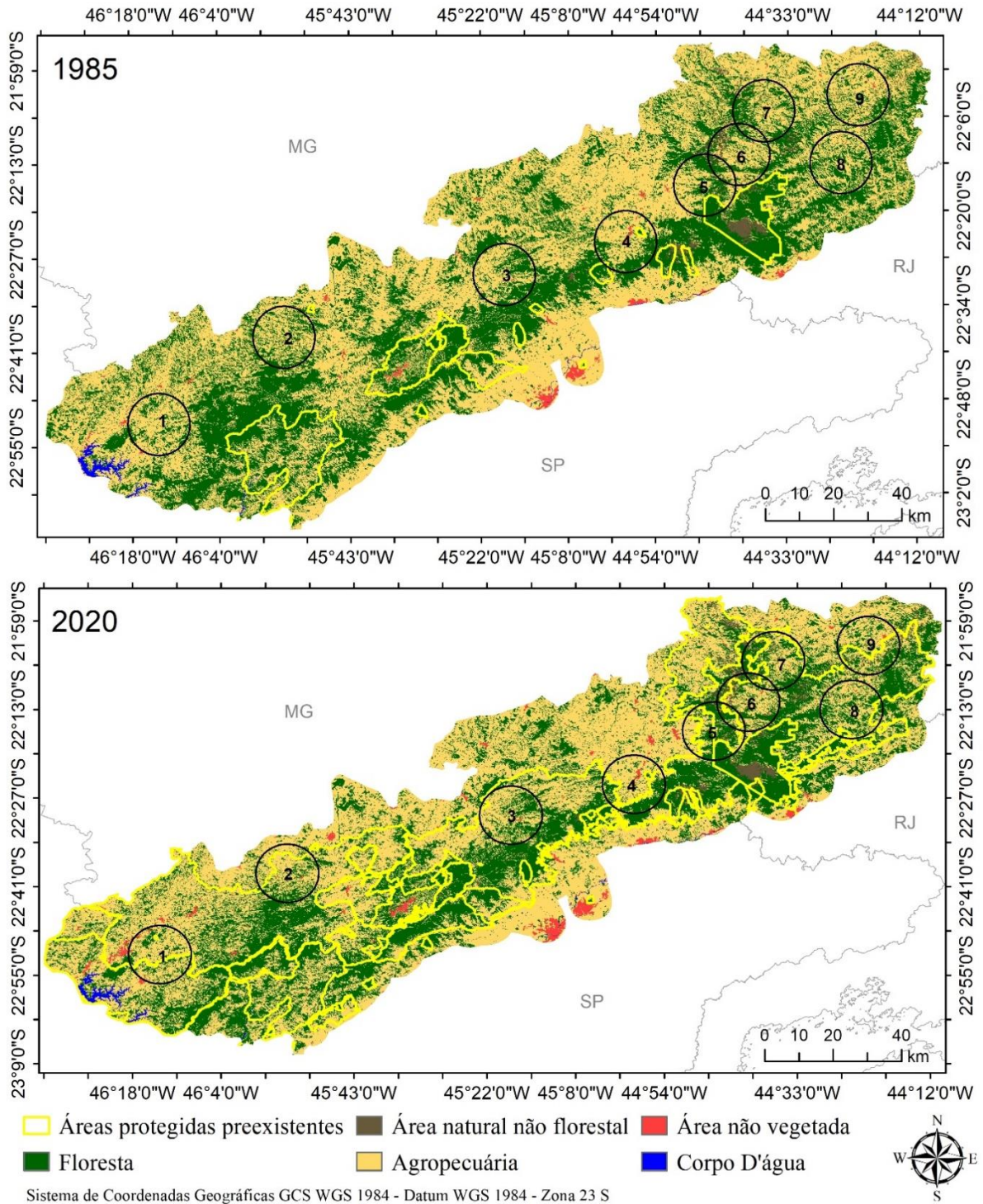
Atualmente, 56,2% da área de estudo representam usos não naturais do solo, predominantemente voltados a atividades agropecuárias (TABELA 4). Individualmente, todas as populações remanescentes de *A. angustifolia* estão inseridas em matrizes consideravelmente antropizadas (entre 39,4% a 69,4%), independentemente da proporção ocupada por áreas protegidas (TABELA 4 e TABELA 3).

Ao analisarmos comparativamente o uso e ocupação do solo nas paisagens entre os anos de 1985 e 2020, observamos que, em escala regional, os habitats florestais diminuíram com o passar dos anos e estão mais fragmentados, enquanto as áreas naturais não florestais (que incluem campos e afloramentos rochosos) aumentaram. Embora a urbanização tenha sido a forma de ocupação antropogênica que mais aumentou com o tempo, as atividades rurais permanecem como a principal forma de uso do solo na paisagem de estudo. A classe de corpos d'água foi proporcionalmente pouco expressiva em ambos os anos de observação. Em escala local, observamos o mesmo padrão para as paisagens 1, 2, 3 e 4. Contudo, nas paisagens 5, 6, 7, 8 e 9, os habitats florestais aumentaram e estão espacialmente mais conectados em substituição às áreas antropizadas. (TABELA 4). Além disso, embora regionalmente a antropização da paisagem tenha aumentado com o passar dos anos, ela já era alta desde o primeiro mapeamento analisado.

O mapa temático elaborado a partir das camadas espaciais de áreas protegidas e de uso e ocupação do solo evidenciou a distribuição espacial da variação das feições da paisagem nos dois cenários temporais (FIGURA 2). Conforme visualizado, o aumento dos habitats florestais nas paisagens 5 a 9 coincide com a criação de áreas protegidas, especialmente os Parques de uso restrito do solo. Da mesma forma, a diminuição desses habitats nas paisagens 1 a 4 também coincide com a criação de áreas protegidas, mas nesse caso, o foco foram as Unidades de uso sustentável. Essas informações são corroboradas pelos dados apresentados na Tabela 2 e na Tabela 3.



Figura 2 – Mapa temático do uso e ocupação do solo na paisagem de estudo para os anos de 1985 e 2020.



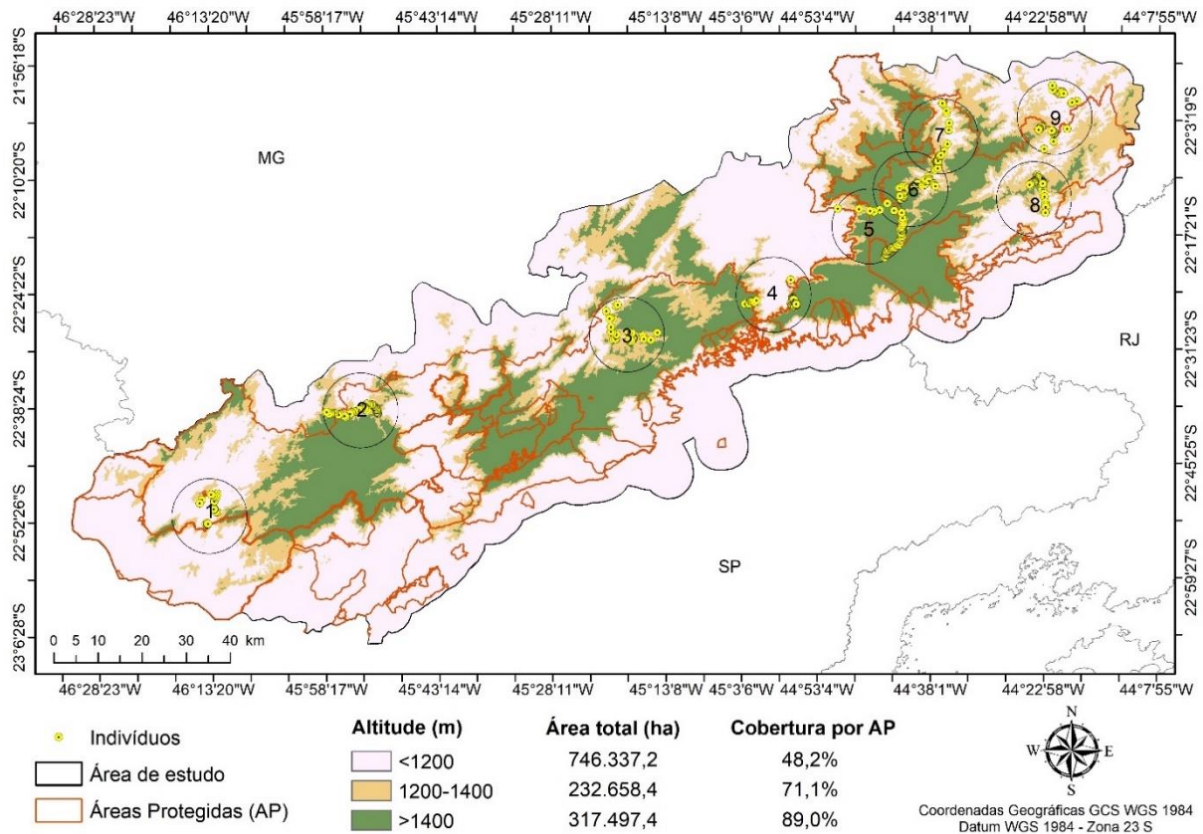
Legenda: as nove paisagens locais, onde se encontram as nove populações de *A. angustifolia*, estão representadas nos círculos pretos na imagem. As áreas protegidas apresentadas em 1985 e em 2020 (linhas em amarelo) referem-se àquelas que já estavam homologadas na ocasião do mapeamento.

Fonte: Da autora (2022).

### 3.2 Proteção de habitats favoráveis ao fluxo gênico da *A. angustifolia*

Ao inserirmos a camada espacial de altitude do terreno sobreposta às áreas protegidas atuais, identificamos que as áreas protegidas estão direcionadas às regiões de maior altitude e cadeias montanhosas. Também, observamos que apenas 17,9% (232.658,4 ha) da paisagem são formados por habitats potencialmente mais favoráveis ao fluxo gênico da *A. angustifolia* (classe de altitude entre 1200 m e 1400 m). Em contrapartida, esses habitats mais favoráveis ao fluxo gênico são em sua maior parte (71,1%) contemplados pela rede atual de áreas protegidas (FIGURA 3). Ou seja, embora sejam menos representativos em extensão territorial em relação à paisagem regional, os habitats favoráveis à *A. angustifolia* têm alta proporção de proteção formal.

Figura 3 – Distribuição das áreas protegidas na paisagem de estudo em relação aos habitats favoráveis ao fluxo gênico da *A. angustifolia*.



Legenda: as nove paisagens locais, onde se encontram as nove populações de *A. angustifolia*, estão representadas nos círculos pretos na imagem. Fonte: Da autora (2022).

## 4 DISCUSSÃO

Nós realizamos uma avaliação do potencial da paisagem e da influência das áreas protegidas na conservação da *A. angustifolia*, uma espécie de grande valor ecológico, cultural e econômico. A área de estudo foi a região do limite norte de ocorrência da *A. angustifolia*, historicamente muito alterada pela ação humana e que faz parte de uma rede de áreas protegidas, incluindo a região da Serra da Mantiqueira e do Parque Nacional do Itatiaia, considerados a oitava área insubstituível do planeta (LE SAOUT et al., 2013). Nós quantificamos as áreas protegidas da paisagem e analisamos a composição da matriz espacial em momentos distintos no tempo (anos de 1985 e 2020). Também, analisamos a cobertura de proteção proporcionada aos locais potencialmente mais adequados para o fluxo gênico da *A. angustifolia*. Tais análises nos permitiram entender a influência das áreas protegidas em salvaguardar os habitats naturais da *A. angustifolia* e em favorecer a sua conservação genética.

A combinação dos resultados deste estudo evidenciou que as transformações antropogênicas da paisagem foram predominantemente direcionadas às áreas de menor altitude, enquanto as áreas mais altas e de cadeias montanhosas se mantiveram menos alteradas. Isso coincidiu com uma tendência para a alocação de áreas protegidas de uso restrito na região, as quais foram preferencialmente destinadas às áreas íngremes e menos produtivas. Nesse sentido, isso qualificou os habitats favoráveis ao fluxo gênico da *A. angustifolia* (altitudes intermediárias na paisagem, entre 1200 m a 1400 m) como áreas de transição entre ambientes mais e menos conservados e formalmente protegidos.

No geral, mostramos que as áreas protegidas foram determinantes para direcionar os padrões de transformações na paisagem, controlando, impedindo ou ainda reduzindo a ocupação humana. Nossos achados forneceram suporte parcial às hipóteses inicialmente admitidas. De fato, observamos se tratar de uma paisagem com alta cobertura de áreas protegidas (62,3% em escala regional, com paisagens locais variando entre 42% a 100%), mas, embora tenham ocorrido transformações na paisagem ao longo do tempo, as áreas protegidas foram determinantes para o impacto dessas alterações, oferecendo proteção às populações de *A. angustifolia*.

### 4.1 Diagnóstico das áreas protegidas

Os dados da abrangência das áreas protegidas indicaram alto número de Unidades de Conservação (48) e alta proporção territorial de proteção legal na paisagem de estudo, tanto para em escala local (entre 42% e 100%), quanto em escala regional (62,3%). Isso condiz com a realidade do Brasil, que possui a mais extensa rede de áreas terrestres protegidas do mundo (UNEP-WCMC; IUCN, 2021) e com a realidade da Mata Atlântica, que detém o maior número de áreas protegidas dentre os biomas brasileiros (VIEIRA; PRESSEY; LOYOLA, 2019).

A criação de áreas protegidas é o pilar das estratégias de conservação da biodiversidade em todo o mundo, desempenhando um papel crucial para evitar a extinção de espécies (PLATAFORMA INTERGOVERNAMENTAL DE POLÍTICA CIENTÍFICA SOBRE BIODIVERSIDADE E SERVIÇOS ECOSSISTÊMICOS – IPBES, 2019). Apesar disso, considerar apenas o quantitativo sob proteção não é uma medida definitiva do sucesso da conservação (VIEIRA; PRESSEY; LOYOLA, 2019), pois pode-se superestimar o impacto positivo dessas áreas (PRESSEY; VISCONTI; FERRARO, 2015). Isso porque, no geral, as áreas protegidas tendem a cobrir apenas parte dos locais importantes para a biodiversidade, não tendo a representatividade ecológica total e podem não refletir necessidades e vulnerabilidades dos habitats e, ou, espécies, além de comumente serem demarcadas para minimizarem conflitos de interesses pelo uso produtivo da terra (IPBES, 2019; MASCIA; PAILLER, 2010; PRESSEY; COWLING; ROUGET, 2003; VIEIRA; PRESSEY; LOYOLA, 2019).

A maior parte das áreas protegidas mundiais permite o uso humano (PERES, 2011), inclusive no Brasil, onde as UC de Uso Sustentável também são maioria (VIEIRA; PRESSEY; LOYOLA, 2019). Nessas UC, o uso direto dos recursos naturais é permitido, teoricamente compatibilizando-se o desenvolvimento econômico à conservação da natureza (BRASIL, 2000). Neste estudo, evidenciamos a predominância das UC de Uso Sustentável, incluindo as duas maiores áreas protegidas da região: a APA Serra da Mantiqueira e APA Fernão Dias, que ocupam uma parcela significativa da atual rede de áreas protegidas e contribuem majoritariamente para a alta proporção de proteção formal da paisagem (TABELA 2).

Sob outra abordagem, considerando categorias de gestão da União Internacional para a Conservação da Natureza (IUNC), a APA Serra da Mantiqueira e a APA Fernão Dias são locais onde a interação entre a natureza e o homem ao longo do tempo formou paisagens de significativo valor ecológico, biológico, cultural e cênico, que devem ser protegidas a partir uma interação equilibrada entre a natureza e as comunidades do entorno (DUDLEY, 2008;

UNEP-WCMC; IUCN, 2021). Essas áreas podem atuar principalmente como um tampão em torno de outras áreas onde a proteção é efetivamente maior e formar habitats de ligação entre locais mais protegidos (DUDLEY, 2008).

Independentemente da abordagem, esse modelo relativamente flexível entre a natureza e os seres humanos pode ter um custo para as espécies e habitats. Na prática, o manejo mal dimensionado das atividades rurais e a ocupação desordenada em locais com restrições ambientais são problemas conhecidos da região da APA Serra da Mantiqueira e da APA Fernão Dias (DETZEL CONSULTING, 2018; IEF, 2008), os quais impactam negativamente os recursos naturais na paisagem de estudo. Por isso, embora seja válido considerarmos a cobertura total de áreas protegidas ao analisarmos o potencial da paisagem na conservação presente e futura da *A. angustifolia*, este indicador não deve ser observado isoladamente, sob o risco de subestimarmos o impacto das características dos habitats e das pressões antropogênicas sobre uma espécie já vulnerável, como a *A. angustifolia*. Além disso, desconsideraríamos o recorrente abismo que há entre a teoria das políticas conservacionistas e a prática das limitações de gestão e fiscalização das áreas protegidas no Brasil.

### **4.3 Diagnóstico do uso e ocupação do solo na paisagem**

Neste estudo, consideramos a premissa de que a ocupação antropogênica tem potencial para modificar os elementos da paisagem e interferir em processos biológicos e ecológicos (HOLDEREGGER; WAGNER, 2008; STORFER et al., 2010), influenciando padrões genéticos das espécies (LEIMU et al., 2010). Por isso, inserimos à nossa investigação camadas espaciais de uso e ocupação do solo em momentos distintos do tempo (1985 e 2020), o que possibilitou caracterizar a paisagem numa abordagem espaço-temporal.

Especificamente para as populações de *A. angustifolia* deste estudo, há evidências de que a ocupação antropogênica atual não está relacionada aos padrões genéticos e ao fluxo gênico corrente (FERRAZ, 2022). Isso, provavelmente, é devido ao atraso nas respostas genéticas característico de espécies de ciclo de vida longo (KRAMER et al., 2008), como é o caso da *A. angustifolia* (BITTENCOURT; SEBBENN, 2007). Assim, já que as respostas genéticas da paisagem atual seriam manifestadas nas futuras gerações dessas populações, direcionamos nossa discussão considerando o potencial da paisagem atual em garantir habitats seguros e propícios para a conservação da *A. angustifolia* a longo prazo, levando-se em conta o padrão de alteração da paisagem no tempo e a influência da rede de áreas protegidas sobre essas transformações.

A caracterização do uso do solo na paisagem mostrou que as populações de *A. angustifolia* estão inseridas em um ambiente heterogêneo formado por habitats muito fragmentados e antropizados (TABELA 4). A comparação entre os anos de 1985 e 2020 revelou três principais considerações: i) em escala regional, a paisagem perdeu habitats florestais e está mais fragmentada atualmente do que há algumas décadas; ii) em escala local, visualizamos resultados contrastantes, em que houve tanto perda e fragmentação de florestas (paisagens 1 a 4) quanto aumento na cobertura e conectividade florestal (paisagens 5 a 9), coincidindo em ambos os casos com a criação de áreas protegidas; e iii) a antropização da região, embora alta, antecede a demarcação da maioria das áreas protegidas atuais. No geral, evidenciamos a influência das áreas protegidas no ordenamento dos elementos espaciais e na transformação da paisagem ao longo do tempo.

A redução da cobertura florestal na paisagem entre 1985 e 2020 ocorreu em taxas relativamente baixas (6.040,9 hectares totais, ou 0,5%, em 35 anos), em comparação ao padrão acelerado das mudanças no uso do solo em outros ambientes naturais brasileiros (BEUCHLE et al., 2015; POLIZEL et al., 2021; SILVEIRA et al., 2022). Contudo, trata-se de um efeito indesejável da ocupação humana na região e que é especialmente relevante dado o contexto de ambiente altamente devastado já atribuído à Mata Atlântica (MYERS et al., 2000; RIBEIRO et al., 2009) e às Florestas de Araucárias (FOREST et al., 2018; GUERRA et al., 2002).

A contínua perda e fragmentação de florestas podem reduzir ainda mais o tamanho efetivo das populações remanescentes de *A. angustifolia* na região e conduzir a consequências genéticas negativas, como deriva, endogamia e perda de diversidade (LEIMU et al., 2010). Além disso, com os ambientes florestais menores e mais fragmentados, como detectamos neste estudo para as paisagens 1, 2, 3 e 4 e para a paisagem regional (TABELA 4), a distância geográfica entre os habitats da *A. angustifolia* pode aumentar. A distância geográfica entre populações influencia o fluxo gênico e os padrões genéticos da *A. angustifolia* (DE SOUSA et al., 2020), e este efeito foi evidenciado para as populações deste estudo, incluindo as populações das paisagens 1, 3 e 4 (FERRAZ, 2022).

Identificamos que boa parte das áreas protegidas que compõem as paisagens onde a cobertura florestal aumentou (paisagens 5 a 9), são constituídas por Parques de uso restrito. Em contrapartida, as áreas protegidas que compõem as paisagens onde a cobertura florestal diminuiu (paisagens 1 a 4) são em sua maioria áreas de uso sustentável (TABELA 2 e TABELA 3). Inicialmente, isto nos leva a acreditar que a categoria de gestão das áreas protegidas foi o fator determinante para garantir a conservação da natureza nos últimos anos.

Contudo, observamos uma tendência na criação das áreas protegidas nessas paisagens, onde as áreas de uso restrito estão localizadas nas regiões de cadeias montanhosas, enquanto as áreas de uso sustentável ocupam as regiões mais baixas e planas (FIGURA 2 e FIGURA 3), o que é compatível com o que acontece em outras regiões da Mata Atlântica (VIEIRA; PRESSEY; LOYOLA, 2019). Logo, não conseguimos determinar se o aumento dos habitats florestais ocorreu devido à real efetividade das áreas protegidas ou devido à improdutividade das áreas íngremes. Provavelmente a combinação dos dois aspectos contribuiu para esse resultado.

De todo modo, verificamos que a antropização em toda a região já era alta desde o primeiro mapeamento analisado (ano de 1985), período em que, até então, havia menos áreas protegidas em comparação com o segundo mapeamento, em 2020 (FIGURA 2 e TABELA 2). Nossas observações confirmam o fato de que o sistema de áreas protegidas brasileiro foi expandido mais rapidamente a partir da década de 1980, acompanhando as iniciativas internacionais para a conservação da natureza (UNEP-WCMC; IUCN, 2021). Sendo assim, percebemos que na paisagem de estudo o conjunto de áreas protegidas tem atuado predominantemente no sentido de controlar a expansão do uso e ocupação do solo pelas atividades humanas.

Logicamente, áreas protegidas de uso restrito proporcionam níveis menores de pressão humana sobre a natureza e, neste estudo, contribuíram para aumentar e conectar os habitats florestais. Mas, independentemente da categoria de gestão, as áreas protegidas são especialmente eficazes em comparação com a não proteção (FRANÇOSO et al., 2015; GELDMANN et al., 2019) e, sempre que possível, sua implementação deve ser considerada no planejamento da conservação. Embora esses espaços territoriais nem sempre mantenham o cenário de conservação esperado (PAYÉS; PAVÃO; DOS SANTOS, 2013), seus efeitos na prevenção de mudanças do uso e ocupação do solo e na perda de habitats florestais costumam ser positivos (GELDMANN et al., 2013), conforme evidenciamos neste estudo.

#### **4.2 Proteção de habitats favoráveis ao fluxo gênico da *A. angustifolia***

A conservação de espécies em áreas protegidas pode ser beneficiada com a inclusão de dados genéticos e de habitats adequados ao fluxo gênico, o que geralmente não é contemplado por métodos convencionais de promoção de conectividade, por exemplo, o agrupamento espacial de áreas prioritárias (HANSON; FULLER; RHODES, 2019). Não considerar aspectos como a resistência que os elementos da paisagem podem oferecer às trocas genéticas

pode implicar no prejuízo à manutenção de altos níveis de fluxo gênico (HANSON; FULLER; RHODES, 2019) afetando, conseqüentemente, a diversidade genética e a sobrevivência das espécies ao longo das gerações (REED, 2007).

Nós consideramos a altitude do terreno como um fator condicionante do fluxo gênico da *A. angustifolia* na região deste estudo e admitimos que a altitude mais favorável para as trocas genéticas corresponde, em média, a 1300 metros, com base no estudo de modelagem de resistência da paisagem de Ferraz (2022). Consideramos também como referência as evidências teóricas sobre a faixa de altitude onde a espécie é distribuída na região do seu limite norte de ocorrência, que corroboraram a nossa decisão (GUERRA et al., 2002; OLIVEIRA-FILHO et al., 2015; VEBLEN et al., 1995). Os resultados da classificação da elevação do terreno mostraram que essa altitude representa faixas intermediárias na paisagem e que predominam habitats potencialmente mais resistentes ao fluxo gênico e menos adequados para a conservação da *A. angustifolia* (FIGURA 3).

A sobreposição das camadas espaciais de elevação e de áreas protegidas revelou que os habitats favoráveis para a conservação da *A. angustifolia*, compõem uma zona de transição entre as áreas com maior e menor proteção formal e que as áreas protegidas estão predominantemente localizadas nas regiões mais altas e de cadeias montanhosas (FIGURA 3). Além disso, ao compararmos tais informações com o mapeamento do uso do solo, verificamos que esses habitats favoráveis estão entre áreas mais e menos antropizadas. De fato, a tendência global para a alocação de áreas protegidas é priorizar regiões que evidentemente já seriam pouco alteradas pelas atividades humanas, como as regiões de cadeias montanhosas (PRESSEY; VISCONTI; FERRARO, 2015). Especialmente na Mata Atlântica, a maioria das áreas protegidas são destinadas para encostas de inclinação moderada a muito íngremes, minimizando conflitos de interesses pelo uso da terra (VIEIRA; PRESSEY; LOYOLA, 2019).

Nossos resultados evidenciaram que os habitats mais favoráveis para a *A. angustifolia*, que proporcionam menor resistência ao fluxo gênico, já possuem uma proporção relativamente alta de proteção (71,1%) (FIGURA 3). Com isso, sugerimos que a paisagem atual tem potencial para a efetiva conservação das populações remanescentes de *A. angustifolia* a longo prazo, mediante a incorporação de estratégias complementares que considerem esses habitats no planejamento do uso do solo.

#### **4.4 Implicações para a conservação da *A. angustifolia***



A combinação dos dados genéticos com os resultados da análise da paisagem mostra que a população 3 (localizada em Delfim Moreira, Minas Gerais) e a população 9 (localizada em Liberdade, Minas Gerais) merecem ter estratégias de conservação mais pontuais, considerando suas particularidades. Ambas demonstram ser mais distantes geneticamente das demais populações e estão inseridas em paisagens bem fragmentadas. Além disso, ambas são contempladas apenas pela APA da Serra da Mantiqueira, onde é permitido o uso direto dos recursos e atividades produtivas. Contudo, enquanto a população 3 tem alta proporção de proteção (98,7%), está circundada por habitats menos favoráveis ao fluxo gênico da *A. angustifolia* (FIGURA 3) e perdeu florestas nas últimas décadas, o inverso ocorre na população 9, que tem menos áreas protegidas (45,7%), está situada em áreas de maior permeabilidade às trocas genéticas e teve aumento de cobertura florestal com o tempo.

Nesse caso, ambas as populações poderão ser beneficiadas com estratégias de enriquecimento, mediante plantio planejado de indivíduos geneticamente distintos ao longo da paisagem que as separa das demais populações. Sugerimos que os fragmentos de habitats florestais ou campos naturais sejam priorizados no planejamento do plantio de *A. angustifolia* uma vez que a tendência é que indivíduos jovens sejam removidos das áreas de uso antropogênico ou muito próxima delas para evitar perda de área produtiva no futuro (QUINTEIRO et al., 2019). Também, sugerimos que a altitude do terreno seja considerada, para que as chances de sucesso do enriquecimento a longo prazo sejam maximizadas. Especificamente para a população 9, que tem menos proteção formal, acreditamos que, no momento atual, o plantio de indivíduos seja mais eficaz em relação a proposição de corredores ecológicos ou delimitação de novas áreas protegidas, por reduzir entraves políticos e burocráticos.

Considerando a alta cobertura por áreas protegidas e a alta antropização da paisagem, acreditamos que o manejo extrativista das sementes de *A. angustifolia* das populações remanescentes pode ser uma estratégia interessante para a conservação da espécie na região. A *A. angustifolia* tem um forte valor histórico e cultural, expressado principalmente pelo consumo das sementes. Na região de estudo, a espécie é símbolo da cultura local e há festividades que evidenciam sua relação com as comunidades, onde as sementes são muito apreciadas (DETZEL CONSULTING, 2018). Ressaltamos a importância de negociações diretas entre os agricultores que compõem a base do extrativismo e os consumidores, possibilitando um pagamento mais justo por quilo de semente coletado e estimulando a rentabilidade das araucárias em pé.

Adicionalmente, apontamos uma reflexão que pode vir a se tornar um campo de investigação e aprofundamento: na região deste estudo, as áreas mais protegidas contemplam principalmente as cadeias montanhosas de elevada altitude. Há perspectivas de que alguns habitats atuais podem se tornar inadequados para a *A. angustifolia* no futuro, direcionando-a a ocupar áreas cada vez mais altas (CASTRO et al., 2019; MACHIORO et al., 2020; WILSON et al., 2019), o que poderia dificultar o fluxo gênico da espécie (FERRAZ, 2022). Contudo, é possível que isso seja compensado no momento atual, a partir de estratégias complementares, por exemplo, a migração assistida direcionada às áreas altas, sob a vantagem de serem beneficiadas pela alta proteção e baixíssima antropização dessas regiões.

Realizamos nossos apontamentos e as implicações destes para a conservação das populações de *A. angustifolia* na região de estudo com base na paisagem e rede de áreas protegidas atuais. Particularmente no Brasil, as áreas protegidas são facilmente passíveis de mudanças em seus limites e de relaxamento no status de proteção (BERNARD; PENNA; ARAÚJO, 2014; PACK et al., 2016). Logo, ressaltamos que, caso isso ocorra, as propostas apresentadas podem ser reavaliadas e novos esforços mais urgentes podem ser direcionados.

## 5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Para evitar possíveis extinções locais, as populações de *A. angustifolia* da região deste estudo devem ser ativamente gerenciadas, especialmente por estratégias de conservação *in situ*, como o enriquecimento planejado. O monitoramento da diversidade e estrutura genética devem ser incentivados para continuar estudando, planejando e executando a conservação das áreas. Entendendo as limitações de gestão das áreas protegidas brasileiras, sugerimos duas populações prioritárias. No geral, serão necessários esforços adicionais envolvendo o poder público e as comunidades humanas para a conservação mais eficaz da *A. angustifolia* em seu limite norte de ocorrência.

Esta investigação apresenta um exemplo de que projetar áreas protegidas somente considerando a extensão territorial ou áreas menos produtivas e remotas não é chave do sucesso e, para as populações de *A. angustifolia* estudadas, pode não implicar na sua conservação genética a longo prazo. Os resultados deste trabalho mostram alta proporção de habitats favoráveis ao fluxo gênico que já se encontram formalmente protegidos e reforçam o papel da rede de áreas protegidas da região em resguardar a paisagem das ações humanas indiscriminadas. Assim, é possível que estratégias de conservação da *A. angustifolia* sejam

mais facilmente implementadas na região e consigam resultados eficazes a longo prazo, o que evidencia o potencial da paisagem de estudo para a conservação da *A. angustifolia*.

## **6 AGRADECIMENTOS**

À Universidade Federal de Lavras (UFLA) pelo apoio para a realização deste estudo. O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

## REFERÊNCIAS

- AULER, N. M. F. et al. The genetics and conservation of *Araucaria angustifolia*: I. Genetic structure and diversity of natural populations by means of non-adaptive variation in the state of Santa Catarina, Brazil. **Genetics and Molecular Biology**, v. 25, n. 3, p. 329–338, 2002.
- BERNARD, E.; PENNA, L. A. O.; ARAÚJO, E. Downgrading, Downsizing, Degazettement, and Reclassification of Protected Areas in Brazil. **Conservation Biology**, v. 28, n. 4, p. 939–950, 2014.
- BEUCHLE, R. et al. Land cover changes in the Brazilian Cerrado and Caatinga biomes from 1990 to 2010 based on a systematic remote sensing sampling approach. **Applied Geography**, v. 58, p. 116–127, 2015.
- BITTENCOURT, J. V. M.; SEBBENN, A. M. Genetic effects of forest fragmentation in high-density *Araucaria angustifolia* populations in Southern Brazil. **Tree Genetics and Genomes**, v. 5, n. 4, p. 573–582, 2009.
- BITTENCOURT, J. V. M.; SEBBENN, A. M. Patterns of pollen and seed dispersal in a small, fragmented population of the wind-pollinated tree *Araucaria angustifolia* in southern Brazil. **Heredity**, v. 99, n. 6, p. 580–591, 2007.
- BITTENCOURT, J. V. M.; SEBBENN, A. M. Pollen movement within a continuous forest of wind-pollinated *Araucaria angustifolia*, inferred from paternity and TwoGener analysis. **Conservation Genetics**, v. 9, n. 4, p. 855–868, 2008.
- BRASIL. **Decreto nº 91.304, de 3 de junho de 1985**. Dispõe sobre implantação de área de proteção ambiental nos estados de Minas Gerais, Rio de Janeiro e São Paulo, e dá outras providências. Disponível em: <<https://www2.camara.leg.br/legin/fed/decret/1980-1987/decreto-91304-3-junho-1985-441986-publicacaooriginal-1-pe.html>>. Acesso em: 12 abr. 2022.
- BRASIL. Lei nº 9.985, de 18 de julho de 2000. Regulamenta o art. 225, § 1º, incisos I, II, III e VII da Constituição Federal, institui o Sistema Nacional de Unidades de Conservação da Natureza e dá outras providências. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil** Disponível em: <[http://www.planalto.gov.br/ccivil\\_03/leis/19985.htm](http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/leis/19985.htm)>. Acesso em: 03 maio 2022.
- BRASIL. Lei nº 11.428, de 22 de dezembro de 2006. Dispõe sobre a utilização e proteção da vegetação nativa do Bioma Mata Atlântica, e dá outras providências. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 26 dez. 2006. Disponível em: <[http://www.planalto.gov.br/ccivil\\_03/\\_Ato2004-2006/2006/Lei/L11428.htm](http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_Ato2004-2006/2006/Lei/L11428.htm)>. Acesso em: 5 maio 2019.
- BRASIL. Ministério do Meio Ambiente, Conselho Nacional do Meio Ambiente, CONAMA. **Resolução CONAMA nº 278**, de 24 de maio de 2001. Dispõe sobre o corte e a exploração de espécies ameaçadas de extinção da flora da Mata Atlântica. Publicado no D.O.U de 18 julho 2001. Disponível em: <<http://www2.mma.gov.br/port/conama/legiabre.cfm?codlegi=276>>. Acesso em: 28 abr. 2019.

CASTRO, M. B. et al. Will the emblematic southern conifer *Araucaria angustifolia* survive to climate change in Brazil? **Biodiversity and Conservation**, v. 29, p. 591-607, 2019.

DE SOUSA, V. A. et al. Genetic diversity and biogeographic determinants of population structure in *Araucaria angustifolia* (Bert.) O. Ktze. **Conservation Genetics**, v. 21, p. 217-219, 2020.

DETZEL CONSULTING. Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade. **Plano de manejo da Área de Proteção Ambiental da Serra da Mantiqueira**. Detzel Consultores Associados S/S EPP. Brasília, 2018. 371 p. Disponível em: <[http://www.icmbio.gov.br/portal/images/stories/plano-de-manejo/plano\\_de\\_manejo\\_serra\\_da\\_mantiqueira\\_2018.pdf](http://www.icmbio.gov.br/portal/images/stories/plano-de-manejo/plano_de_manejo_serra_da_mantiqueira_2018.pdf)>. Acesso em: 01 maio 2019.

DUDLEY, N. (Ed). **Guidelines for Applying Protected Area Management Categories**. Gland, Switzerland: IUCN. 2008, 143 p.

FERRAZ, F. T. **Paisagem e genética de populações relictuais de *Araucaria angustifolia* (Bertol.) Kuntze**. 2022. 109 f. Tese (Doutorado em Engenharia Florestal) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG, 2022.

FOREST, F. et al. Gymnosperms on the EDGE. **Scientific Reports**, v. 8, n.1, p. 1-11, 2018.

FRANÇOSO, R. D. et al. Habitat loss and the effectiveness of protected areas in the Cerrado Biodiversity Hotspot. **Natureza e Conservação**, v. 13, n. 1, p. 35–40, 2015.

GELDMANN, J. et al. Effectiveness of terrestrial protected areas in reducing biodiversity and habitat loss. **Biological Conservation**, v. 161, p. 230–238, 2013.

GELDMANN, J. et al. A global-level assessment of the effectiveness of protected areas at resisting anthropogenic pressures. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 116, n. 46, p. 23209–23215. 2019.

GROSS, A. et al. Forest Ecology and Management Fragmentation as a key driver of tree community dynamics in mixed subtropical evergreen forests in Southern Brazil. **Forest Ecology and Management**, v. 411, n. August 2017, p. 20–26, 2018.

GUERRA, M. P. et al. Exploração, manejo e conservação da araucária (*Araucaria angustifolia*). In: SIMÕES, L. L.; LINO, C. F. (Eds.). **Sustentável Mata Atlântica: a exploração de seus recursos florestais**. 1. ed. São Paulo: SENAC São Paulo, 2002. p. 85–102.

HANSON, J. O.; FULLER, R. A.; RHODES, J. R. Conventional methods for enhancing connectivity in conservation planning do not always maintain gene flow. **Journal of Applied Ecology**, v. 56, n. 4, p. 913–922, 2019.

HOLDEREGGER, R.; WAGNER, H. H. Landscape genetics. **Encyclopedia of Biodiversity**, v. 58, n. 3, p. 199–207, 2008.

INSTITUTO BRASILEIRO DO MEIO AMBIENTE E DOS RECURSOS NATURAIS RENOVÁVEIS – IBAMA. **ibama embarga 600 hectares e apreende mil toneladas de soja na Mata Atlântica (PR)**. 2017. Disponível em: <<http://www.ibama.gov.br/noticias/422->

2017/1289-ibama-embarga-600-hectares-e-apreende-mil-toneladas-de-soja-na-mata-atlantica-pr>. Acesso em: 20 abr. 2022.

INSTITUTO BRASILEIRO DO MEIO AMBIENTE E DOS RECURSOS NATURAIS RENOVÁVEIS – IBAMA. **Ibama embarga 10 empresas por exploração ilegal de araucárias no PR**. 2018a. Disponível em: <<http://www.ibama.gov.br/ultimas-3/1432-ibama-embarga-10-empresas-por-exploracao-ilegal-de-araucarias-no-pr>>. Acesso em: 20 abr. 2022.

INSTITUTO BRASILEIRO DO MEIO AMBIENTE E DOS RECURSOS NATURAIS RENOVÁVEIS – IBAMA. **Ibama realiza operação conjunta com o MPE para proteção da Mata Atlântica no PR**. 2018b. Disponível em: <<http://www.ibama.gov.br/ultimas-3/1768-ibama-realiza-operacao-conjunta-com-o-mpe-para-protecao-da-mata-atlantica-no-pr>>. Acesso em: 20 abr. 2022.

INSTITUTO BRASILEIRO DO MEIO AMBIENTE E DOS RECURSOS NATURAIS RENOVÁVEIS – IBAMA. **Ibama interrompe desmatamento ilegal em floresta de araucária no Paraná durante pandemia de coronavírus**. 2020. Disponível em: <<http://www.ibama.gov.br/ultimas/2201-ibama-interrompe-desmatamento-ilegal-em-floresta-de-araucaria-no-parana-durante-pandemia-de-coronavirus>>. Acesso em: 20 abr. 2022.

INSTITUTO ESTADUAL DE FLORESTAS – IEF. **Plano de gestão da Área de Proteção Ambiental Fernão Dias**. Belo Horizonte: 2008. Disponível em: <<http://www.ief.mg.gov.br/areas-protegidas/gestao/1692-plano-de-manejo-apa-fernao-dias>>. Acesso em: 09 maio 2019.

KRAMER, A. T. et al. The paradox of forest fragmentation genetics. **Conservation Biology**, v. 22, n. 4, p. 878–885, 2008.

LAUTERJUNG, M. B. et al. Temporal changes in population genetics of six threatened Brazilian plant species in a fragmented landscape. **Forest Ecology and Management**, v. 435, n. January, p. 144–150, 2019.

LEIMU, R. et al. Habitat fragmentation, climate change, and inbreeding in plants. **Annals of The New York Academy of Sciences**, v. 1195, n. 1, p. 84–98, 2010.

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

MACHIORO, C. A. et al. Present and future of the critically endangered *Araucaria angustifolia* due to climate change and habitat loss. **Forestry**, v. 93, p. 401-410, 2020.

MANTOVANI, A.; MORELLATO, L. P. C.; DOS REIS, M. S. Internal genetic structure and outcrossing rate in a natural population of *Araucaria angustifolia* (Bert.) O. Kuntze. **Journal of Heredity**, v. 97, n. 5, p. 466–472, 2006.

MAPBIOMAS. Projeto MapBiomias – **Coleção 6 da Série Anual de Mapas de Cobertura e Uso de Solo do Brasil**. 2022. Disponível em: <[https://mapbiomas.org/colecoes-mapbiomas-1?cama\\_set\\_language=pt-BR](https://mapbiomas.org/colecoes-mapbiomas-1?cama_set_language=pt-BR)>. Acesso em: 2 mar. 2022.

MASCIA, M.B.; PAILLER, S. Protected area downgrading, downsizing, and degazettement (PADDD) and its conservation implications. **Conserv. Lett.**, v. 4, n. 1, p. 9–20, 2010.

MCGARIGAL, K., MARKS, B. J. **FRAGSTATS**: Spatial pattern analysis program for quantifying categorical maps. Forest Science Department, Oregon State University, Corvallis, 1995, 112p.

MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE – MMA. **Cadastro Nacional de Unidades de Conservação**. Painel Unidades de Conservação Brasileiras. 2021. Disponível em: <<https://antigo.mma.gov.br/areas-protegidas/cadastro-nacional-de-ucs>>. Acesso em: 23 maio 2022.

MYERS, N. et al. Biodiversity hotspots for conservation priorities. **Nature**, v. 403, p. 853–858, 2000.

NODARI, E. Historia de la devastación del Bosque de Araucaria en el sur del Brasil. **Revista Internacional de Ciencias Sociales**, v. 35, p. 75-85, 2016.

OLIVEIRA-FILHO, A. T. et al. Delving into the variations in tree species composition and richness across South American subtropical Atlantic and Pamean forests. **Journal of Plant Ecology**, v. 8, n. 3, p. 242-260, 2015.

ORGANIZAÇÃO DAS NAÇÕES UNIDAS PARA A EDUCAÇÃO, A CIÊNCIA E A CULTURA – UNESCO. **Reservas da Biosfera**. 2020. Disponível em: <<https://en.unesco.org/node/314143>>. Acesso em: 07 jan. 2021.

PACK, S. M. et al. Protected area downgrading, downsizing, and degazettement (PADDD) in the Amazon. **Biological Conservation**, v. 197, p. 32–39, 2016.

PAYÉS, A. C. L. M.; PAVÃO, T.; DOS SANTOS, R. F. The conservation success over time: Evaluating the land use and cover change in a protected area under a long re-categorization process. **Land Use Policy**, v. 30, p. 177–185, 2013.

PERES, C. A. Conservation in Sustainable-Use Tropical Forest Reserves. **Conservation Biology**, v. 25, n. 6, p. 1124–1129, 2011.

PLATAFORMA INTERGOVERNAMENTAL DE POLÍTICA CIENTÍFICA SOBRE BIODIVERSIDADE E SERVIÇOS ECOSISTÊMICOS – IPBES. **The global assessment report on biodiversity and ecosystem services**: summary for policymakers. IPBES secretariat, Bonn, Germany. 56 pages. 2019. Disponível em: <<https://zenodo.org/record/3553579#.YABWk1VKi00>>. Acesso em: 14 jan 2021.

POLIZEL, S. P. et al. Analysing the dynamics of land use in the context of current conservation policies and land tenure in the Cerrado – MATOPIBA region (Brazil). **Land Use Policy**, v. 109, p. 1–21, 2021.

PRESSEY, R. L.; COWLING, R. M.; ROUGET, M. Formulating conservation targets for biodiversity pattern and process in the Cape Floristic Region, South Africa. **Biological Conservation**, v. 112, p. 99–127, 2013.

PRESSEY, R. L. VISCONTI, P. FERRARO, P. J. Making parks make a difference: poor alignment of policy, planning and management with protected-area impact, and ways forward. **Phil. Trans. R. Soc. B**, v. 370, p. 2–19, 2015.

QUINTEIRO, M. M. C. et al. Brazilian Pine (*Araucaria angustifolia* (Bertol.) Kuntze) Ethnoecology in the Mantiqueira Atlantic Forest. **Floresta e Ambiente**, v. 26, n. 1, p. 1-7, 2019.

RIBEIRO, M. C. et al. The Brazilian Atlantic Forest: how much is left, and how is the remaining forest distributed? Implications for conservation. **Biological Conservation**, v. 142, p. 1141–1153, 2009.

SILVEIRA, J. G. D. et al. Land Use, Land Cover Change and Sustainable Intensification of Agriculture and Livestock in the Amazon and the Atlantic Forest in Brazil. **Sustainability**, v. 14, p. 1–23, 2022.

STORFER, A. et al. Landscape genetics: Where are we now? **Molecular Ecology**, v. 19, n. 17, p. 3496–3514, 2010.

THOMAS, P. 2013. *Araucaria angustifolia*. The IUCN Red List of Threatened Species 2013. Disponível em: <<https://www.iucnredlist.org/species/32975/2829141>>. Acesso em: 25 abr. 2019.

UNEP-WCMC; IUCN. **Protected Planet Report 2020**. UNEP-WCMC and IUCN: Cambridge UK; Gland, Switzerland. 2021. Disponível em: <<https://liverreport.protectedplanet.net/>>. Acesso em: 3 maio 2022.

VEBLEN, T. T., et al. The ecology of the conifers of southern south America. In: R. S. ENRIGHT N. J.; HILL, ed., **Ecology of Southern Conifers**: Victoria, Melbourne University Press, p. 120-155, 1995.

VIEIRA, R. R. S.; PRESSEY, R. L.; LOYOLA, R. The residual nature of protected areas in Brazil. **Biological Conservation**, v. 233, p. 152–161, 2019.

WILSON, O. J. et al. Cold spot microrefugia hold the key to survival for Brazil's Critically Endangered Araucaria tree. **Global Change Biology**, v. 25, p. 4339-4351, 2019.



## MATERIAL SUPLEMENTAR

### Informações de suporte do Material e Métodos

Tabela S1 – Localização das populações de *Araucaria angustifolia* deste estudo, por município, em Minas Gerais, Brasil.

População	Cidade de origem	Coordenadas Centrais
1	Extrema	W 46°13'41.507"; S 22°51'44.689"
2	Gonçalves	W 45°53'32.929"; S 22°38'53.859"
3	Delfim Moreira	W 45°18'14.541"; S 22°29'42.342"
4	Passa Quatro	W 44°58'50.566"; S 22°24'49.307"
5	Itamonte	W 44°46'11.631"; S 22°16'24.595"
6	Alagoa	W 44°40'45.356"; S 22°11'50.474"
7	Aiuruoca	W 44°36'48.252"; S 22°5'19.702"
8	Bocaina	W 44°24'27.334"; S 22°13'0.029"
9	Liberdade	W 50°21'46.494"; S 22°2'53.584"

Fonte: da autora (2022).

Tabela S2 – Matriz de distância geográfica (km) entre pares das populações de *A. angustifolia*.

População	População									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	
1	0									
2	41,84	0								
3	103,28	62,83	0							
4	137,48	97,29	34,47	0						
5	163,49	122,72	60,21	26,69	0					
6	175,48	134,47	72,28	39,21	12,58	0				
7	186,90	145,52	84,16	52,21	26,04	13,08	0			
8	200,39	160,1	97,31	62,93	37,86	28,08	25,51	0		
9	212,03	170,93	108,85	75,43	48,81	36,57	26,23	19,21	0	

Legenda: as distâncias apresentadas referem-se às distâncias geográficas lineares entre os centroides das populações, em quilômetros. Fonte: da autora (2022).

## APÊNDICE A – SCRIPT COMENTADO PARA A EXECUÇÃO DAS ANÁLISES GENÉTICAS NO R STUDIO

Neste Apêndice A são apresentados comandos e instruções para a execução de análises genéticas em ambiente de programação R (RStudio). As análises apresentadas foram realizadas na condução desta tese e alguns comandos precisarão ser adaptados conforme o objetivo do estudo e o conjunto de dados. Ainda, é possível usar as informações apresentadas como referência, auxiliando na condução de outras análises genéticas não abordadas.

### 1 PREPARAÇÃO DOS DADOS

O primeiro passo para executar as análises genéticas consiste em montar uma planilha eletrônica com os dados de entrada. Um modelo hipotético é apresentado na Figura A1. A ordem das colunas deve ser mantida como apresentado e não deverão existir espaços, sinais gráficos ou de pontuação ao nomeá-las. O sinal “\_” é permitido.

Figura A1 – Modelo hipotético de planilha eletrônica com os dados de entrada para as análises genéticas no RStudio.

	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J
1	id_pop	populacao	meters_x	meters_y	decimal_x	decimal_y		id	locusAG45	locusAG45
2	1	A	506781,1578	7534265,886	-44,62598333	-22,84911121	1	A01	162	162
3	2	A	507072,7615	7534523,822	-44,62466667	-22,84877275	2	A02	160	160
4	3	A	507101,9305	7535023,801	-44,62133333	-22,84873084	3	A03	162	162
5	4	A	507057,3229	7535101,597	-44,6236	-22,8488238	4	A04	160	160
6	5	A	506981,8735	7535319,388	-44,62373333	-22,8486513	5	A05	162	162
7	6	A	507093,4477	7535865,193	-44,62455	-22,83289114	6	A06	162	162
8	7	A	507129,4953	7536018,453	-44,62595	-22,83267975	7	A07	162	162
9	8	A	507098,6624	7536133,195	-44,62428333	-22,83236241	8	A08	160	162
10	9	A	507174,1279	7536249,74	-44,6234	-22,82405108	9	A09	162	162
11	10	A	507112,4016	7536507,676	-45,85494541	-22,81693577	10	A10	160	162
12	11	B	565352,2158	7494840,216	-45,85555712	-22,13568333	1	B01	162	162
13	12	B	565333,2785	7494909,604	-45,85575267	-22,13516667	2	B02	162	162
14	13	B	565264,8131	7494639,955	-45,85601653	-22,13098333	3	B03	162	162
15	14	B	565203,1486	7494547,847	-45,85605559	-22,1288	4	B04	162	162
16	15	B	565129,2866	7494348,554	-45,85635348	-22,12636667	5	B05	160	162
17	16	B	563100,7634	7493746,91	-45,85592944	-22,1206	6	B06	162	162
18	17	B	562955,9773	7493563,917	-45,85624108	-22,1199	7	B07	160	160
19	18	B	562852,6176	7493813,441	-45,85715387	-22,1051	8	B08	162	162
20	19	B	562620,5469	7494263,744	-45,85842666	-22,07683333	9	B09	162	162
21	20	B	562347,6017	7494059,142	-45,85842666	-22,07683333	10	B10	162	162

\*id\_pop: números de identificação ou quantidade dos elementos em ordem crescente; populacao: identificação da população; meters\_x: coordenadas geográficas de latitude, em UTM; meters\_y: coordenadas geográficas de longitude, em UTM; decimal\_x: coordenadas geográficas de latitude, em

graus decimais; `decimal_y`: coordenadas geográficas de longitude, em graus decimais; coluna sem título: quantidade de indivíduos, enumerados por população; `id`: identificação do indivíduo; `locus`: nome do locus, com duas colunas, representando os dois alelos. Fonte: Da autora (2022).

A quantidade de colunas destinadas aos loci variará conforme o conjunto de dados. Por exemplo, para 10 primers, haverá 20 colunas com os respectivos loci, que conterão a genotipagem para os dois alelos. Para importação e utilização no RStudio, será necessário salvar uma versão da planilha na extensão `.CSV`.

## 2 ANÁLISES GENÉTICAS

Para a condução das análises e instalação de outros pacotes R, é necessário se certificar de que os pacotes `RTools` e `devtools` estejam instalados. A seguir, para facilitar a visualização e interpretação das instruções, os comandos estão apresentados na cor azul e os comentários acerca dos comandos estão representados na cor verde.

### 2.1 Pacotes necessários e preparação dos dados

```
require(adegenet)
require(devtools)
require(pegas)
require(sp)
require(PopGenReport)
require(dplyr)
require(poppr)
require(EcoGenetics)
require(gstudio)
require(ggmap)
require(hierfstat)
require(PerformanceAnalytics)
library(ggplot2)

#Definir diretório para adicionar o banco de dados
setwd("C:/inserir diretório principal de trabalho)
dados<-read.csv("C:/inserir caminho para chegar à planilha de interesse/planilha de
interesse.csv)

#Criar uma tabela de trabalho
file<-"C:/inserir caminho para chegar à planilha de interesse/planilha de interesse.csv"
dados<- read.csv(file, header = T, sep = ",")
head(dados) #Chama o cabeçalho da tabela
```

```
#Unir os pares de locus em uma única coluna cada
dados_pop<- read_population(file,type= "column", locus.columns = c(9:24), header=T,
sep=";") #Em locus.columns os números indicam as colunas onde iniciam e onde terminam os
dados dos alelos. Variável conforme o conjunto de dados.
dados_pop[dados_pop==""]=NA #Substitui espaços vazios por NA
head(dados_pop)
```

## 2.2 Criação do objeto *genind* e análises preliminares do conjunto de dados.

A classe de objeto *genind* é utilizada para o cálculo de diversos parâmetros e também fornece uma análise genética básica da população. Análises genéticas preliminares do conjunto de dados podem ser necessárias para um melhor entendimento da natureza e da qualidade dos dados, bem como para verificar as suposições subjacentes aos modelos genéticos populacionais e métodos correspondentes.

#Criação do objeto *genind*

```
dados_genind<- adegenet::df2genind(dados_pop[1:450,c(9:16)],sep=":", ncode = NULL,
                                ind.names = dados_pop$ind,
                                loc.names = NULL,
                                pop=dados_pop$populacao,
                                NA.char = " ",
                                ploidy = 2,
                                type = c("codom"),
                                strata = NULL,
                                hierarchy = NULL) #Em dados_pop, os números
correspondem à quantidade de indivíduos e aos números as colunas onde iniciam e onde
terminam os dados dos alelos. Variável conforme o conjunto de dados.
```

#Visualizar o objeto *genind* criado

```
summary(dados_genind)
dados_genind@ #Mostra outras opções de visualização dos dados genind
```

#Informações genéticas gerais a partir do objeto *genind*

```
Sum<- summary(dados_genind)
names (Sum)
Sum$n #número total de indivíduos
Sum$n.by.pop #número de indivíduos de cada população
Sum$loc.n.all #número total de alelos encontrados em cada loco
Sum$pop.n.all #número total de alelos encontrados em cada população
Sum$NA.perc #percentual de dados faltantes
Sum$Hobs #heterozigidade observada em cada loco
Sum$Hexp #heterozigidade esperada em cada loco
```

**#Análise de polimorfismo**

```
genetic_diversity(dados_pop, mode = "Pe", small.N = TRUE)
```

**#Análise de alelos nulos.**

```
Null.alleles<- null.all(dados_genind)
```

```
Null.alleles$homozygotes$observed #Número observado de homocigotos por alelo em cada locus
```

```
Null.alleles$homozygotes$probability.obs #Probabilidade do número de homocigotos em cada alelo
```

```
round(Null.alleles$null.allele.freq$summary2,3) #Consulte "?Null.all" no R para detalhes sobre a função null_all e escolha do método para $summary
```

**#Análise de desequilíbrio de ligação.**

```
ia(dados_genind, sample=999) #Os valores de p.Ia e p.rD fornecidos pela função, referem-se ao valor-p dos índices de associação, indicando a significância.
```

**#Análise da qualidade dos microssatélites.**

```
LD.pair<- pair.ia(dados_genind) #Valores menores de r.D evidenciam maior qualidade dos marcadores.
```

**#Análise de Equilíbrio de Hardy-Weinberg (HWE).**

```
round(hw.test(dados_genind, B = 1000)) O padrão é B = 1000 permutações de Monte Carlo (para pular este teste, defina B = 0 e apenas o  $\chi^2$  será realizado).
```

**#HWE a partir do teste  $\chi^2$** 

```
HWE.test<- data.frame(sapply(seppop(dados_genind),  
function(ls),
```

```
hw.test(ls, B=0)[,3])) #HWE por locus e por população. O número 3 refere-se à 3ª coluna, correspondente ao valor-p do  $\chi^2$ .
```

```
HWE.test.chisq<- t(data.matrix(HWE.test)) #Transpõe linhas e colunas
```

```
round(HWE.test.chisq,3) #Valores serão arredondados em 3 casas
```

```
write.csv(HWE.test.chisq , "desviosHWE.csv", row.names = TRUE) #Para gerar e salvar planilha, caso seja de interesse.
```

**#HWE a partir do teste de Monte Carlo**

```
HWE.test<- data.frame(sapply(seppop(dados_genind),  
function(ls),
```

```
hw.test(ls, B=1000)[,4])) Os números referem-se a 1000 permutações e à 4ª coluna, correspondente ao valor-p do MC.
```

```
HWE.test.MC <- t(data.matrix(HWE.test))
```

```
round(HWE.test.MC,3)
```

**#Proporções por locus fora do HWE**

```
alpha=0.05
```

```
Prop.loci.out.of.HWE<- data.frame(Chisq=apply(HWE.test.chisq<alpha, 2, mean),
```

```
MC=apply(HWE.test.MC<alpha, 2, mean))
```

```
Prop.loci.out.of.HWE
```

```

#Proporções por população fora do HWE
alpha=0.05
Prop.pops.out.of.HWE<- data.frame(Chisq=apply(HWE.test.chisq<alpha, 1, mean),
MC=apply(HWE.test.MC<alpha, 1, mean))
Prop.pops.out.of.HWE

#Correção False Discovery Rate para o controle dos falsos positivos no HWE.
Chisq.fdr<- matrix(p.adjust(HWE.test.chisq,method="fdr"),
nrow=nrow(HWE.test.chisq))
MC.fdr<- matrix(p.adjust(HWE.test.MC, method="fdr"),
nrow=nrow(HWE.test.MC))
Prop.pops.out.of.HWE<-data.frame(Chisq=apply(HWE.test.chisq<alpha, 1, mean),
MC=apply(HWE.test.MC<alpha, 1, mean),
Chisq.fdr=apply(Chisq.fdr<alpha, 1, mean),
MC.fdr=apply(MC.fdr<alpha, 1, mean))
Prop.pops.out.of.HWE
write.csv(Prop.pops.out.of.HWE , "populacaoForaHWE.csv", row.names = TRUE) #Para
gerar e salvar a planilha, caso seja de interesse.

```

### 2.3 Distância Genética

A função *genetic\_distance* (pacote *gstudio*) é a principal função para estimar distâncias genéticas entre indivíduos ou populações e retorna matrizes de distância, a partir de diferentes métodos. A escolha entre os métodos de distância disponíveis variará conforme o objetivo do estudo e, ou, característica dos dados.

```

#Distância euclidiana entre populações
euclidiana_pop<- genetic_distance(dados_pop, stratum="populacao", mode="Euclidean")
write.csv(euclidiana_pop, "euclidiana_pop.csv", row.names =TRUE) ) #Para gerar e salvar a
planilha, caso seja de interesse.

```

```

#Distância euclidiana entre indivíduos
euclidiana_indiv<- genetic_distance(dados_pop, stratum="id", mode="Euclidean")
write.csv(euclidiana_indiv, "euclidiana_indiv.csv", row.names =TRUE) ) #Para gerar e salvar
a planilha, caso seja de interesse.

```

```

#Distância euclidiana entre indivíduos separados por cada população
#Para esse cálculo é necessário separar os dados de cada população. O mesmo é feito para
outras medidas de distância.

```

```

#Exemplo com duas populações
dados_A<- dados_pop[1:10,]
euclidiana_A<- genetic_distance(dados_A, stratum="id", mode="Euclidean")

```

```
dados_B<- dados_pop[11:20,]
euclidiana_B<- genetic_distance(dados_B, stratum="id", mode="Euclidean")
```

```
#Salvar a planilha com a distância por população desejada
write.csv(euclidiana_A, "Dist_euclid_A.csv", row.names =TRUE)
```

## 2.4 Diversidade Genética

#Número total de alelos por loco e por população

```
alelos_total_locus<- genetic_diversity(dados_pop, mode = "A", small.N = TRUE)
alelos_total_pop<- genetic_diversity(dados_pop, stratum = "populacao", mode = "A", small.N
= TRUE) #É fornecida uma matriz com o número de alelos de cada população por cada locus.
Pode-se organizar uma planilha para conhecer a soma dos alelos por população para o
conjunto de loci.
```

#Número de alelos efetivos por locus e por população

```
alelos_efetivos_locus<- genetic_diversity(dados_pop, mode = "Ae", small.N = TRUE)
alelos_efetivos_pop<- genetic_diversity(dados_pop, stratum = "populacao", mode = "Ae",
small.N = TRUE) #É fornecida uma matriz com os alelos efetivos de cada população por cada
locus. Pode-se organizar uma planilha para conhecer a soma dos alelos efetivos por população
para o conjunto de loci.
```

#Número de alelos com frequência de pelo menos 5% ( $\geq 0,05$ ) por locus e por população.

#Possibilita conhecer quantos alelos apresentam frequência menor que 0,05 e são, portanto, considerados raros.

```
alelos_a95_loco<- genetic_diversity(dados_pop, mode = "A95", small.N = TRUE)
alelos_a95_pop <- genetic_diversity(dados_pop, stratum = "populacao", mode = "A95",
small.N = TRUE) #É fornecida uma matriz com os alelos A95 de cada população por cada
loco. Pode-se organizar uma planilha para conhecer a soma dos alelos A95 por população
para o conjunto de loci.
```

#Alelos exclusivos

```
alelos_exclusivos<- allele.dist(dados_genind)
alelos_exclusivos$private.alleles
alelos_exclusivos$count #Contagem dos alelos
alelos_exclusivos$frequency #Frequencia dos alelos
```

#Riqueza alélica rarefeita

```
riqueza_rarefeita<- allele.rich(dados_genind, min.alleles = NULL)
riqueza_rarefeita
```

#Heterozigosidade observada

```
Hobs<-t(sapply(seppop(dados_genind),
function(ls)
summary(ls)$Hobs))
```

```
round(Hobs, 4) #4 casas decimais
write.csv(Hobs, "Ho.csv", row.names = TRUE) #Para gerar e salvar a planilha, caso seja de
interesse.
```

```
#Heterozigosidade esperada
Hexp<-t(sapply(seppop(dados_genind),
               function(ls)
                 summary(ls)$Hexp))
round(Hexp, 4)
write.csv(Hexp, "He_adultos.csv", row.names = TRUE) #Para gerar a planilha, caso seja de
interesse.
```

```
#Índice de Fixação Total, para o conjunto de todas as populações, por cada locus
fis_total<- Fis(dados_pop
```

```
#Índice de Fixação Total, para cada populações
fis_pop<- Fis(dados_pop, small.N = FALSE, stratum = "populacao") #É fornecida uma matriz
com os valores fis estratificados por população. Pode-se usar uma planilha para separar e
reunir as populações para conhecer a média de cada uma.
```

## 2.5. Diferenciação Genética

```
#FST pareado. Fornece FST de Nei entre todos os pares de populações.
head(dados_genind)
fst_pop<-hierfstat::pairwise.fst(dados_genind,res.type="matrix")
write.csv(fst_par, "fst_par.csv", row.names =TRUE)
```

```
#FST por loco. Fornece o FST de Wright para cada loco.
fst_loco<-gstudio::Fst(dados_pop, stratum = "populacao",nperm=0)
write.csv(fst_loco, "fst_locus.csv", row.names =TRUE)
```

```
#FST único. Fornece um valor total de FST para todo o conjunto de populações, de acordo com
o FST de Nei.
fst_unico<-hierfstat::fstat(dados_genind)
```

```
#GST (Hedrick) entre pares de população
gst_pop<-genetic_structure(dados_pop,stratum="populacao",mode="Gst_prime",pairwise=T)
write.csv(gst_pop, "gstprime_pop.csv", row.names =TRUE)
```

```
#GST (Hedrick) por locus
gst_locus<- genetic_structure(dados_pop, stratum= "populacao", mode= "Gst_prime",
pairwise=F, nperm=0)
write.csv(gst_locus, "gstprime_locus.csv", row.names =TRUE)
```



## 2.6 Estrutura Genética

#Estatística multivariada – Classificação (Análise de Cluster)

#Converter a matriz de distância genética em um objeto *dist*.

```
euclidiana_dist<-as.dist(euclidiana_pop)
```

#Análise de agrupamento genético segundo o método UPGMA. Pode ser conduzida a partir de diferentes métodos.

```
upgma_euclidiana<-hclust(euclidiana_dist, method = "average", members = NULL)
```

#Plotar o dendrograma da análise

```
par(mfrow=c(1, 2))
```

```
plot(upgma_euclidiana, hang=-1)
```

#Estatística multivariada – Ordenação (Análise Discriminante dos Componentes Principais – DAPC).

#Criar eixos de ordenação das dissimilaridades genéticas.

```
grp<- find.clusters(dados_genind, max.n.clust=40) #Encontra o número ideal de agrupamentos. O valor de max.n.clust é um valor aleatório e alto para possibilitar o teste de diversos cenários. A função exibe um gráfico, a partir do qual se indica um número de componentes (PCs).
```

100 #Escrever no console e dar *enter*. O número é variável, conforme os valores do gráfico. Usa-se um valor além do apresentado para usar o máximo de informação disponível. Será exibido um gráfico de valores BIC por cluster, a partir do qual indica-se o de clusters desejado, que corresponde ao menor valor de BIC no gráfico.

9 #Escrever no console e dar *enter*. Representa o número de clusters escolhido. Valor variável conforme o conjunto de dados.

```
names(grp) #Mostra o nome dos componentes do objeto grp que podem ser acessados.
```

```
dapc<- dapc(dados_genind, grp$grp) #Avalia como os clusters diferem e também qual é a participação de cada membro (indivíduo) nos grupos. Exibe o mesmo gráfico da função find.cluster, mas agora pode-se indicar um número menor de PCs, para não causar sobreajuste. O usual é um número que explique cerca de 80% da variância.
```

40 #Escrever no console e dar *enter*. Número variável. Exibe um gráfico de barras de autovalores para a análise discriminante, a partir do qual escolhe-se o número de funções discriminantes para reter na análise. Para um pequeno número de clusters, todos os autovalores podem ser retidos, pois todas as funções discriminantes podem ser examinadas sem dificuldade.

7#Escrever no console e dar *enter*. Número variável.

```
dapc #Reune as principais informações da análise DAPC
```

```
scatter(dapc) #Fornece saídas gráficas para a DAPC. Outras opções de representações gráficas estão disponíveis e podem ser escolhidas.
```

```
adegenetServer(what = "DAPC") #Para conhecer a interface interativa do pacote e obter ajuda quanto à DAPC.
```

## APÊNDICE B – SCRIPT COMENTADO PARA A EXECUÇÃO DA ANÁLISE DE RESISTÊNCIA DA PAISAGEM NO R STUDIO

Os procedimentos necessários para a análise de resistência da paisagem apresentados neste Apêndice B consideram o uso do pacote *ResistanceGA* no RStudio e foram elaborados tendo-se como referência o conteúdo apresentado por Peterman (2018)<sup>1</sup>. Aqui, são apresentadas três opções de análises de resistência, as quais foram testadas na condução desta tese e podem ser adaptadas e utilizadas conforme o objetivo do estudo e o conjunto de dados. A abordagem apresentada se refere ao uso do pacote *gdistance* e do método *commuteDistance* para a otimização das superfícies de resistência, logo, para outras abordagens (por exemplo, CIRCUITSCAPE), serão necessárias adaptações não contempladas neste material.

### 1 PREPARAÇÃO DOS DADOS

Para processar as superfícies de resistência no *ResistanceGA*, é necessário converter a superfície raster (que usualmente possui a extensão .TIF) em formato .ASC (ou ASCII). A conversão pode ser executada em qualquer outro software de manipulação de imagens, por exemplo, o ArcGIS. Além da superfície de resistência (formato .ASC), serão necessários arquivos de entrada com os dados de coordenadas, que devem estar em UTM (formato .TXT), e de distância genética (formato .CSV). Cada população/paisagem objeto de análise deverá ter os seus próprios arquivos de entrada. Exemplos hipotéticos desses arquivos são apresentados na Figura B1 e na Figura B2.

Figura B1 – Exemplo hipotético de arquivo para entrada dos dados de distância genética no *ResistanceGA*.

	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K
1	A1	A2	A3	A4	A5	A6	A7	A8	A9	A10	
2	A1	0	244948	244948	244948	244948	244948	2,2361E+14	244948	244948	244948
3	A2	244948	0	244948	244948	244948	244948	244948	244948	244948	244948
4	A3	244948	244948	0	244948	244948	244948	244948	244948	244948	244948
5	A4	244948	244948	244948	0	244948	244948	244948	244948	244948	244948
6	A5	244948	244948	244948	244948	0	244948	244948	244948	244948	244948
7	A6	244948	244948	244948	244948	244948	0	244948	244948	244948	244948
8	A7	244948	244948	244948	244948	244948	244948	0	244948	244948	244948
9	A8	244948	244948	244948	244948	244948	244948	244948	0	2	244948
10	A9	244948	244948	244948	244948	244948	244948	244948	244948	0	244948
11	A10	244948	244948	244948	244948	244948	244948	244948	244948	244948	0

Legenda: matriz espelhada de distância genética para uma população A com 10 indivíduos, ou uma paisagem A com 10 populações. Fonte: Da autora (2022).

<sup>1</sup> Peterman, B. ResistanceGA: Um pacote R para a otimização de superfícies de resistência usando algoritmos genéticos. 2018. <https://doi.org/10.1111/2041-210X.12984>.

Figura B2 – Exemplo hipotético de arquivo para entrada dos dados de localização espacial no *ResistanceGA*.

Arquivo	Editar	Formatar	Exibir	Ajuda
id	x	y		
1	563387.5619	7554352.975		
2	565526.4473	7556089.471		
3	565650.0212	7557684.795		
4	565590.1422	7557756.996		
5	565657.8619	7557915.374		
6	565650.166	7558131.26		
7	565699.8374	7558084.93		
8	565650.4818	7558206.899		
9	565569.5518	7558179.564		
10	565517.1556	7558397.48		

Legenda: coordenadas UTM para uma população A com 10 indivíduos, ou uma paisagem A com 10 populações. Fonte: Da autora (2022)

## 2 ANÁLISE DE RESISTÊNCIA

### 2.1 Pacotes Necessários e preparação dos dados

É necessário se certificar de que os pacotes requisitados pela função *library* estejam previamente instalados.

```
library(devtools)
library(ResistanceGA)
library(gdistance)
library(SDMTools)
library(reshape2)
library(ggplot2)
library(RColorBrewer)
library(rgdal)
library(doParallel)
library(foreach)
library(GA)
library(plyr)
library(assertthat)
library(lme4)
```

```
#Limpar o workspace. Pode ser útil para liberar memória e otimizar o processamento.
rm(list = ls())
```

### 2.2 Análise de superfície única

Os comandos deste subtópico estão apresentados considerando como exemplo uma superfície categórica nomeada *imagem*. As diferenças nos comandos entre superfícies categóricas e contínuas são pontuais e estão identificadas. Outras nomenclaturas podem ser utilizadas, conforme desejado.

```
#Especificar diretório onde estão os dados genéticos e geográficos
setwd("C:/inserir diretório de trabalho/")
```

```
#Criar um arquivo de trabalho para os dados de distância genética
file <- "C:/inserir caminho completo até o arquivo de interesse/arquivo.csv" #
```

```
#Inserir os dados de distância genética (.CSV)
gd <- read.csv(file = "arquivo.csv", header= FALSE)
matrix.gen <- as.matrix(gd) #Faz com que o dado gd seja uma matrix
matrix.gen.semid<-matrix.gen[-c(1),-c(1)] #Retira o cabeçalho da matriz, mantendo apenas os
dados genéticos.
dim(matrix.gen) #Confere a dimensão da matriz
```

```
#Inserir os pontos de coordenadas geográficas (.TXT)
Sample.coord <- read.table("arquivo.txt", header=TRUE)
Sample.coord <- SpatialPoints(Sample.coord[,c(2,3)]) #Especifica que isso são pontos
espaciais. Os números 2 e 3 especificam onde estão as colunas das coordenadas x e y.
head(Sample.coord)
```

```
#Inserir a imagem raster (.ASC)
imagem <- raster("caminho até a imagem/imagem.asc")
imagem <- aggregate(imagem, fact = 2, fun = max) #Usar apenas se necessário. A função
aggregate reduz em X vezes o número de células/pixels da imagem. Por exemplo, para fact =
2, a resolução espacial da imagem será reduzida pela metade.
```

```
#Verificar se todas as coordenadas estão dentro do buffer da paisagem de interesse.
Sample.imagem.class <- extract(imagem, Sample.coord)
assert_that(noNA(Sample.imagem.class),
  msg = "Sample.coord contains points that do not have a imagem value") #Solicita que, caso haja
valor inexistente – NA, apareça esse aviso.
```

```
#Plotar a imagem com as coordenadas
plot(imagem)
plot(Sample.coord, add=T)
unique(imagem) #Mostra as classes presentes na imagem ou aquelas que permaneceram após
a redução da imagem, caso a função aggregate tenha sido utilizada.
```



```

samples = Sample.coord,
directions = 8,
longlat = FALSE,
method = "commuteDistance") #Otimiza usando método commuteDistance

#Gerar os resultados pelo método commuteDistance
RESULTS.commute.gdist <- SS_optim(gdist.inputs = gdist.commute.inputs, GA.inputs =
GA.commute.inputs) #A função "SS_optim" otimiza todas as superfícies de resistência contidas
em um diretório isoladamente.

#Salvar os resultados de modo que todos os objetos sejam acessados diretamente no RStudio.
Setwd("caminho completo até o diretório dos resultados")
save(RESULTS.commute.gdist, file = "RESULTS.rda")

#Verificar informações sobre os resultados
str(RESULTS.commute.gdist)
RESULTS.commute.gdist$
file<-"inserir caminho até o diretório dos resultados/imagem.rds"
ga.commute.full <- readRDS(file)

#Plotar mapa de resistência
imagem_resistance <- raster("imagem.asc")
res(imagem_resistance) #Informa a resolução da imagem
plot(imagem_resistance)
plot(Sample.coord, add=T)

```

Após gerar os resultados, uma imagem raster (.ASC) com os valores de resistência por pixel será criada e salva na pasta especificada. A visualização gráfica dos valores de resistência por classe também pode ser feita a partir de outros softwares de manipulação de imagens, como o ArcGIS. A imagem de saída terá resolução reduzida em relação à imagem original caso a função *aggregate* seja utilizada, de acordo com o valor atribuído ao "*fact*".

### 2.3 Análise de múltiplas superfícies com a função *all\_comb*

A análise de múltiplas superfícies a partir da função *all\_comb* realiza todas as otimizações de superfície únicas em um mesmo diretório, seguidas pelas otimizações de superfícies múltiplas, conforme o número de superfícies a serem combinadas entre si. Por exemplo, considerando três superfícies A, B e C, as otimizações possíveis incluem as superfícies: A, B, C, A.B, A.C, B.C e A.B.C. Após todas as otimizações, é realizada uma análise de autoinicialização (*Bootstrap*) para avaliar o nível de suporte para cada uma das superfícies ajustadas.

```

#Especificar diretório onde estão os dados genéticos e geográficos
setwd("inserir o diretório de trabalho")

#Criar um arquivo de trabalho para os dados de distância genética
file <- "inserir o caminho até o arquivo/arquivo.csv"

#Inserir os dados de distância genética (.CSV)
gd <- read.csv(file = "arquivo.csv", header= FALSE)
matrix.gen <- as.matrix(gd) #Faz com que o dado gd seja uma matrix
matrix.gen <- matrix.gen[-c(1),-c(1)] #Retira o cabeçalho da matrix, mantendo apenas os dados
genéticos.
dim(matrix.gen) #Confere a dimensão da matrix

#Inserir os pontos de coordenadas (.TXT)
Sample.coord <- read.table("arquivo.txt", header=TRUE)
Sample.coord <- SpatialPoints(Sample.coord[,c(2,3)]) #Especifica que isso são pontos
espaciais. Os números 2 e 3 especificam onde estão as colunas das coordenadas x e y.
head(Sample.coord)

#Inserir as imagens raster (.ASC). As imagens podem estar no mesmo diretório.
imagemA <- raster("inserir caminho da imagemA/imagemA.asc")
imagemB <- raster("inserir caminho da imagemA/imagemB.asc")

#Plotar imagens com as coordenadas
par(mfrow = c(1,2))
plot(imagemA)
plot(Sample.coord, col="black", add=T)
plot(imagemB)
plot(Sample.coord, col="black", add=T)

#Verificar se as resoluções espaciais das imagens são compatíveis. Não é possível conduzir a
análise de múltiplas superfícies com imagens de diferentes resoluções espaciais.
res(imagemA)
res(imagemB)

#Definir uma sequência para empilhamento dos rasters, que será a ordem de varredura. No
caso de superfícies contínuas e categóricas na mesma análise, a superfície categórica deve vir
primeiro.
r.stack <- stack(imagemA, imagemB)

#Especificar diretório para que os resultados sejam salvos no lugar desejado
write.dir <- "inserir caminho/"
all_comb.commute.dir <- "commute_results_all_comb"
dir.create(all_comb.commute.dir, showWarnings = FALSE, recursive = TRUE)

#Preparar arquivos de distância genética para o ResistanceGA

```

```
gdist.response <- lower(matrix.gen) #Necessário dados vetorizados, a partir da matriz triangular.
A função lower especifica que será utilizada a parte de baixo da matriz.
gdist.response <- as.numeric(gdist.response) #Torna a saída numérica.
```

```
#Descobrir o número de CPU Cores que há no computador, para otimizar o processamento das
funções GA
detectCores(TRUE)
```

```
#GA.prep para o método commuteDistante
GA.commute.inputs <- GA.prep(r.stack, Results.dir = "all_comb",
                           max.cat = 3000, max.cont = 3000,
                           seed = 500, method = "LL", maxiter = 1000,
                           select.trans = list(NA,"A"), #A função de transformação é variável
conforme o objetivo e, ou, as pressuposições a respeito do conjunto de dados.
                           run = 25, pop.mult = 15, parallel = T)
```

```
#gdist.prep para o método commuteDistante
gdist.commute.inputs <- gdist.prep(n.Pops = length(Sample.coord),
                                   samples = Sample.coord,
                                   response = gdist.response,
                                   method = "commuteDistance") #Otimiza usando commuteDistance
```

```
#Correr a análise
all_comb_results <- all_comb(gdist.inputs = gdist.commute.inputs, GA.inputs =
GA.commute.inputs, results.dir = "commute_results_all_comb/", max.combination = 2, iters
= 1000, replicate = 1) #Em replicate é necessário especificar o número de replicatas
```

```
#Verificar e salvar os resultados
setwd("retomar o caminho do diretório dos resultados/")
save(all_comb_results, file = "allcomb.results.rda")
all_comb_results$summary.table
all_comb_results$boot.results
```

```
#Plotar resultados
imagemA.B <- raster("inserir caminho/imagemA.imagemB.asc")
imagemA <- raster("inserir caminho/imagemA.asc")
imagemB <- raster("inserir caminho /imagemB.asc")
par(mfrow = c(1,3))
plot(imagemA)
plot(Sample.coord, col="black", add=T)
plot(imagemB)
plot(Sample.coord, col="black", add=T)
plot(imagemA.B)
plot(Sample.coord, col="black", add=T)
```

## 2.4 Análise de múltiplas superfícies sem a função all\_comb



Para paisagens muito grandes, que exigem um tempo maior de processamento (às vezes semanas), a opção mais segura pode ser realizar a otimização de várias superfícies por etapas, salvando-se os resultados à medida que eles vão sendo gerados. Atenção especial deve ser dada à operação de salvar os resultados da otimização das superfícies de resistência, já que, por padrão, eles não são salvos em formato utilizável posteriormente para a continuação da análise. Assim, nessa metodologia, será necessário: conduzir primeiramente a otimização das superfícies únicas/simples e salvá-la; depois, a otimização das superfícies combinadas/múltiplas e salvá-la; por fim, será necessário conduzir manualmente a análise bootstrap e salvá-la.

```
#Especificar diretório onde estão os dados genéticos e geográficos
setwd("inserir diretório de trabalho")
```

```
#Criar um arquivo de trabalho para os dados de distância genética
file <- "inserir caminho até o arquivo de interesse/arquivo.csv"
```

```
#Inserir os dados de distância genética (.CSV)
gd <- read.csv(file = "arquivo.csv", header= FALSE)
matrix.gen <- as.matrix(gd) #Faz com que o dado gd seja uma matrix
matrix.gen <- matrix.gen[-c(1),-c(1)] #Retira o cabeçalho, mantendo uma matriz apenas com os dados.
```

```
#Inserir os pontos de coordenadas geográficas (.TXT)
Sample.coord <- read.table("arquivo.txt", header=TRUE)
Sample.coord <- SpatialPoints(Sample.coord[,c(2,3)]) #Especifica que isso são pontos espaciais. Os números 2 e 3 especificam onde estão as colunas das coordenadas x e y.
```

```
#Inserir a imagens raster (.ASC). As diferentes imagens podem estar no mesmo diretório.
imagemA <- raster("inserir caminho da imagemA/imagemA.asc")
imagemB <- raster("inserir caminho da imagemB/imagemB.asc")
```

```
#Mostra quais classes da superfície categórica permaneceram após a redução da resolução da imagem (se houver).
unique(landcover)
```

```
#Plotar imagens com as coordenadas
par(mfrow = c(1,2))
plot(imagemA)
plot(Sample.coord, col="black", add=T)
plot(imagemB)
plot(Sample.coord, col="black", add=T)
```

#Verificar se as resoluções espaciais dos rasters são compatíveis. Não é possível conduzir a análise de múltiplas superfícies com imagens de diferentes resoluções espaciais.

```
res(imagemA)
```

```
res(imagemB)
```

#Definir uma sequência para empilhamento dos rasters, que será a ordem de varredura. No caso de superfícies contínuas e categóricas na mesma análise, a superfície categórica deve vir primeiro.

```
r.stack <- stack(imagemA, imagemB)
```

#Especificar diretório para que os resultados sejam salvos no lugar desejado

#Para correr a análise simples, serão utilizados estes comandos:

```
#dir.create("./Resistance_SimpleResults")
```

```
#dir.create(file.path("./Resistance_SimpleResults","runSIMPLE"))
```

```
#write.dir <- "./Resistance_SimpleResults/runSIMPLE/"
```

#Para correr a análise múltipla, serão utilizados estes comandos:

```
#dir.create("./Resistance_MultiResults")
```

```
#dir.create(file.path("./Resistance_MultiResults","runMulti"))
```

```
#write.dir <- "./Resistance_MultiResults/runMULTI/"
```

#Preparar arquivos de distância genética para o *ResistanceGA*

gdist.response <- lower(matrix.gen) #Necessário dados vetorizados, a partir da matriz triangular. A função *lower* especifica que será utilizada a parte de baixo da matriz.

gdist.response <- as.numeric(gdist.response) #Torna a saída numérica.

#Descobrir o número de CPU Cores, para otimizar o processamento das funções GA

```
detectCores(TRUE)
```

#GA.prep para o método *commuteDistante*

```
GA.commute.inputs <- GA.prep(r.stack, Results.dir = write.dir
```

```
  max.cat = 3000, max.cont = 3000,
```

```
  seed = 500, method = "LL", maxiter = 1000,
```

```
  select.trans = list(NA,"A"),
```

```
  run = 25, pop.mult = 15, parallel = T)
```

#gdist.prep para o método *commuteDistante*

```
gdist.commute.inputs <- gdist.prep(n.Pops = length(Sample.coord),
```

```
  samples = Sample.coord,
```

```
  response = gdist.response,
```

```
  method = "commuteDistance") #Otimiza usando commuteDistance
```

#Correr a análise de resistência

#Para correr a análise simples, serão utilizados estes comandos:

```
Simple.Results <- SS_optim(gdist.inputs = gdist.commute.inputs, GA.inputs =  
GA.commute.inputs)
```

```
setwd("inserir caminho/Resistance_SimpleResults/runSIMPLE/")
```

```
save(Simple.Results, file = "Simple.Results1.rda")
```

#Para correr a análise múltipla, serão utilizados estes comandos:

```
Multi.Results <- MS_optim(gdist.inputs = gdist.commute.inputs, GA.inputs =
GA.commute.inputs)
setwd("inserir caminho/Resistance_MultiResults/runMULTI/")
save(Multi.Results, file = "Multi.Results1.rda")
```

#Correr a análise Bootstrap

```
setwd("inserir caminho onde estão os resultados/Resistance_SimpleResults/runSIMPLE/")
load("./Simple.Results1.rda")
setwd("inserir caminho onde estão os resultados/Resistance_MultiResults/runMULTI/")
load("./Multi.Results1.rda")
mat.list <- c(Simple.Results$cd, Multi.Results$cd)
k <- rbind(Simple.Results$k, Multi.Results$k)
setwd("inserir caminho da pasta geral da população de estudo")
gd <- read.csv(file = "arquivo de distância genética.csv", header= FALSE, sep = ",")
matrix.gen <- as.matrix(gd) #Faz com que o dado gd seja uma matrix
matrix.gen <- matrix.gen[-c(1),-c(1)] #Retira o cabeçalho, mantendo uma matriz apenas com
os dados.
matrix.gen <- mapply(matrix.gen, FUN = as.numeric) #Torna a saída numérica
matrix.gen <- matrix(data = matrix.gen, ncol = 10, nrow = 10) #Os números variam conforme
o conjunto de dados. Se referem ao número de linhas e colunas da matriz genética.
Boot <- Resist.boot(mod.names = names(mat.list),
                    dist.mat = mat.list,
                    n.parameters = k[,2],
                    iters = 1000,
                    obs = 10, #O número varia conforme o conjunto de dados.
                    genetic.mat = matrix.gen)
setwd("inserir caminho da pasta geral da população de estudo/")
save(Boot, file = "Bootstrap.rda")
write.csv(Boot, file = "Bootstrap.csv")
```

#Plotar resultados

```
imagemA.B <- raster("caminho/imagemA.imagemB.asc")
plot(imagemA.B)
plot(Sample.coord, col="black", add=T)
imagemA <- raster("caminho/imagemA.asc")
plot(imagemA)
plot(Sample.coord, col="black", add=T)
imagemB <- raster("caminho/imagemB.asc")
plot(imagemB)
plot(Sample.coord, col="black", add=T)
```