



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO ACRE**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIODIVERSIDADE E**  
**BIOTECNOLOGIA DA REDE BIONORTE**

**DIVERSIDADE GENÉTICA E ESTRUTURA POPULACIONAL DE DUAS**  
**ESPÉCIES DE BAMBU DO GÊNERO *Guadua* NA REGIÃO SUL-OCIDENTAL DA**  
**AMAZÔNIA**

**SUSANA MARIA MELO SILVA**

**Rio Branco – Acre**

**Abril/2019**

**SUSANA MARIA MELO SILVA**

**DIVERSIDADE GENÉTICA E ESTRUTURA POPULACIONAL DE DUAS  
ESPÉCIES DE BAMBU DO GÊNERO *Guadua* NA REGIÃO SUL-OCIDENTAL DA  
AMAZÔNIA**

Tese de doutorado apresentada ao Curso de Doutorado do Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Biotecnologia da Rede BIONORTE (Área de concentração 1: Biodiversidade e Conservação, linha de pesquisa 2: Conservação e Uso Sustentável da Biodiversidade), como requisito para a obtenção do título de Doutor(a) em Biodiversidade e Biotecnologia.

Orientador: Dr. Jonny Everson Scherwinski-Pereira

Coorientadora: Dra. Tatiana de Campos

**Rio Branco – Acre**

**Abril/2019**

Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Central da UFAC

---

S586d Silva, Susana Maria Melo, 1986 -

Diversidade genética e estrutura populacional de duas espécies de bambu do gênero *Guadua* na região Sul – Ocidental da Amazônia / Susana Maria Melo Silva; orientador: Dr. Jonny Everson Scherwinski Pereira e Coorientadora: Dr<sup>a</sup>. Tatiana de Campos. – 2019.

116 f. : il. ; 30 cm.

Tese (Doutorado) – Universidade Federal do Acre, Programa de Pós – Graduação em Rede de Biodiversidade e Biotecnologia da Rede BIONORTE, Rio Branco, 2019.

Inclui referências bibliográficas.

1. Bambu amazônico. 2. Diversidade genética. 3. Espécies. I. Pereira, . Jonny Everson Scherwinski (orientador). II. Campos, Tatiana (Coorientadora). III. Título.

---

CDD: 660

Bibliotecária: Nádia Batista Vieira CRB-11º/882.

**SUSANA MARIA MELO SILVA**

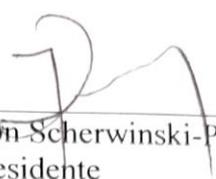
**DIVERSIDADE GENÉTICA E ESTRUTURA POPULACIONAL DE DUAS  
ESPÉCIES DE BAMBU DO GÊNERO *Guadua* NA REGIÃO SUL-OCIDENTAL DA  
AMAZÔNIA**

Tese de doutorado apresentada ao Curso de Doutorado do Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Biotecnologia da Rede BIONORTE (Área de concentração 1: Biodiversidade e Conservação, linha de pesquisa 2: Conservação e Uso Sustentável da Biodiversidade), como requisito para a obtenção do título de Doutor(a) em Biodiversidade e Biotecnologia.

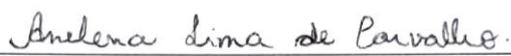
Orientador: Dr. Jonny Everson Scherwinski-Pereira

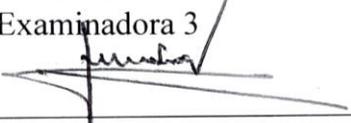
Coorientadora: Dra. Tatiana de Campos

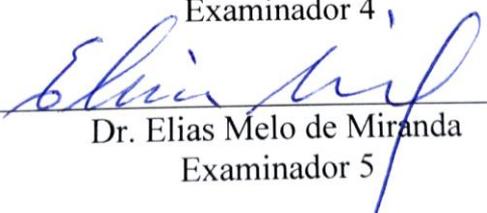
**Banca examinadora**

  
\_\_\_\_\_  
Dr. Jonny Everson Scherwinski-Pereira  
Presidente

  
\_\_\_\_\_  
Dra. Berenice Kussumoto de Alcântara  
Examinadora 2

  
\_\_\_\_\_  
Dra. Anelena Lima de Carvalho  
Examinadora 3

  
\_\_\_\_\_  
Dr. Lisandro Juno Soares Vieira  
Examinador 4

  
\_\_\_\_\_  
Dr. Elias Melo de Miranda  
Examinador 5

**Rio Branco – Acre  
Abril/2019**

## *Dedicatória*

*Dedico a Deus por ter me dado à oportunidade de estar viva e poder alcançar meus objetivos e sonhos como*

*cidadã, profissional e filha desta terra;*

*Aos meus pais, Alcides e Glória, pelo amor e apoio incondicional;*

*As minhas irmãs, Isla e Marlen, por todo amor, conselhos e incentivos;*

*Ao meu lindo sobrinho, Davi, que chegou na metade da minha caminhada e alegrou meus dias;*

*A mim, por não ter desistido em meios às adversidades e contrariedades da vida acadêmica;*

*A todas as mulheres cientistas que lutaram para que um dia, outras mulheres como eu, estivessem aqui;*

*Aos bambus, um mundo lindo e intrigante que conheci durante esses 4 anos de trabalho;*

*A minha Amazônia linda e amada, e Ao meu Acre querido.*

*Dedico esta tese, com amor!*

## AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus pela oportunidade de ter realizado esse trabalho. Aos meus familiares pelo suporte, amor, força e ânimo de sempre.

Ao sim do meu orientador, Dr. Jonny Everson, que mesmo de longe, acreditou no meu trabalho e nas minhas ideias.

A minha coorientadora, Dra. Tatiana de Campos, pela disponibilidade e apoio as minhas solicitações e necessidades.

A Dra. Karina Martins, que além de uma profissional incrível, é uma amiga de coração gigante, obrigada por sempre estar presente quando precisei e preciso.

Ao Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Biotecnologia da Rede BIONORTE por me permitir dar continuidade a minha formação acadêmica.

À coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela bolsa concedida. E ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e tecnológico – CNPq, pelo financiamento do projeto.

Ao meu conterrâneo Chico Mendes e a todos os ambientalistas e pesquisadores que lutam pela conservação da Floresta Amazônica em nível mundial, regional e local.

A Universidade Federal do Acre, por ser responsável por toda minha formação acadêmica. Aos professores que compõe a secretaria estadual do Bionorte – Acre, Dr. Marcos Silveira, Dr. Lisandro Juno, Dr. Moises Barbosa, Dra. Tatiana de Campos, Dr. Anselmo Ruiz, Dr, Carlos Franco e aos demais que fizeram parte da minha caminhada até aqui.

Aos meninos da secretaria, Alan, Gabriel e Tales, obrigada pela paciência e ajuda de sempre.

À Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – Embrapa Acre, por ter me ensinado muito sobre como ser uma pesquisadora e por tudo que fez para que essa tese fosse executada da melhor forma possível.

A Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia (CENARGEN) na pessoa da Dra. Vânia Cristina, que ajudou com suas observações na fase inicial do trabalho laboratorial, enviando-me protocolos e auxiliando na leitura dos resultados da extração de DNA.

A Embrapa Rondônia, em especial as pesquisadoras, Dra. Luciana Gatto e Dra. Lucia Helena de Oliveira Wadt, por terem ajudado nas análises laboratoriais, definição de metodologias e realização de disciplina.

A todos os funcionários da Embrapa Acre, em especial Renata Beltrão, Lucielio Manoel, Robert Thompson, Fernanda Fonseca, Dr. Evandro Órfano, Elza, Dr. Elias Miranda. Dr. Moacir Haverrot, obrigada pela ajuda e acolhimento quando precisei e bati nas suas portas.

Aos meninos do campo (Embrapa Acre), Aldeci e Paulo, vocês são de mais! Gratidão por terem se doado e desbravados os bambuzais comigo!

Aos moradores locais que ajudaram nas coletas, aos trabalhadores do Antimary, aos funcionários e dono da Fazenda Cerejeira, que nos deram abrigo e nos apoiaram nas coletas, gratidão!

Ao pessoal da fazenda Agrocortex que nos ajudou e nos indicou áreas de coleta.

Ao Prof. Dr. Frederico Costa, pelas dicas, ajuda em campo e apoio quando precisei. Fred, Valeu!!

Ao bambuzeiro querido, Bruno Imbroisi, gratidão pelas dicas valiosas e aprendizado, sua paixão pelos bambus é motivadora!

A minha querida amiga do bambu, Dra. Ximena Londoño, muchas gracias por su ayuda valiosa!

Ao pessoal do Labev – Ufac, nas pessoas do professor e entusiasta Dr. Marcos Silveira e Wendeson Castro, sou muito grata pelo suporte e ajuda que obtive. Gratidão!

Aos amigos queridos, Anelena, Salatiel, Janice, Felipe, Almecina, João Ricardo, Ana Cláudia, Sabrina, Hellen, Jonatas, Clemeson, Natália, Polinar, Fernanda e outros que cruzaram meu caminho. Sou grata pelas palavras, ajuda, carinho e incentivo que sempre obtive. Vocês são um exemplo pra mim!!

Ao Marcelo Herrera, que mesmo longe, mandou-me amor e incentivo.

Muitas pessoas ajudaram e deram apoio nessa caminhada, a todos vocês que mesmo não mencionados aqui, ajudaram na realização desse trabalho, minha gratidão e carinho.

*“Se chorei ou se sorri, o importante é que emoções (experiências) eu vivi”...*

**RC**

*“Os sonhos nos impulsionam a chegar mais longe, eles nutrem nossa vida e nos fazem voar mais  
alto”*

**Susana**

*“Seja como o bambu, incline-se diante do vento, mas nunca se quebre”*

**Provérbio Chinês**

## RESUMO

O conhecimento populacional é fundamental para que as espécies sejam conservadas, manejadas e protegidas. Estudos sobre diversidade genética e estrutura populacional de plantas como os bambus amazônicos (*Guadua*) dão subsídios para a conservação das espécies tanto *in situ* quanto *ex situ*. Plantas nativas como os bambus são um importante componente no contexto florestal, formando ecossistemas únicos, pouco estudados, que servem de abrigo para muitas espécies que vivem relacionadas a eles e também podem ser usados economicamente para diversos fins. Este trabalho teve como objetivo, estudar a diversidade genética e estrutura populacional de quatro populações (P1, P2, P3 e P4) de *Guadua* aff. *chaparensis*, localizadas nos municípios de Bujari e Sena Madureira, e uma população (P5) *Guadua* aff. *lynnclarkiae*, localizadas no município de Porto Acre, na região Sul-Ocidental da Amazônia brasileira. Foram coletados 350 indivíduos para as duas espécies em estudo. As análises genéticas foram feitas utilizando 10 marcadores moleculares microssatélites (SSR), através de transferibilidade. A estrutura populacional foi avaliada para as duas espécies com base na densidade, distribuição, diâmetro e número de colmos dos indivíduos dentro das populações, sendo também calculados parâmetros genéticos para a conservação. As análises genéticas revelaram 169 alelos para as populações de *G. aff. chaparensis* e 40 alelos para a população *G.aff.lynnclarkiae*. A heterozigosidade esperada ( $\hat{H}_e$ ) entre as espécies variou de 0,54 para *G. aff. chaparensis* (P3) a 0,46 para *G. aff. lynnclarkiae* (P5). Os valores de heterozigosidade observada ( $\hat{H}_o$ ) para a espécie *G. aff. chaparensis* variaram de 0,50 a 0,36. Para a espécie *G. aff. lynnclarkiae* o  $\hat{H}_o$  foi de 0,38. As populações não apresentaram valores significativos de endogamia ( $\hat{f}$ ). As espécies apresentaram estrutura genética espacial significativa, revelando alta similaridade genética para indivíduos mais próximos. Foram identificados indivíduos clonais para as duas espécies. As populações das espécies avaliadas apresentaram baixa similaridade genética ( $K_5$ ) de acordo com o programa Structure. Foi detectada alta divergência genética ( $\hat{G}_{ST}$  de 0,46) entre as populações da espécie *G.aff. chaparensis* e um fluxo gênico aparente de um indivíduo a cada duas gerações. A densidade de touceiras por hectare variou de 0,70 a 8 touceira.ha<sup>-1</sup> para *G. aff. chaparensis* e de 43,4 touceira.ha<sup>-1</sup> para *G. aff. lynnclarkiae*. As espécies apresentaram baixa similaridade com base no diâmetro e número de colmos. A maioria dos indivíduos apresentou distribuição do tipo agregada. As populações estudadas não apresentaram gargalo genético. O tamanho efetivo populacional foi menor que o número de indivíduos amostrados para todas as populações, havendo a necessidade da preservação de áreas maiores do que as de coleta para que a diversidade genética seja mantida ao longo das gerações, principalmente devido à presença de alelos privados e raros dentro das espécies avaliadas.

**Palavras – chave:** Bambusoideae, *Guadua*, bambu, diversidade genética, indivíduos clonais, floresta amazônica, conservação genética, estrutura populacional.

## ABSTRACT

Population knowledge is fundamental for species to be conserved, managed and protected. Studies on genetic diversity and population structure of plants such as Amazonian bamboos (*Guadua*) provide subsidies for species conservation both *in situ* and *ex situ*. Native plants such as bamboos are an important component in the forest context, forming unique ecosystems, little studied, that shelter many living species related to them and can also be used economically for various purposes. This work aimed to study the genetic diversity and population structure of four populations (P1, P2, P3 and P4) of *Guadua* aff. *chaparensis*, located in the municipalities of Bujari and Sena Madureira, and a population (P5) *Guadua* aff. *lynnclarkiae*, located in the municipality of Porto Acre, in the South-Western region of the Brazilian Amazon. A total of 350 individuals were collected for the two species under study. Genetic analyzes were performed using 10 microsatellite markers (SSR), through transferability. The population structure was evaluated for the two species based on the density, distribution, diameter and number of stems of individuals within the populations, and genetic parameters for conservation were also calculated. Genetic analyzes revealed 169 alleles for the populations of *G.* aff. *chaparensis* and 40 alleles for the *G.* aff. *lynnclarkiae*. The expected heterozygosity ( $\hat{H}_e$ ) among species ranged from 0.54 to *G.* aff. *chaparensis* (P3) at 0.46 for *G.* aff. *lynnclarkiae* (P5). The values of observed heterozygosity ( $\hat{H}_o$ ) for the species *G.* aff. *chaparensis* ranged from 0.50 to 0.36. the species *G.* aff. *lynnclarkiae* the  $\hat{H}_o$  was 0.38. The populations did not present significant values of inbreeding ( $\hat{f}$ ). The species presented a significant spatial genetic structure, revealing high genetic similarity to the nearest individuals. Clonal individuals were identified for both species. The populations of the evaluated species showed low genetic similarity (K 5) according to the Structure program. High genetic divergence ( $\hat{G}_{ST}$  of 0.46) was detected among the populations of species *G.* aff. *chaparensis* and an apparent gene flow of one individual every two generations. The density of clumps per hectare ranged from 0.70 to 8 clumps.ha<sup>-1</sup> for *G.* aff. *chaparensis* and from 43.4 clumps.ha<sup>-1</sup> to *G.* aff. *lynnclarkiae*. The species presented low similarity based on the diameter and number of stems. The majority of individuals presented an aggregate type distribution. The populations studied did not present a genetic bottleneck. The effective population size was smaller than the number of individuals sampled for all populations. There is a need to preserve larger areas of collection so that genetic diversity is maintained throughout the generations, mainly due to the presence of private alleles and within the evaluated species.

**Keywords:** Bambusoideae, *Guadua*, bamboo, genetic diversity, clonal individuals, Amazonian forest, genetic conservation, population structure.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Distribuição das florestas com bambu ( <i>Guadua</i> sp.) no sudoeste da Amazônia, detectados através de imagem desatélite.....	17
Figura 2. Distribuição das formações florestais com bambu ( <i>Guadua</i> ) no estado do Acre. ....	18
Figura 3. Distribuição do gênero <i>Guadua</i> no continente Americano. ....	20
Figura 4. Colmos de <i>Guadua</i> aff. <i>chaparensis</i> em Sena Madureira – AC/BR. <b>A</b> - vista dos colmos em uma touceira; <b>B</b> – Colmos com folhas e galhos. ....	21
Figura 5. Colmos de <i>Guadua</i> aff. <i>lynnclarkiae</i> em Porto Acre – AC/BR. <b>A</b> – Colmo com ramificações espinhosas; <b>B</b> – Nó com espinhos; <b>C</b> – Vista de uma touceira. ....	22

### CAPÍTULO I

Figura 1. Colmos de <i>Guadua</i> aff. <i>chaparensis</i> em Sena Madureira – AC/BR. ....	40
Figura 2. Colmos de <i>Guadua</i> aff. <i>lynnclarkiae</i> em Porto Acre – AC/BR. ....	40
Figura 3. Localização das populações estudadas no estado do Acre, contemplando os municípios de Bujari, Sena Madureira e Porto Acre. ....	41
Figura 4. Coleta do limbo foliar de <i>Guadua</i> aff. <i>lynnclarkiae</i> para as análises genéticas. ....	43
Figura 5. <b>A</b> – Perfil monomórfico do loco RM332 para a população 2 de <i>Guadua</i> aff. <i>chaparensis</i> ( <b>L</b> : Ladder 10 pb LifeTechnologies®). A seta na imagem indica a presença de um alelo em todos os indivíduos avaliados.). <b>B</b> – Perfil polimórfico do loco FJ444930 para a população 3 de <i>Guadua</i> aff. <i>chaparensis</i> ( <b>L</b> : Ladder 10 pb LifeTechnologies®). As setas na imagem indicam a presença de dois alelos no indivíduo 42.). ....	49
Figura 6. Representação gráfica do coeficiente de coancestria, linhas tracejadas correspondem ao intervalo de confiança a 95%, linha contínua o coeficiente de coancestria nas populações de <i>Guadua</i> aff. <i>chaparensis</i> . ....	54
Figura 7. Representação gráfica do coeficiente de coancestria, linhas tracejadas correspondem ao intervalo de confiança a 95%, linha contínua o coeficiente de coancestria na população de <i>Guadua</i> aff. <i>lynnclarkiae</i> .....	55
Figura 8. Distribuição geográfica dos indivíduos clonais dentro das populações 1( <b>A</b> ) e 2 ( <b>B</b> ) <i>Guadua</i> aff. <i>chaparensis</i> . Os eixos Y e X representam as coordenadas geográficas; ( <b>A</b> ) os pontos coloridos em verde claro (■), representam os indivíduos não clonais ( <b>B</b> ) os pontos coloridos em azul claro (+) representam os indivíduos não clonais. ....	57
Figura 9. Distribuição geográfica dos indivíduos com alta similaridade genética dentro da população 5 <i>Guadua</i> aff. <i>lynnclarkiae</i> , Os eixos Y e X representam as coordenadas geográficas; os pontos coloridos em azul (+) representam os indivíduos não clonais. ....	58
Figura 10. Os pontos nas imagens representam as populações, sendo respectivamente da esquerda para a direita as populações P2, P3, P4 e P1. <b>A</b> : Início da mortalidade na área das P1 e P4 de <i>Guadua</i> aff. <i>chaparensis</i> , no município de Sena Madureira – AC. <b>B</b> : Continuação da mortalidade em P1 e P4, e início em P2 e P3, no município de Sena Madureira – AC. As manchas mais claras na imagem relevam a mortalidade do bambu no cenário. ....	60

Figura 11. Representação das populações das espécies de *Guadua* aff. *chaparensis* e *Guadua* aff. *lynnclarkiae* utilizando programa Structure 2.3.4. Cada cor representa uma população, Rosa: P1; Azul: P2; Vermelha: P3; Amarela: P4 e Verde: P5 (*G.* aff. *lynnclarkiae*). ..... 61

## CAPÍTULO II

Figura 1. Aspecto dos colmos de *Guadua* aff. *chaparensis* em Sena Madureira – AC/BR. .... 75

Figura 2. Aspecto dos colmos de *Guadua* aff. *lynnclarkiae* em Porto Acre – AC/BR. .... 76

Figura 3. Localização das populações de bambu estudadas no estado do Acre, contemplando os municípios de Bujari, Sena Madureira e Porto Acre. .... 77

Figura 4. Medição do diâmetro dos colmos de *Guadua* aff. *lynnclarkiae* (A) e *G.* aff. *chaparensis* (B). .... 78

Figura 5. Dispersão do tipo agrupada dos indivíduos das populações P1, P2 e P5, das espécies *G.* aff. *chaparensis* e *G.* aff. *lynnclarkiae*, segundo Clark e Evans (1954). Os eixos X e Y correspondem as coordenadas geográficas em UTM. .... 81

Figura 6. Dispersão do tipo uniforme (P3) e aleatória (P4) dos indivíduos das populações P3 e P4, espécie *G.* aff. *chaparensis*, segundo Clark e Evans (1954). Os eixos X e Y correspondem as coordenadas geográficas em UTM. .... 82

Figura 7. Distribuição do diâmetro de colmos avaliados nas touceiras das populações de *Guadua* aff. *chaparensis* coletados nos municípios de Bujari e Sena Madureira. .... 85

Figura 8. Distribuição do diâmetro de colmos avaliados nas touceiras de cada população para *Guadua.* *lynnclarkiae* coletados no município de Porto Acre. .... 86

Figura 9. Box-plots para o diâmetro médio entre as populações das espécies de *Guadua* aff. *chaparensis* (P1, P2, P3 e P4) e *G.* aff. *lynnclarkiae* (P5). .... 86

Figura 10. Distribuição do número de colmos por touceira nas populações de *Guadua* aff. *chaparensis* coletados nos municípios de Bujari e Sena Madureira. .... 88

Figura 11. Distribuição do número de colmos por touceira nas populações de *Guadua* aff. *lynnclarkiae* coletados no município de Porto Acre. .... 89

Figura 12. Box-plots para o número de colmos por touceira entre as populações das espécies de *Guadua* aff. *chaparensis* (P1 a P4) e *G.* aff. *lynnclarkiae* (P5). .... 89

Figura 13. Ordenação gerada pelo NMDS (Stress = 0,263) ilustrando a distribuição dos indivíduos nas diferentes populações, com base no diâmetro médio e número de colmos por indivíduo. .... 90

## CAPÍTULO III

Figura 1. Aspecto dos colmos de *Guadua* aff. *chaparensis* em Sena Madureira – AC/BR. .... 102

Figura 2. Aspecto dos colmos de *Guadua* aff. *lynnclarkiae* em Porto Acre – AC/BR. .... 102

Figura 3. Localização das populações de bambu estudadas no estado do Acre, contemplando os municípios de Bujari, Sena Madureira e Porto Acre. .... 103

Figura 4. Coleta do limbo de *Guadua* aff. *lynnclarkiae* foliar para as análises genéticas. .... 105

## LISTA DE TABELAS

### CAPÍTULO I

Tabela 1. Caracterização das áreas de coleta do estudo com as espécies <i>Guadua</i> aff. <i>chaparensis</i> e <i>Guadua</i> aff. <i>lynnclarkiae</i> na região sudoeste da Amazônia – Acre. ....	42
Tabela 2. Locos SSR desenvolvidos por Pérez-Galindo et al. (2009) <sup>1</sup> , Oliveira et al. (2009) <sup>2</sup> Temnykh et al. (2000) <sup>3</sup> e Chen et al. (1997) <sup>4</sup> usados para a análise de transferibilidade nas as espécies <i>Guadua</i> aff. <i>chaparensis</i> e <i>Guadua</i> aff. <i>lynnclarkiae</i> . ....	45
Tabela 3. Locos transferidos para as espécies <i>Guadua</i> aff. <i>chaparensis</i> e <i>Guadua</i> aff. <i>lynnclarkiae</i> . ....	48
Tabela 4. Caracterização dos locos SSR para as populações de <i>Guadua</i> aff. <i>chaparensis</i> nos municípios de Bujari/AC e Sena Madureira – AC (A) e <i>Guadua</i> aff. <i>lynnclarkiae</i> no município de Porto Acre – AC (B). ....	50
Tabela 5. Diversidade genética das populações das <i>Guadua</i> aff. <i>chaparensis</i> e <i>Guadua</i> aff. <i>lynnclarkiae</i> avaliadas nos municípios de Bujari/AC, Sena Madureira/ AC e Porto Acre /AC.	52

### CAPÍTULO II

Tabela 1. Caracterização das áreas de coleta do estudo com as espécies <i>Guadua</i> aff. <i>chaparensis</i> e <i>Guadua</i> aff. <i>lynnclarkiae</i> na região sudoeste da Amazônia – Acre.....	78
Tabela 2. Índice de dispersão e distribuição para as populações estudadas. ....	81
Tabela 3. Média de colmos por touceira das populações de <i>Guadua</i> aff. <i>chaparensis</i> e <i>G.</i> aff. <i>lynnclarkiae</i> em populações naturais no estado do Acre. ....	84

### CAPÍTULO III

Tabela 1. Caracterização das áreas de coleta do estudo com as espécies <i>Guadua</i> aff. <i>chaparensis</i> e <i>Guadua</i> aff. <i>lynnclarkiae</i> na região sudoeste da Amazônia – Acre.....	104
Tabela 2. Parâmetros de conservação genética das populações de <i>Guadua</i> aff. <i>chaparensis</i> e <i>Guadua</i> aff. <i>lynnclarkiae</i> avaliadas na Amazônia Sul–Occidental.....	108
Tabela 3. Diversidade genética e índice de fixação das populações das <i>Guadua</i> aff. <i>chaparensis</i> e <i>Guadua</i> aff. <i>lynnclarkiae</i> avaliadas na Amazônia Sul – Occidental. ....	109
Tabela 4. Dados alélicos e índice de fixação das populações das <i>Guadua</i> aff. <i>chaparensis</i> e <i>Guadua</i> aff. <i>lynnclarkiae</i> avaliadas na Amazônia Sul – Occidental. ....	110
Tabela 5. Deficiência de heterozigotos com base no programa Bottleneck para as espécies <i>Guadua</i> aff. <i>chaparensis</i> e <i>Guadua</i> aff. <i>lynnclarkiae</i> avaliadas na Amazônia Sul – Occidental. ....	111

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	15
<b>2. OBJETIVO</b> .....	16
<b>3. REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	17
3.1 <i>Guadua</i> na Amazônia e na América do Sul: Importância e Conservação.....	17
3.2 Botânica, distribuição e ecologia das espécies em estudo .....	19
3.2.1 Gênero <i>Guadua</i> .....	19
3.2.2 Espécies <i>Guadua</i> aff. <i>chaparensis</i> e <i>Guadua</i> aff. <i>lynnclarkiae</i> .....	20
3.3 Estrutura populacional de plantas.....	22
3.4 Uso de marcadores moleculares e a transferibilidade .....	24
3.5 Estudos de diversidade e conservação genética de plantas .....	25
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	27
<b>4. CAPÍTULO I</b> .....	35
<b>DIVERSIDADE E ESTRUTURA GENÉTICA DE ESPÉCIES NATIVAS DE <i>Guadua</i> (POACEAE: BAMBUSOIDEAE) EM POPULAÇÕES NATURAIS DO SUDOESTE DA AMAZÔNIA*</b> .....	35
<b>4.1 INTRODUÇÃO</b> .....	38
4.2.1 Espécies estudadas, Área de estudo e Amostragem.....	39
4.2.2 Análises genéticas .....	43
4.2.2.1 Extração de DNA .....	43
4.2.2.2 Marcadores Microssatélite .....	43
4.2.3 Análises de dados .....	45
4.2.3.1 Diversidade Genética .....	45
4.2.3.2 Estrutura Genética Espacial .....	46
4.2.3.3 Identificação de clones e parâmetros para análise de identidade .....	46
4.2.3.4 Estrutura genética.....	47
<b>4.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	48
4.3.1 Diversidade Genética .....	48

4.3.3 Identidade Clonal .....	56
4.3.4 Estrutura Genética .....	59
<b>4.4 CONCLUSÕES.....</b>	<b>62</b>
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>63</b>
<b>5. CAPÍTULO II.....</b>	<b>70</b>
<b>ESTRUTURA POPULACIONAL DE <i>Guadua aff. chaparensis</i> E <i>Guadua aff. lynnclarkiae</i> NA AMAZÔNIA SUL-OCIDENTAL BRASILEIRA.....</b>	<b>70</b>
<b>5.1 INTRODUÇÃO .....</b>	<b>73</b>
<b>5.2 MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>75</b>
5.2.1 Espécies estudadas, área de estudo e amostragem .....	75
5.2.2 Análises de dados .....	79
5.2.2.1 Distribuição espacial dos indivíduos.....	79
5.2.2.2 Densidade e distribuição dos indivíduos em relação ao DAP e número de colmos .....	79
5.2.2.3 Similaridade das espécies (NMDS).....	80
<b>5.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>80</b>
5.3.1 Distribuição espacial dos indivíduos.....	80
5.3.2 Densidade e distribuição dos indivíduos em relação ao DAP e número de colmos	83
5.3.3 Similaridade das espécies.....	89
<b>5.4 CONCLUSÕES.....</b>	<b>91</b>
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>91</b>
<b>6. CAPÍTULO III.....</b>	<b>97</b>
<b>CONSERVAÇÃO GENÉTICA E TAMANHO EFETIVO POPULACIONAL DE <i>Guadua aff. chaparensis</i> E <i>Guadua aff. lynnclarkiae</i> EM POPULAÇÕES NATURAIS DA REGIÃO SUL-OCIDENTAL DA AMAZÔNIA BRASILEIRA.....</b>	<b>97</b>
<b>6.1 INTRODUÇÃO .....</b>	<b>100</b>
<b>6.2 MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>101</b>
6.2.1 Espécies estudadas, área de estudo e amostragem .....	101
6.2.2 Análises de dados .....	105

<b>6.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	107
6.3.1 Tamanho Efetivo Populacional e Área Mínima Viável .....	107
6.3.2 Diversidade genética, Declínio de Heterozigosidade Populacional e Gargalo Genético .....	108
<b>6.4 CONCLUSÕES</b> .....	112
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	112

## 1. INTRODUÇÃO

Estima-se que os bambus estão presentes na Amazônia há mais de 40 mil anos e abrigam espécies que estão conectadas a eles e são dependentes de sua presença para sobreviver (EMMONS, 1981; DAVIDSON et al., 2006; COCKLE; ARETA, 2013, JACOBS et al., 2018). A maioria das espécies de bambu da Amazônia cresce em manchas (GRISCOM; ASHTON, 2006), tendo sua expansão ao longo dos anos relacionada, principalmente, com as mudanças no uso da floresta.

Florestas com bambu ou dominadas por ele, além de possuírem valor ecológico e biológico, podem ser um recurso não madeireiro usado em várias áreas (construção civil, artesanato, reflorestamento, alimentos, farmacêutica, etc.). Na América do Sul, países como a Colômbia e o Equador têm utilizado e estudado espécies de bambus nativos para usos diversos (KLEIN; HIDALGO-MORALES, 2006; GALLÓN; TORRES; CABRERA, 2011; MUÑOZ – FLÓRES, 2011).

*Guadua* é um gênero de bambu neotropical endêmico (OLIVER et al., 2009). Ele faz parte da família Poaceae, caracterizado por ser arborescente e de rápido crescimento vegetativo (JAZEN, 1976). A maioria das espécies apresenta um único evento de reprodução sexuada e morrem após esse evento, sendo o florescimento em ondas, seguido da morte da touceira (SILVEIRA, 2001). O estado do Acre abriga a maior área de ocorrência de bambus da Amazônia (SILVEIRA, 2005; PEREIRA; BERALDO, 2007; FREITAS JÚNIOR; SILVEIRA, 2009, MIRANDA, 2016), sendo considerado o maior reservatório natural do mundo das espécies do gênero *Guadua*.

Estudos que determinam a estrutura populacional e genética de espécies de bambu do gênero *Guadua* ainda são escassos no Brasil e na América do Sul. No entanto, eles são importantes para darem subsídios a programas de desenvolvimento e exploração das populações naturais, além da conservação de recursos genéticos *in situ* e *ex situ*. A manutenção da diversidade genética de espécies de bambu é importante para a seleção dos melhores genótipos e para a manutenção das espécies dentro dos ecossistemas, principalmente os que sofrem ações antrópicas (TERRANOVA, 2011; YANG et al., 2012). De fato, a perda de biodiversidade enfraquece as conexões de espécies e prejudica os ecossistemas, podendo levar à extinção de espécies e populações (LIU; KUCHMA; KRUTOVSKY, 2018).

A diversidade genética é o componente mais importante da biodiversidade. Na verdade, é à base de toda a biodiversidade e fundação do ecossistema (LIU; KUCHMA; KRUTOUSKY,

2018). Com o uso de marcadores moleculares microssatélites (SSR) é possível identificar a diversidade genética, o fluxo gênico e a presença de indivíduos clonais dentro das populações. O uso de marcadores moleculares para várias espécies de bambu tem mostrado que há variação da diversidade genética dentro e entre as espécies já estudadas. Estas análises tem revelado que as espécies de bambu possuem divergência genética entre suas populações, com baixo fluxo gênico, o que pode ser relacionado à sua biologia reprodutiva (YANG et al., 2012; TIAN et al., 2012; ATTIGALA et al., 2017; YANG et al., 2018). Com base nessas informações, é possível definir parâmetros genéticos que atuem na conservação das populações, fornecendo subsídios para a conservação genética e manejo das espécies.

As espécies de *Guadua* possuem gargalos relacionados à definição taxonômica, assim como muitas outras espécies de bambu, não só pela carência de taxonomistas especializados, mas também devido ao seu ciclo de vida, que pode variar por décadas entre um evento de floração para outro (SILVEIRA, 2001; CARVALHO et al., 2013).

As espécies em estudo (*Guadua* aff. *chapararensis* e *Guadua* aff. *lynnclarkiae*) foram recentemente incluídas como duas novas ocorrências de espécies de *Guadua* para o estado do Acre. Elas são encontradas em manchas bem restritas nos municípios de Bujari, Sena Madureira e Porto Acre, e foram descritas como afinidades de *Guadua chaparensis*, que ocorre na Bolívia (LONDOÑO; ZURITA, 2008) e a *Guadua lynnclarkiae*, descrita no Peru (LONDOÑO, 2013).

Nesse contexto, conhecer a estrutura populacional, assim como diversidade genética dessas espécies pode auxiliar e dar subsídio para a domesticação e uso racional de populações naturais, uma vez que a existência delas precisa ser vista não como um efeito deletério para a floresta, mas como um constituinte útil e necessário para o ecossistema.

## 2. OBJETIVO

Estudar a diversidade genética e a estrutura populacional das espécies *Guadua* aff. *chapararensis* e *Guadua* aff. *lynnclarkiae* na região Sul–Ocidental da Amazônia brasileira.

### 3. REVISÃO DE LITERATURA

#### 3.1 *Guadua* na Amazônia e na América do Sul: Importância e Conservação.

As florestas abertas dominadas por bambu do gênero *Guadua* cobrem cerca de 180.000 Km<sup>2</sup> do Sudoeste da Bacia Amazônica, incluindo o sudeste do Peru, o norte da Bolívia e o oeste do Brasil (NELSON; KALLIOLA; SHEPARD, 1997; SILVEIRA, 2005) (Figura 1). Esta área suporta a maior formação florestal dominada por bambus neotropicais (GRISCOM; DALY; ASHTON, 2007), que tem estado presente na região desde o pré-Holoceno, como sugerido por evidências fósseis que datam de mais de 45 mil anos, antes mesmo da ocupação humana na região (OLIVIER et al., 2009). Brasil, Peru, Bolívia, Equador, Colômbia e Venezuela são considerados centros de origem deste gênero, com uma grande diversidade de espécies (JUDZIEWICZ et al., 1999; LONDOÑO; PETERSON, 1992).

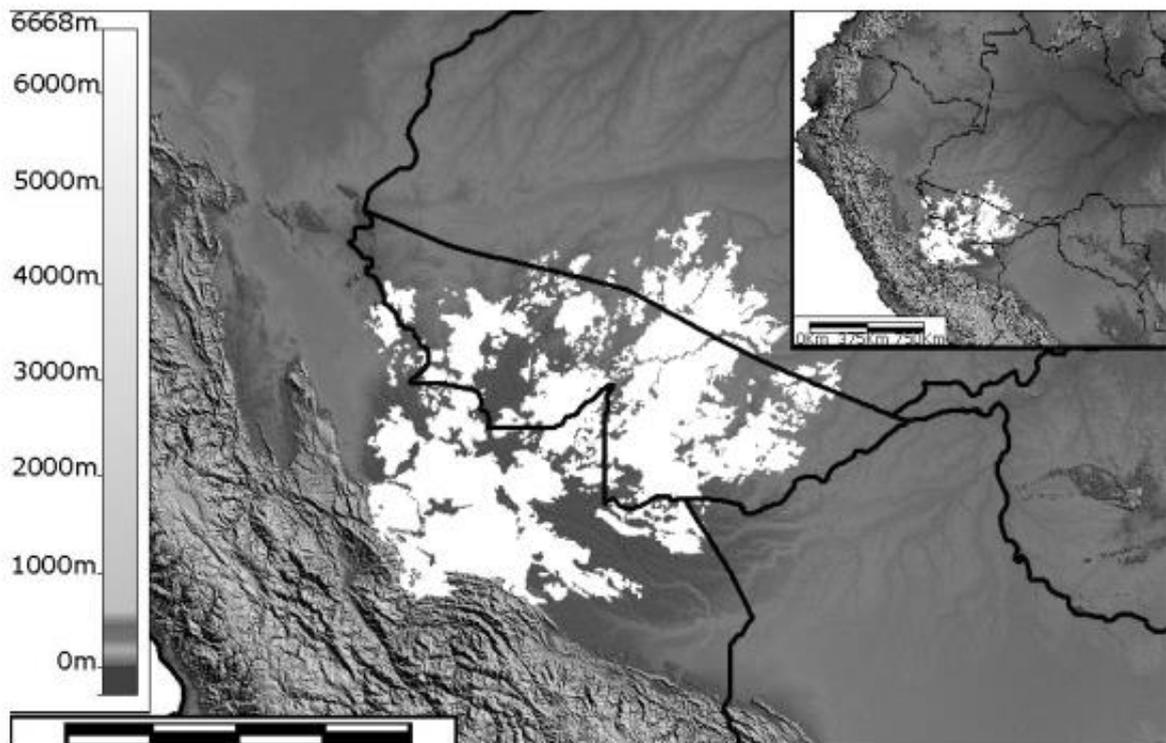


Figura 1. Distribuição das florestas com bambu (*Guadua* sp.) no sudoeste da Amazônia, detectados através de imagem de satélite. Fonte: Siveira et al., 2008. [https://www.researchgate.net/figure/Distribuicao-das-Florestas-Abertas-com-bambu-do-genero-Guadua-no-sudoeste-da-Amazonia\\_fig3\\_266381969/actions#embed](https://www.researchgate.net/figure/Distribuicao-das-Florestas-Abertas-com-bambu-do-genero-Guadua-no-sudoeste-da-Amazonia_fig3_266381969/actions#embed)

O estado do Acre está situado na região Sul-Occidental da Amazônia brasileira, detendo florestas dominadas por bambu. A Região é considerada a maior reserva natural do planeta com espécies de *Guadua* (PEREIRA; BERBALDO, 2007; SILVA, 2015) (Figura 2). Estas espécies crescem em manchas que variam de menos de um hectare até dezenas ou mesmo milhares de

hectares (GRISCOM; ASHTON, 2006). Segundo Silveira (2005) as espécies predominantes são: *Guadua weberbaueri*, *Guadua sarcocarpa* e *Guadua superba*.

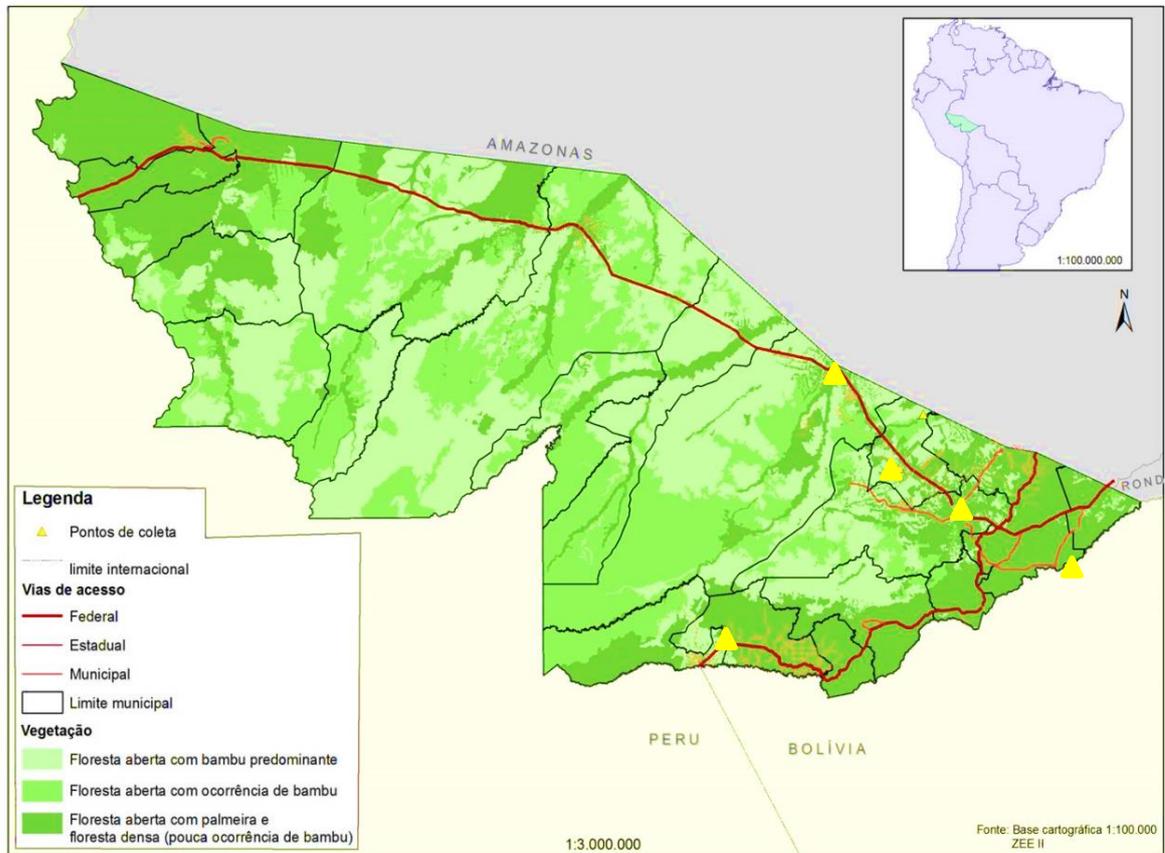


Figura 2. Distribuição das formações florestais com bambu (*Guadua*) no estado do Acre. Fonte: ZEE II, 2010.

Do ponto de vista social, econômico e ecológico as espécies de bambus são de grande importância para alguns países da América do Sul por serem fonte de matéria-prima para construção civil, alimentação humana e animal, sendo também utilizadas na recuperação de áreas degradadas (BHATT; SINGH; SINGH, 2005; MOKTAN et al., 2009), podem ser uma importante alternativa de cultura para sequestro de carbono (RIAÑO et al., 2002; NATH et al., 2015). As touceiras de bambu também servem como abrigo para muitas espécies de pássaros e mamíferos (YEASMIN et al., 2015). No Peru as florestas de bambu demonstraram diferentes espécies de besouros da família Scarabaeidae, que parecem ter ocorrência específica em florestas com bambu (JACOBS et al., 2018).

Florestas dominadas por bambu nesta região são um exemplo de ecossistema que requer um maior dedicação taxonômica e gestão. A dominância de bambus nestas florestas tem desempenhado um papel importante no fornecimento de serviços ambientais

e ecossistêmicos (ROCKWELL et al., 2014). Grandes manchas de bambu podem crescer e desaparecer ao longo do tempo e do espaço, representando ser um recurso dinâmico e relativamente de curta duração para outros organismos (JACOBS et al., 2018).

A Amazônia brasileira possuiu grandes taxas de desmatamento (NUMATA et al., 2017) e, mesmo com as leis ambientais, o desmatamento tem continuado, constituindo-se como uma ameaça constante para o desaparecimento da flora e fauna. As florestas dominadas por *Guadua* são habitats surpreendentemente únicos porque ocorrem como ilhas monodominantes cercadas por uma floresta tropical hiper-diversificada, com habitat espacial e biologicamente distinto (JACOBS et al., 2018). A substituição desses habitats por pastagens, áreas voltadas para a agricultura e manejo florestal, pode colocar em risco a manutenção e a permanência de espécies de *Guadua* já conhecidas e as que ainda precisam ser descritas pela ciência.

### 3.2 Botânica, distribuição e ecologia das espécies em estudo

#### 3.2.1 Gênero *Guadua*

O gênero *Guadua* Kunth (Poaceae: Bambusoideae: Bambuseae: Guaduiniae) é um gênero endêmico da América, pertencente a sub-tribo Guaduiniae, composto de bambus lenhosos (SODERSTROM; LONDOÑO 1987; JUDZIEWICZ et al., 1999; LONDOÑO; CLARK; 2002). O nome *Guadua* tem origem nos povos indígenas da Colômbia. A distribuição do gênero vai da América Central a América do Sul, desde o México ao Paraguai e Argentina, com centro de origem de diversificação no oeste da Amazônia e na Bacia do Orinoco (OHRNBERGER, 1999) (Figura 3). As plantas são arborescentes e apresentam espinhos nos galhos e colmos (JAZEN, 1976). Os colmos podem atingir até 30 metros de altura e cerca de 20 cm de diâmetro (OHRNBERGER, 1999), formando touceiras com colmos fortemente lignificados, ocos, eretos na base e escandentes no topo. As plantas apresentam rizomas do tipo paquimorfo, com pescoços curtos ou alongados (JUDZIEWICZ et al., 1999; CLARK; ELY, 2011). O sistema reprodutivo de plantas do gênero *Guadua* é formado por inflorescências, composta de flores pequenas e bissexuais polinizadas pelo vento (JUDZIEWICZ et al., 1999).

Nas espécies de *Guadua paniculata* e *Guadua inermis* foi observado nas flores a presença de abelhas, o que pode colaborar com a polinização eólica (RUIZ-SANCHEZ et al., 2017). A maioria das espécies é semélpara (um único evento de reprodução sexuada) e monocárpica (morrem após esse evento). O florescimento ocorre em ondas, seguido de morte da touceira (gregário) (JAZEN, 1976; SILVEIRA, 2001). Para bambus tropicais, como *Guadua*, sabe-se que

o ciclo de vida pode durar de 3 a 60 anos (LONDOÑO, 2013). De forma geral, documentar a biologia reprodutiva de espécies de bambu é um desafio por causa dos longos períodos de tempo entre os ciclos de floração (RUIZ-SANCHEZ et al., 2017).

Os bambus deste gênero são predominantemente tropicais, perenes, renováveis e de rápido crescimento. Eles estão distribuídos em habitats composto por florestas, várzeas, matas de galeria e savanas, em regiões de clima quente e, geralmente, são de baixas altitudes, mas podem ser encontrados em altitudes de até 2.200 metros (OHRNBERGER, 1999; JUDZIEWICZ et al., 1999; LONDOÑO, 2002).

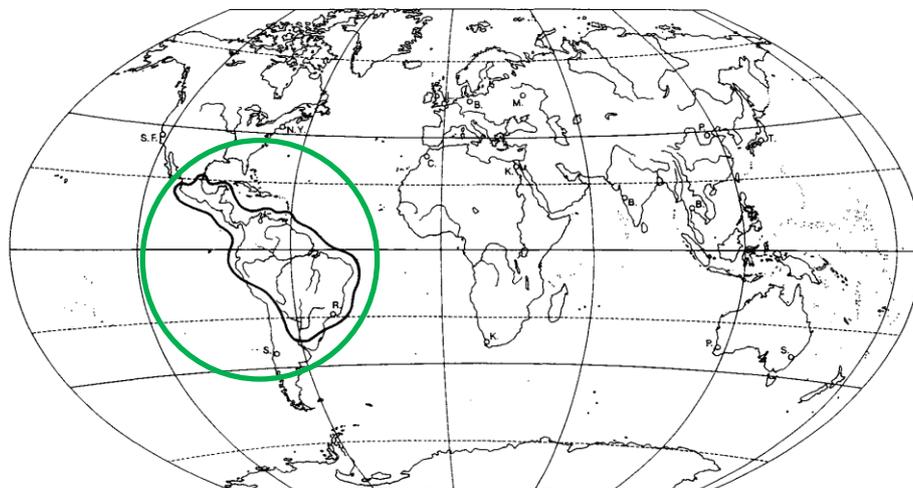


Figura 3. Distribuição do gênero *Guadua* no continente Americano. Fonte: Livro *The bamboos of the world* (D. OHRNBERGER, 1999).

O gênero *Guadua* abriga cerca de 29 espécies (LONDOÑO, 2013). Para a flora do Brasil há relatos de 16 espécies descritas, sete endêmicas, sendo que para o Acre três espécies e duas subespécies são descritas (FLORA DO BRASIL, 2019; GBIF 2018).

### 3.2.2 Espécies *Guadua* aff. *chaparensis* e *Guadua* aff. *lynnclarkiae*

As espécies deste trabalho foram recentemente descritas para a flora Acreana (LONDOÑO, 2017, comunicação pessoal), apresentando afinidades com *Guadua chaparensis* (LONDOÑO; ZURITA, 2008) e *Guadua lynnclarkiae* (LONDOÑO, 2013).

*Guadua* aff. *chaparensis* é um bambu arborizado e espinhoso, com rizomas paquimorfos. A espécie cresce em florestas de terras baixas, muito úmidas e têm em comum a presença de água no interior dos entrenós ocos. Os colmos medem de 18–25 m de altura e 7–12 cm de diâmetro, ereto na base, arqueamento do meio para a porção apical, sendo verde-esbranquiçado

quando jovem e verde escuro na maturidade (Figura 4 A e B), cilíndrico, oco, alguns cheios de água, com a parede 1–1,5 cm de espessura, com broto único. Os entrenós estão presentes no colmo entre 22-50 cm de comprimento.

As folhas caulinares são coreáceas, triangulares, decíduas e de coloração marrom, medindo de 29-57 cm de comprimento, 35-54 cm de largura na base (LONDOÑO; ZURITA, 2008).



Figura 4. Colmos de *Guadua* aff. *chaparensis* em Sena Madureira – AC/BR. **A** - Vista dos colmos em uma touceira; **B** – Colmo com folhas e galhos.

A segunda espécie em estudo é a *Guadua* aff. *lynnclarkiae*, um bambu arbóreo, também com espinhos e rizoma paquimorfo em forma de tartaruga. Os colmos medem de 20-27 m de altura, com diâmetro de 9-17 cm, ereto na base e arqueado apicalmente. Possuem coloração verde, com listras verdes mais escuras quando jovem, entalhes ocos, nós solitários, linhas nodais horizontais pronunciadas, ligeiramente inclinadas abaixo da gema, com faixa de pêlos brancos. Os ramos são primários solitários com um a quatro espinhos por nó, são espinhosos com ou sem desenvolvimento de suplementos foliares no final (Figura 5 A, B e C). As folhas caulinares são

triangulares, coréáceas de coloração marrom, medindo de 68 a 91 cm de comprimento por 68 a 72 cm de largura. (LONDOÑO, 2013).



Figura 5. Colmos de *Guadua* aff. *lynnclarkiae* em Porto Acre – AC/BR. **A** – Colmo com ramificações espinhosas; **B** – Nó com espinhos; **C** – Vista de uma touceira.

### 3.3 Estrutura populacional de plantas

A estrutura populacional de plantas é o resultado de ações de forças bióticas e/ou abióticas que provocam alterações na organização estabelecida pelos indivíduos, demonstrando como uma espécie explora o ambiente que ocupa, além de estar relacionada à variação morfológica, abundância e distribuição dos indivíduos dentro de sua área de ocorrência (MARTINS, 1987; PUTZ et al., 2001; LOPES, 2007). As principais estruturas populacionais são: a etária (número

de indivíduos em cada estágio do ciclo de vida), a de tamanho (número de indivíduos de diferentes tamanhos) e a espacial (variação de densidade e distribuição dos indivíduos) (ARANTES; SCHIAVINI, 2011).

O tamanho populacional é um bom indicador para a viabilidade de populações de plantas (FISCHER E STÖCKLIN, 1997). A densidade de plantas pode ser positivamente relacionada ao tamanho da população (ADRIAENS et al., 2009). Assim, populações com maior tamanho podem ser mais dinâmicas e devem ter um maior rendimento reprodutivo do que populações menores (BRYNS et al., 2003, PUTZ et al., 2015).

A estrutura populacional tem sido amplamente utilizada como medida de viabilidade populacional (LANDI; ANGIOLINI, 2011). E tem provado ser uma boa medida para identificar os efeitos das condições do hábitat na viabilidade da população.

Em plantas há uma tendência para a distribuição espacial agregada, relacionada às condições favoráveis para a sua reprodução e sobrevivência. Isso é devido à presença de distúrbios ou fatores ambientais que podem limitar a sua distribuição (PERRY; DIXON, 2002; VARELLA et al., 2018). Na reprodução clonal, a maioria dos indivíduos dentro de uma população pode ser agregada (SCHNITZER et al., 2012). Em bambu, são raros os trabalhos que avaliam a distribuição espacial das touceiras em habitat natural (BYSTRIAKOVA et al., 2003) especialmente na floresta amazônica.

A densidade de povoamentos é o fator determinante, e mais importante, no crescimento, sobrevivência e reprodução de bambus (MAKITA, 1996). Em florestas tropicais, o padrão espacial muda de forte agregação na fase inicial de vida, para aleatório ou regular em seus estágios finais de desenvolvimento (SILVEIRA et al., 2018). Em espécies com crescimento vegetativo este padrão pode mudar. O padrão agregado dos indivíduos é atribuído em função da propagação vegetativa ou crescimento clonal (PARE et al. 2009).

Os padrões espaciais de uma população geralmente variam de acordo com as mudanças e escala temporal (MA et al., 2019). As espécies de bambu do gênero *Guadua* tem sua dinâmica populacional voltada principalmente para a emissão de novos brotos, através do crescimento vegetativo, em extensas áreas onde ocorre. Eles são componentes importantes nas florestas tropicais úmidas por atuarem diretamente na estruturação e dinâmica dessas comunidades. Entender os padrões de distribuição espacial pode auxiliar no conhecimento dos diferentes processos que desenham esses ambientes (PADGURSCHI, 2014).

### 3.4 Uso de marcadores moleculares e a transferibilidade

Os marcadores de DNA podem ser definidos como um fragmento de DNA genômico revelando variações/mutações em sequência, que está associado ou ligado a um local definido (loco) dentro do genoma (JIANG, 2017). Os marcadores moleculares podem ser utilizados para diversos fins, incluindo-se a detecção da diversidade genética e, conseqüentemente, o gerenciamento dos recursos genéticos (COBURN et al., 2002; VANNIARAJAN et al., 2012).

Os marcadores moleculares microsatélites (SSR - *Simple Sequence Repeats*) são compostos por sequências de poucos pares de bases de DNA (1 – 10 pb) de comprimento (VIEIRA et al., 2016), repetidos em *tandem*, abundantes e dispersos por todo o genoma dos organismos eucarióticos (AGARWAL; SHRIVASTAVA; PADH, 2008). A amplificação é feita através de PCR (Reação em Cadeia da Polimerase). Eles são comumente caracterizados pela sua hipervariabilidade, reprodutibilidade, natureza codominante, especificidade dos locos e distribuição genômica aleatória (JIANG, 2017). Os microsatélites em diferentes regiões genômicas possuem características distintas e podem desempenhar funções variadas (SONAH et al., 2011).

O uso do SSR permite estudar a diversidade genética das espécies de forma rápida e segura (GRATTAPAGLIA, 2007; KALIA et al., 2011; ISMAIL et al., 2016). Além de permitir determinar os genótipos, o SSR é um meio poderoso para investigar e quantificar a diversidade genética, estrutura genética espacial, sistemas de acasalamento e fluxo gênico (VISON et al., 2018). Esse tipo de marcador possibilita, também, conhecer a distribuição da variação genética dentro e entre as populações, prover descobertas relativas à história de uma população e os níveis atuais de distribuição da variação genética (RAJORA et al., 2000; ISMAIL et al., 2016).

Desta forma, marcadores moleculares nucleares como o SSR são uma boa alternativa para estudar a diversidade e a distância genética de espécies de bambu, além de poderem auxiliar na identificação das mesmas (KUMAR, 1999; ZHAO et al., 2014; YU et al., 2016; ATTIGALA et al., 2017). Eles podem ser usados em espécies relacionadas e para aquelas onde há pouca ou nenhuma informação genômica disponível (SONAH ET AL., 2011), mesmo que para muitas espécies marcadores SSR não tenham sido desenvolvidos.

De fato, um número limitado de marcadores SSR foi gerado para espécies de bambu (CHEN et al., 2010). Nestes casos, a transferibilidade tem sido uma alternativa viável, mais econômica e rápida quando marcadores moleculares SSR específicos não estão disponíveis. Vários estudos indicam similaridades nas sequências de DNA localizadas nas regiões de sequências repetitivas constituintes do SSR entre diferentes espécies (CIAMPI et al., 2008).

Assim, a transferibilidade surge como uma ferramenta valiosa para estudos comparativos entre espécies taxonômicas relacionadas e como um instrumento útil em programas de melhoramento e conservação (CARVALHO et al., 2015). O uso de marcadores SSR entre espécies correlacionadas da família Poaceae tem se mostrado eficiente e adequado para isto (MARALUNDA; LÓPEZ; CLAROZ, 2005; SHARMA et al., 2008; CHEN et al., 2010), além de espécies do mesmo gênero (SANTOS et al., 2015). Para espécies de bambu do gênero *Guadua* foram desenvolvidos nove locos SSR para a *Guadua angustifolia* (PÉREZ – GALINDO et al., 2009). Já para a espécie de *Guadua chacoensis*, espécie encontrada no Sul do Brasil, foram desenvolvidos 12 locos SSR (ROSSAROLLA, 2016). No entanto, para a maioria das espécies nativas da América do Sul deste gênero quase nenhum trabalho de genética, principalmente relacionada a desenvolvimento de marcadores moleculares, tem sido feito (ZHAO et al., 2014).

### 3.5 Estudos de diversidade e conservação genética de plantas

As florestas neotropicais estão entre os mais diversos sistemas biológicos da terra e estão sob ameaça particular em virtudes das mudanças antropogênicas do uso da terra (VISON et al., 2018). Estas mudanças podem afetar diretamente a diversidade genética de populações, levando-as a processos de isolamento e declínio genético (PFLÜGER; SIGNER; BALKENHOL, 2018).

A diversidade genética entra como um fator chave para a conservação de populações que estão sob a crescente ameaça nas regiões de florestas neotropicais, como as localizadas na região amazônica. Populações dentro de determinadas extensões tendem a ser geneticamente diferentes (WHITLOCK et al., 2016). Assim, os níveis de diversidade podem variar de acordo com o tamanho populacional e a fragmentação das áreas onde as populações estão inseridas. Quanto maior distância entre os fragmentos, menor o fluxo gênico entre os indivíduos, causando efeitos deletérios sobre a diversidade genética dentro e entre populações. Esse fato pode trazer prejuízos com a diminuição da diversidade, principalmente em populações pequenas (LOWE et al., 2005; GAIANO et al., 2010; VRANCKX ET AL, 2014).

No caso de populações de plantas como os bambus, que tendem a ter um fluxo gênico restrito devido aos eventos únicos e esporádicos de florescimento (JANZEN, 1976; SILVEIRA, 2001), a perda da diversidade genética pode estar atrelada a efeitos da fragmentação do hábitat. Apesar de importantes, estudos que visem avaliar a diversidade e estrutura genética dessas espécies ainda são escassos no Brasil e na América do Sul, e são importantes para darem subsídios a programas de desenvolvimento e exploração das populações naturais, além da conservação dos recursos genéticos das espécies.

A existência da estruturação genética espacial, que é a presença de indivíduos correlacionados geneticamente dentro de uma população, acontece principalmente pelas limitações físicas da população e pela não ocorrência de cruzamentos randômicos entre os indivíduos, o que gera uma perda na diversidade genética (HARDY, 2003; WANG; COMPTON; CHEN, 2011; BALDAUF et al., 2014). A dispersão limitada de sementes, a densidade e o sistema de reprodução dos indivíduos em reprodução, são importantes na geração da estrutura genética espacial de populações (VEKEMANS; HARDY, 2004; FEDERMAN et al., 2014), assim como a limitação do fluxo de pólen. Populações com dispersão a longas distâncias, seja de pólen ou sementes, devem tender a ser geneticamente mais semelhantes e exibir menos estrutura espacial, ao passo que populações com dispersão limitada tem pronunciada divergência populacional (SLOOP; AYRES; STRONG, 2011). O estudo em populações pode ser utilizado para estimar o grau de isolamento e abordagens intrapopulacionais, auxiliando na detecção de indivíduos aparentados (FUTUYMA, 1992; DOLIGEZ; JOLY, 1997; GONZALES; HAMRICK, 2005).

A análise da estrutura genética de populações é geralmente usada para estimar diferenças ou relações entre elas e, em seguida, inferir o processo evolutivo como fluxo gênico, migração, mutação ou deriva (VISON et al., 2018). Pode ser influenciada pela variação climática, pelo isolamento por distância, por isolamento reprodutivo, dentre outros fatores. Para espécies de bambu esta análise pode demonstrar se as populações estão estruturadas, além de orientar acerca da dispersão dos alelos entre as populações ou restrição dos mesmos, verificando isolamento por distância, além de identificar unidades genéticas distintas dentro de populações (YANG et al., 2018). A manutenção da diversidade genética de espécies de bambu é fundamental para a seleção dos melhores genótipos e para a manutenção das espécies dentro dos ecossistemas, principalmente os que sofrem ações antrópicas (TERRANOVA, 2011; YANG et al., 2012; ATTIGALA, 2017).

A manutenção desta diversidade colabora diretamente com o tamanho efetivo populacional ( $N_e$ ) e traduz o tamanho de uma população real para o tamanho de uma população idealizada. O  $N_e$  permite estimar e comparar com o tamanho mínimo viável ou mínimo adequado, o qual assegura que as populações mantenham a viabilidade e variabilidade ao longo do tempo, junto aos seus descendentes (VENCOVSKY, 1992). Para evitar o risco de extinção, estimar o  $N_e$  de populações naturais é uma medida importante para a permanência das populações em seus ambientes naturais (FRANKHAM; BALLOU; BRISCOE, 2008; TAMAKI et al., 2018).

Estimativas sobre o *Ne* são fundamentais para calcular a população mínima viável para traçar as estratégias de conservação de uma espécie (BAJAY, 2014).

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADRIAENS, D.; JACQUEMYN, H.; HONNAY, O.; HERMY, M. Conservation of remnant populations of *Colchicum autumnale* – the relative importance of local habitat quality and habitat fragmentation. **Acta Oecologica**, n. 35, p. 69–82, 2009.

AGARWAL, M.; SHRIVASTAVA, N.; PADH, H. Advances in molecular marker techniques and their applications in plant sciences. **Plant Cell Reports**, v. 27, p. 617–631, 2008.

ARANTES, C. de S.; SCHIAVINI, I. Estrutura e dinâmica da população de *Amaioua guianensis* aubl. (rubiaceae) em fragmento urbano de floresta estacional semidecidual – Uberlândia, Minas Gerais. **Bioscience Journal**, v. 27, n. 2, p. 312-321, 2011.

ATTIGALA, L.; GALLAHERT, T.; NASON, J.; CLARK, L. G. Genetic diversity and population structure of the threatened temperate woody bamboo *Kuruna debilis* (Poaceae: Bambusoideae: Arundinarieae) from Sri Lanka based on microsatellite analysis. **Journal of the National Science Foundation of Sri Lanka**, v. 45, p. 53-65, 2017.

BAJAY, M. M. **Diversidade e estrutura genética de *Piptadenia gonoacantha* (Mart.) J. F. Macbr. em áreas em processo de restauração florestal e remanescentes de Mata Atlântica**. 2014. 149f. Tese de Doutorado, Universidade de São Paulo, Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Piracicaba – SP, 2014.

BHATT, B. P.; SINGH, K.; SINGH, A. Nutritional values of some commercial edible bamboo species of the North Eastern Himalayan region, India. **Journal Bamboo Rattan**, v. 4, p. 111–124, 2005.

BRYN, R.; JACQUEMYN, H.; ENDELS, P.; HERMY, M.; DE BLUST, G. The relationship between reproductive success and demographic structure in remnant populations of *Primula veris*. **Acta Oecologica**, n. 24, p. 247–253, 2003.

BYSTRIAKOVA, N.; KAPOS, V.; LYSENKO, I.; STAPLETON, C.M.A. Distribution and conservation status of forest bamboo biodiversity in the Asia-Pacific Region. **Biodiversity and Conservation**, n. 12, p.1833–1841, 2003.

CARVALHO, A.L. NELSON, B. W.; BIANCHINI, M. C.; PLAGNOL, D.; KUPLICH, T. M.; DALY, D. C. Bamboo-dominated forests of the Southwest Amazon: detection, spatial extent, life cycle length and lowering waves. **Plos One**, v. 8, p. 1-13, 2013.

CARVALHO, S.I.C.; RAGASSI, C. F.; OLIVEIRA, I. B.; AMARAL, Z. P .S.; REIFSCHNEIDER, F. J. B.; FALEIRO, F. G.; BUSO, G. S. C. Transferibility of microsatellite markers of *Capsicum annum* L. to *C.frutescens* L. and *C. chinense* Jacq. **Genetics and molecular Research**, v. 14, p. 7937-7946, 2015.

CHEN, S-U.; LIN, U-T.; LIN, C-W.; CHEN, W-Y.; YANG, C. H.; KU, H-M. Transferability of rice SSR markers to bamboo. **Euphytica**, n. 175, p. 23–33, 2010.

CIAMPI, A.Y.; AZEVEDO, V.C.R.; GAIOTTO, F.A.; RAMOS, A.C.S. Isolation and characterization of microsatellite loci for *Hymenaea courbaril* and transferability to *Hymenaea stigonocarpa*, two tropical timber species. **Molecular Ecology**, v. 8, p. 1-4, 2008.

CLARK, L. G.; ELY, F. U. Géneros de bambúes leñosos (Poaceae: bambusoideae: arundinarieae, bambuseae) de Venezuela. **Acta Botánica Venezuelica**, v. 34, n. 1, p. 79-103, 2011.

COBURN, J. R.; TEMNYKH, S. V.; PAUL, E.M.; MCCOUCH, S. R. Design and application of microsatellite marker panels for semiautomated genotyping of rice (*Oryza sativa* L.). **Crop Science**, v. 42, 2092-2099, 2002.

COCKLE, K. L.; ARETA, J. I. Specialization on bamboo by neotropical birds. **The Condor**, v. 115, p. 217–220, 2013.

DAVIDSON, D.W.; CASTRO-DELGADO, S. R.; ARIAS, J. A.; MANN, J. Unveiling a ghost of Amazonian rain forests: *Camponotus mirabilis*, engineer of *Guadua* bamboo. **Biotropica**, v. 38, p.653–660, 2006.

DOLIGEZ, A.; JOLY, H. I.; Genetic diversity and spatial structure within a natural stand of a tropical forest tree species *Carapa procera* (Meliaceae), in French Guiana, **Heredity**, v. 79, n. 1, p. 72-82, 1997.

EMMONS, L. H. Morphological, ecological, and behavioral adaptations for arboreal browsing in *Dactylomys dactylinus* (Rodentia, Echimyidae). **Journal of Mammalogy**, v. 62. P.183–189, 1981.

FEDERMAN, S.; HYSENI, C.; CLEMENT, W.; OATHAM, M. P.; CACCONE, A. Habitat fragmentation and the genetic structure of the Amazonian palm *Mauritia flexuosa* L.f. (Arecaceae) on the island of Trinidad. **Conservation Genetics**, n. 15, p. 355–362, 2014.

FISCHER, M.; STÖCKLIN, J. Local extinction of plants in remnants of extensively used calcareous grasslands 1950–1985. **Conservation Biology**. n. 11, p. 727–737, 1997.

FLORA DO BRASIL 2020 EM CONSTRUÇÃO. **Jardim Botânico do Rio de Janeiro**. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/>>. Acesso em: 29 jan. 2019.

FRANKHAM, R.; BALLOU, J. D.; BRISCOE, D. A. **Fundamentos de Genética da Conservação**, Ribeirão Preto, SP: SBG (Sociedade Brasileira de Genética), 2008, 280p.

FREITAS JÚNIOR, J. L.; SILVEIRA, M. Padrões Espaciais e Temporais das Florestas com Bambu (*Guadua* spp.) no Sudoeste da Amazônia, Detectados Através de Imagens de Satélite. In: **IX Congresso Brasileiro de Ecologia: Ecologia e o Futuro da Biosfera**, São Lourenço, MG, 2009.

FUTUYMA, D. J. **Biologia evolutiva**. 2 ed. Ribeirão Preto: SBG, 1992. 631p.

GALLON, A. I. M.; TORRES, E. C.; CABRERA, C. G. Actividad antisséptica de vinagre de *Guadua angustifolia* Kunt. **Revista Cubana de Plantas Medicinales**, v. 16, p. 244-252, 2011.

GAIANO, A. P. S. C.; SILVA, A. M.; MORAES, M. A.; ALVES, P. F.; MORAES, M. L. T.; FREITAS, M. L. M.; SEBBENN, A. M. Understanding the effects of isolation on seed and pollen flow, spatial genetic structure and effective population size of the dioecious tropical tree species *Myracrodruon urundeuva*. **Conservation Genetic**, n. 11, p. 1631–1643, 2010.

GLOBAL BIODIVERSITY INFORMATION FACILITY - GIBF. 2017. *Guadua* in **GBIF Secretariat**. GBIF Backbone Taxonomy. Checklist Dataset. <https://doi.org/10.15468/39omei>. 20 set. 2018.

GONZALES, E.; HAMRICK, J. L. Distribution of genetic among disjunct populations of the rare forest understory herb, *Trilium reliquum*, **Heredity**, v. 95, n. 4, p. 306-314, 2005.

GRATTAPAGLIA, D. **Aplicações operacionais de marcadores moleculares**. In: BORÉM, A. (Ed.). Biotecnologia florestal. Viçosa, MG: UFV, 2007, p. 175-200.

GRISCOM, B. W.; ASHTON, P. M. S. A self-perpetuating bamboo disturbance cycle in a neotropical forest. **Journal of Tropical Ecology**, n 22, p. 587–597, 2006.

GRISCOM, B.W.; DALY, D.C.; ASHTON, P. M. S. Floristics of bamboo-dominated stands in lowland terra-firme forests of southwestern Amazonia. **Journal Torrey Botanical Society**, n. 134, p. 108–125, 2007.

HARDY, O. J. Estimation of pairwise relatedness between individuals and characterization of isolation-by-distance processes using dominant genetic markers. **Molecular Ecology**, n. 12, p. 1577 - 1588, 2003.

ISMAIL, N. A.; RAFII, M. Y.; MAHMUD, T. M. M.; HANAFI, M. M.; MIAH, G. Molecular markers: a potential resource for ginger genetic diversity studies. **Molecular Biology Reports**, v. 43, p. 1347-1358, 2016.

JACOBS, J. M.; MAY, R. V.; KAVANAUG, D. H.; CONNOR, E. F. Beetles in bamboo forests: community structure in a heterogeneous landscape of southwestern Amazonia. **PeerJ**, 6:e5153; DOI 10.7717/peerj.5153, 2018.

JANZEN, D. H. Why bamboos wait so long to flower. **Annual Review of Ecology and Systematics**. v. 7, p. 347–391, 1976.

JIANG, G. Markers Molecular. **Encyclopedia of Applied Plant Sciences**, 2° Edition, v. 2, p. 207-214, 2017.

JUDZIEWICZ, E.; CLARK, L.G.; LONDOÑO, X.; STERN, A. M. J. **American bamboos**. Washington, DC: Smithsonian Institution Press, 1999, 392p.

KALIA, R. K.; RAI, M. K.; KALIA, S.; SINGH, R.; DHAWAN, A. K. Microsatellite markers: an overview of the recent progress in plants. **Euphytica**, v. 177, p. 309-334, 2011.

- KLEIN, C.; HIDALGO-MORALES, D. An inventory of *Guadua* (*Guadua angustifolia*) bamboo in the coffee region of Colombia. **European Journal of Forest Research**, v. 125, p. 361-368, 2006.
- KUMAR, L.S. DNA markers in plant improvement: an overview. **Biotechnol Advances**, n. 17, p. 143–182, 1999.
- LANDI, M.; ANGIOLINI, C. Population structure of *Osmunda regalis* in relation to environment and vegetation: an example in the Mediterranean area. **Folia Geobotanica**, n. 46, p. 49–68, 2011.
- LIU, C. L. C.; KUCHMA, O.; KRUTOVSKY, K. V. Mixed-species versus monocultures in plantation forestry: Development, benefits, ecosystem services and perspectives for the future. **Global Ecology and Conservation**, v. 15, 2018.
- LONDOÑO, X.; PETERSON, P. *Guadua chacoensis* (Poaceae: Bambusoidea), its taxonomic identity, morphology and relationships. **Novon: A Journal for Botanical Nomenclature**, v. 2, p. 41-47.1992.
- LONDOÑO, X.; ZURITA, E. Two species of *Guadua* (Bambusoideae: Guaduinae) from Colombia and Bolivia. **Journal of Botanical Research Institute of Texas**, v. 2, p. 25–34, 2008.
- LONDOÑO, X. Dos nuevas especies de *Guadua* para el Perú. **Journal of Botanical Research Institute of Texas**, v. 7, p. 145 – 153, 2013.
- LOPES, M. A. Population structure of *Eschweilera coriacea* (DC.) S. A. Mori in forest fragments in eastern Brazilian Amazonia. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 30, n. 3, p. 509–519, 2007.
- LOWE, A. J.; BOSHIER, D.; WARD, M.; BACLES, C.F.E.; NAVARRO, C. Genetic resource impacts of habitat loss and degradation; reconciling empirical evidence and predicted theory for neotropical trees. **Heredity**, n. 95, p. 255–273, 2005.
- MA, M.; WU, Y.; ZHANG, Y.; KANG, H.; CHEN, Z.; LIU, P. Sprouting as a survival strategy for non-coniferous trees: Relation to population structure and spatial pattern of *Emmenopterys henryi* (Rubiales). **Acta Ecologica Sinica**, n. 39, p. 1-8, 2019.
- MAKITA, A. Density regulation during the regeneration of two monocarpic bamboos: self-thinning or intracolonial regulation? **Journal of Vegetation Science**, v. 7, p. 281-288, 1996.
- MARALUNDA, M. L.; LÓPEZ, A. M.; CLAROZ, J. L. Analyzing the genetic diversity of *Guadua* sp. in Colombia using rice and sugarcane microsatellites. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v.7, p. 43-51, 2007.
- MARTINS, P. S. Estrutura populacional, fluxo gênico e conservação "in situ". **Instituto de Pesquisa e Estudos Florestais**, n. 35, p. 71–78, 1987.
- MIRANDA, A. F. A. DE. **Estudo anatômico do entrenó de *Guadua kunth* (poaceae: Bambusoideae) ocorrentes no estado do Acre-Brasil**. 2016. 58f. Dissertação de Mestrado, Universidade de Brasília, Brasília – DF, 2016.

MOKTAN, M. R.; NORBU, L.; DUKPA, K.; RAI, T. B.; DORJI, R.; DHENDUP, K.; GYELTSHEN, N. Bamboo and cane vulnerability and income generation in the rural household subsistence of Bjoka, Zhemgang, Bhutan. **Mountain Research and Development**, v. 29, p. 230–240, 2009.

NATH, A. J.; LAL, R.; DAS, A. K. Managing woody bamboos for carbon farming and carbon trading. **Global Ecology and Conservation**, v. 3, p. 654–663, 2015.

NELSON, B.; KALLIOLA, W. R.; SHEPARD, G. 1997. Tabocais de *Guadua* spp. no sudeste amazônico: extensão geográfica, mortalidade sincronizada e relação com incêndio florestais. In: **Congresso Nacional de Botânica XLVIII**, Crato, Resumos, p. 163.

NUMATA, I.; SILVA, S. S.; COCHRANE, M. A.; D'OLIVEIRA, M.V. N. Fire and edge effects in a fragmented tropical forest landscape in the southwestern Amazon. **Forest Ecology and Management**, n. 401, p. 135–146, 2017.

OLIVIER, J.; OTTO, T.; RODDAZ, M.; ANTOINE, P-O.; LONDOÑO, X.; CLARK, L. C. First macrofossil evidence of a pre-Holocene thorny bamboo cf. *Guadua* (Poaceae: Bambusoideae: Bambuseae: Guaduinae) in south-western Amazonia (Madre de Dios — Peru). **Review of Palaeobotany and Palynology**, n. 153, p. 1–7, 2009.

OHRNBERGER, D. **The bamboos of the world**: Annotated of the species and the higher and lower taxa. Elsevier Science, 1999. 596p.

PADGURSCHI, M de C. G. **Padrão especial de taquaras (Poaceae: Bambusoideae) em uma floresta neotropical do sudeste do Brasil**. 2014. 116f. Tese de doutorado, Universidade Estadual de Campinas – SP, 2014.

PARE, S.; SAVADOGO, P.; TIGABU, M.; ODEN, P. C.; OUADBA, J. M. Regeneration and spatial distribution of seedling populations in sudanian dry forests in relation to conservation status and human pressure. **Tropical Ecology**, n. 50, p. 339–353, 2009.

PEREIRA, M. A. R.; BERALDO A. L. **Bambu de corpo e alma**. Bauru, SP: Canal 6 Projetos Editoriais, 2007, p. 240.

PÉREZ-GALINDO, P., CARLOS-ANDRÉS, C., GONZÁLEZ, G., IVÁNANDRÉS I., CÁRDENAS, H. Cloning and isolation of tetra nucleotide microsatellite clones from *Guadua angustifolia* (Poaceae: Bambusoideae). **Molecular Ecology Resources**, v. 9, p. 1375-1379, 2009.

PERRY, J.N.; DIXON, P.M. A new method to measure spatial association for ecological count data. **Ecoscience**. v. 9, p. 133–41, 2002.

PFLÜGER, F. J.; SIGNER, J.; BALKENHOL, N. Habitat loss causes non-linear genetic erosion in specialist species. **Global Ecology and Conservation**, n. 17, 2018.

PUTZ, F. E.; BLATE, G. M.; REDFORD, K. H.; FIMBEL, R.; ROBINSON, J. Tropical forest management and conservation of biodiversity: An overview. **Conservation Biology**, v. 15, p. 7-20, 2001.

PUTZ, C.M.; SCHMID, C.; REISCH, C. Living in isolation – population structure, reproduction, and genetic variation of the endangered plant species *Dianthus gratianopolitanus* (Cheddar pink). **Ecology and Evolution**, n. 5, p. 3610–3621, 2015.

RAJORA, O. M.; RAHMAN, M. H.; BUCHERT, G. P.; DANCİK, B. P. Microsatellite DNA analysis of genetic effects of harvesting in old-growth eastern white pine (*Pines strobus*) in Ontario, Canada. **Molecular Ecology**, v. 9, p. 339-348, 2000.

RIAÑO N.; LONDOÑO X.; LÓPEZ Y.; GÓMEZ J.H. Plant growth and biomass distribution on *Guadua angustifolia* Kunth in relation to aging in the Valle del Cauca. **The Journal of the American Bamboo Society**, v. 16, p. 43–51, 2002.

ROCKWELL, C. A.; KAINER, K. A.; D’OLIVEIRA, M.V.N.; STAUDHAMMER, C. L.; BARALOTO, C. Logging in bamboo-dominated forests in southwestern Amazonia: Caveats and opportunities for smallholder forest management. **Forest Ecology and Management**, n. 315, p. 202–210, 2014.

ROSSAROLLA, M. D. **Desenvolvimento de marcadores moleculares microssatélites e análise da diversidade genética de *Guadua chacoensis* (Rojas) Londoño & P M. 2016.** 87f. Dissertação de mestrado, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis –SC, 2016.

RUIZ-SANCHEZ, E.; PEREDO, L. C.; SANTACRUZ, J. B.; AYALA-BARAJAS, R. Bamboo flowers visited by insects: do insects play a role in the pollination of bamboo flowers? **Plant Systematics Evolution**, n. 303, p. 51–59, 2011.

SANTOS, J. C.S.; BARRETO, M. H.; OLIVEIRA, F. H.; VIGNH, B. B. Z.; SOUZA, H. P.; Microsatellite markers for *Urochloa humidicola* (Poaceae) and their transferability to other *Urochloa* species. **BMC Research Notes**, n. 8, v. 83, p. 1-12, 2015.

SCHNITZER, S. A.; MANGAN, S, A.; DALLING, J, W.; BALDECK, C, A.; HUBBELL, S. P.; LEDO, A.; MULLER-LANDAU, H.; TOBIN, M. F.; AGUILAR, S.; BRASSFIELD, D.; HERNANDEZ, A.; LAO, S.; PEREZ, R.; VALDES, O.; YORKE, S, R. Liana Abundance, Diversity, and Distribution on Barro Colorado Island, Panama. **Plos One**, v. 7, n. 12, e52114, 2012.

SHARMA, V.; BHARDWAJ. B.; KUMAR, R.; SHARMA, R. K; PARAMVIR, A. S.; AHUJA, S. Identification and cross-species amplification of EST derived SSR markers in different bamboo species. **Conservation Genetics**, n. 10, p. 721–724, 2009.

SILVA, W. C da. **Abundância de bambu (*Guadua* spp.), variáveis edáficas e biomassa arbórea em florestas do Sudoeste da Amazônia.** 2015. 53 f. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal do Acre, 2015.

SILVEIRA, M. **A floresta aberta com bambu no sudoeste da amazônia:** padrões e processos em múltiplas escalas. 2001. 127f. Tese de Doutorado, Universidade de Brasília, Brasília – DF, 2001.

SILVEIRA, M. **A floresta aberta com bambu no sudoeste da Amazônia:** Padrões e processos em múltiplas escalas. Rio Branco - AC: Edufac, 2005, 157p.

SILVEIRA, A. P.; MARTINS, F. R.; MENEZES, B. S.; ARAUJO, F. S. Is the spatial pattern of a tree population in a seasonally dry tropical climate explained by density-dependent mortality? **Austral Ecology**, n. 43, p. 191–202, 2018.

SLOOP, C. M.; AYRES, D.R.; STRONG, D.R. Spatial and temporal genetic structure in a hybrid cordgrass invasion. **Heredity**, n. 106, p. 547–556, 2011

SONAH, H. et al. Genome-wide distribution and organization of microsatellites in plants: an insight into marker development in *Brachypodium*. **Plos One**, v. 6, e21298, 2011.

TAMAKI, S.; ISODA, K.; TAKAHASHI, M.; YAMADA, H.; YAMASHITA, Y. Genetic structure and diversity in relation to the recently reduced population size of the rare conifer, *Pseudotsuga japonica*, endemic to Japan. **Conservation Genetics**, n. 19, p. 1243–1255, 2018.

TERRANOVA, A. M. P. **Diversidad genética y estructura poblacional de *Guadua angustifolia* kunt en el eje cafetero Colombiano**. 2011. 98f. Magister en Ciencias Agrarias com énfasis em fitomejoramento. Universidad Nacional de Colombia. Colombia. 2011.

VARELLA, T. L.; ROSSI, A. A. B.; SOUZA, M. D. A.; SILVEIRA, G. F.; COCHEV, J. S. TOLEDO, J. J.; SILVA, C. J. Estrutura populacional e distribuição espacial de *Theobroma speciosum* willd. ex spreng no norte do estado de Mato Grosso. **Ciência Florestal**, v. 28, n. 1, p. 115–126, 2018.

VANNIARAJAN, C.; VINOD, K. K.; PEREIRA, A. Molecular evaluation of genetic diversity and association studies in rice (*Oryza sativa* L.). **Journal of Genetics**, v. 91, p. 9-19, 2012.

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

VENCOVSKY, R. Análise de variância de frequências alélicas. **Revista Brasileira de Genética**, v.15, p.53-60, 1992.

VIEIRA, M. L. C.; SANTINI, L.; DINIZ, A. L.; MUNHOZ, C. F. Microsatellite markers: what they mean and why they are so useful. **Genetics and Molecular Biology**, v. 39, n. 3, p. 312-328, 2016.

VINSON, C. C.; MANGARAVITE, E.; SEBBENN, A. M.; LANDER, T. A. Using molecular markers to investigate genetic diversity, mating system and gene flow of Neotropical trees. **Brazilian Journal of Botany**, n. 41, p. 481–496, 2018.

VRANCKX, G.; MERGEAY, J.; COX, K.; MUYS, B.; JACQUEMYN, H.; HONNAY, O. Tree density and population size affect pollen flow and mating patterns in small fragmented forest stands of pedunculate oak (*Quercus robur* L.). **Forest Ecology and Management**, n. 328, p. 254–261, 2014.

WANG, R.; COMPTON, S. G.; CHEN, X-Y. Fragmentation can increase spatial genetic structure without decreasing pollen-mediated gene flow in a wind-pollinated tree. **Molecular Ecology**, n.20, p.4421–4432, 2011.

WHITLOCK, R.; HIPPERSON, H.; THOMPSON, D.B.A.; BUTLIN, R.K.; BURKE, T.

Consequences of in-situ strategies for the conservation of plant genetic diversity. **Biological Conservation**, n. 203 p. 134–142, 2016.

YANG, H-Q.; AN, M-Y.; GU, Z-J.; TIAN, B. Genetic diversity and differentiation of *Dendrocalamus membranaceus* (Poaceae: Bambusoideae) a declining bamboo species repeat (ISSR) analysis. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 13, p. 4446-4457, 2012.

YANG, J. B.; DONG, Y. R.; WONG, K. M.; GU, Z. J.; YANG, H. Q.; LI, D. Z. Genetic structure and differentiation in *Dendrocalamus sinicus* (Poaceae: Bambusoideae) populations provide insight into evolutionary history and speciation of woody bamboos. **Scientific Reports**, v.8, n. 16933, p. 1-12, 2018.

YEASMIN, L.; ALI, MD. N.; GANTAIT, S.; CHAKRABORTY, S. Bamboo: on our view on its genetic diversity and characterization. **Biotech**, v. 5, p. 1-1, 2015.

YU, G.; LIU, J-J.; MA, G-G.; MA, Y-S. Development polymorphic microsatellite primers for the giant panda's staple food bamboo *Bashania fargesii* and *B. aristata* (Poaceae: Bambusoideae), **Conservation Genetics Resources**, n.7, p.739–741, 2015.

ZHAO, H.; YANG, L.; PENG, Z.; SUN, H.; YUE, X.; LOU, Y.; DONG, L.; WANG, L.; GAO, Z. Developing genome-wide microsatellite markers of bamboo and their applications on molecular marker assisted taxonomy for accessions in the genus *Phyllostachys*. **Scientific Reports**, v. 5, n. 8018, p. 1-12, 2014.

#### 4. CAPÍTULO I

### **DIVERSIDADE E ESTRUTURA GENÉTICA DE ESPÉCIES NATIVAS DE *Guadua* (POACEAE: BAMBUSOIDEAE) EM POPULAÇÕES NATURAIS DO SUDOESTE DA AMAZÔNIA\***

---

*\*Manuscrito aceito na Revista Anais da Academia Brasileira de Ciências.*

## RESUMO

O gênero *Guadua* é endêmico da América e pouco se conhece sobre a diversidade e estrutura genéticas de espécies deste gênero, principalmente àquelas que estão situadas na região ocidental da Amazônia brasileira. O objetivo deste estudo foi avaliar a diversidade e a estrutura genética de duas espécies nativas de *Guadua* em populações naturais na região Sul – Ocidental da Amazônia brasileira. Para tanto, a diversidade e a estrutura genética de quatro populações de *Guadua* aff. *chaparensis* e uma população de *Guadua* aff. *lynnclarkiae* foram avaliadas com o uso de marcadores moleculares microssatelite (SSR). Verificou-se que a diversidade genética média para as populações estudadas foi considerada alta ( $\hat{H}_e = 0,5$ ) quando comparada com outras espécies de bambu já estudadas. Não houve valores significativos de endogamia. As populações foram divergentes ( $\hat{G}_{ST} = 0,46$ ), tendo como resultado um baixo fluxo gênico aparente. A análise Bayesiana revelou que dentro dos 350 indivíduos analisados, houve a formação de 5 grupos (K=5), com pouca similaridade entre os grupos (populações), apesar de dois deles apresentarem indivíduos clonais. De acordo com os resultados obtidos, é possível concluir que as populações devem ser tratadas como de características únicas, principalmente quando acessadas para manejo e para estudos de conservação *in situ* e *ex situ*.

**Palavras-chave:** Estrutura genética, bambu, indivíduos clonais, Floresta Amazônica, diversidade genética.

## ABSTRACT

The genus *Guadua* is endemic to America and the smallest is known about the genetic diversity and structure of species of this genus, especially those located in the western region of the Brazilian Amazon. The objective of this study was to evaluate the diversity and genetic structure of two native *Guadua* species in natural populations in the South - Western region of the Brazilian Amazon. Therefore, the diversity and genetic structure of four populations of *Guadua* aff. *chaparensis* and a population of *Guadua* aff. *lynnclarkiae* were evaluated with the use of molecular markers microsatellite (SSR). It was verified that the average genetic diversity for the studied populations was considered high ( $H_e = 0,5$ ) when compared with other species of bamboo already studied. There were no significant values of endogamy. The populations were divergent ( $\hat{G}_{ST} = 0,46$ ), resulting in a low apparent gene flow. Bayesian analysis revealed that within the 350 individuals analyzed, 5 groups ( $K = 5$ ) were formed, with little similarity between the groups (populations), although two of them presented clonal individuals. According to the results obtained, it is possible to conclude that populations should be treated as having unique characteristics, mainly when accessed for management and for in situ and *ex situ* conservation studies.

**Keywords:** Genetic structure, bamboo, clonal individuals, Amazonian forest, genetic diversity.

## 4.1 INTRODUÇÃO

O bambu é uma planta pertencente à família Poaceae (Gramineae), subfamília Bambusoideae, (LIN et al., 2012). Predominantemente tropical, perene, renovável, de rápido crescimento e com alta produção de biomassa. O bambu vem sendo utilizado em diversas atividades que incluem do paisagismo à construção civil (OLIVEIRA, 2013; PARASKEVA; GRIGOROPOULOS; DIMITRAKOPOULOS, 2017). Além disso, pode ser também fonte de matéria-prima para a alimentação humana e animal, o bambu também é utilizado na recuperação de áreas degradadas (BHATT; SINGH; SINGH, 2005; MOKTAN et al., 2009), podendo ser uma importante alternativa de cultura para sequestro de carbono (RIAÑO et al., 2002; NATH et al., 2015). Vários grupos de pesquisa têm concentrado esforços em variadas vertentes para estabelecer a cadeia produtiva do bambu, com vistas ao melhor aproveitamento dos produtos e subprodutos da cultura (RAO; SASTRY, 1990; AZMY, 1996; SILVEIRA, 2001; DIAB; MOHAMED, 2008; LIN; HUANG; FANG 2012).

*Guadua* Kunth é um gênero endêmico da América (SODERSTROM; LONDOÑO 1987; JUDZIEWICZ et al., 1999; LONDOÑO; CLARK; 2002). Os países Brasil, Peru, Bolívia, Equador, Colômbia e Venezuela são considerados centros de origem deste gênero, com a ocorrência de uma grande diversidade de espécies (LONDOÑO; PETERSON, 1992; JUDZIEWICZ et al., 1999). São arborescentes e, em geral, apresentam espinhos nos colmos e ramos. Assim como outros bambus do gênero, a maioria das espécies são semélparas (um único evento de reprodução sexuada) e monocárpicas (morrem após esse evento), sendo o florescimento em ondas, seguido da morte da touceira (gregário) (JAZEN, 1976; SILVEIRA, 2001).

As florestas abertas dominadas por bambu do gênero *Guadua* cobrem cerca de 165.000 a 180.000 Km<sup>2</sup> que se estendem do Sudoeste da Bacia Amazônia, incluindo o sudeste do Peru, o norte da Bolívia até o Oeste do Brasil (SILVEIRA, 2005; SMITH; NELSON, 2011). O estado do Acre está situado na região Sul-Occidental da Amazônia brasileira, detendo florestas dominadas por bambu que são consideradas como as maiores reservas naturais do planeta com *Guadua* (PEREIRA; BERALDO, 2007; SILVA, 2015). Nelas predominam as espécies *Guadua weberbaueri*, *Guadua sarcocarpa* e *Guadua superba* (SILVEIRA, 2005).

O uso de marcadores moleculares para essas espécies é uma ferramenta valiosa que permite apoiar a classificação e a identificação de bambu no mundo (RUGELES-SILVA, 2012), além de demonstrar as características genéticas das espécies. Estimar a diversidade depende de uma variedade de índices que representam o conteúdo informativo de um loco. Tal estimativa

pode ter diferentes aplicações, como na identificação individual e na análise de parentesco, na estimativa do fluxo gênico, na definição do sistema de cruzamento e na determinação da estrutura genética espacial (SUJII et al., 2015; SILVA, et al., 2016; ZHU, et al., 2016; NILKANTA et al., 2017). Para a maioria das espécies de *Guadua* poucos estudos sobre a estrutura e diversidade genética tem sido realizados. Estudos como esses, fornecerão dados genéticos para estas espécies, que poderão auxiliar no conhecimento sobre a diversidade genética e estrutura genética, entre e dentro das populações, na seleção dos melhores genótipos para a manutenção das espécies dentro dos ecossistemas, principalmente os que sofrem ações antrópicas (TERRANOVA, 2011; YANG et al., 2012; ATTIGALA et al., 2017) e identificação de indivíduos clonais. Avaliar a variação genética dentro e entre populações de bambu natural é importante para o desenvolvimento de métodos eficazes para a conservação (LIU et al., 2013; NILKANTA et al., 2017; YEASMIN et al., 2015).

Este trabalho teve como objetivo avaliar a diversidade e a estrutura genética das espécies nativas *G. aff. chaparensis* e *G. aff. lynnclarkiae* em populações naturais na região sudoeste da Amazônia brasileira, através da transferibilidade de locos microssatélites (SSR) de espécies correlatas geneticamente.

## 4.2 MATERIAL E MÉTODOS

### 4.2.1 Espécies estudadas, Área de estudo e Amostragem

As espécies deste trabalho são dois novos registros para a flora Acreana (LONDOÑO, 2017 comunicação pessoal). *Guadua* aff. *chaparensis* Londoño e Zurita, é uma espécie de bambu arborescente, lenhosa, com rizoma paquimorfo, colmos medindo de 18-25 metros de altura, com diâmetro de 7-12 cm, eretos na base e arqueando do meio ao ápice. Ela ocorre ao longo de riachos e rios, e está associada à *Guadua sarcocarpa*, e a plantas das famílias Urticaceae e Costaceae. Os seus nomes populares são taboca ou taquara (LONDOÑO; ZURITA, 2008) (Figura 1).



Figura 1. Colmos de *Guadua* aff. *chaparensis* em Sena Madureira – AC/BR.

*Guadua* aff. *lynnclarkiae* é uma espécie de bambu arborescente, lenhosa e espinhosa, com rizoma paquimorfo, colmos medindo de 20-27 metros de altura. Com diâmetro de 9 - 17 cm, ereto na base e arqueado apicalmente (Figura 2). Não tolera áreas de inundação. Ela cresce associada à vegetação de sub-bosque como Heliconiaceae, Piperaceae, Costaceae, Cyperaceae, Melastomataceae, samambaias, na camada superior com árvores das famílias Arecaceae e Moraceae (LONDOÑO, 2013).



Figura 2. Colmos de *Guadua* aff. *lynnclarkiae* em Porto Acre – AC/BR.

O estudo foi realizado na região da Amazônia Sul-Occidental brasileira, a partir de coletas realizadas entre o período de agosto de 2015 e abril de 2016. As populações nativas de *Guadua* aff. *chaparensis* foram amostradas em floresta fragmentada nos municípios de Bujari e Sena Madureira, ao longo da Floresta Estadual do Antimary, ramais Toco Preto (Sena Madureira/fazendas Valentina e Cerejeira) e ramal do Ouro (Sena Madureira) (Tabela 1; Figura 3). As áreas de entorno, onde as populações estão inseridas são pastagem de gado, capoeira velha, borda de floresta e em florestas que foram sujeitas a exploração madeireira comercial. Já a população de *Guadua* aff. *lynnclarkiae*, localizada no município de Porto Acre, Vila do V, ramal dos Bandeirantes, está situada em uma área de capoeira velha (floresta secundária) e floresta, com pastagem de gado no seu entorno (Tabela 1; Figura 3). O clima é equatorial úmido e a precipitação anual é em torno de 2,200 a 2,500 mm, sendo o período mais úmido correspondendo aos meses de novembro a abril. A temperatura média anual varia de 22°C a 26°C (ACREBIOCLIMA, 2018). As áreas das coletas estão localizadas a aproximadamente 150 metros acima do nível do mar. Os solos nestas áreas são argissolos associado ao latossolos (ACRE, 2010).

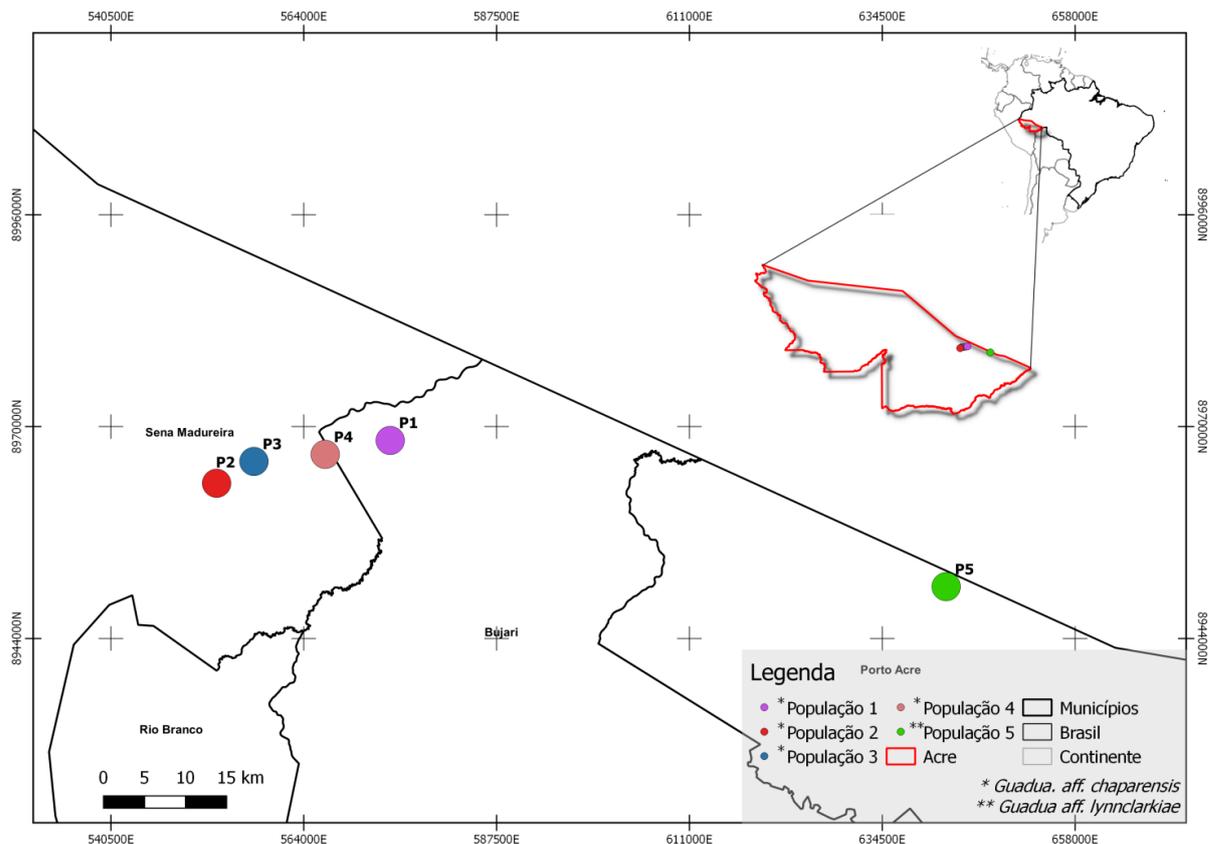


Figura 3. Localização das populações estudadas no estado do Acre, contemplando os municípios de Bujari, Sena Madureira e Porto Acre.

Por ser uma espécie de crescimento vegetativo, cada touceira foi considerada um indivíduo. Para a espécie *G. aff. chaparensis* foram feitas duas amostragens: para as populações 1 e 5 (*G. aff. lynnclarkiae*) foram coletados 100 indivíduos (touceiras), nos quais todos os indivíduos encontrados na área percorrida foram amostrados e mapeados com o uso do GPS (modelo MAP 76CSX, Garmin). Para as populações 2, 3 e 4 foram coletados 50 indivíduos distantes entre 200 e 500 metros. De amostras populacionais foram montadas exsiccatas, as quais foram depositadas no Laboratório de Biologia e Ecologia Vegetal da Universidade Federal do Acre, Brasil, sob números 7685 para *G. aff. chaparensis* e 7686 para *G. aff. lynnclarkiae*.

Tabela 1. Caracterização das áreas de coleta do estudo com as espécies *Guadua aff. chaparensis* e *Guadua aff. lynnclarkiae* na região sudoeste da Amazônia – Acre.

População	Espécie	Município	Posição Geográfica	Área Total (ha)	Área de Coleta (ha)	Nº de indivíduos coletados
P1	<i>Guadua aff. chaparensis</i>	Bujari	19L 574447 UTM 8968267	76000	12,4	100
P2	<i>Guadua aff. chaparensis</i>	Sena Madureira	19L 552777 UTM 8962628	8000	63,2	50
P3	<i>Guadua aff. chaparensis</i>	Sena Madureira	19L 557700 UTM 8965024	8000	69,4	50
P4	<i>Guadua aff. chaparensis</i>	Sena Madureira	19L 567010 UTM 8967696	- *	111,0	50
P5	<i>Guadua aff. lynnclarkiae</i>	Porto Acre	19L 642225 UTM 8950325	100	2,3	100

\*Área não estimada

Para as análises genéticas foi coletado tecido foliar de cada indivíduo (Figura 4), que foi identificado e armazenado em saco de papel com sílica gel, e em microtubos de 1,5 mL, contendo tampão de transporte (com 30% CTAB 2% e 70% etanol 70%), as amostras em tampão de transporte, foram armazenadas a -20°C para posterior extração de DNA.



Figura 4. Coleta do limbo foliar de *Guadua* aff. *lynnclarkiae* para as análises genéticas.

#### 4.2.2 Análises genéticas

##### 4.2.2.1 Extração de DNA

A extração do DNA genômico e a genotipagem dos indivíduos foi realizada de acordo com procedimento do CTAB 2% (DOYLE; DOYLE, 1987), adaptado para a espécie *Guadua angustifolia* Kunt (Comunicação pessoal com Paula Andrea Rugeles – Colômbia, por meio de correio eletrônico). Depois de extraído, o DNA genômico, foi quantificado por meio da análise comparativa de cada amostra com o DNA fago  $\lambda$  de peso molecular conhecido (10 a 200 ng), após eletroforese em gel de agarose (1%). Os géis foram visualizados por meio de luz ultravioleta em transluminador (UVP), após coloração com Gel Red e, posteriormente, fotografados. Após a quantificação, o DNA foi diluído em 25 ng/ $\mu$ L e armazenado a  $-20^{\circ}\text{C}$ .

##### 4.2.2.2 Marcadores Microsatélite

As análises genéticas foram conduzidas utilizando a transferência de locos microsatélites desenvolvidos para as seguintes espécies: *Guadua angustifolia* Kunt (nove locos) (PÉREZ-GALINDO et al., 2009); *Saccharum* spp. (cinco locos) (OLIVEIRA et al., 2009) e *Oriza sativa* L. (três locos) (CHEN et al., 1997; TEMNYKH et al., 2000) (Tabela 2).

As reações foram feitas contendo 25 ng de DNA genômico; 10 mM Tris-HCl, 50 mM KCl; 0,25 mM de cada dNTP; 0,25 mg/mL de BSA (Albumina Sérica Bovina); 2,0 mM  $\text{MgCl}_2$ ; 0,2  $\mu\text{M}$  de cada iniciador e 2,5 U de Taq DNA polimerase e água ultrapura estéril, como volume final de 13  $\mu\text{L}$ . As amplificações foram realizadas em termociclador do Analytik Jena, com as seguintes condições: 94  $^{\circ}\text{C}$  por 1 minuto, seguido de 30 ciclos de 94  $^{\circ}\text{C}$  por 1 minuto,

temperatura de anelamento definida para cada iniciador por 1 minuto e 72 °C por 1 minuto, seguida de uma fase final de extensão a 72 °C por 5 minutos. O produto da PCR foi quantificado em gel de agarose (3%). Após a reação de PCR, os fragmentos amplificados foram separados em gel desnaturante de poliacrilamida (5%), em cuba vertical contendo tampão TBE 1X. Após a eletroforese foi realizada a coloração com nitrato de prata (CRESTE et al., 2001).

A interpretação dos fragmentos amplificados foi realizada por meio de comparação com marcador de peso molecular padrão (10-pb “Ladder” Life Technologies®). Os fragmentos apresentando diferentes pesos moleculares foram considerados alelos diferentes.

Tabela 2. Locus SSR desenvolvidos por Pérez-Galindo et al. (2009)<sup>1</sup>, Oliveira et al. (2009)<sup>2</sup>, Temnykh et al. (2000)<sup>3</sup> e Chen et al. (1997)<sup>4</sup>, usados para a análise de transferibilidade nas espécies *Guadua* aff. *chaparensis* e *Guadua* aff. *lynnclarkiae*.

Locos	Repetição em série	Sequência de Primer ( 5'-3')	Tamanho dos fragmentos (pb)	Espécie
FJ444930 <sup>1</sup>	(GATA) <sub>8</sub>	R: CCTTCACATGGTCTCACAAG F: CAGTCTAGCAATCAATTTGAAG	225-270	<i>G. angustifolia</i>
FJ444929 <sup>1</sup>	(GATA) <sub>10</sub>	R: CTAGATCTTCCTAATCAAAGTGG F: TACTAACCGATTGTCCCGTCTAG	240-260	<i>G. angustifolia</i>
FJ444932 <sup>1</sup>	(CTAT) <sub>10</sub>	R: CGCCACGTTAATCCCAGTTAGG F: CTATACATATATGCATTGTGTGG	450-500	<i>G. angustifolia</i>
FJ476075 <sup>1</sup>	(CTAT) <sub>13</sub>	R: GTTCCTACATGTAGACATATCC F: CTCTTGGGAGTGAGCATGGTGAC	175-195	<i>G. angustifolia</i>
FJ444934 <sup>1</sup>	(GATA) <sub>16</sub>	R: CCCGACAGATAGATGGTCAAA F: CTCATTTCTCAATTGCGCAAGAG	170-190	<i>G. angustifolia</i>
FJ444931 <sup>1</sup>	(GATA) <sub>16</sub>	R: GTCAATCACGCCAGCTCTAACA F: CTCTGACATGTATGGATCTTGCA	225-275	<i>G. angustifolia</i>
FJ444936 <sup>1</sup>	(GATA) <sub>9</sub>	R: CCCAACAAAGATGGTCAGAT F: CAGGAGATGAGCCTGTTAGT	180-220	<i>G. angustifolia</i>
FJ444935 <sup>1</sup>	(CTAT) <sub>8</sub>	R: CTAGGCCCACTCCTATCCCA F: AGCTTCCTCAGAATGCCTAATTA	210-260	<i>G. angustifolia</i>
FJ476076 <sup>1</sup>	(GATA) <sub>8</sub>	R: CCTTCAATTAGTACATAGATAG F: GTACAGAACCATCTCCTCCT	230-256	<i>G. angustifolia</i>
RM31 <sup>4</sup>	-*	F: GATCACGATCCACTGGAGCT R: AAGTCCATTACTCTCCTCCC	-*	<i>Oriza sativa</i>
RM309 <sup>3</sup>	(GT) <sub>13</sub>	F: GTAGATCACGCACCTTTCTGG R: AGAAGGCCTCCGGTGAAG	132-146	<i>Oriza sativa</i>
RM332 <sup>3</sup>	(CTT) <sub>5</sub> – (CTT) <sub>14</sub>	F: GCGAAGGCGAAGGTGAAG R: CATGAGTGATCTCACTCACCC	162-183	<i>Oriza sativa</i>
ESTB41 <sup>2</sup>	(CGA) <sub>8</sub>	F: CATGGAGAGCTGGGCGACCTG R: GGCGGCGGCGACGATGA	81-165	<i>Saccharum spp.</i>
ESTB60 <sup>2</sup>	(TTG) <sub>10</sub>	F: AGCCGCAATCCAACCTG R: CTCTAGCTCCGATGATACCTC	159-272	<i>Saccharum spp.</i>
ESTC45 <sup>2</sup>	(ATTG) <sub>5</sub>	F: GCCGCCGTCGCTGGATTG R: ATGGATCCCCGCCTACCCTACAC	106-168	<i>Saccharum spp.</i>
ESTC66 <sup>2</sup>	(CCGC) <sub>3</sub>	F: AGTACAGGCTGCTCTCAATCAA R: TCTGCTATCTGTGTTCTGTTCTG	102-265	<i>Saccharum spp.</i>
ESTC119 <sup>2</sup>	(AAGC) <sub>4</sub>	F: GAATTAAGCTTTGCCGACACCAC R: GGCAGCACCTCCCCTTACC	84-326	<i>Saccharum spp.</i>

\*Não informado pelos autores

#### 4.2.3 Análises de dados

##### 4.2.3.1 Diversidade Genética

A diversidade genética das espécies foi analisada pela heterozigosidade observada ( $\hat{H}_o$ ), heterozigosidade esperada pelo equilíbrio de Hardy-Weinberg ( $\hat{H}_e$ ), número médio de alelos por loco ( $\hat{A}$ ) e índice de fixação de Wright ( $\hat{f}$ ), estimativas essas obtidas a partir dos softwares GDA

e Cervus (LEWIS; ZAYKIN, 2002, KALINOWSKI et al, 2007). O conteúdo de polimorfismo (PIC) para cada loco foi calculado utilizando o software Cervus (KALINOWSKI et al, 2007). A Riqueza Alélica ( $R_S$ ), proposta por El Mousadick e Petit (1996) foi calculada com o uso do software FSTAT (GOUDET, 1995). O número efetivo de alelos ( $\hat{A}_e$ ) foi calculado a partir de:

$$\hat{A}_e = 1 / (1 - \hat{H}_e)$$

Os intervalos de confiança ao nível de 95% de probabilidade para  $\hat{f}$  foram obtidos com o procedimento de 10.000 re-amostragens do tipo “brootstrap” sobre os locos utilizando o software GDA (LEWIS; ZAYKIN, 2002). A significância estatística dos valores de  $\hat{f}$  foi testada pelo Teste  $G$  com 1.000 permutações, utilizando uma correção de Bonferroni (95%,  $\alpha = 0,05$ ), com o uso do FSTAT (GOUDET, 1995). Quando há excesso de homozigotos e estes estão distribuídos homogeneamente em todas as classes de homozigotos (para todos os alelos), a presença de alelos nulos é confirmada. Para esses casos, a frequência de alelos nulos ( $r$ ) foi calculada usando o software Cervus (KALINOWSKI et al, 2007), com a correção de Bonferroni.

#### 4.2.3.2 Estrutura Genética Espacial

A caracterização da distribuição espacial dos genótipos dentro das populações foi realizada a partir das estimativas médias dos coeficientes de coancestria ( $\hat{\theta}_{xy}$ ) (LOISELLE et al., 1995), entre pares de indivíduos agrupados em classes de distâncias espaciais com intervalos constantes. O número de classes e os intervalos foram definidos de acordo com o número mínimo de 50 pares de indivíduos comparados em cada classe. O coeficiente de coancestria não é viesado pela presença de alelos raros na população.

Para cada classe de distância foi obtido o intervalo de confiança a 95% de probabilidade do  $\hat{\theta}_{xy}$ , por meio de 10.000 permutações sobre a localização de cada genótipo. Para a análise da estrutura genética espacial (EGE) dentro das populações foi utilizado o software SPAGeDi 1.3.a desenvolvido por Hardy e Vekemans (2002).

#### 4.2.3.3 Identificação de clones e parâmetros para análise de identidade

Devido ao crescimento vegetativo das espécies em estudo foi avaliada a presença de indivíduos clonais, com o uso do software GENCLONE 2.0 (ARNAUD-HAOND; BELKHIR, 2007). Outro parâmetro que avalia a identificação de similaridade entre os indivíduos das espécies em estudo foi analisado com o uso do software Cervus (KALINOWSKI et al, 2007). Neste parâmetro a análise de identidade entre os indivíduos, foi feita com objetivo de encontrar

indivíduos similares geneticamente dentro das populações. Foi avaliada a similaridade a partir de oito alelos iguais entre os indivíduos.

#### 4.2.3.4 Estrutura genética

A estrutura genética das populações foi estimada por  $\hat{G}_{ST}'$ , proposto por Hedrick (2005):

$$\hat{G}_{ST}' = \frac{\hat{G}_{ST}(1 + \hat{H}_S)}{(1 - \hat{H}_S)}$$

Em que  $\hat{G}_{ST}$  é a divergência genética entre populações e  $\hat{H}_S$  é a diversidade média intrapopulacional, de acordo com Nei (1978). Para obtenção dessas estimativas foi usado o software FSTAT (GOUDET, 1995). Valores próximos a zero indicam baixa divergência genética entre as populações e valores próximos a um indicam alta divergência genética entre as populações.

O fluxo gênico aparente ( $\hat{N}m$ ) foi estimado de forma indireta, segundo o modelo de ilhas proposto por Crow e Aoki (1984), o qual corrige a análise para pequeno número de populações:

$$\hat{N}m = \left(\frac{1}{4\alpha}\right) \left[\left(\frac{1}{\hat{F}_{ST}}\right) - 1\right]$$

Em que:

$\hat{F}_{ST}$  é a divergência genética entre populações.

$\alpha$  a correção para número de populações, sendo  $\alpha = [n/(n - 1)]^2$ ;

$n$  é o número de populações.

Foi utilizado o estimador  $\hat{G}_{ST}'$  no lugar de  $\hat{F}_{ST}$ , para conhecer a magnitude do fluxo gênico realizado e a variação dada por essas estatísticas.

A estrutura das populações foi avaliada, também, com o software STRUCTURE 2.3.4 (PRITCHARD et al., 2000), cujo modelo estatístico agrupa os indivíduos em Equilíbrio de Hardy-Weinberg e desequilíbrio de ligação. O número de populações geneticamente distintas (K) representa os agrupamentos de indivíduos com frequências alélicas diferentes. As simulações foram realizadas com um número estimado de K de 1 a 6, com cinco interações baseadas no modelo Bayesiano. Esta análise considera a separação do número total de indivíduos analisados em aglomerados, dando um valor de K que representa o número de diferentes conjuntos gênicos. O Burn-in foi de 10.000 e o MCMC (Monte Carlo e Cadeia de Markov) foi de 100.000. Utilizou-se o modelo de mistura (admixture model), o qual assume que cada

indivíduo pode ter ancestrais de mais de uma população, e de frequências alélicas correlacionadas entre as subpopulações, que aumenta a probabilidade de agrupar populações estreitamente relacionadas. O número de agrupamentos das populações foi testado utilizando o software Structure Harvester (EARL; VON HOLD, 2012). O  $\Delta K$  mais provável foi estimado segundo o método de Evanno (EVANNO et al., 2005). Os indivíduos foram alocados para cada *cluster* de acordo com a probabilidade de cada indivíduo pertencer a ele.

### 4.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 4.3.1 Diversidade Genética

O presente trabalho é o primeiro estudo realizado com as referidas espécies (*G. aff. chaparensis* e *G. aff. lynnclarkiae*) na Amazônia sul-ocidental brasileira e demonstrou que as sequências microssatélites desenvolvidas para *G. angustifolia*, *Oriza sativa* e *Saccharum* spp., utilizadas neste trabalho, foram úteis para acessar a diversidade genética das espécies em estudo. (Tabela 3).

Tabela 3. Locos transferidos para as espécies *Guadua aff. chaparensis* e *Guadua aff. lynnclarkiae*.

Loco	Espécie	TA °C	Tamanho alélico observado(pb)	Amplificação	Polimorfismo
FJ444930	<i>G. angustifolia</i>	52,1	22 a 284	A	P
FJ444929	<i>G. angustifolia</i>	52,1	180 a 302	A	P
FJ444932	<i>G. angustifolia</i>	55,4	268 a 330	A	P
FJ476075	<i>G. angustifolia</i>	55,4	136 a 320	A	P
FJ444934	<i>G. angustifolia</i>	60	200	A	M
FJ444931	<i>G. angustifolia</i>	52,1	246 a 280	A	P
FJ444936	<i>G. angustifolia</i>	52,1	156 a 200	A	P
FJ444935	<i>G. angustifolia</i>	55,4	100 a 170	A	P
FJ476076	<i>G. angustifolia</i>	52,1	102	A	M
RM31	<i>Oriza sativa</i>	45	224	A	M
RM309	<i>Oriza sativa</i>	45	156 a 188	A	P
RM332	<i>Oriza sativa</i>	52,1	176	A	M
ESTB41	<i>Saccharum</i> spp.	52,1	180	A	M
ESTB60	<i>Saccharum</i> spp.	48,5	-	NA	-
ESTC45	<i>Saccharum</i> spp.	46,8	136 a 224	A	P
ESTC66	<i>Saccharum</i> spp.	46,8	96 a 192	A	P
ESTC119	<i>Saccharum</i> spp.	46,8	154	A	M

TA: Temperatura de Anelamento A: Amplificado; NA: Não amplificado; P: Polimórfico; M: Monomórfico

Dos 17 locos usados, seis foram monomórficos (Tabela 3 e Figura 5 A), e um (ESTB60) não amplificou (Tabela 3). Dez locos mostraram polimorfismo (Figura 5 B) e foram usados para os estudos de diversidade genética no presente trabalho.

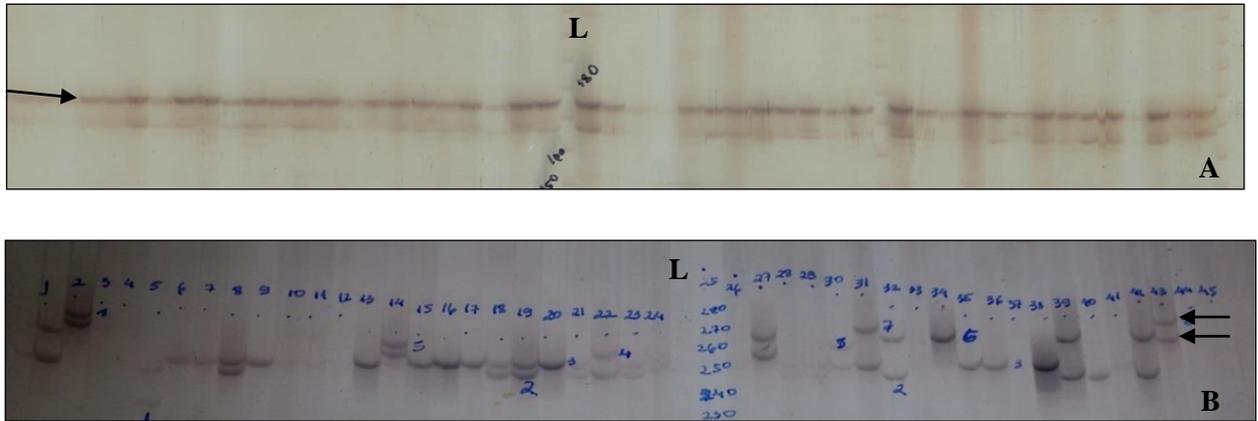


Figura 5. **A** – Perfil monomórfico do loco RM332 para a população 2 de *Guadua* aff. *chaparensis* (L: Ladder 10 pb LifeTechnologies®). A seta na imagem indica a presença de um alelo em todos os indivíduos avaliados.). **B** – Perfil polimórfico do loco FJ444930 para a população 3 de *Guadua* aff. *chaparensis* (L: Ladder 10 pb LifeTechnologies®). As setas na imagem indicam a presença de dois alelos no indivíduo 42).

Segundo Maralunda et al. (2007) várias espécies do gênero *Guadua* também foram testadas usando primers de *Oriza sativa* e *Saccharum* spp, com alto grau de transferibilidade. Estudos de transferibilidade usando locos SSR de uma gramínea *Brachypodium distachyon* para outra espécie do mesmo gênero, *Brachypodium hybridum* foram altamente informativos e considerados uma ferramenta poderosa para caracterização genética (NEJI et al., 2015). Para as espécies de forrageiras da família Poaceae, os marcadores SSR desenvolvidos para *Urochloa humidicola* foram transferidos para *U. brizantha*, *U. decumbens*, *U. ruziziensis* e *U. dictyoneura*, apresentando grande potencial de utilização para estudos genéticos como base para o melhoramento genético e conservação (SANTOS et al., 2015). A conservação de sítios de microssatélites entre espécies relacionadas torna possível a transferência destes marcadores para outras espécies (AZÊVEDO et al., 2016).

Com o uso dos locos polimórficos foi possível obter um número total de 169 alelos identificados nos 250 indivíduos das populações de *G. aff. chaparensis*, variando de 6 a 32 alelos por loco, com média de 16,4 alelos (Tabela 4).

Tabela 4. Caracterização dos locos SSR para as populações de *Guadua* aff. *chaparensis* nos municípios de Bujari e Sena Madureira – AC (A) e *Guadua* aff. *lynnclarkiae* no município de Porto Acre – AC (B).

<b><i>G. Aff. chaparensis</i> (A)</b>					
<b>Locos</b>	<b>N</b>	<b>A</b>	<b><math>\hat{H}_o</math></b>	<b><math>\hat{H}_e</math></b>	<b><math>\hat{f}</math></b>
FJ476075	199	29	0.47	0.88	0.47
FJ444935	193	32	0.36	0.87	0.59
FJ444931	242	8	0.12	0.77	0.85
FJ444932	143	12	0.41	0.65	0.38
FJ444929	208	13	0.08	0.73	0.89
FJ444930	235	26	0.63	0.91	0.31
FJ444936	232	16	0.63	0.77	0.19
ESTC66	244	6	0.90	0.72	-0.25
ESTC45	239	12	0.25	0.76	0.67
RM309	240	15	0.45	0.91	0.50
<b>Média</b>	<b>218</b>	<b>16.9</b>	<b>0.43</b>	<b>0.80</b>	<b>0,46<sup>ns</sup> (IC -0,277 - 0,353)</b>
<b><i>G. aff. lynnclarkiae</i> (B)</b>					
<b>Locos</b>	<b>N</b>	<b>A</b>	<b><math>\hat{H}_o</math></b>	<b><math>\hat{H}_e</math></b>	<b><math>\hat{f}</math></b>
FJ476075	93	2	0.20	0.18	-0.11
FJ444935	69	5	0.33	0.71	0.53
FJ444931	83	8	0.89	0.80	-0.12
FJ444932	87	4	0.17	0.48	0.64
FJ444929	97	3	0.00	0.17	1.00
FJ444930	98	6	0.73	0.73	0.00
FJ444936	97	2	0.56	0.43	-0.30
ESTC66	94	4	0.26	0.57	0.55
ESTC45	94	3	0.04	0.04	-0.01
RM309	95	3	0.68	0.51	-0.34
<b>Média</b>	<b>90.7</b>	<b>4</b>	<b>0.39</b>	<b>0.46</b>	<b>0,162<sup>ns</sup> (IC -0,151 - 0,509)</b>

N = Número de indivíduos amostrados; A = número de alelos por loco;  $\hat{H}_o$  = Heterozigosidade Observada;  $\hat{H}_e$  = Heterozigosidade Esperada ;  $\hat{f}$  = índice de fixação; IC= Intervalo de Confiança

A diversidade gênica expressa pela heterozigosidade esperada ( $\hat{H}_e$ ) foi alta para a maioria dos locos de *G. aff. chaparensis* (Tabela 4A). A média para todos os locos foi de 0,80 e a média populacional de 0,50 (Tabela 5) que pode ser considerado um bom valor de diversidade, por se tratar de uma espécie com biologia reprodutiva peculiar, basicamente de propagação vegetativa (JAZEN, 1976; RAMANAYAKE, 2006).

Os valores de heterozigidade observada ( $\hat{H}_o$ ) para a maioria dos locos foram baixos, com a média de 0,43 (Tabela 4A), indicando um maior número de indivíduos homocigotos nos locos e nas populações de *G. aff. chaparensis*.

Para a espécie de *G. aff. lynnclarkiae* o número total de alelos encontrados para os 100 indivíduos analisados foi de 40 alelos, variando de dois a oito alelos por loco, com média de quatro alelos por loco (Tabela 4B).

A diversidade gênica expressa pela heterozigidade esperada ( $\hat{H}_e$ ) foi baixa para a maioria dos locos (Tabela 4B) sendo a média para a espécie de 0,46, considerada também um bom valor de diversidade, visto que a maioria dos locos demonstrou baixa  $\hat{H}_e$ . Os valores de heterozigidade observada ( $\hat{H}_o$ ) para a população de *G. aff. lynnclarkiae* foram variáveis entre os locos e a média para a população foi de 0,39, indicando um maior número de indivíduos homocigotos na população, assim como observado para *G. aff. chaparensis*. Os valores médios  $\hat{H}_e$  e  $\hat{H}_o$  encontrados para as populações (Tabela 5) das duas espécies deste estudo foram baixos, o que também pode estar relacionado à transferibilidade dos locos, pois por não se tratar de locos específicos, o número de alelos e a diversidade genética tendem a ser menores (GAIOTTO et al., 2001).

Estudos conduzidos na Colômbia com *G. angustifolia* utilizando marcadores moleculares RAM (Random Amplified Microsatellites), encontraram valores para  $\hat{H}_e$  que variaram de 0,19 a 0,37 (RUGELIS-SILVA et al., 2012). Em populações naturais na China, a espécie *Dendrocalamus membranaceus* apresentou um  $\hat{H}_e$  de 0,169 utilizando marcadores ISSR (YANG et al., 2012). Em populações naturais do Sri Lanka, a espécie *Kuruna debilis* apresentou  $\hat{H}_e$  de 0,709 utilizando marcadores SSR (ATTIGALA et al., 2017).

O número efetivo de alelos ( $A_e$ ) foi menor do que o número médio de alelos para todas as populações analisadas (Tabela 5). Os valores variaram entre 1,73 (P1) e 2,18 (P3), o que sugere que muitos alelos são raros ( $p < 0,05$ ). Para populações de *G. angustifolia* e *Kuruna debilis* o  $A_e$  variou de 1,56 a 3,56 para a primeira e 3,33 a 4,75 para a segunda espécie (TERRANOVA, 2011; ATTIGALA et al., 2017), demonstrando valores bastante próximos aos encontrados no presente trabalho.

Tabela 5. Diversidade genética das populações das *Guadua* aff. *chaparensis* e *Guadua* aff. *lynnclarkiae* avaliadas nos municípios de Bujari/AC, Sena Madureira/ AC e Porto Acre /AC.

Espécie	População	N	A	A <sub>e</sub>	$\hat{R}_s$	PIC	$\hat{H}_o$	$\hat{H}_e$	$\hat{f}$
<i>G.aff. chaparensis</i>	1	90	7,3 (4,9)	1,73	4,96 (2,73)	0,40	0,36 (0,29)	0,42 (0,28)	0,141 <sup>ns</sup>
<i>G.aff. chaparensis</i>	2	47	5 (2,8) 6,2	2	3,95 (2,66)	0,44	0,49 (0,34)	0,50 (0,18)	0,05 <sup>ns</sup>
<i>G.aff. chaparensis</i>	3	38	(3,92)	2,18	5,85 (3,13)	0,5	0,51 (0,38)	0,54 (0,28)	0,074 <sup>ns</sup>
<i>G.aff. chaparensis</i>	4	46	5,4 (3,77)	2,12	5,2 (3,12)	0,48	0,50 (0,21)	0,53 (0,28)	0,167 <sup>ns</sup>
<i>G.aff. lynnclarkiae</i>	5	90	4 (1,81)	1,85	3,33 (1,69)	0,4	0,38 (0,28)	0,46 (0,27)	0,162 <sup>ns</sup>

N= Número de indivíduos amostrados; A= número médio de alelos por loco; A<sub>e</sub>= número efetivo de alelos;  $\hat{H}_o$  = Heterozigosidade Observada;  $\hat{H}_e$ = Heterozigosidade Esperada ;  $\hat{f}$  = índice de fixação;  $\hat{R}_s$  =Riqueza alélica; PIC: Conteúdo Informativo do Polimorfismo

Os valores de Riqueza Alélica mostram que as populações P5 e P2 apresentaram uma riqueza alélica menor em relação as demais populações, e a P3 apresentou a maior riqueza alélica, o que indica uma maior quantidade de alelos nessa população, em relação as demais. Para populações de *Kuruna debilis* a média da riqueza alélica foi de 4,58 (ATTIGALA et al., 2017). O índice de fixação ( $\hat{f}$ ) foi bastante variável entre locos, observando-se uma tendência de excesso de homozigose dentro das espécies (Tabela 4 A e B). Nas populações variou de 0,05 a 0,167 (Tabela 5) e, mesmo com valores considerados altos para algumas populações, não foi significativamente diferente de zero, indicando que as populações não estão sofrendo com a endogamia.

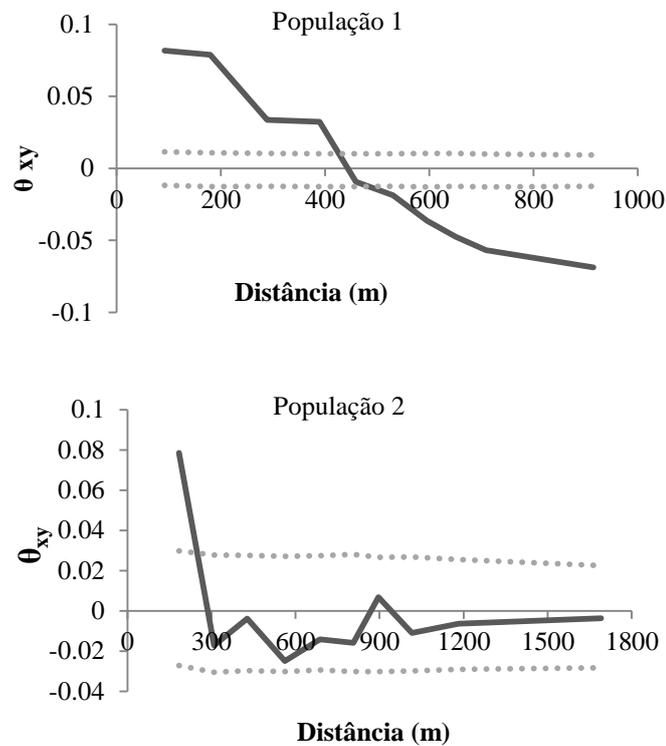
O excesso de homozigotos pode ser resultado de processos demográficos, que podem estar relacionados a eventos de floração dessincronizados, além da presença de alelos nulos, como foi visto para alguns locos. A alta frequência de alelos nulos foi estimada para os locos FJ444935 (0,341), ESTC66 (0,377), FJ444931 (0,78), FJ444932 (0,46), FJ444929 (0,79), sendo que os demais apresentaram frequências abaixo de 0,3. Para populações de *G. angustifolia* o loco FJ444935 apresentou uma baixa frequência (0,035) de alelos nulos (TERRANOVA, 2011). A presença de alelos nulos pode ocorrer pela amplificação preferencial de alelos pequenos e por erros de genotipagem devido à presença de “stutter” (bandas sombras ou resultantes do deslize da DNA polimerase).

O valor do conteúdo informativo de polimorfismo (PIC) foi maior para população P3 (0,50), indicando que os locos foram mais polimórficos e com maior conteúdo informativo. Para

*G. angustifolia* o valor médio do PIC observado foi 0,5 (TERRANOVA, 2011). Chen et al. (2010), avaliando várias espécies de bambus e de vários gêneros observaram PIC que variou de 0,48 a 0,987, com valores próximos aos das populações estudadas no presente trabalho.

#### 4.3.2 Estrutura Genética Espacial

As populações de *G. aff. chaparensis* apresentaram uma fraca estrutura genética espacial em até 500 metros de distância. A P1 (Figura 6) possui uma estruturação genética espacial até 400 metros de distância entre os indivíduos, sendo estes, primos de primeiro grau até cerca 200 metros.



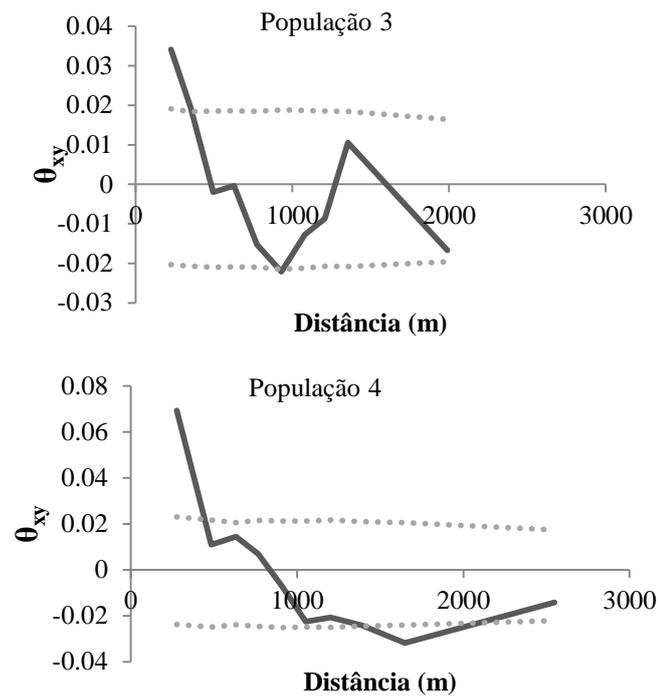


Figura 6. Representação gráfica do coeficiente de coancestria, linhas tracejadas correspondem ao intervalo de confiança a 95%, linha contínua o coeficiente de coancestria nas populações de *Guadua* aff. *chaparensis*.

A P2 apresentou indivíduos correlacionados como primos de primeiro grau, numa distância de 300 metros. Para a P3 a correlação genética foi baixa até 500 metros, até esta distância os indivíduos são considerados primos de segundo grau. A P4 numa distância de 500 metros os indivíduos podem ser considerados primos de primeiro grau (Figura 6). Segundo Moura et al. (2009), os indivíduos podem ser considerados primos de primeiro com valor de coancestria próximos a  $\theta_{xy} = 0,03125$  e segundo grau com valores de  $\theta_{xy} = 0,0625$ , o que foi visto para as populações de *G. aff. chaparensis*. Nestas populações os indivíduos foram coletados em distâncias maiores do que o da P1. Mesmo com a diferença nas formas de coletas, não houve grandes diferenças em relação ao nível de parentesco entre elas.

A P5 de *G. aff. lynnclarkiae* apresentou forte estruturação genética espacial de irmãos-completos até 75 metros de distância (Figura 7), para irmãos-completos os valores de coancestria devem ser próximos a  $\theta_{xy} = 0,25$  (MOURA et al., 2009). Nesta população os indivíduos estavam distribuídos bem próximos, com distâncias curtas entre a maioria deles.

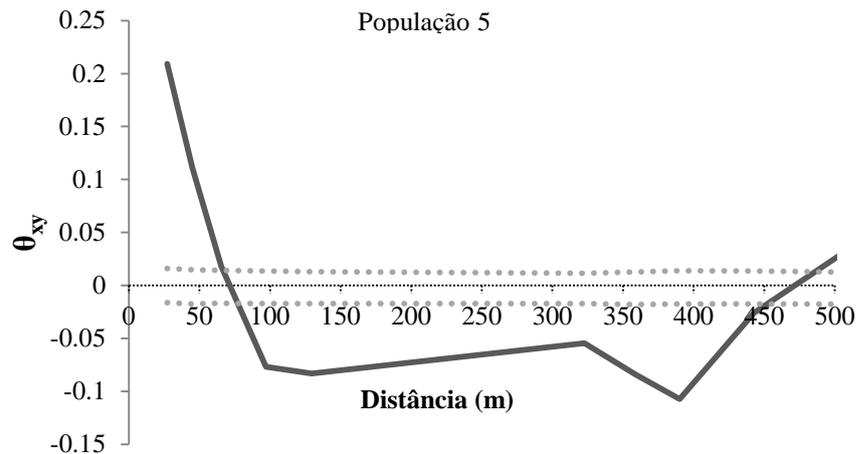


Figura 7. Representação gráfica do coeficiente de coancestria, linhas tracejadas correspondem ao intervalo de confiança a 95%, linha contínua o coeficiente de coancestria na população de *Guadua* aff. *lynnclarkiae*.

A estruturação genética está associada principalmente às características do sistema de reprodução das espécies (LOVELESS; HAMRICK, 1984). A biologia reprodutiva e a ecologia destas espécies podem justificar o alto grau de parentesco dentro de algumas populações. As espécies do gênero *Guadua* possuem um florescimento gregário, mas muitas vezes o espaço de florescimento dentro e entre das populações não é sincronizado (RAMANAYAKE, 2006), levando a uma dispersão curta de pólen, que nestas espécies é feita principalmente pelo vento (Anemofilia), enquanto das sementes e dos frutos são dispersos por anemocoria e zoocoria (JANZEN, 1978; REID et al., 2004; LEBBIN, 2007).

Os eventos de dispersão são os responsáveis pela variação dentro e entre das populações (LOISELLE et al., 1995). Indivíduos mais distantes geograficamente, como é o caso dos indivíduos de *G. aff. chaparensis* tendem a ter uma menor correlação genética espacial (LOISELLE et al., 1995). Já na população *G. aff. lynnclarkiae* os indivíduos estão bem mais próximos geograficamente, levando a um maior parentesco e aumento do coeficiente de coancestria (Figura 7). Os agentes dispersores desta população, que são pássaros, roedores, vento e a chuva, podem ter feito a dispersão de forma restrita, facilitando o estabelecimento de indivíduos irmãos e primos. Isso geralmente é consistente com a previsão de que populações de plantas, muitas vezes têm uma estrutura genética espacial em distâncias curtas (ENNOS, 2001).

A organização espacial de populações locais e seus padrões concomitantes de fluxo gênico são fatores importantes para que uma espécie se torne geneticamente diferente ao longo da sua

distribuição geográfica (YEH, 1989). *Oriza Officinalis*, pertencente à mesma família (Poaceae) das espécies em estudo, apresentou uma estrutura genética espacial de até 17 metros, levando a uma distribuição dos genótipos aparentados mais agrupada (ZHAO et al., 2010). Para populações de gramíneas, como *Triticum diccocooides*, as populações analisadas demonstraram forte estruturação genética espacial em até 20 metros de distância, em populações isoladas, e de um a cinco metros de distância em populações centrais (VOLIS et al., 2014). Para populações de *Sorghum bicolor*, foi observada forte estruturação genética espacial até 180 km de distância entre populações cultivadas e selvagens na África (MUTEGI et al., 2011).

#### 4.3.3 Identidade Clonal

As espécies de bambu normalmente possuem crescimento vegetativo ao longo de todo o seu ciclo de vida, com um incerto florescimento e produção de sementes (JANZEN, 1976; RAMANAYAKE, 2006). Mesmo havendo a germinação das sementes, os indivíduos crescem por brotação, sendo muitas vezes uma tarefa difícil determinar quem é um indivíduo. Com base nos programas para identificação clonal e similaridade genética entre os indivíduos dentro das populações das espécies em estudo, foram identificados na P1 de *G. aff. chaparensis* dois indivíduos iguais geneticamente com uma distância de 30 metros entre eles. Dez indivíduos com grande proximidade genética foram identificados, entre os quais com uma similaridade alélica de seis a oito locos com alelos iguais, com uma distância geográfica variando de 66 a 384 metros (Figura 8 A). Para a P2, dez indivíduos foram identificados com grande similaridade genética, apresentando de cinco a nove locos com alelos iguais, a distância geográfica entre eles variou de 470 a 1220 metros (Figura 8 B).

As P3 e P4 de *G. aff. chaparensis*, nenhum indivíduo clonal foi detectado. A P5 (*G. aff. lynnclarkiae*) por ser de outra espécie e com maior densidade e menor distância entre os indivíduos coletados, foi a que apresentou o maior número de indivíduos clonais. Vinte e dois indivíduos foram identificados como clones, como, indivíduos 20 e 21 (grupo 1); 19, 17 e 22 (grupo 2); 13 e 14 (grupo 3); 30, 32, 33, 34, 28 e 29 (grupo 4); 40 e 44 (grupo 5); 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92 (grupo 6). Dos vinte e dois indivíduos, seis grupos foram formados, dando lugar apenas a seis indivíduos geneticamente distintos. A distância média entre os indivíduos geneticamente idênticos destes foi de 15 metros entre as touceiras (Figura 9). Em relação à similaridade entre os indivíduos, esta população foi a que apresentou maior número de indivíduos com locos e alelos iguais. Vinte e oito indivíduos apresentaram de oito a nove locos com alelos iguais, dentro desta população.

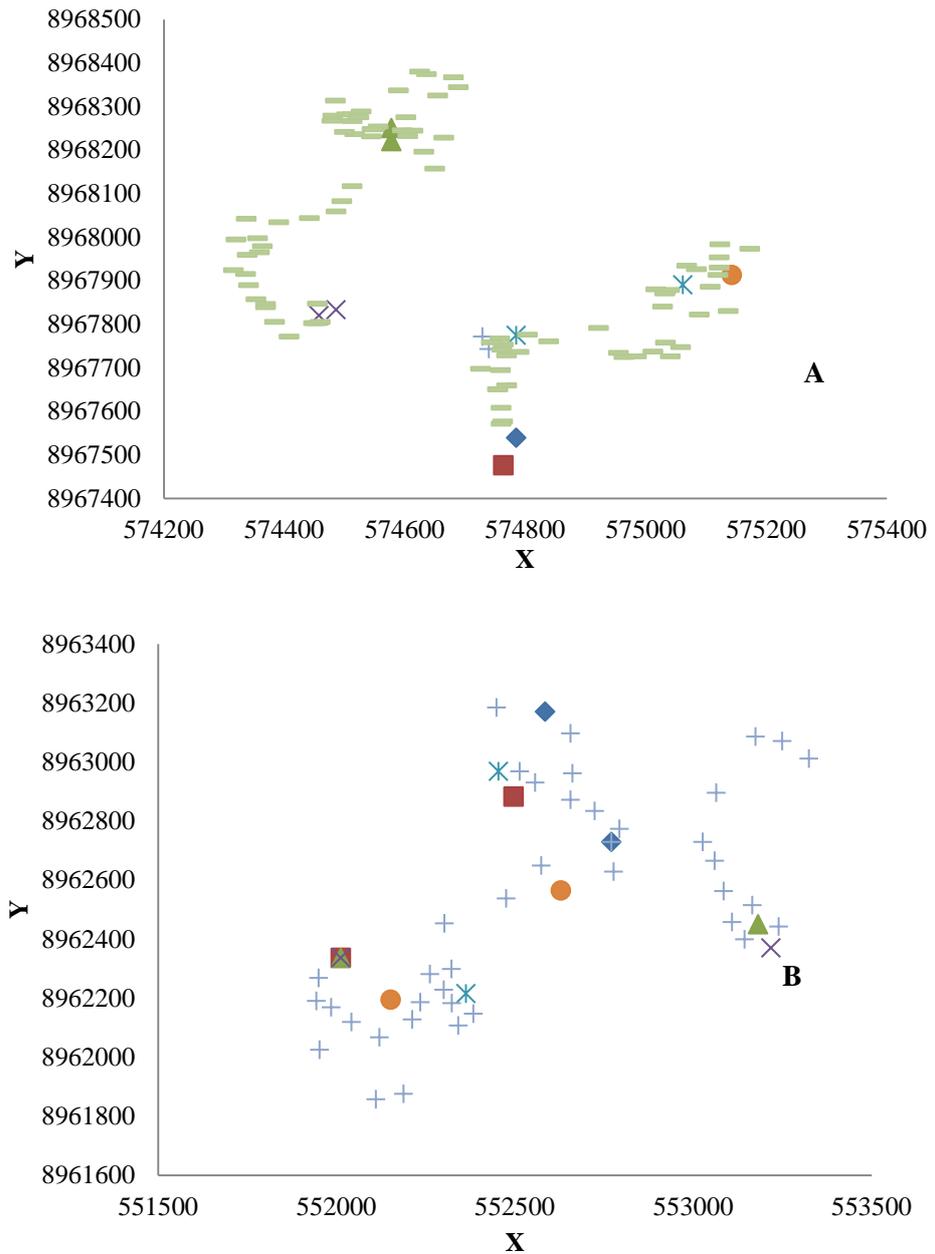


Figura 8. Distribuição geográfica dos indivíduos clonais dentro das populações 1(A) e 2 (B) *Guadua aff. chaparensis*. Os eixos Y e X representam as coordenadas geográficas; (A) os pontos coloridos em verde claro (→) representam os indivíduos não clonais, e demais pontos coloridos representam os indivíduos clonais e com alta similaridade genética; (B) os pontos coloridos em azul claro (+) representam os indivíduos não clonais e os demais pontos coloridos representam os indivíduos com alta similaridade genética.

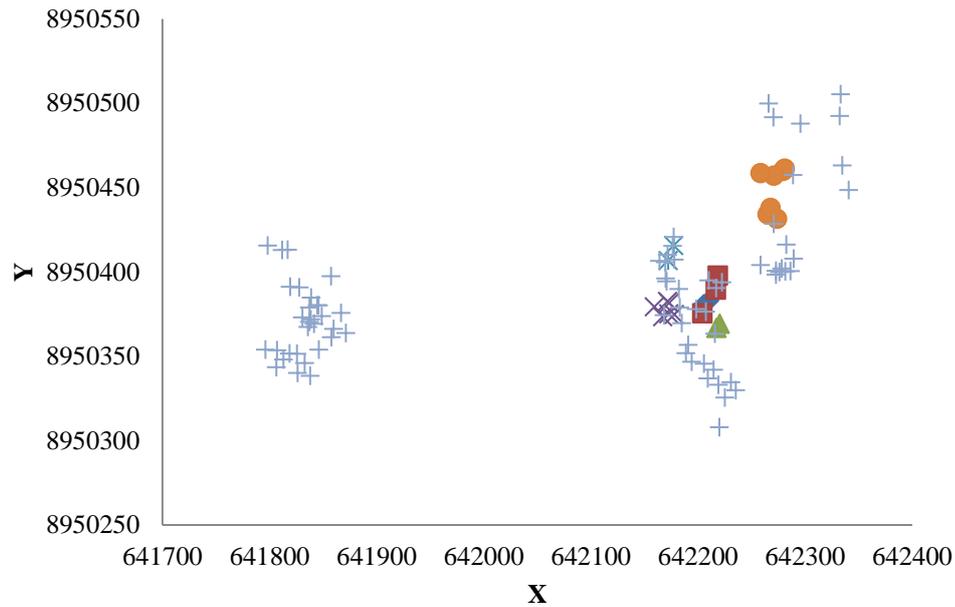


Figura 9. Distribuição geográfica dos indivíduos clonais e com alta similaridade genética dentro da população 5 de *Guadua* aff. *lynnclarkiae*. Os eixos Y e X representam as coordenadas geográficas; os pontos coloridos em azul (+) representam os indivíduos não clonais e os demais pontos coloridos representam os indivíduos clonais e com alta similaridade genética.

As populações P1, P2 e P5 demonstraram um número considerável de indivíduos clonais e com alta similaridade genética. *G. aff. lynnclarkiae* foi a que obteve maiores valores, comparada as demais populações da espécie de *G. aff. chaparensis*. No total dos 100 indivíduos coletados para *G. aff. lynnclarkiae*, 84 são de diferentes genótipos e destes, 28 são altamente parecidos. Como as espécies em estudo possuem crescimento vegetativo via rizoma do tipo paquimorfo (entouceirante) (LONDOÑO, 2008; LONDOÑO; ZURITA, 2013), é comum a emissão de vários colmos, fazendo com que haja adensamento destes em um genete (indivíduo). Os bambus podem sustentar-se dentro das manchas por várias décadas por meio de um hábito de crescimento rizomático (JANZEN, 1976). Para estas populações, o número de indivíduos clonais pode ser considerado baixo, comparado a outros estudos, como espécies de bambu anão *Sasa kurilensis*, *Sasa palmata* e *Sasa senanensis*, dos 439 colmos dentro de 24 populações analisadas, apenas 96 foram geneticamente distintos (MIZUKI, et al., 2014). Já para quatro populações de *Aulonemia aristulata*, uma espécie de bambu da Mata Atlântica brasileira, nenhum indivíduo clonal foi observado (ABREU et al., 2014).

Espécies de plantas com reprodução sexuada e sistemas de regeneração com crescimento vegetativo, como os bambus, podem garantir o estabelecimento de descendentes em novos ambientes por via assexuada, reprodução vegetativa rizomatosa e, assim, garantir a manutenção da diversidade genética por reprodução sexual (KIMATURA; KAWAHARA, 2011).

#### 4.3.4 Estrutura Genética

O valor de  $\hat{G}_{ST}$  que é a divergência genética entre populações de *G. aff. chaparensis* foi de 0,46 e  $\hat{H}_s$  que é a diversidade média intrapopulacional foi de 0,56. Esse valor indica alta divergência genética entre as populações, mesmo estando próximas geograficamente. Através do uso de imagens de satélite, foi possível ver eventos de morte nas populações de *G. aff. chaparensis* em estudo. Os eventos começaram no ano de 1994 e terminaram 1995 (Figura 10 A e B). Tais imagens podem ajudar na compreensão da alta divergência genética, por ser possível ver que para estas populações, o evento de morte aconteceu em períodos distintos, sendo uma floração dessincronizada. Outros fatores relacionados à fragmentação, fluxo gênico restrito e mutações, também podem ter interferido na alta divergência. Para uma ampla gama de espécie de plantas, o sistema de cruzamento afeta os padrões de variação genética entre e dentro das populações (MAGUIRE et al., 2000). Para as outras espécies de bambu, como *Dendrocalamus membranaceus*, *Guadua angustifolia*, *Dendrocalamus giganteus* e *Phyllostachys edulis* foram encontrados valores de 0,252, 0,185, 0,84 e 0,162, respectivamente (TERRANOVA, 2011; YANG et al., 2012; TIAN et al., 2012; JIANG et al., 2017), indicando valores moderados a altos de divergência, o que também foi visto no presente trabalho.

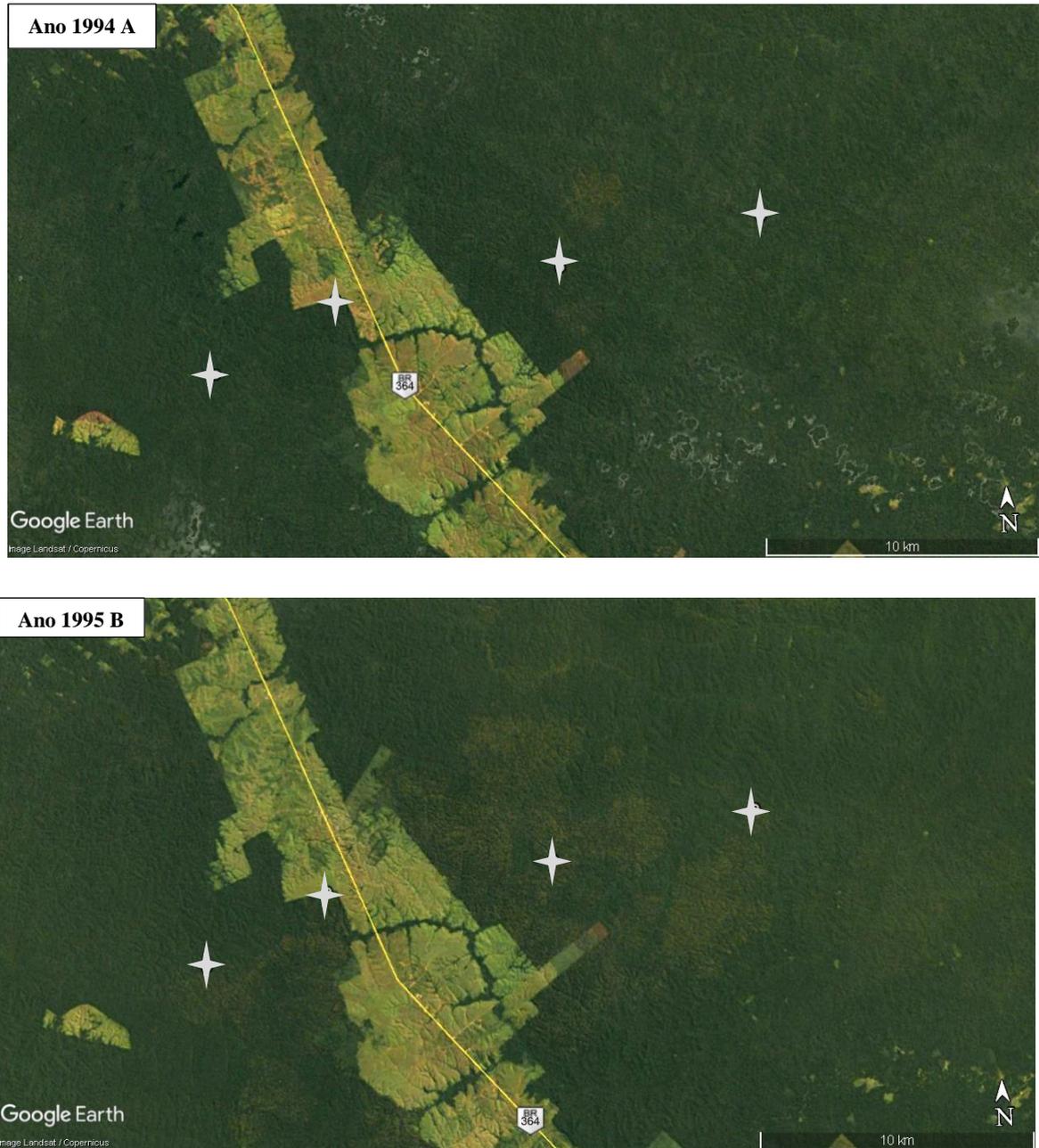


Figura 10. Os pontos  nas imagens representam as populações, sendo respectivamente da esquerda para a direita as populações P2, P3, P4 e P1. **A:** Início da mortalidade na área das P1 e P4 de *Guadua* aff. *chaparensis*, no município de Sena Madureira – AC. **B:** Continuação da mortalidade em P1 e P4, e início em P2 e P3, no município de Sena Madureira – AC. As manchas mais claras na imagem relevam a mortalidade do bambu no cenário.

O fluxo gênico ( $\hat{N}m$ ) estimado entre as populações de *G.* aff. *chaparensis* foi 0,522, indicando a migração de um indivíduo a cada duas gerações. Valores menores que um, revelam um baixo fluxo gênico e podem indicar diferenciação nas populações e isolamento genético (SLATKIN, 1985), enquanto para valores maiores que 1, espera-se baixa diferenciação entre as

populações por deriva ou seleção (WRIGHT, 1931; SLATKIN; BARTON, 1989). Considerando que as populações possuem um ciclo de vida de aproximadamente 30 anos, e por se tratar de uma espécie com rápido estabelecimento, o fluxo gênico histórico pode estar relacionado a eventos passados de floração sincronizadas, como resultados de trocas gênicas no decorrer das gerações quando as populações eram possivelmente interligadas por florestas praticamente contínuas (KAGEYAMA et al., 2003).

A análise Bayesiana do programa Structure revelou que dentro dos 347 indivíduos analisados, existem 5 grupos definidos (Figura 11) (K=5), demonstrando pouca similaridade entre os mesmos. Esta análise confirma a existência de divergência genética e a formação de cinco *pools* gênicos entre as populações, deixando claro a diferença entre as espécies *G. aff. chaparensis* e *G. aff. lynnclarkiae*. Dentro dos grupos formados, poucas informações são compartilhadas entre eles, principalmente com relação a P5 (Figura 11).

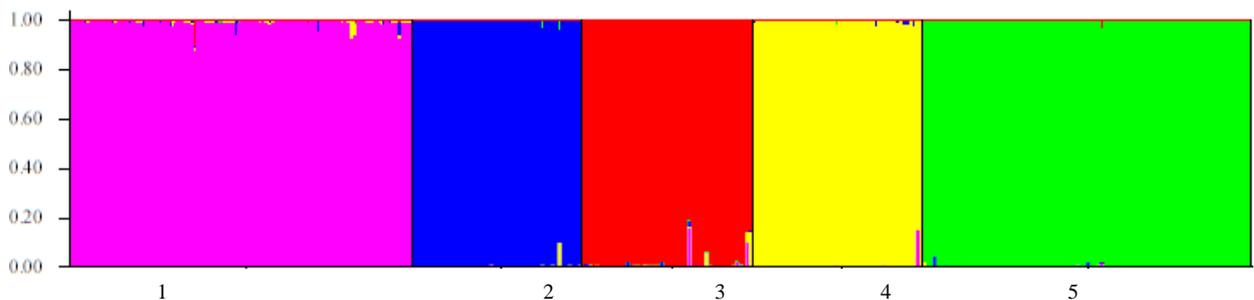


Figura 11. Representação das populações das espécies de *Guadua aff. chaparensis* e *Guadua aff. lynnclarkiae* utilizando programa Structure 2.3.4. Cada cor representa uma população, Rosa: P1; Azul: P2; Vermelha: P3; Amarela: P4 e Verde: P5 (*G. aff. lynnclarkiae*). O eixo Y exhibe a porcentagem estimada de membros de cada população em um determinado *pool* gênico

A diferenciação entre populações geograficamente próximas sugere que elas foram geograficamente isoladas em algum momento no passado, e/ou o fluxo gênico entre elas é restrito no momento atual (ABOUKHALID et al., 2017).

A análise feita leva a crer que estas populações estão pouco conectadas. Uma das barreiras do fluxo gênico entre as populações de *G. aff. chaparensis* é o florescimento incerto, que resulta na diferença entre os eventos de floração (floração esporádica), como foi visto nos anos de 1994 a 1995 para estas populações (Figura 10 A e B) e a baixa dispersão de pólen causada pela escassez de florescimento (MCCLURE, 1966; TIAN et al., 2012). Outro fator envolvido é a fragmentação pela presença da barreira geográfica da estrada BR 364, que divide as populações

em duas partes. Além disso, destaca-se o desmatamento e a conversão da floresta em áreas de pastagem. Estes resultados podem auxiliar na conservação *in situ* de cada população (MARTINS et al., 2015). Cada *pool* gênico deve ser conservado, para a manutenção da diversidade genética dentro e entre as populações. Com estas análises foi possível observar que parte da mancha de bambu que as populações de *G. aff. chaparensis* está inserida, não é homogênea e que ela deve ser conservada como tal, cada população com sua característica genética. O mesmo vale para a população de *G. aff. lynnclarkiae*.

#### 4.4 CONCLUSÕES

A transferibilidade foi uma ferramenta eficiente e os locos usados de outras espécies resultaram em bons valores de diversidade genética dentro das populações.

A divergência genética encontrada entre as populações deixou clara a pouca conectividade entre elas. O que normalmente não é esperado para populações da mesma espécie, com baixas distâncias geográficas.

As duas espécies demonstraram estrutura genética espacial. Indivíduos próximo geograficamente, são geneticamente correlacionados.

Alguns indivíduos clonais foram encontrados nas duas espécies, apenas nas maiores populações (P1 e P5), isso evidencia que nestes maciços de bambu que formam estas populações naturais, a maioria dos indivíduos são provenientes da germinação de sementes, e não de crescimento vegetativo, como era o esperado.

De forma geral as populações foram bem distintas, com baixo compartilhamento de informações genéticas entre elas, o que pode ser uma característica genética, visto que o florescimento em ondas, não sincronizadas, pode interferir diretamente. Com estes resultados é possível concluir que as populações devem ser tratadas como áreas com características genéticas únicas, principalmente no uso pelo manejo e para a conservação *in situ* e *ex situ*.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABOUKHALID, K.; MACHON, N.; LAMBOURDIÈRE, J.; ABDELKRIM, J.; BAKHA, M.; DOUAÏK, A.; KORBECKA-GLINKA, G.; GABOUN, F.; TOMI, F.; LAMIRI, A.; AL FAIZ, C. Analysis of genetic diversity and population structure of the endangered *Origanum compactum* from Morocco, using SSR markers: Implication for conservation. **Biological Conservation**, n. 212, p. 172–182, 2017.

ABREU, A. G.; GROMNONE-GUARATINI, M. T.; VAL, T. M.; ZUCCHI, M. I. Genetic diversity and age class structure of seedlings and saplings after a mast flowering of bamboo in the Brazilian Atlantic forest. **International Journal of Plant Sciences**, v. 175, p. 319-327, 2014.

ACRE, GOVERNO DO ESTADO DO ACRE. **Zoneamento Ecológico-Econômico do Estado do Acre, Fase II (Escala 1:250.000)**: Documento Síntese. 2010. Disponível em: <[http://www.amazonia.cnptia.embrapa.br/publicacoes\\_estados/Acre/Fase%202/Documento\\_Sintese.pdf](http://www.amazonia.cnptia.embrapa.br/publicacoes_estados/Acre/Fase%202/Documento_Sintese.pdf)>. Acesso em: 26 de setembro de 2018.

ACREBIOCLIMA, GRUPO DE ESTUDOS E SERVIÇOS AMBIENTAIS. 2018. Disponível em: <<http://www.acrebioclima.pro.br/>>. Acesso: 26 de julho de 2018.

ARNAUD-HAOND, S.; KHALID, B. GENCLONE: a computer program to analyse genotypic data, test for clonality and describe spatial clonal organization. **Molecular Ecology Notes**, v. 7, p. 15–17, 2007.

ATTIGALA, L.; GALLAHERT, T.; NASON, J.; CLARK, L. G. Genetic diversity and population structure of the threatened temperate woody bamboo *Kuruna debilis* (Poaceae: Bambusoideae: Arundinarieae) from Sri Lanka based on microsatellite analysis. **Journal of the National Science Foundation of Sri Lanka**, v. 45, p. 53-65, 2017.

AZÊVEDO, H. S. F. S.; SOUSA, A. C. B.; MARTINS, K.; OLIVEIRA, J. C. et al. Genetic diversity of the forage peanut in the Jequitinhonha, São Francisco, and Paranaíba River valleys of Brazil. **Genetics and Molecular Research**, v. 15, p. 1-11, 2016.

AZMY, H. M. Effects of fertilizing and harvesting intensity on natural stands of *Gigantochloa scortechinii*. **International Network for Bamboo and Rattan**, New Delhi, India, p. 86-95. 1996.

BHATT, B. P.; SINGH, K.; SINGH, A. Nutritional values of some commercial edible bamboo species of the North Eastern Himalayan region, India. **Journal Bamboo and Rattan**, v. 4, p. 111-124, 2005.

CHEN, X.; TEMNYKH, S.; XU, Y.; CHO, Y. G.; MCCOUCH, S. R. Development of a microsatellite framework map providing genome-wide coverage in rice (*Oryza sativa* L.). **Theoretical and Applied Genetics**, v. 95, p. 553-567, 1997.

CRESTE, S.; TULMANN NETTO, A.; FIGUEIRA, A. Detection of single sequence repeat polymorphisms in denaturing polyacrylamide. Gels by silver staining. **Plant Molecular Biology Reporter**, v. 19, p. 299-306, 2001.

CROW, J. F.; AOKI, K. Group selection for polygenic behavioral trait: estimating the degree of population subdivision. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, Washington, v. 81, p. 6073-6077, 1984.

DIAB, E. E. E.; MOHAMED, S. E. In vitro Morphogenesis and plant regeneration of bamboos (*Oxytenanthera abyssinica* A. Rich. Munro). **International Journal of Sustainable Crop Production**, v. 3, p. 72-79, 2008.

DOYLE, J. J.; DOYLE, J. L. Isolation of plant DNA from fresh tissue. **Focus**, v. 12, n. 1, p. 13-15, 1987.

EARL, D. A.; VON HOLDT, B. M STRUCTURE HARVESTER: A website and program for visualizing STRUCTURE output and implementing the Evanno method. **Conservation Genetics Resources**, v. 4, p. 359 - 361. 2012.

EL MOUSADICK, A.; PETIT, E. High level of genetic differentiation for allelic richness among populations of the argan tree (*Argania spinosa*) (L) endemic to morocco. **Theoretical and Applied Genetics**, v, 92, p. 832-839, 1996.

ENNOS, R. A. **Inference about spatial processes in plant populations from the analysis of molecular markers**. Blackwell Science, Oxford, 2001.

EVANNO, G.; REGNAUT, S.; GOUDET, J. Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: a simulation study. **Molecular Ecology**, v. 18, p. 2611-2620, 2005.

GAIOTTO, F.A.; BRONDANI, R.P.V.; GRATTAPAGLIA, D. Microsatellite markers for heart of palm *Euterpe edulis* and *E. oleracea* Mort. (Palmae). **Molecular Ecology**, v.1, p. 86-88, 2001.

GOUDET, J. Fstar Version 1.2: a computer program to calculate Fstatistics. **Journal of Heredity**, v. 86, n. 6, 485-486, 1995.

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

HARDY, O.J.; VEKEMANS, X. SPAGeDi: a versatile computer program to analyse spatial genetic structure at the individual or population levels. **Molecular Ecology Notes**, v. 2, n. 4, p. 618-620, 2002.

JANZEN, D. H. Why bamboos wait so long to flower. **Annual Review of Ecology and Systematics**. v. 7, p. 347-391, 1976.

JIANG, W.; BAI, T.; DAI, H.; WEI, Q.; ZHANG, W.; DING, Y. Microsatellite markers revealed moderate genetic diversity and population differentiation of moso bamboo (*Phyllostachys edulis*)—a primarily asexual reproduction species in China. **Tree Genetics & Genomes**, v. 13, p. 130, 2017.

JUDZIEWICZ, E.; CLARK, L.G.; LONDOÑO, X.; STERN, A. M. J. **American bamboos**. Smithsonian Institution Press, Washington and London, 1999, 392p.

KAGEYAMA, P. Y.; SEBBENN, A. M.; RIBAS, L. A.; GANDARA, F. B.; CASTELLEN, M.; PERECIM, M. B.; VENCovsky, R. Diversidade genética em espécies arbóreas tropicais de diferentes estágios sucessionais por marcadores genéticos. **Scientia Forestalis**, n. 64, p. 93-107, 2003.

KALINOWSKI, S. T.; TAPER, M. L.; MARSHALL, T. C. Revising how the computer program CERVUS accommodates genotyping error increases success in paternity assignment. **Molecular Ecology**, v. 16, p. 1099 -1106, 2007.

KITAMURA, K; KAWAHARA, T. Estimation of outcrossing rates at small-scale flowering sites of the dwarf bamboo species, *Sasa cernua*. **Journal of Plant Research**, v.124, p. 683-688, 2010.

LEBBIN, D. J. **Habitat specialization among Amazonian birds: why are there so many *Guadua* bamboo specialists?** 2007. Ph.D. dissertation, Cornell University, Ithaca, NY. 2007.

LEWIS, P. O.; ZAYKIN, D. **Genetic Data Analysis**: Computer program for the analysis of allelic data. Version 1.0 (d 15). Free program distributed by the authors over the internet from de GDA homepage at [http:// alleun.eeb.uconn.edu/gda/2002](http://alleun.eeb.uconn.edu/gda/2002).

LIN, X.; HUANG, L.; FANG W. **Bamboo regeneration via embryogenesis and organogenesis, embryogenesis**, DR. KEN-ICHI SATO (ED.), ISBN: 978-953-51-0466-7, INTECH, DOI: 10.5772/37138. Available from: <http://www.intechopen.com/books/embryogenesis/bamboo-regeneration-via-embryogenesis-and-organogenesis>, 2012.

LIU, J.; SHI, S.; CHANG, E.; YANG, W.; JIANG, Z. Genetic diversity of the critically endangered *Thuja sutchuenensis* revealed by ISSR markers and the implications for conservation. **International Journal of Molecular Sciences**, v.14, n. 7, p.14860–14871, 2013.

LONDOÑO, X.; PETERSON, P. *Guadua chacoensis* (Poaceae: Bambusoidea), its taxonomic identity, morphology and relationships. **Novon**, v.2, p. 41-47.1992.

LONDOÑO, X.; CLARK, L.G. A revision of the Brazilian bamboo genus *Eremocaulon* (Poaceae: Bambuseae: Guaduinae). **Systematic Botany**, v.27. p. 703–721, 2002.

LONDOÑO, X.; ZURITA. E. Two species of *Guadua* (Bambusoideae: Guaduinae) from Colombia and Bolivia. **Journal of Botanical Research Institute of Texas**, v. 2, p. 25-34, 2008.

LONDOÑO, X. Dos nuevas especies de *Guadua* para el Perú. **Journal of Botanical Research Institute of Texas**, v. 7, p. 145 – 153, 2013.

LOISELLE, B. A.; SORK, V. L.; NASON, J.; GRAHAM, C. Spatial genetic structure of a tropical understory shrub, *Psychotria officinalis* (Rubiaceae). **American Journal of Botany**, St. Louis, v. 82, n. 11, p. 1420-1425, 1995.

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

- MAGUIRE, T. L.; SAENGER, P.; BAVERSTOCK, P. R.; HENRY, R. J. Microsatellite analysis of genetic structure in the mangrove species *Avicennia marina* (Forsk.) Vierh. (Avicenniaceae). **Molecular Ecology**, 9, 1853–1862, 2000.
- MARALUNDA, M. L.; LÓPEZ, A. M.; CLAROZ, J. L. Analyzing the genetic diversity of *Guadua* sp. in Colombia using rice and sugarcane microsatellites. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v.7, p.43-51, 2007.
- MARTINS, K.; KIMURA, R. K.; FRANCISCONI, A. N.; GEZAN, S.; KAINER, K.; CHRISTIANINI, A. The role of very small fragments in conserving genetic diversity of a common tree in a hyper fragmented Brazilian Atlantic forest landscape. **Conservation Genetic**, 2015.
- MCCLURE, F. A. **The bamboos: A fresh perspective**, Cambridge, Harvard University Press, 1966.
- MIZUKI, I.; SATO, A.; SUYAMA, Y.; SUZUKI, J-I.; MAKITA, A.; Clonal structure, seed set, and self pollination rate in mass – flowering bamboo species during of year flowering events. **Plos One**, v. 9, 2014.
- MOKTAN, M. R.; NORBU, L.; DUKPA, K.; RAI, T. B.; DORJI, R.; DHENDUP, K.; GYELTSHEN, N. Bamboo and cane vulnerability and income generation in the rural household subsistence of Bjoka, Zhemgang, Bhutan. **Mountain Research and Development**, v. 29, p. 230–240, 2009.
- MOURA, T. M DE.; SEBBENN, A.M.; CHAVES, L. J.; COELHO, A. S. G.; OLIVEIRA, G. C. X.; KAGEYAMA, P.Y. Diversidade e estrutura genética espacial em populações fragmentadas de *Solanum* spp. do Cerrado, estimadas por meio de locos microssatélites, **Scientia Forestalis**, v. 37, n. 82, p. 143-150, 2009.
- MUTEGI, E.; SAGNARD,F.; SEMAGN,K.; DEU,M.; MURAYA,M.; KANYENJI, B.; UILLIERS, S de.; KIAMBI, D.; HERSELMAN, L.; LABUSCHAGNE, M. Genetic structure and relationships within and between cultivated and wild sorghum (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) in Kenya as revealed by microsatellite markers. **Theoretical Applied Genetics**, v. 122, p. 989-1004, 2011.
- NATH, A. J.; LAL, R.; DAS, A. K. Managing woody bamboos for carbon farming and carbon trading. **Global Ecology and Conservation**, v. 3, p. 654–663, 2015.
- NEI, M. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. **Genetics**, v. 89, n. 3, p. 583-590, 1978.
- NEJI, M.; GEUNA, F.; TAAMALLI, W.; IBRAHIM, Y.; CHIOZZOTTO,R.; ABDELLY, C.; GANDOUR. M. Assessment of genetic diversity and population structure of Tunisian populations of *Brachypodium hybridum* by SSR markers. **Flora**, n. 216, p. 42–49, 2015.
- NILKANTA, H.; AMOM, T.; TIKENDRA, L.; RAHAMAN, H.; NONGDAM, P. ISSR marker based population genetic study of *Melocanna baccifera* (Robx) Kurz: A commercially important bamboo of Manipur, North East India. **Hindawi Scientifica**, ID 3757238, p. 1-9, 2017.

OLIVEIRA, K.; PINTO, L.R.; MARCONI, T. G.; MOLLINAR, M.; ULIAN, E.C.; CHABREGAS, S.M.; FALCO, M.C.; BURNQUIST, W.; GARCIA, A.A.F.; SOUZA, A. P. Characterization of new polymorphic functional Markers for Sugarcane. **Genome**, v. 52, p. 191-209, 2009.

OLIVEIRA, L.F.A. **Conhecendo bambus e suas potencialidades para uso na construção civil**. 2011. 90f. Monografia (Especialização em construção civil). Escola de Engenharia da UFMG, Minas Gerais, 2013.

PARASKEVA, T. S.; GRIGOROPOULOS, G.; DIMITRAKOPOULOS, E. G. Design and experimental verification of easily constructible bamboo footbridges for rural areas. **Engineering Structures**. v. 143, p. 540-548, 2017.

PÉREZ-GALINDO, P.; CARLOS-ANDRÉS, C.; GONZÁLEZ, G.; IVÁNANDRÉS I.; CÁRDENAS, H. Cloning and isolation of tetra nucleotide microsatellite clones from *Guadua angustifolia* (Poaceae: Bambusoideae). **Molecular Ecology Resources**, v. 9, p. 1375-1379, 2009.

PEREIRA, M. A. R.; BERVALDO A. L. **Bambu de corpo e alma**. Bauru, SP: Canal 6 Projetos Editoriais, 2007, p.240.

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

RAO, I.V.R.; SASTRY, C.B. **The IDRC Bamboo and Rattan Research Network in Asia**. The IDRC Bamboo and Rattan Research Network, 1990.

RAMANAYAKE, S. M. S. D. Flowering in bamboo: an enigma! **Ceylon Journal of Science (Biol Sci)**. v. 35, p. 95-105, 2006.

REID, S.; DÍAZ, I. A.; ARMESTO, J. J.; WILLSON, M. F. Importance of native bamboo for understory birds in Chilean temperate forests. **Auk**, v. 121, p.515-525, 2004.

RIAÑO N.; LONDOÑO X.; LÓPEZ Y.; GÓMEZ J.H. Plant growth and biomass distribution on *Guadua angustifolia* Kunth in relation to aging in the Valle del Cauca. **Journal of the American Bamboo Society**, v. 16, p. 43-51, 2002.

RUGELES-SILVA.; TERRANOVA, A. M. P.; LONDOÑO, X.; BARRERA-MARÍN, N.; MUÑOZ-FLÓREZ, J. E. Caracterización molecular de *Guadua angustifolia* Kunth mediante marcadores moleculares RAMs. **Acta Agronómica**. v. 61, p. 325-330, 2012.

SANTOS, J. C.S.; BARRETO, M. H.; OLIVEIRA, F. H.; VIGNH, B. B. Z.; SOUZA, H. P.; Microsatellite markers for *Urochloa humidicola* (Poaceae) and their transferability to other *Urochloa* species. **BMC Research Notes**, n. 8, v. 83, p. 1-12, 2015.

SILVA, S. M. M.; WADT, L. H. O.; MESQUISTA, A. G. G.; MARTINS, K. Impacto da exploração madeireira na diversidade genética e area basal de jatobá na Amazônia Sul-Occidental. **Scientia Forestalis**, Piracicaba, v. 44, n. 111. p. 545-555, 2016.

SILVA, W. C da. **Abundância de bambu (*Guadua* spp.), variáveis edáficas e biomassa arbórea em florestas do Sudoeste da Amazônia.** 2015. 53 f. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal do Acre, 2015.

SILVEIRA, M. **A floresta aberta com bambu no sudoeste da amazônia: padrões e processos em múltiplas escalas.** 2001. 127f. Tese de Doutorado, Universidade de Brasília, Brasília – DF, 2001.

SILVEIRA, M. **A floresta aberta com bambu no sudoeste da Amazônia: Padrões e processos em múltiplas escalas.** Rio Branco - AC: Edufac, 2005, 157p.

SLATKIN, M. Rare alleles as indicators of gene flow. **Evolution**, v. 39, p. 53–65, 1985.

SLATKIN, M.; BARTON, N. H. A comparison of three indirect methods for estimating average levels of gene flow. **Evolution**, v. 43, n. 7, p. 1349-1368, 1989.

SMITH, M.; NELSON, B.W. Fire favours expansion of bamboo-dominated forests in the south-west Amazon. **Journal of Tropical Ecology**, n. 27, p. 59-64, 2011.

SODERSTROM, T. R.; LONDOÑO, X. Two new genera of Brazilian bamboos related to *Guadua* (Poaceae: Bambusoideae). **American Journal of Botanical**, v. 74, p. 27–39, 1987.

SUJI, P. S.; MARTINS, K.; WADT, L. H. O.; AZEVEDO, V. C. R.; SOLFERINI, V. N. Genetic structure of *Bertholletia excelsa* populations from the Amazon at different spatial scales. **Conservation Genetics**, v. 16, p. 955-964, 2015.

TIAN, B.; YANG, H - Q.; WONG, K - M.; LIU, A – Z.; RUAN, Z – Y. ISSR analysis show low genetic diversity versus high genetic differentiation for giant bamboo, *Dendrocalamus giganteus* (Poaceae: Bambusoideae), in China populations. **Genetic Resources Crop and Evolution**, v. 59, p. 901 – 908, 2012.

TEMNYKH, S.; PARK, W.D.; AYRES, N.; CARTINHO, S.; HAUCK, N.; LIPOVICH, L.; CHO, Y. G.; ISHII, T.; MCCOUCH, S. R. Mapping and genome organization of microsatellite sequence in rice (*Oryza sativa* L). **Theoretical and Applied Genetics**, v. 100, p. 697-712, 2000.

TERRANOVA, A. M. P. **Diversidad genética y estructura poblacional de *Guadua angustifolia* kunt en el eje cafetero Colombiano.** 2011. 98f. Magister en Ciencias Agrarias com énfasis em fitomejoramento. Universidad Nacional de Colombia. Colombia. 2011.

VOLIS, S.; SONG, M.; ZANG, Y-H.; SHULGINA, I. Fine-Scale Spatial Genetic Structure in Emmer Wheat and the Role of Population Range Position. **Evolutionary Biology**, v. 41, p. 166–173, 2014.

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

YANG, H-Q.; AN, M-Y.; GU, Z-J.; TIAN, B. Genetic diversity and differentiation of *Dendrocalamus membranaceus* (Poaceae: Bambusoideae) a declining bamboo Species repeat (ISSR) analysis. **International Journal of Molecular Science**, v. 13, p. 4446-4457, 2012.

YEASMIN, L.; ALI, MD. N.; GANTAIT, S.; CHAKRABORTY, S. Bamboo: on our view on its genetic diversity and characterization. **Biotech**, v. 5, p. 1-11, 2015.

YER, F. C. H, Isozyme analysis for revealing population structure for use in breeding strategies, In: GIBSON, G. I.; GRIFFIN, A. R.; MATHESON, A. C. (Ed) **Proceedings of the conference on breeding tropical trees: Population Structure and genetic improvement strategies in clonal and seedling forestry**, Oxford: Oxford forestry institute, p. 119-131, 1989.

ZHAO, Y.; CHEN,C.; RONG, J.; DONG,S.; LIAO, H.; LU,F.; CHEN, J.; SONG, Z. Population clonal diversity and fine-scale genetic structure in *Oryza officinalis* (Poaceae) from China, implications for in situ conservation, **Genetic Resources and Crop Evolution**, v. 59, p. 113-124, 2012.

ZHU, X. H.; CHENG, S. P.; LIAO, T.; KANG, X. Y. Genetic diversity in fragmented populations of *Populus talassica* inferred from microsatellites: implations for conservation. **Genetics and Molecular Research**, v. 15, n. 2, p. 1-10, 2016.

## 5. CAPÍTULO II

**ESTRUTURA POPULACIONAL DE *Guadua* aff. *chaparensis* E *Guadua* aff. *lynnclarkiae* NA AMAZÔNIA SUL-OCIDENTAL BRASILEIRA**

## RESUMO

Estudos populacionais podem demonstrar mudanças em populações naturais em relação à densidade, distribuição, bem como procuram investigar os processos responsáveis por essas flutuações. Espécies do gênero *Guadua* possuem grandes áreas de ocorrência natural na região Sul-Occidental da Amazônia brasileira, e pouco se sabe a respeito da sua estrutura populacional. O objetivo deste trabalho foi avaliar a estrutura populacional de quatro populações de *Guadua* aff. *chaparensis*, localizadas no município de Bujari e Sena Madureira, e uma população de *Guadua* aff. *lynnclarkiae* localizada no município de Porto Acre, todas pertencentes ao estado do Acre, AC, Brasil. Verificou-se que a maioria das populações apresentou o modo de dispersão agrupada para ambas as espécies. A densidade entre as populações de *G.* aff. *chaparensis* variou de 0,7 touceira/ha<sup>-1</sup> a 8 touceiras/ha<sup>-1</sup>, enquanto que para *G.* aff. *lynnclarkiae* a densidade foi 43 touceiras/ha<sup>-1</sup>. Não houve diferenças significativas entre as populações de *G.* aff. *chaparensis* quanto ao diâmetro médio de colmos. A análise de ordenação NMDS detectou baixa similaridade entre as espécies e alta similaridade entre as populações de *G.* aff. *chaparensis*. Pode-se concluir que as espécies possuem diferenças do ponto de vista populacional e que estudos desta ordem auxiliam no conhecimento das populações de espécies nativas de bambu encontradas naturalmente no sudoeste da Amazônia, além de poder dar subsídios à conservação e ao uso sustentável.

**Palavras-chave:** *Guadua* sp., Recursos Genéticos, Conservação, Índice de Dispersão, Densidade Populacional, NMDS.

## ABSTRACT

Population studies can demonstrate changes in natural populations relative to density, distribution, and seek to investigate the processes responsible for such fluctuations. Species of the genus *Guadua* have large areas of natural occurrence in the south western region of the Brazilian Amazon, and little is known about their population structure. The objective of this work was to evaluate the population structure of four populations of *Guadua* aff. *chaparensis*, located in the municipality of Bujari and Sena Madureira, and a population of *Guadua* aff. *lynnclarkiae* located in the municipality of Porto Acre, all belonging to the state of Acre, AC, Brazil. It was found that the majority of the populations presented the mode of dispersion grouped for both species. The density among the populations of *G.* aff. *chaparensis* ranged from 0.7 clump/ha<sup>-1</sup> to 8 clumps/ ha<sup>-1</sup>, while for *G.* aff. *lynnclarkiae* the density was 43 clumps/ha<sup>-1</sup>. There were no significant differences between the populations of *G.* aff. *chaparensis* for the mean diameter of stems. The NMDS ordering analysis detected low similarity among species and high similarity among populations of *G.* aff. *chaparensis*. It can be concluded that the species have differences from the population point of view and that studies of this order help in the knowledge of the populations of native species of bamboo found naturally in the southwest of the Amazon, besides being able to give subsidies to the conservation and the sustainable use.

**Keywords:** *Guadua* sp., Genetic Resources, Conservation, Dispersion Index, Population Density, NMDS.

## 5.1 INTRODUÇÃO

As florestas abertas dominadas por bambu do gênero *Guadua* (*Poaceae: Bambuseae*) cobrem cerca de 160.000 Km<sup>2</sup> do sudoeste da Amazônia, incluindo o sudeste do Peru, o norte da Bolívia e o oeste do Brasil (CARVALHO et al., 2013). Brasil, Peru, Bolívia, Equador, Colômbia e Venezuela são considerados centros de origem deste gênero, com uma grande diversidade de espécies (JUDZIEWICZ et al., 1999; LONDOÑO; PETERSON, 1992). O estado do Acre, situado na região Sul-Occidental da Amazônia brasileira, detém amplas florestas dominadas por bambus e é considerado o estado possuidor da maior reserva natural de espécies de *Guadua* do planeta (PEREIRA; BERALDO, 2007; SILVA, 2015). As espécies predominantes da região são o *G. weberbaueri*, *G. sarcocarpa* e *G. superba* (SILVEIRA, 2005).

Espécies deste gênero são predominantemente tropicais, perenes, renováveis e de rápido crescimento. As plantas são arborescentes e apresentam como principal característica espinhos nos galhos e colmos (JAZEN, 1976). A maioria das espécies são semélparas (um único evento de reprodução sexuada) e monocárpicas (morrem após esse evento). O florescimento ocorre em ondas, seguido de morte da touceira (gregário), (JAZEN, 1976; SILVEIRA, 2001).

Do ponto de vista social, econômico e ecológico as espécies de bambus são importantes em alguns países da América do Sul, Ásia e África, por ser uma fonte de matéria-prima para a alimentação humana e animal. Também são utilizadas na recuperação de áreas degradadas (BHATT; SINGH; SINGH, 2005; MOKTAN et al., 2009), e no controle de erosão do solo (GRECO, 2011), podendo ser uma importante alternativa para sequestro de carbono (RIAÑO et al., 2002; NATH et al., 2015). As manchas de bambu também servem como abrigo para muitas espécies de pássaros e mamíferos, podendo ser considerados ecossistemas únicos (YEASMIN et al., 2015). No Acre, 20 espécies de aves estão relacionados as florestas de bambu ou são restritas a elas (GUILHERME; SANTOS, 2009).

A substituição de espécies madeireiras sobre-exploradas por espécies como o bambu tem sido uma alternativa (LOBOVIKOV et al., 2012), principalmente em regiões ricas em bambuzais como a Amazônica. Na América do Sul, países como a Colômbia e o Equador têm utilizado e estudado bambus nativos através de pesquisas sobre estrutura populacional, diversidade genética e seleção de clones promissores para o uso na construção civil, além de estudos sobre o potencial farmacêutico (KLEIN; HIDALGO-MORALES, 2006; MUÑOZ – FLÓREZ, 2011; GALLON; TORRES; CABRERA, 2011). Devido às características peculiares e suas perspectivas de uso, há vários estudos para estabelecer a cadeia produtiva do bambu, com vistas ao melhor

aproveitamento dos produtos e subprodutos da cultura (RAO; SASSTRY, 1990; AZMY, 1996; SILVEIRA, 2001; DIAB; MOHAMED, 2008; LIN; HUANG; FANG 2012).

A estrutura populacional de plantas é o resultado de ações de forças bióticas e/ou abióticas que provocam alterações na organização estabelecida pelos indivíduos, demonstrando como uma espécie explora o ambiente que ocupa (MARTINS, 1987; LOPES, 2007). As principais estruturas populacionais são: a etária (número de indivíduos em cada estágio do ciclo de vida), a de tamanho (número de indivíduos de diferentes tamanhos) e a espacial (variação de densidade e distribuição dos indivíduos) (ARANTES; SCHIAVINI, 2011).

As plantas apresentam frequentemente uma distribuição espacial agregada, com formação de grupos de indivíduos em áreas que apresentam as condições favoráveis para a sua reprodução e sobrevivência, devido à presença de distúrbios ou fatores ambientais que limitam a sua distribuição, ou mesmo devido há complexas interações entre membros da comunidade (PERRY; DIXON, 2002; VARELLA et al., 2018). Para algumas espécies de plantas, o padrão de distribuição inicialmente agregado, pode mudar devido à herbivoria e parasitismo, fazendo com que, ao longo do tempo, os indivíduos se distribuam de forma mais uniforme (CONDIT et al., 2000).

A densidade de povoamentos é um fator determinante mais importante no crescimento, sobrevivência e reprodução das diferentes espécies de bambu (MAKITA, 1996). Em florestas tropicais, o padrão espacial muda de forte agregação na fase inicial de vida, para aleatório ou regular em seus estágios finais de desenvolvimento (SILVEIRA et al., 2018). Em espécies com propagação vegetativa este padrão pode mudar, uma vez que o padrão agregado dos indivíduos é resultante desta forma de propagação ou de crescimento clonal (PARE et al., 2009).

Os bambus são componentes importantes em muitas florestas tropicais úmidas por atuarem diretamente na estruturação e dinâmica dessas comunidades. Portanto, a compreensão de seus padrões de distribuição espacial auxilia no entendimento dos diferentes processos que desenham esses ambientes (PADGURSCHI, 2014), análises que avaliem a estrutura populacional, gerando informações sobre dispersão e densidade, são importantes para inferir medidas de uso e conservação nestas populações naturais, tendo em vista que pouco se conhece a respeito das mesmas. Com o crescente desmatamento e uso de terras na Amazônia, as populações tendem a crescer/regredir ao longo do gradiente florestal e estudos como este podem dar subsídio para conservação e uso relativo ao manejo e exploração de bambuzais. Neste contexto, este trabalho teve como objetivo avaliar a estrutura populacional das espécies nativas de *Guadua* aff. *chaparensis* e *Guadua* aff. *lynnclarkiae* de ocorrência na região Sul – Ocidental da Amazônia Brasileira.

## 5.2 MATERIAL E MÉTODOS

### 5.2.1 Espécies estudadas, área de estudo e amostragem

As espécies deste trabalho são dois novos registros para a flora Acreana (LONDOÑO, 2017 comunicação pessoal). *Guadua* aff. *chaparensis* Londoño e Zurita, é uma espécie de bambu arborescente, lenhosa, com rizoma paquimorfo, colmos medindo de 18-25 metros de altura, com diâmetro de 7-12 cm, eretos na base e arqueando do meio ao ápice. Ela ocorre ao longo de riachos e rios, e está associada à *Guadua sarcocarpa*, e a plantas das famílias Urticaceae e Costaceae. Os seus nomes populares são taboca ou taquara (LONDOÑO; ZURITA, 2008) (Figura 1).



Figura 1. Aspecto dos colmos de *Guadua* aff. *chaparensis* em Sena Madureira – AC/BR.

*Guadua* aff. *lynnclarkiae* é uma espécie de bambu arborescente, lenhosa e espinhosa, com rizoma paquimorfo, colmos medindo de 20-27 metros de altura. Com diâmetro de 9 - 17 cm, ereto na base e arqueado apicalmente (Figura 2). Não tolera áreas de inundação. Ela cresce associada à vegetação de sub-bosque como as Heliconiaceae, Piperaceae, Costaceae, Cyperaceae, Melastomataceae, samambaias, na camada superior com árvores das famílias Arecaceae e Moraceae (LONDOÑO, 2013).



Figura 2. Aspecto dos colmos de *Guadua* aff. *lynnclarkiae* em Porto Acre – AC/BR.

O estudo foi realizado na região da Amazônia Sul-Occidental brasileira, a partir de coletas realizadas entre o período de agosto de 2015 e abril de 2016. As populações nativas de *Guadua* aff. *chaparensis* foram amostradas em floresta fragmentada nos municípios de Bujari e Sena Madureira, ao longo da Floresta Estadual do Antimary, ramais Toco Preto (Sena Madureira/fazendas Valentina e Cerejeira) e ramal do Ouro (Sena Madureira) (Tabela 1; Figura 3). As áreas de entorno, onde as populações estão inseridas são pastagem de gado, capoeira velha, borda de floresta e em florestas que foram sujeitas a exploração madeireira comercial. Já a população de *Guadua* aff. *lynnclarkiae*, localizada no município de Porto Acre, Vila do V, ramal dos Bandeirantes, está situada em uma área de capoeira velha (floresta secundária) e floresta, com pastagem de gado no seu entorno (Tabela 1; Figura 3). O clima é equatorial úmido e a precipitação anual é em torno de 2,200 a 2,500 mm, sendo o período mais úmido correspondendo aos meses de novembro a abril. A temperatura média anual varia de 22°C a 26°C (ACREBIOCLIMA, 2018). As áreas das coletas estão localizadas a aproximadamente 150 metros acima do nível do mar. Os solos nestas áreas são argissolos associado ao latossolos (ACRE, 2010).

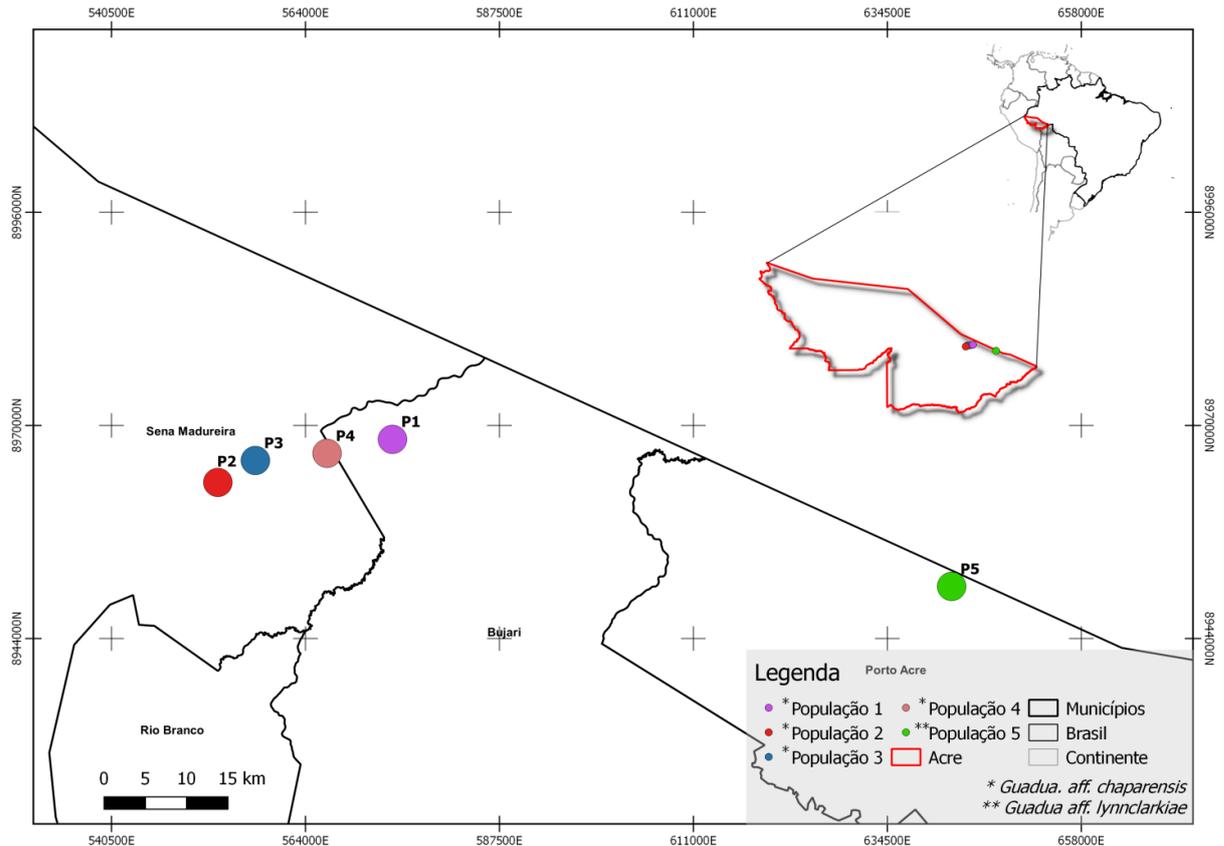


Figura 3. Localização das populações de bambu estudadas no estado do Acre, contemplando os municípios de Bujari, Sena Madureira e Porto Acre.

Por ser uma espécie de crescimento vegetativo, cada touceira foi considerada um indivíduo. Para a espécie *G. aff. chaparensis* foram realizadas duas amostragens: para as populações 1 e 5 (*G. aff. lynnclarkiae*) foram coletados 100 indivíduos (touceiras), nos quais todos os indivíduos encontrados na área percorrida foram amostrados e mapeados com o uso do GPS (modelo MAP 76CSX, Garmin). Para as populações 2, 3 e 4 foram coletados 50 indivíduos distantes entre 200 e 500 metros. De amostras populacionais foram montadas exsicatas, as quais foram depositadas no Laboratório de Biologia e Ecologia Vegetal da Universidade Federal do Acre, Brasil, sob números 7685 para *G. aff. chaparensis* e 7686 para *G. aff. lynnclarkiae*.

Para a medição do diâmetro a altura do peito (DAP), dez colmos foram escolhidos de forma aleatória por touceira (Figura 4), pois em alguns casos, alguns indivíduos possuíam menos de dez colmos. O número estimado de colmos por touceira também foi analisado.

Tabela 1. Caracterização das áreas de coleta do estudo com as espécies *Guadua* aff. *chaparensis* e *Guadua* aff. *lynnclarkiae* na região sudoeste da Amazônia – Acre.

População	Espécie	Município	Posição Geográfica	Área Total (ha)	Área de Coleta (ha)	Nº de indivíduos coletados
P1	<i>Guadua</i> aff. <i>chaparensis</i>	Bujari	19L 574447 UTM 8968267	76000	12,4	100
P2	<i>Guadua</i> aff. <i>chaparensis</i>	Sena Madureira	19L 552777 UTM 8962628	8000	63,2	50
P3	<i>Guadua</i> aff. <i>chaparensis</i>	Sena Madureira	19L 557700 UTM 8965024	8000	69,4	50
P4	<i>Guadua</i> aff. <i>chaparensis</i>	Sena Madureira	19L 567010 UTM 8967696	- *	111,0	50
P5	<i>Guadua</i> aff. <i>lynnclarkiae</i>	Porto Acre	19L 642225 UTM 8950325	100	2,3	100

\*Área não estimada



Figura 4. Medição do diâmetro dos colmos de *Guadua* aff. *lynnclarkiae* (A) e *Guadua*. aff. *chaparensis* (B).

## 5.2.2 Análises de dados

### 5.2.2.1 Distribuição espacial dos indivíduos

A distribuição espacial dos indivíduos foi avaliada pelo o índice de dispersão (R) de Clark e Evans (1954) usando o método do vizinho mais próximo. O índice de dispersão foi calculado pela fórmula:

$$R = \frac{R_o}{R_e}$$

O índice foi calculado para cada população considerando todos os indivíduos. Com base na localização (coordenadas geográficas) das touceiras foi determinada a distância do seu vizinho mais próximo.

O índice de dispersão R é interpretado da seguinte forma: se  $R = 1$  o padrão é aleatório; se  $R = 0$ , o padrão é agrupado; e se  $R \sim 2,15$ , o padrão é uniforme.

$$R_o = \sum \frac{r_i}{N} \quad R_e = \frac{1}{2\sqrt{d}}$$

$R_o$  = distância média observada do vizinho mais próximo

$r_i$  = distância do vizinho mais próximo

$n$  = número de indivíduos da população

$R_e$  = distância esperada do vizinho mais próximo

$d$  = densidade de indivíduos na população

Para determinar estatisticamente se o padrão observado foi diferente de um padrão aleatório foi aplicado o teste Z.

$$Z = \frac{R_o - R_e}{S}$$

$S$  é o erro padrão;  $S = \frac{0,26136}{\sqrt{nd}}$

$n$  = número de indivíduos da população

$d$  = densidade de indivíduos

### 5.2.2.2 Densidade e distribuição dos indivíduos em relação ao DAP e número de colmos

A densidade foi expressa em touceiras por hectare. Para a distribuição dos indivíduos em classes diamétricas (DAP médio por touceira) e número de colmos por indivíduo dentro das

populações de *G. aff. chaparensis* e *G. aff. lynnclarkiae* foram gerados histogramas. Para comparar as diferenças relacionadas ao diâmetro médio e número estimado de colmos por touceira entre as populações foi realizada uma análise de variância (ANOVA) e teste de Tukey utilizando o software R (R CORE TEAM, 2017). Adicionalmente, calculou-se também a média de colmos por população.

#### 5.2.2.3 Similaridade das espécies (NMDS)

As cinco populações foram submetidas a uma análise de ordenação indireta por NMDS (Escalonamento Multidimensional Não Paramétrico). Como as variáveis foram medidas em unidades e escalas diferentes, elas foram estandardizadas antes da aplicação do Índice de Bray-Curtis (BRAY; CURTIS, 1957; LUDWING; REYNOLDS, 1988) e geração da matriz de similaridade. As duas espécies foram correlacionadas, utilizando como variáveis o número de colmos por indivíduo e o diâmetro médio dos colmos. Em seguida foi realizada uma análise de variância multivariada (PERMANOVA) para testar a significância entre as populações, em relação às variáveis mensuradas. As análises foram realizadas no software R, utilizando o Pacote Vegan (OKSANEN et al., 2018).

### 5.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 5.3.1 Distribuição espacial dos indivíduos

O valor calculado para o índice de dispersão não foi significativo (Teste  $Z$   $p > 0,05$ ) para agrupamentos aleatórios para as populações P1, P2 e P5, indicando uma distribuição agregada entre eles. Para a população P3 a análise também não foi significativa, embora os indivíduos estejam distribuídos de forma uniforme. Já a população P4 obteve uma distribuição aleatória ( $p < 0,05$ ) (Tabela 2; Figuras 5 e 6).

Tabela 2. Índice de dispersão e distribuição para as populações estudadas.

População	N	Ro (m)	R	Teste Z	Dispersão
1	100	12,6	0,71	-55*	Agrupado
2	50	96	0,54	-19*	Agrupado
3	50	82	2,74	0,17 <sup>ns</sup>	Uniforme
4	50	53	1,19	7,56 <sup>ns</sup>	Aleatório
5	100	5,38	0,76	-7.3*	Agrupado

N = número de indivíduos;  $R_o$  (m) = distância média do vizinho mais próximo; m= metros; R = índice de dispersão; \* significativo a 5% ; ns = não significativo a 95%

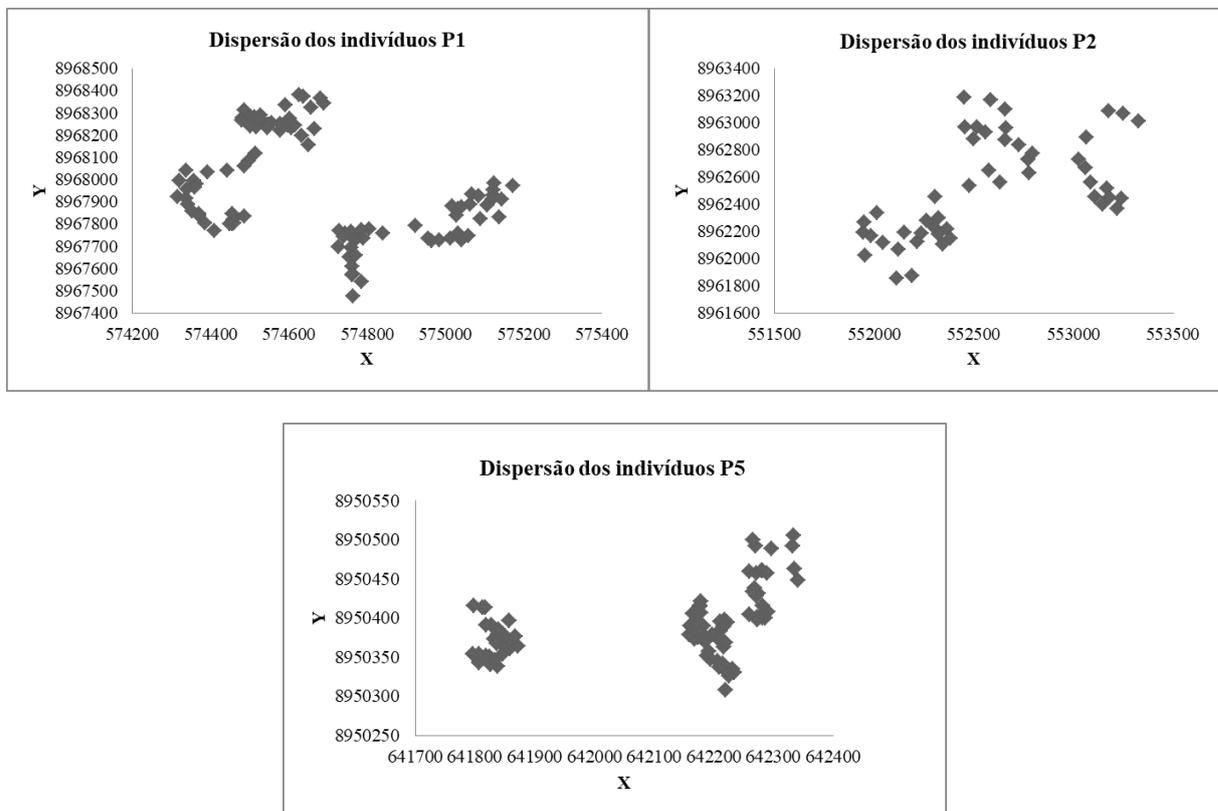


Figura 5. Dispersão do tipo agrupada dos indivíduos das populações P1, P2 e P5, das espécies *G. aff. chaparensis* e *G. aff. lynnclarkiae*, segundo Clark e Evans (1954). Os eixos X e Y correspondem as coordenadas geográficas em UTM.

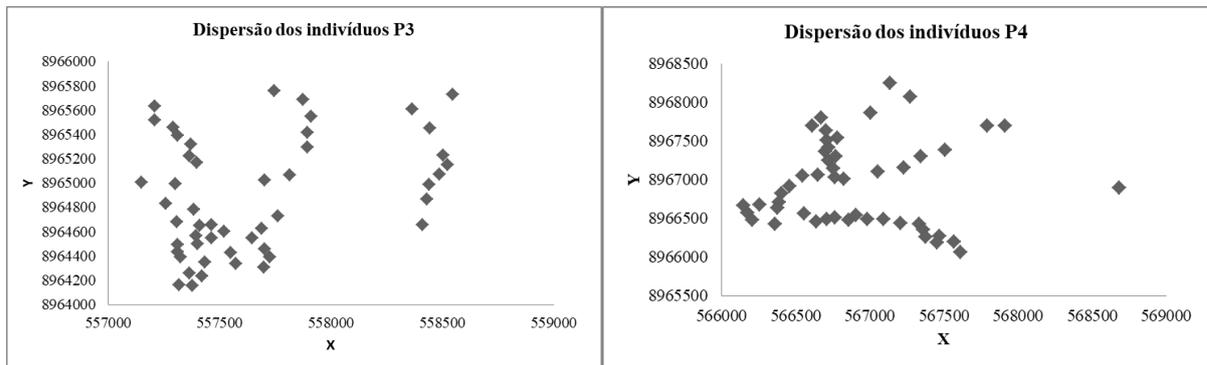


Figura 6. Dispersão do tipo uniforme (P3) e aleatória (P4) dos indivíduos das populações P3 e P4, espécie *G. aff. chaparensis*, segundo Clark e Evans (1954). Os eixos X e Y correspondem as coordenadas geográficas em UTM.

A diferença na distribuição entre as populações possivelmente esteja relacionada com a distância do vizinho mais próximo, que variou entre as espécies neste estudo. Para os indivíduos das populações P1 e P5 o vizinho mais próximo esteve em uma distância bem menor, quando comparada com as demais.

De fato, a diferença na dispersão dos indivíduos está relacionada com o tamanho da área em que as populações estão distribuídas e com a densidade das mesmas, sendo a população de Porto Acre (P5) a que apresentou a maior densidade e o menor tamanho em área. Segundo Durigan et al. (2003), os padrões de distribuição em grandes escalas podem estar relacionados a fatores como fertilidade dos solos e condições climáticas. Para o bambu, o sistema de propagação vegetativa, a dispersão de sementes e a disponibilidade de luz (JANZEN, 1978; JUDZIEWICZ et al., 1999) também são fatores que podem estar relacionados com o tipo de distribuição dos indivíduos na população. Para estas espécies de bambu, as populações formam manchas com grandes aglomerados de indivíduos (JANZEN, 1978; RAMANAYKE, 2006; LOBOVIKOV; SCHOENE; UPING, 2012).

Mesmo obtendo padrões de distribuição agregado para a maioria das populações avaliadas neste estudo, a P3 apresentou distribuição uniforme e para a P4 aleatória. Para as populações P3, uniformemente distribuída, e P4, aleatória, os fatores biológicos como predação, nutrientes disponíveis no solo, dispersão dos frutos e sementes, e luminosidade, podem ser fatores chave para o estabelecimento e crescimento das touceiras. Estes fatores podem afetar diretamente a distribuição dos indivíduos no contexto populacional, tendo em vista que em áreas abertas às sementes germinam mais que em áreas de floresta (STERN et al., 1999).

Outras espécies de bambu demonstraram padrões de distribuição iguais aos encontrados neste estudo. Para a espécie de bambu *Bashania fangiana* em região montanhosa da China, em um estudo sobre matriz de mortalidade, as manchas vivas apresentaram uma distribuição tipo agregada (TAYLOR, et al., 1991). Já para as espécies de bambus *Sasa kurilensis* e *Sasa senanensis*, encontradas em parcelas de uma floresta no Japão, os resultados tenderam a uma distribuição fortemente agregada (NOGUCHI; YOSHIDA, 2005). *Bambusa vulgares* e *Oxytenanthera abyssinica* apresentaram distribuição agregada em áreas úmida e de platôs de Benin (TOVISSODÉ et al., 2015), levando a crer que a distribuição agregada pode ser uma característica das espécies de bambu.

### 5.3.2 Densidade e distribuição dos indivíduos em relação ao DAP e número de colmos

A densidade de touceiras nas populações apresentou variações, principalmente em virtude da área de coleta e da forma que os indivíduos foram coletados. Para a espécie *G. aff. chaparensis* (P1 localizada na Floresta Estadual do Antimary), a densidade foi de 8 touceiras/ha<sup>-1</sup>. Já para as populações P2, P3 e P4 (localizadas no ramal Toco Preto e ramal do Ouro), as densidades encontradas foram de 0,79, 0,7 e 0,79 touceiras.ha<sup>-1</sup>, respectivamente. Na população de *G. aff. lynnclarkiae* a densidade foi de 43,4 touceiras.ha<sup>-1</sup>, a maior densidade populacional encontrada.

A P1 teve densidade intermediária e está totalmente inserida em ambiente florestal. Já as populações P2, P3 e P4 apresentaram as menores densidades, provavelmente por terem sido amostrados indivíduos de forma aleatória, com distâncias maiores entre eles. A alta densidade encontrada para a P5 de *G. aff. lynnclarkiae* pode ser uma característica da espécie, que difere da espécie *G. aff. chaparensis*. O fato da P5 estar em ambiente de capoeira abandonada (as capoeiras podem ser definidas como áreas que se desenvolvem a partir do crescimento de espécies que regeneram naturalmente em agroecossistemas ou após o seu abandono; VIEIRA; PROCTOR, 2007) e borda de floresta, pode ter influenciado a maior densidade.

Outras espécies de bambu, como *Oxytenanthera abyssinica* e *Bambusa vulgaris*, exibiram de 8 a 56 touceiras.ha<sup>-1</sup> na região pertencente a zona Guineo-Congolica no sul de Benin – África, em áreas naturais onde as populações humanas locais são dependes das espécies (TOVISSODÉ et al., 2015).

O número médio de colmos por touceira das espécies variou de 25 (P5) a 99 (P4) (Tabela 3). Relacionando os valores de densidade de touceira e a média de colmos por touceira, as P2, P3 e P4 apresentaram as menores densidades de touceira, mas exibiram as maiores médias de número de colmos. Para *Schizostachyum dullooa*, em populações exploradas na Índia, foram

verificadas de 2 a 42 (média 15) colmos por touceira (NATH et al., 2012), valores menores do que os encontrados para as duas espécies deste estudo. Esses resultados podem estar relacionados com a distribuição das touceiras no espaço e a sua incidência em ambientes mais antropizados, tais como margens de estrada, clareiras deixadas pelo manejo florestal e borda de pastagens.

Tabela 3. Média de colmos por touceira das populações de *Guadua* aff. *chaparensis* e *Guadua* aff. *lynnclarkiae* em populações naturais no estado do Acre.

Espécie		<i>Guadua</i> aff. <i>chaparensis</i>		<i>Guadua</i> aff. <i>lynnclarkiae</i>	
População	N	Média de Colmos	N	Média de Colmos	
1	100	51 ( $\pm$ 34)	-	-	
2	50	77 ( $\pm$ 52)	-	-	
3	50	93 ( $\pm$ 50)	-	-	
4	50	99 ( $\pm$ 60)	-	-	
5	-	-	100	25( $\pm$ 19)	

N: número de touceiras; ( ) valores do desvio padrão

Todas as populações de *G.* aff. *chaparensis* demonstraram maior número de colmos na classe de 7-8 cm de DAP (Figura 5). Para a P5 de *G.* aff. *lynnclarkiae*, verificaram-se mais classes de tamanhos, sendo o maior número de colmo observados na classe de 10–11 cm. Os colmos com diâmetro >15 cm foram os de menor incidência nessa população (Figura 6). As espécies de monocotiledôneas, como os bambus, não apresentam crescimento secundário, um das razões para os colmos terem tamanhos de DAP muito similares dentro das touceiras e manchas onde estão distribuídos, fato claramente observado na espécie de *G.* aff. *chaparensis* (Figura 5). Resultados similares foram relatados por Klein e Hidalgo-Morales (2006) para *G. angustifolia*, onde 88,7% dos colmos encontrados apresentavam entre 8 e 16 cm de DAP, tendo uma média de 10,8 cm. Bai et al. (2016), num estudo desenvolvido em *Phyllostachys edulis* observaram DAP médio de 10,9 cm. Já Castro et al. (2013) encontraram DAP médio de 4,4 cm para *G. weberbaueri*, com valores inferiores se comparado aos descritos para as espécies desse estudo. Normalmente, espécies do gênero *Guadua* crescem em dimensões maiores do que outras espécies de bambu (KLEIN e HIDALGO-MORALES, 2006). As manchas de espécie com DAP maiores, como no caso das espécies estudadas, são bem mais pontuais e restritas dentro e em áreas abertas da floresta, comparadas com espécies com diâmetros menores e mais abundantes, como no caso de *Guadua weberbaueri*.

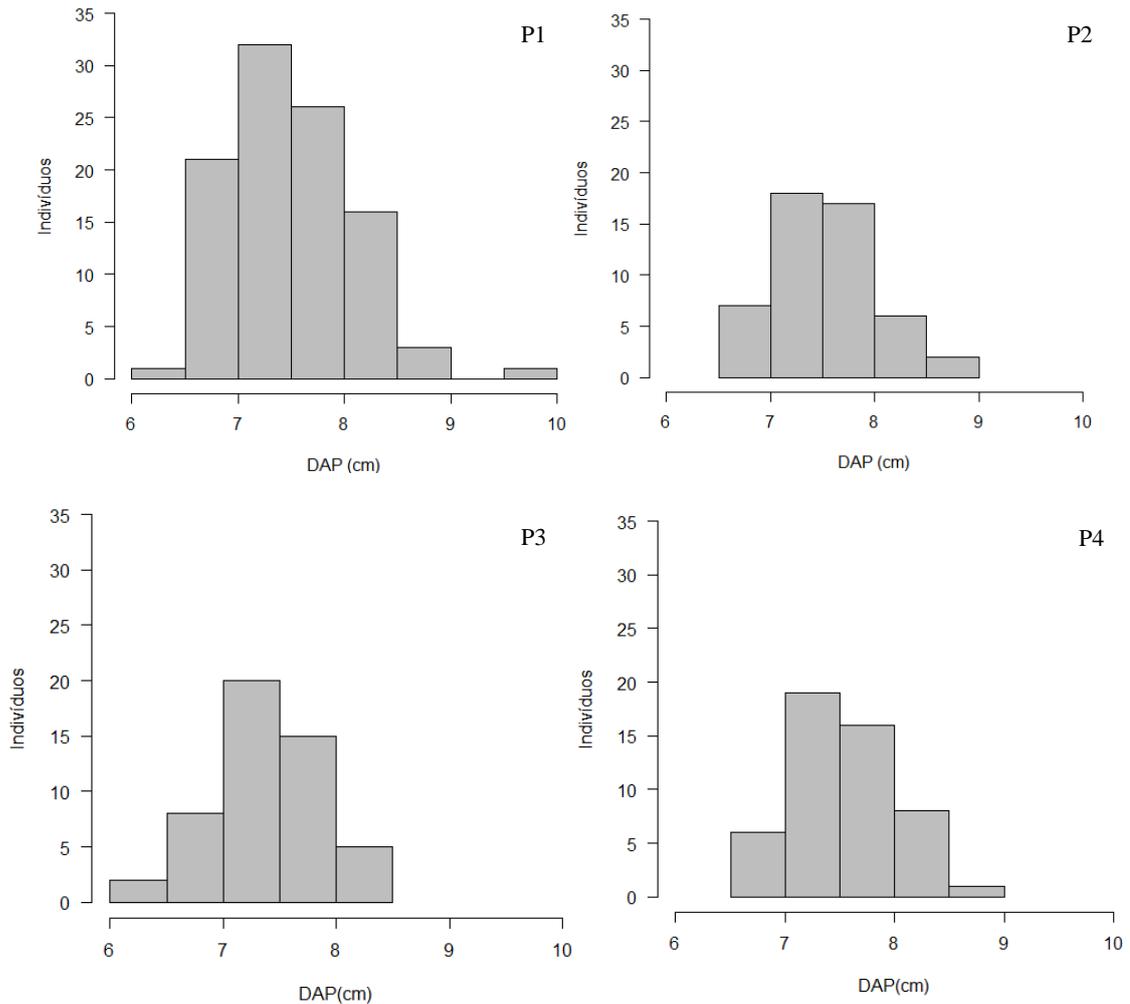


Figura 7. Distribuição do diâmetro de colmos avaliados nos indivíduos das populações de *Guadua* aff. *chaparensis* coletados nos municípios de Bujari e Sena Madureira.

Quando comparadas as populações de *G. aff. chaparensis* em relação ao DAP, não foram observadas diferenças significativas entre elas ( $p=0,1281$ ). Por se tratarem da mesma espécie, as populações de *G. aff. chaparensis* obtiveram médias de diâmetro muito parecidas, além da maioria dos colmos estarem distribuídos entre as classes de 7 e 8 cm (Figura 5). Esse fato pode ser justificado pelo período de estabelecimento das populações, que se deu por volta dos anos de 1994 e 1995 (dados provenientes de imagens de satélite Landsat), devido ao florescimento e morte em períodos muito próximos. Assim, as populações tenderam a possuir características morfológicas semelhantes, pois normalmente o diâmetro dos colmos não muda substancialmente ao longo do tempo (TANG et al., 2017).

Verificou-se que *Guadua. aff. lynnclarkiae* apresenta uma distribuição diamétrica maior, com vários colmos medidos em diferentes classes de tamanho (Figura 6), quando comparados

àqueles de *G. aff. chaparensis*. Já quando analisadas as populações de *G. aff. chaparensis* com *G. aff. lynnclarkiae* diferenças significativas foram notadas em relação ao diâmetro médio das espécies, com base na figura 7 é possível ver que a população de *G. aff. lynnclarkiae* apresentou DAP significativamente maior, comparado ao das populações da espécie *G. aff. chaparensis*.

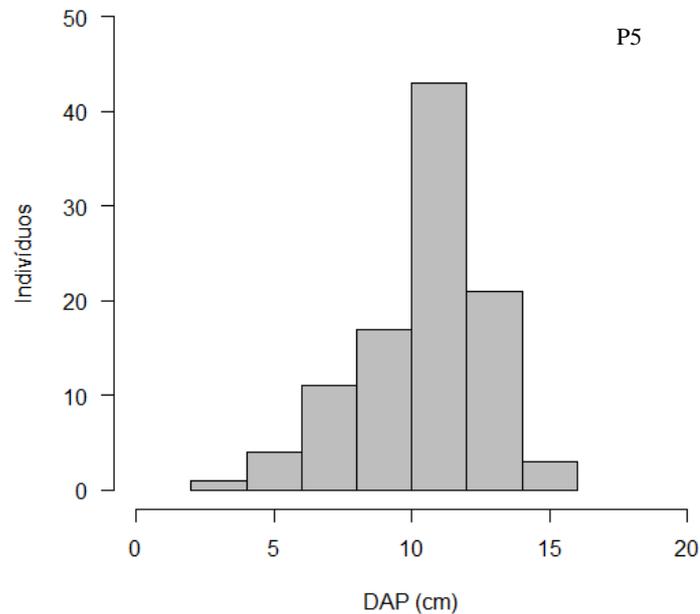


Figura 8. Distribuição do diâmetro de colmos avaliados nos indivíduos de cada população para *Guadua aff. lynnclarkiae* coletados no município de Porto Acre.

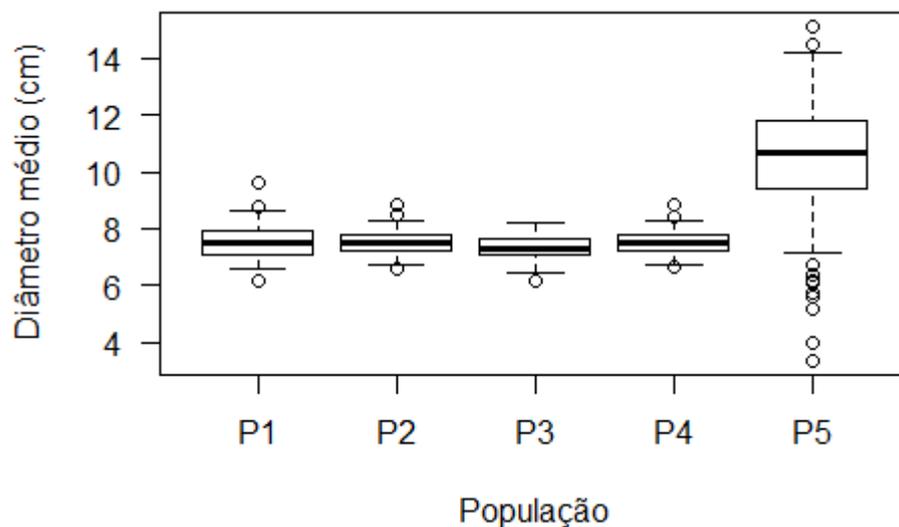


Figura 9. Box-plots para o diâmetro médio entre as populações das espécies de *Guadua aff. chaparensis* (P1, P2, P3 e P4) e *G. aff. lynnclarkiae* (P5).

Comparando as populações em relação ao número de colmos por touceira, verificaram-se diferenças significativas entre elas (Figuras 8 e 9). A P1 de *G. aff. chaparensis* foi diferente das demais e, quando comparadas as populações de *G. aff. chaparensis* com a população de *G. aff. lynnclarkiae*, a diferença entre elas foi significativa ( $p \leq 0,01$ ). Na Figura 10 é possível observar que todas as populações de *G. aff. chaparensis* apresentaram dados variantes, com base na mediana, e que as populações P3-P4 e P3-P2, não demonstraram diferenças significativas.

O processo de povoamento pode ser um dos fatores que deve ser considerado nas diferenças entre as populações. O número de colmos está intimamente ligado aos fatores biológicos e ambientais, como disponibilidade de luz, espaço para o crescimento e competição envolvendo o sistema radicular (KITUR et al., 2017). A distribuição e abundância de uma determinada espécie pode estar relacionada com a variabilidade espacial dos habitats disponíveis e da sua capacidade em colonizar tais habitats (HALL; BAWA, 1993). Neste trabalho, as populações estudadas estão inseridas em floresta manejada, em pastagens, áreas degradadas (capoeira velha e borda de ramais), além de floresta primária. Segundo Lantz e Antos (2002), o crescimento populacional de plantas clonais tende a variar ao longo da sucessão.

É fato que a taxa de povoamento do bambu pode estar diretamente ligada ao aspecto ambiental onde a população está inserida (BAI et al., 2016), além da dispersão de sementes e seu estabelecimento de forma vegetativa (SHEIL et al., 2012). Do ponto de vista das espécies, algumas investem seus recursos energéticos em produção de colmos, povoando grandes extensões de área (FRANKLIN et al., 2010). Já outras estão em menor número de colmos, mas com maior diâmetro, que poderia ser comparado ao crescimento falangial (BRISKE; DERNER, 1998), como é o caso da espécie *G. aff. lynnclarkiae* (Figura 9). A espécie de bambu *Schizostachyum dullooa* demonstrou um comportamento similar ao da espécie *G. aff. chaparensis*, por apresentar touceiras com maior número de colmos, mas de menor diâmetro (NATH et al., 2012).

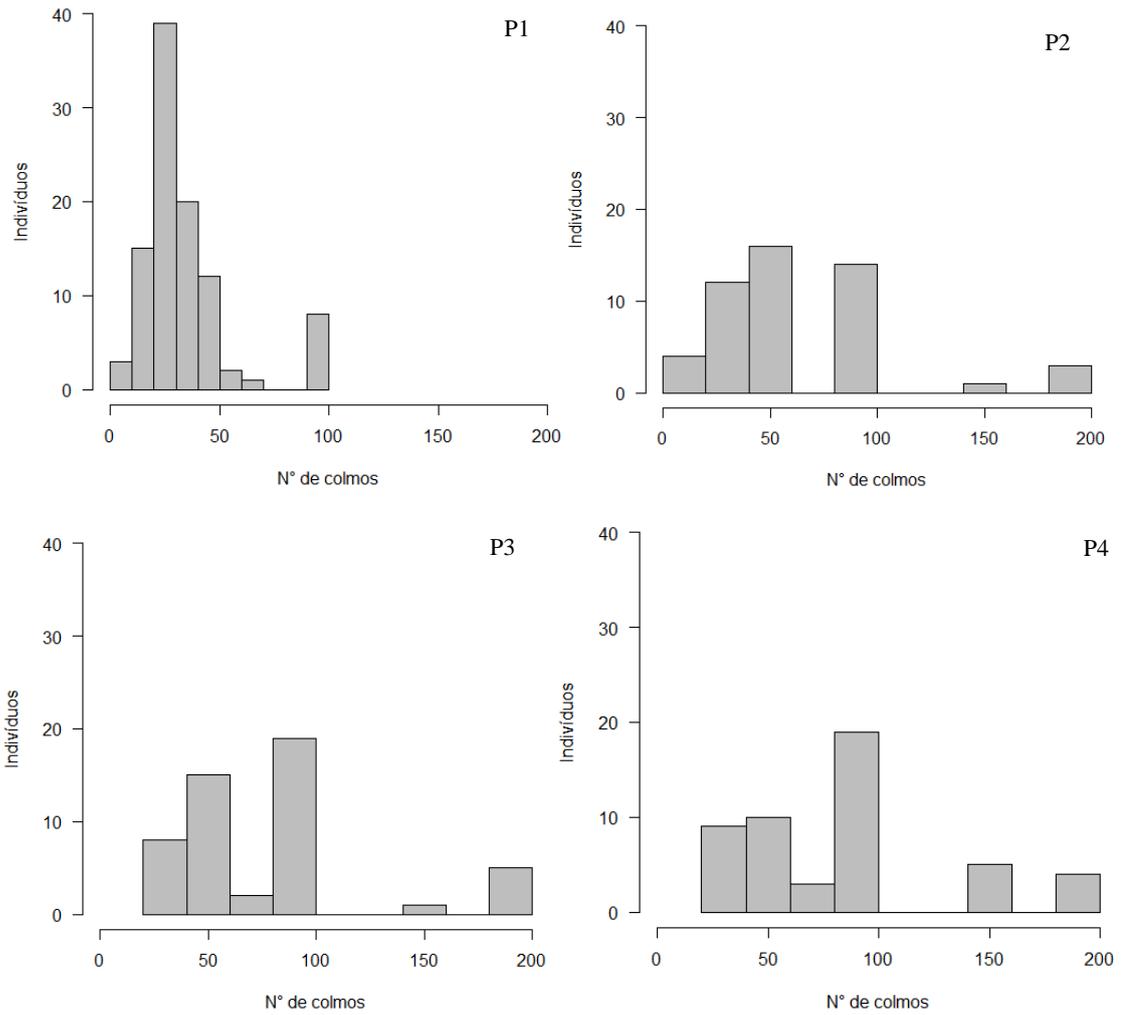


Figura 10. Distribuição do número de colmos por indivíduo nas populações de *Guadua* aff. *chaparensis* coletados nos municípios de Bujari e Sena Madureira.

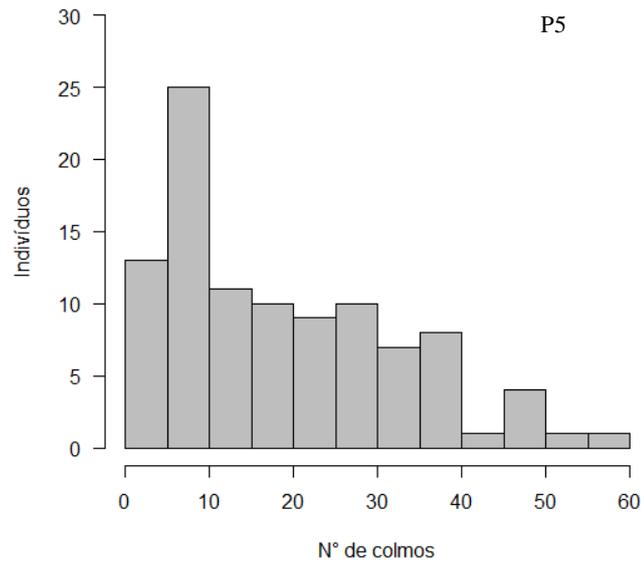


Figura 11. Distribuição do número de colmos por indivíduo nas populações de *Guadua* aff. *lynnclarkiae* coletados no município de Porto Acre.

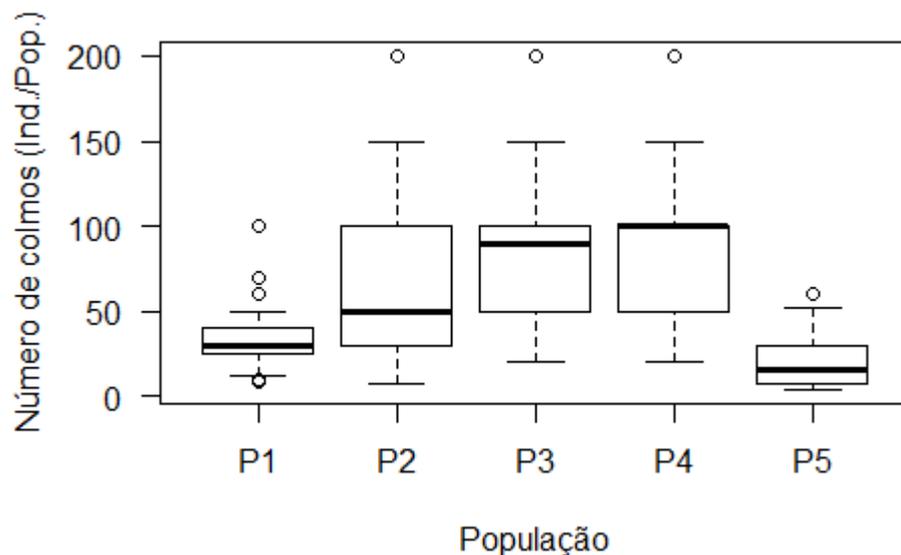


Figura 12. Box-plots para o número de colmos por indivíduo entre as populações das espécies de *Guadua* aff. *chaparensis* (P1 a P4) e *G.* aff. *lynnclarkiae* (P5).

### 5.3.3 Similaridade das espécies

Os resultados referentes à similaridade em relação a estrutura populacional das espécies estudadas, comprovaram que elas diferem em relação ao diâmetro médio e ao número de colmos (PERMANOVA: Pseudo  $F=256,4$ ,  $P < 0,05$ ) (Figura 11). A configuração gerada pelo NMDS resultou no valor de Stress de 0,15853. As populações de *G.* aff. *chaparensis* (P1, P2, P3 e P4)

demonstraram elevada similaridade em relação as variáveis analisadas, havendo sobreposição, entre as populações (Figura 11). Já a população P5 foi diferente entre as demais. Naturalmente, populações da mesma espécie tendem a ser parecidas em relação aos caracteres morfológicos. Para espécie de bambu *Yushania alpina*, verificarm-se diferenças em relação ao diâmetro dos colmos em populações dominadas por bambu e populações mistas (com árvores e lianas) (BITARIHO; MCNEILAGE, 2008), diferentemente do que foi observado entre as populações de *G. aff. chaparensis*. *Guadua. aff. lynnclarkiae* (P5) possui pouca similaridade com *G. aff. chaparensis*, sendo significativa a diferença entre elas.

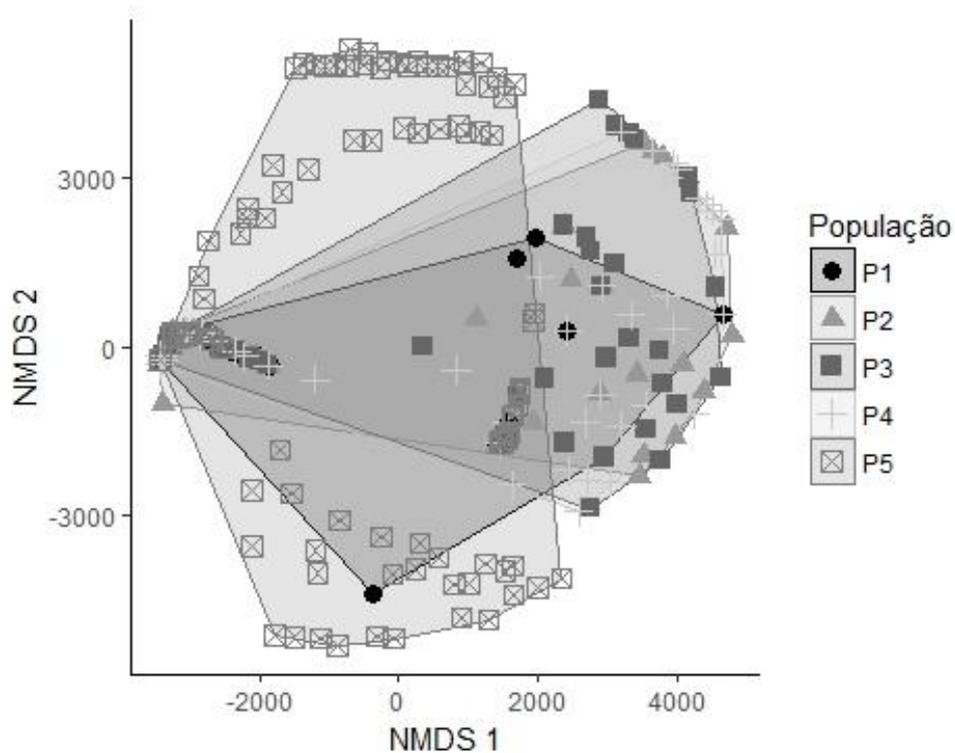


Figura 13. Ordenação gerada pelo NMFDS (Stress = 0,15853) ilustrando a distribuição dos indivíduos nas diferentes populações, com base no diâmetro médio e número de colmos por indivíduo.

Com base nesta análise é possível observar como as populações de espécies diferentes tendem a apresentar estruturas populacionais distintas, e que a distribuição dos indivíduos em relação ao número de colmos e diâmetro médio está intimamente ligada a biologia (comportamento) de cada espécie. Com os resultados obtidos nesse trabalho, verifica-se que para que as reservas naturais de bambu sejam exploradas e conservadas de maneira racional, o conhecimento sobre a estrutura populacional com base no diâmetro e número dos colmos parece

ser de fundamental importância para a manutenção das espécies, uma vez que a exploração excessiva e sem planejamento pode colocar as populações em risco de enfraquecimento e extinção local (BITARIHO; MCNEILAGE, 2008; NATH et al., 2012; SHEIL et al., 2012).

#### 5.4 CONCLUSÕES

As espécies de bambu estudadas neste trabalho demonstraram diferenças em relação à maioria dos parâmetros analisados. Populações de *Guadua* aff. *chaparensis* foram similares entre si no diâmetro e número de colmos. Para *G.* aff. *lynnclarkiae* verificou-se maior diâmetro e menor número de colmos, em relação a espécie *G.* aff. *chaparensis*. Os resultados apontam que as duas formas de coleta realizada para as populações demonstraram que o número de colmos pode não estar ligado ao número dos indivíduos amostrados, como observado para as populações de *G.* aff. *chaparensis*. A maioria das populações apresentou distribuição das touceiras do tipo agregada, além de pouca similaridade entre as espécies. Estudos desta ordem auxiliam no conhecimento das populações de espécies nativas de bambu e podem fornecer subsídios para a conservação e uso racional delas.

#### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ACRE, GOVERNO DO ESTADO DO ACRE. Zoneamento Ecologico-Economico do Estado do Acre, Fase II (Escala 1:250.000): Documento Síntese. 2010. Disponível em:<[http://www.amazonia.cnptia.embrapa.br/publicacoes\\_estados/Acre/Fase%202/Documento\\_Sintese.pdf](http://www.amazonia.cnptia.embrapa.br/publicacoes_estados/Acre/Fase%202/Documento_Sintese.pdf)>. Acesso em: 26 de setembro de 2018.
- ACREBIOCLIMA, GRUPO DE ESTUDOS E SERVIÇOS AMBIENTAIS. 2018. Disponível em:< <http://www.acrebioclima.pro.br/>>. Acesso: 26 de julho de 2018.
- ARANTES, C. de S.; SCHIAVINI, I. Estrutura e dinâmica da população de *Amaioua guianensis* aubl. (rubiacae) em fragmento urbano de floresta estacional semidecidual – uberlândia, minas gerais. **Bioscience Journal**, v. 27, n. 2, p. 312-321, 2011.
- AZMY, H. M. Effects of fertilizing and harvesting intensity on natural stands of *Gigantochloa scortechinii*. **International Network for Bamboo and Rattan**, New Delhi, India, p. 86-95. 1996.
- BAI, S.; WANG, Y.; CONANT, R. T.; ZHOU, G.; XU, Y.; WANG, N.; FANG, F.; CHEN, J. Can native clonal moso bamboo encroach on adjacent natural forest without human intervention? **Nature: scientific reports**, v. 6, n. 31504, p. 1-8, 2016.
- BHATT, B. P.; SINGH, K.; SINGH, A. Nutritional values of some commercial edible bamboo species of the North Eastern Himalayan region, India. **Journal Bamboo Rattan**, v. 4, p. 111–124, 2005.

BRAY, J. R.; CURTIS, J. T. An ordination of the upland forest communities of southern Wisconsin. **Ecological monographs**, v. 27, p. 325-349, 1957.

BRISKE D. D.; DERNER, J. D. **Clonal biology of caespitose grasses**. In: Cheplick GP (ed) Population biology of grasses. Cambridge University Press, Cambridge, p. 106–135, 1998.

BITARIHO, R.; MCNEILAGE, A. Population structure of montane bamboo and causes of its decline in Echuya Central Forest Reserve, South West Uganda. **African Journal of Ecology**, v. 46, p. 325-332, 2008.

CARVALHO, A. L. NELSON, B. W.; BIANCHINI, M. C.; PLAGNOL, D.; KUPLICH, T. M.; DALY, D. C. Bamboo-dominated forests of the Southwest Amazon: detection, spatial extent, life cycle length and lowering waves. **Plos One**, v. 8, p. 1-13, 2013.

CASTRO, W.; SALIMONI, C. I.; MEDEIROS, H.; SILVA, I. B.; SILVEIRA, M. Bamboo abundance, edge effects, and tree mortality in a forest fragment in Southwestern Amazonia. **Scientia Forestalis**, v. 41, n. 98, p. 159-164, 2013.

CLARK, P. F.; EVANS, F. C. Distance to neighbor as a measure of spatial relationships in populations. **Ecology**, n. 35, p. 445-453, 1954.

CONDIT, R.; ASHTON, P. S.; BAKER, P.; BUNYAVEJCHEWIN, S.; GUNATILLEKE, S.; GUNATILLEKE, N.; HUBELL, S. P.; FOSTER, R. B.; ITOH, A.; LAFRANKIE, J. V.; LEE, H. S.; LOSOS, E.; MANOKARAN, N.; SUKUMAR, R.; YAMAKURA, T. Spatial patterns in the distribution of tropical tree species, **Science**, v. 288, n. 5470, p. 1414-1418, 2000.

DIAB, E.E.E. & MOHAMED, S.E. In vitro Morphogenesis and plant regeneration of bamboos (*Oxytenanthera abyssinica* A. Rich. Munro). **International Journal of Sustainable Crop Production**, v. 3, p. 72-79, 2008.

DURIGAN, G.; RATTER, J. A.; BRIDGEWATER, S.; SIQUEIRA, M. F.; FRANCO, G. D. A. F. Padrões fitogeográficos do cerrado paulista sob uma perspectiva regional, **Heohnea**, v. 30, n. 1, p. 39–51, 2003.

FRANKLIN, D. C.; PRIOR, L. D.; HOGARTH, N. J.; MCMAHON, C. R. Bamboo, fire and flood: consequences of disturbance for the vegetative growth of a clumping, clonal plant. **Plant Ecology**, v. 208, p. 319 -332, 2010.

GALLÓN, A. I. M.; TORRES, E. C.; CABRERA, C. G. Actividad antisséptica de vinagre de *Guadua angustifolia* Kunt. **Revista Cubana de Plantas Medicinales**, v. 16, p. 244–252, 2011.

GRECO, T.M.; CROMBERG, M.; RÍOS, H.C. **Bambu: Cultivo e Manejo**. Florianópolis/SC, Ed. Insular, 2011. 184p.

GUILHERME, E.; SANTOS, M. P. D. Birds associated with bamboo forests in eastern Acre, Brazil. **Bulletin of the British Ornithologists**, v. 129, n. 4, p. 229–240, 2009.

HALL, P.; BAWA, K. Methods to Asses the Impact on Extraction of non-timber Tropical Forest products on Plant Population. **Economic Botany**, v. 47, p. 234–247, 1993.

JANZEN, D. H. Why bamboos wait so long to flower. **Annual Review of Ecology and Systematics**, v. 7, p. 347–391, 1976.

JUDZIEWICZ, E.; CLARK, L.G.; LONDOÑO, X.; STERN, A. M. J. **American bamboos**. Smithsonian Institution Press, Washington and London, 1999, 392p.

KLEIN, C.; HIDALGO-MORALES, D. An inventory of *Guadua* (*Guadua angustifolia*) bamboo in the coffee region of Colombia. **European Journal of Forest Research**, v. 125, p. 361-368, 2006.

KITTUR, B. M.; SUDHAMU, K.; KUMAR, B. M.; KUNHAMU, T. K.; SURESHKUMAR, P. Effects of clump spacing on nutrient distribution and root activity of *Dendrocalamus strictus* in the humid region of Kerela, peninsula India. **Journal of Forestry Research**, v. 28, n. 6, p. 1135-1146, 2017.

LANTZ, T. C.; ANTOS, J. A. Clonal expansion in the deciduous understory shrub, devil's club (*Oplonanax horridus*; Araliaceae). **Canadian Journal of Botany**, v. 80, p. 1052–1062, 2002.

LIN, X.; HUANG, L.; FANG W. **Bamboo regeneration via embryogenesis and organogenesis, embryogenesis**, DR. KEN-ICHI SATO (ED.), ISBN: 978-953-51-0466-7, INTECH, DOI: 10.5772/37138. Available from: <http://www.intechopen.com/books/embryogenesis/bamboo-regeneration-via-embryogenesis-and-organogenesis>, 2012.

LOBOVIKOV, M.; SCHOENE, D.; YPING, L. Bamboo in climate change and rural livelihoods. **Mitigation and Adaptation Strategies for Global Change**, v. 17, p. 261–276, 2012.

LONDOÑO, X.; PETERSON, P. *Guadua sarcocarpa* (Poaceae: Bambusoidea), its taxonomic identity, morphology and relationships. **Novon**, v.2, p. 41–47.1992.

LONDOÑO, X.; ZURITA, E. Two species of *Guadua* (Bambusoideae: Guaduinae) from Colombia and Bolivia. **Journal the Botanical Research Institute of Texas**, v. 2, p. 25-34, 2008.

LONDOÑO, X. Dos nuevos especies de *Guadua* para el Perú. **Journal the Botanical Research Institute of Texas**, v. 7, p. 145-153, 2013.

LOPES, M. A. Population structure of *Eschweilera coriacea* (DC.) S. A. Mori in forest fragments in eastern Brazilian Amazonia. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 30, n. 3, p. 509–519, 2007.

LUDWING, J. A.; REYNOLDS, J. F. **Statistical Ecology: a Primer on Methods and Computing**. John Wiley & Sons, New York, 1988.

MAKITA, A. Density regulation during the regeneration of two monocarpic bamboos: self-thinning or intraclonal regulation? **Journal of Vegetation Science**, v. 7, p. 281-288, 1996.

MARTINS, P. S. Estrutura populacional, fluxo gênico e conservação " in situ". **Instituto de Pesquisa e Estudos Florestais**, n. 35, p. 71-78, 1987.

MOKTAN, M. R.; NORBU, L.; DUKPA, K.; RAI, T. B.; DORJI, R.; DHENDUP, K.; GYELTSHEN, N. Bamboo and cane vulnerability and income generation in the rural household

subsistence of Bjoka, Zhemgang, Bhutan. **Mountain Research and Development**, v. 29, p. 230-240, 2009.

MUÑOZ-FLÓREZ, J.E. **Diversidad genética, estructura poblacional y selección de clones superiores de *Guadua angustifolia* Kunt em la eco-región cafetera de Colombia**. 2011. 151f. Tese de doutorado. Unversidad Nacional de Colombia sede Palmira. 2011.

NATH, A. J.; FRANKLIN, D. C.; LAWES, M. J.; DAS, M. C.; DAS, A. K. Impact of Culm Harvest on Seed Production in a Monocarpic Bamboo. **Biotropica**, v. 44, p. 699-704, 2012.

NATH, A. J.; LAL, R.; DAS, A. K. Managing woody bamboos for carbon farming and carbon trading. **Global Ecology and Conservation**, v. 3, p. 654–663, 2015.

NOGUCHI, M.; YOSHIDA, T. Factors influencing the distribution of two co-occurring dwarf bamboo species (*Sasa kurilensis* and *S. senanensis*) in a conifer-broadleaved mixed stand in northern Hokkaido. **Ecological Research**, v. 20, p. 25–30, 2005.

OLIVEIRA, L.F.A. **Conhecendo bambus e suas potencialidades para uso na construção civil**. 2011. 90f. Monografia (Especialização em construção civil). Escola de Engenharia da UFMG, Minas Gerais, 2013.

OKSANEN, J.; BLANCHET, F. G.; FRIENDLY, M.; KINDT, R.; LEGENDRE, P.; MCGLINN, D.; MINCHIN, P. R.; O'HARA, R. B.; SIMPSON, G. L.; SOLYMOS, P.; STEVENS, M. H. H.; SZOEC, E.; WAGNER, H. **Package Vegan**. <https://cran.r-project.org/web/packages/vegan/index.html>. 2018.

PADGURSCHI, M de C. G. **Padrão especial de taquaras (Poaceae: Bambusoideae) em uma floresta neotropical do sudeste do Brasil**. 2014. 116f. Tese de doutorado, Universidade Estadual de Campinas – SP, 2014.

PARASKEVA, T. S.; GRIGOROPOULOS, G.; DIMITRAKOPOULOS, E. G. Design and experimental verification of easily constructible bamboo footbridges for rural areas. **Engineering Structures**. v. 143, p. 540-548, 2017.

PARE, S.; SAVADOGO, P.; TIGABU, M.; ODEN, P. C.; OUADBA, J. M. Regeneration and spatial distribution of seedling populations in sudanian dry forests in relation to conservation status and human pressure. **Tropical Ecology**. 50, p. 339–353, 2009.

PEREIRA, M. A. R.; BERARDO A. L. **Bambu de corpo e alma**. Bauru, SP: Canal 6 Projetos Editoriais, 2007, p.240.

PERRY, J.N.; DIXON, P.M. A new method to measure spatial association for ecological count data. **Ecoscience**. v. 9, p. 133–41, 2002.

R CORE TEAM. **R: A Language and Environment for Statistical Computing**. <https://www.R-project.org/>, 2017.

RAMANAYAKE, S. M. S. D. Flowering in bamboo: an enigma! **Ceylon Journal of Science (Biological Sciences)**. v. 35, p. 95-105, 2006.

RAO, I.V.R.; SASTRY, C.B. **The IDRC Bamboo and Rattan Research Network in Asia**. The

IDRC Bamboo and Rattan Research Network, 1990.

RIAÑO N.; LONDOÑO X.; LÓPEZ Y.; GÓMEZ J.H. Plant growth and biomass distribution on *Guadua angustifolia* Kunth in relation to aging in the Valle del Cauca. **The Journal of the American Bamboo Society**, n. 16, p. 43–51, 2002.

SHEIL, D.; DUCEY, M.; SSALI, F.; NGUBWAGYE, J. M.; HEIST, M. V.; EZUMA, P. Bamboo for people, Mountain gorillas, and golden monkeys: Evaluating harvest and conservation trade-offs and synergies in the Virunga Volcanoes. **Forest Ecology and Management**, n. 267, p. 163-171, 2012.

SILVA, W. C da. **Abundância de bambu (*Guadua* spp.), variáveis edáficas e biomassa arbórea em florestas do Sudoeste da Amazônia**. 2015. 53 f. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal do Acre, 2015.

SILVEIRA, M. **A floresta aberta com bambu no sudoeste da Amazônia: padrões e processos em múltiplas escalas**. 2001. 127f. Tese de Doutorado, Universidade de Brasília, Brasília – DF, 2001.

SILVEIRA, M. **A floresta aberta com bambu no sudoeste da Amazônia: Padrões e processos em múltiplas escalas**. Rio Branco - AC: Edufac, 2005, 157p.

SILVEIRA, A. P.; MARTINS, F. R.; MENEZES, B. S.; ARAUJO, F. S. Is the spatial pattern of a tree population in a seasonally dry tropical climate explained by density-dependent mortality? **Austral Ecology**, n. 43, p. 191-202, 2018.

STERN, M.; GOODELL, K.; KENNARD, D. Local distribution of *Chusquea tomentosa* (Poaceae: Bambusoide) before and after a flowering event. **Biotropica**, v. 31, p. 365-368, 1999.

TANG, X.; XIAI, M.; PÉREZ-CRUZADO, C.; GUAN, F.; FAN, S. Spatial distribution of soil organic carbon stock in Moso bamboo forests in subtropical China. **Nature Scientific Reports**, v. 7, n. 42640, 2017.

TAYLOR, A. H.; REID, D. G.; ZISHENG, Q.; JINCHU, H. Spatial Patterns and Environmental Associates of Bamboo (*Bashania fangiana* Yi) After Mass-Flowering in Southwestern China. **Torrey Botanical Society**, v. 118, p. 247-254, 1991.

TOVISSODÉ, F. C.; HONFO, H.S.; SALAKO, V.K.; GNANGLÈ, C.P.; MENSAHA, S.; KAKAÏ, R. G. Population structure of two bamboo species in relation to topographical units in the Republic of Benin (West Africa): implications for sustainable management. **Acta Botanica Gallica: Botany Letters**, v. 162, n. 1, p. 89-96, 2015.

VARELLA, T. L.; ROSSI, A. A. B.; SOUZA, M. D. A.; SILVEIRA, G. F.; COCHEV, J. S. TOLEDO, J. J.; SILVA, C. J. Estrutura populacional e distribuição espacial de *theobroma speciosum* willd. ex spreng no norte do estado de Mato Grosso. **Ciência Florestal**, v. 28, n. 1, p. 115-126, 2018.

VIEIRA, I. C. G.; J. PROCTOR. Mechanisms of plant regeneration during succession after shifting cultivation in eastern Amazonia. **Plant Ecology**, v. 192, p. 303-315, 2007.

YEASMIN, L.; ALI, MD. N.; GANTAIT, S.; CHAKRABORTY, S. Bamboo: on our view on its genetic diversity and characterization. **Biotech**, v. 5, p. 1-11, 2015.

## 6. CAPÍTULO III

**CONSERVAÇÃO GENÉTICA E TAMANHO EFETIVO POPULACIONAL DE *Guadua* aff. *chaparensis* E *Guadua* aff. *lynnclarkiae* EM POPULAÇÕES NATURAIS DA REGIÃO SUL-OCIDENTAL DA AMAZÔNIA BRASILEIRA**

## RESUMO

*Guadua* Kunth é um gênero endêmico do continente americano com presença expressiva na Amazônia. Conhecer as populações do ponto de vista genético é uma necessidade para conservação e uso das espécies. O uso de marcadores moleculares tem sido uma ótima ferramenta para acessar e conhecer a genética das populações. Este trabalho teve como objetivo avaliar parâmetros para a conservação genética das espécies nativas de *Guadua* aff. *chaparensis* e *Guadua* aff. *lynnclarkiae* e calcular o tamanho efetivo populacional em populações naturais na região Sul – Ocidental da Amazônia brasileira, com o uso de marcadores moleculares microsatélites (SSR). O estudo foi conduzido em quatro populações de *Guadua* aff. *chaparensis* e uma população de *Guadua* aff. *lynnclarkiae*. Verificou-se que as populações apresentaram tamanho efetivo populacional menores que os tamanhos demográficos. As áreas mínimas viáveis para a conservação foram maiores que as áreas onde as populações estão situadas. Todas as populações apresentaram alelos raros e privados, e algumas demonstraram perda de heterozigosidade populacional por geração. As populações não apresentaram gargalo genético (Bottleneck), mas algumas populações de *G.* aff. *chaparensis* obtiveram deficiência de heterozigotos, indicando um processo de expansão populacional. Os resultados deste estudo reforçam a ideia de que a conservação genética por meio de maiores áreas de conservação e maior número de indivíduos dentro das manchas onde as populações estão inseridas são medidas preventivas e necessárias para a manutenção de espécies bambu nativo em ambientes naturais.

**Palavras-chave:** Bambusoideae, *Guadua*, Conservação genética, Tamanho Efetivo Populacional, SSR.

## ABSTRACT

*Guadua* Kunth is an endemic genus of the American continent with an expressive presence in the Amazon. Knowing the populations from a genetic point of view is a necessity for the conservation and use of species. The use of molecular markers has been a great tool to access and know the genetics of populations. This work had as objective to evaluate parameters for the genetic conservation of the native species of *Guadua* aff. *chaparensis* and *Guadua* aff. *lynnclarkiae* and to calculate the effective population size in natural populations in the South - western region of the Brazilian Amazon, with the use of microsatellite markers (SSR). The study was conducted in four populations of *Guadua* aff. *chaparensis* and a population of *Guadua* aff. *lynnclarkiae*. Populations were found to have a population size smaller than the demographic sizes. The minimum viable areas for conservation were larger than the areas where populations are located. All populations had rare and private alleles, and some showed a loss of population heterozygosity per generation. The populations did not present genetic bottleneck (*Bottleneck*), but some populations of *G.* aff. *chaparensis* obtained heterozygous deficiency, indicating a process of population expansion. The results of this study reinforce the idea that genetic conservation through larger conservation areas and more individuals within the spots where the pulps are inserted are preventive and necessary measures for the maintenance of native bamboo species in natural environments.

**Keywords:** Bambusoideae, *Guadua*, Genetic conservation, Population Effective Size, SSR.

## 6.1 INTRODUÇÃO

*Guadua* Kunth é um gênero de bambu endêmico do continente americano (SODERSTROM; LONDOÑO 1987; JUDZIEWICZ et al., 1999; LONDOÑO; CLARK; 2002), composto por bambus arborescentes, com crescimento vegetativo e espinhos nos galhos e colmos (JANZEN, 1976). Na Amazônia ocorrem em aglomerados, cobrindo grandes extensões de áreas de floresta (NELSON; KALLIOLA; SHEPARD, 1997; SILVEIRA, 2005, CARVALHO et al., 2013).

Plantas deste gênero possuem colmos e rizomas que podem ser usados na construção civil e movelaria (KLEINN; MORALES-HIDALGO, 2006; MENA et al., 2012). Países como a Colômbia e o Equador usam de forma mais expressiva seus produtos e co-produtos, quando comparados aos outros países da América do Sul. No Peru e Bolívia, por exemplo, os colmos são usados pelos moradores locais para fazer cercas, paredes, recipientes de água, condução de água e na construção de telhados com zinco (LONDOÑO; ZURITA, 2008; LONDOÑO, 2013). No estado do Acre há relatos de uso dos seus brotos como fonte na alimentação humana por comunidades locais, além da comercialização de colmos de espécies como *Guadua* aff. *lynnclarkiae*.

De fato, as populações de bambu possuem potenciais que extrapolam seu valor econômico. Nestes ecossistemas, muitos serviços ambientais e ecológicos são prestados a natureza, que incluem desde a manutenção do solo, combate a erosão e abrigo de espécies animais, como, também, a restauração da fertilidade do solo e auxílio na regeneração da floresta (TIAN et al., 2007; LOPEZ et al., 2004; GUILHERME, SANTOS, 2009, YEASMIN et al., 2015).

Populações dentro de determinadas extensões tendem a ser geneticamente diferentes (WHITLOCK et al., 2016), sendo assim, os níveis de diversidade podem variar de acordo com o tamanho populacional e a fragmentação das áreas onde as populações estão inseridas. A fragmentação muitas vezes leva a deriva genética, podendo fazer com que as populações sofram com eventos de extinção local ou mesmo permanente (RATNAM et al., 2014).

A conservação genética tem sido uma necessidade em tempos de grande degradação ambiental nas florestas tropicais ao redor do planeta. Com a manutenção da diversidade genética é possível que as espécies se adaptem e sobrevivam sob condições adversas, fornecendo ainda resiliência às tensões como seca, pragas e doenças (HOBAN; KALLOW; TRIVEDI, 2018). Os marcadores moleculares são ferramentas usadas para, entre outras coisas, conhecer a diversidade e a estrutura genética das populações naturais de espécies florestais como os bambus (ABREU et

al., 2014; KITAMURA; KAWAHARA, 2010; MIZUKI et al., 2014; RUGELES-SILVA, 2012), e, através deles, parâmetros de conservação genética podem ser estimados.

O tamanho efetivo da população ( $N_e$ ) é um dos parâmetros mais importantes em genética de populações e biologia da conservação. Que traduz o tamanho de uma população real para o tamanho de uma população idealizada, mostrando a mesma taxa de perda de diversidade genética que a população real em estudo. Existem diferentes tipos de  $N_e$ , mas os mais usados são aqueles com base na perda de diversidade genética através da endogamia e da deriva genética (WRIGHT, 1931; HUSEMANN et al., 2016). Este parâmetro também é de grande importância para delimitar a área mínima viável para conservação *in situ* de populações de uma espécie (SEBBENN; KAGEYAMA; VENCOVSKY, 2003), principalmente espécies ameaçadas pela antropização.

Estimar áreas mínimas viáveis (AMV) para a conservação genética, o tamanho efetivo populacional ( $N_e$ ) e mudanças nos tamanhos das populações ao longo das suas histórias de vida, pode ajudar na manutenção das espécies dentro dos ecossistemas florestais. Estudos desta ordem para espécies nativas de bambu na América do Sul são escassos, e tornam-se necessários com o crescente desmatamento e uso econômico de reservas naturais.

Este trabalho teve como objetivo definir parâmetros para a conservação genética de *Guadua* aff. *chaparensis* e *Guadua* aff. *lynnclarkiae* em populações naturais na região Sul-Ocidental da Amazônia brasileira, com o uso de marcadores moleculares microsatélites.

## 6.2 MATERIAL E MÉTODOS

### 6.2.1 Espécies estudadas, área de estudo e amostragem

As espécies deste trabalho são dois novos registros para a flora Acreana (LONDOÑO, 2017 comunicação pessoal). *Guadua* aff. *chaparensis* Londoño e Zurita, é uma espécie de bambu arborescente, lenhosa, com rizoma paquimorfo, colmos medindo de 18-25 metros de altura, com diâmetro de 7-12 cm, eretos na base e arqueando do meio ao ápice. Ela ocorre ao longo de riachos e rios, e está associada à *Guadua sarcocarpa*, e a plantas das famílias Urticaceae e Costaceae. Os seus nomes populares são taboca ou taquara (LONDOÑO; ZURITA, 2008) (Figura 1).



Figura 1. Aspecto dos colmos de *Guadua* aff. *chaparensis* em Sena Madureira – AC/BR.

*Guadua* aff. *lynnclarkiae* é uma espécie de bambu arborescente, lenhosa e espinhosa, com rizoma paquimorfo, colmos medindo de 20-27 metros de altura. Com diâmetro de 9 - 17 cm, ereto na base e arqueado apicalmente (Figura 2). Não tolera áreas de inundação. Ela cresce associada à vegetação de sub-bosque como as Heliconiaceae, Piperaceae, Costaceae, Cyperaceae, Melastomataceae, samambaias, na camada superior com árvores das famílias Arecaceae e Moraceae (LONDOÑO, 2013).



Figura 2. Aspecto dos colmos de *Guadua* aff. *lynnclarkiae* em Porto Acre – AC/BR.

O estudo foi realizado na região da Amazônia Sul-Occidental brasileira, a partir de coletas realizadas entre o período de agosto de 2015 e abril de 2016. As populações nativas de *Guadua* aff. *chaparensis* foram amostradas em floresta fragmentada nos municípios de Bujari e Sena Madureira, ao longo da Floresta Estadual do Antimary, ramais Toco Preto (Sena Madureira/fazendas Valentina e Cerejeira) e ramal do Ouro (Sena Madureira) (Tabela 1; Figura 3). As áreas de entorno, onde as populações estão inseridas são pastagem de gado, capoeira velha, borda de floresta e em florestas que foram sujeitas a exploração madeireira comercial. Já a população de *Guadua* aff. *lynnclarkiae*, localizada no município de Porto Acre, Vila do V, ramal dos Bandeirantes, está situada em uma área de capoeira velha (floresta secundária) e floresta, com pastagem de gado no seu entorno (Tabela 1; Figura 3). O clima é equatorial úmido e a precipitação anual é em torno de 2,200 a 2,500 mm, sendo o período mais úmido correspondendo aos meses de novembro a abril. A temperatura média anual varia de 22°C a 26°C (ACREBIOCLIMA, 2018). As áreas das coletas estão localizadas a aproximadamente 150 metros acima do nível do mar. Os solos nestas áreas são argissolos associado ao latossolos (ACRE, 2010).

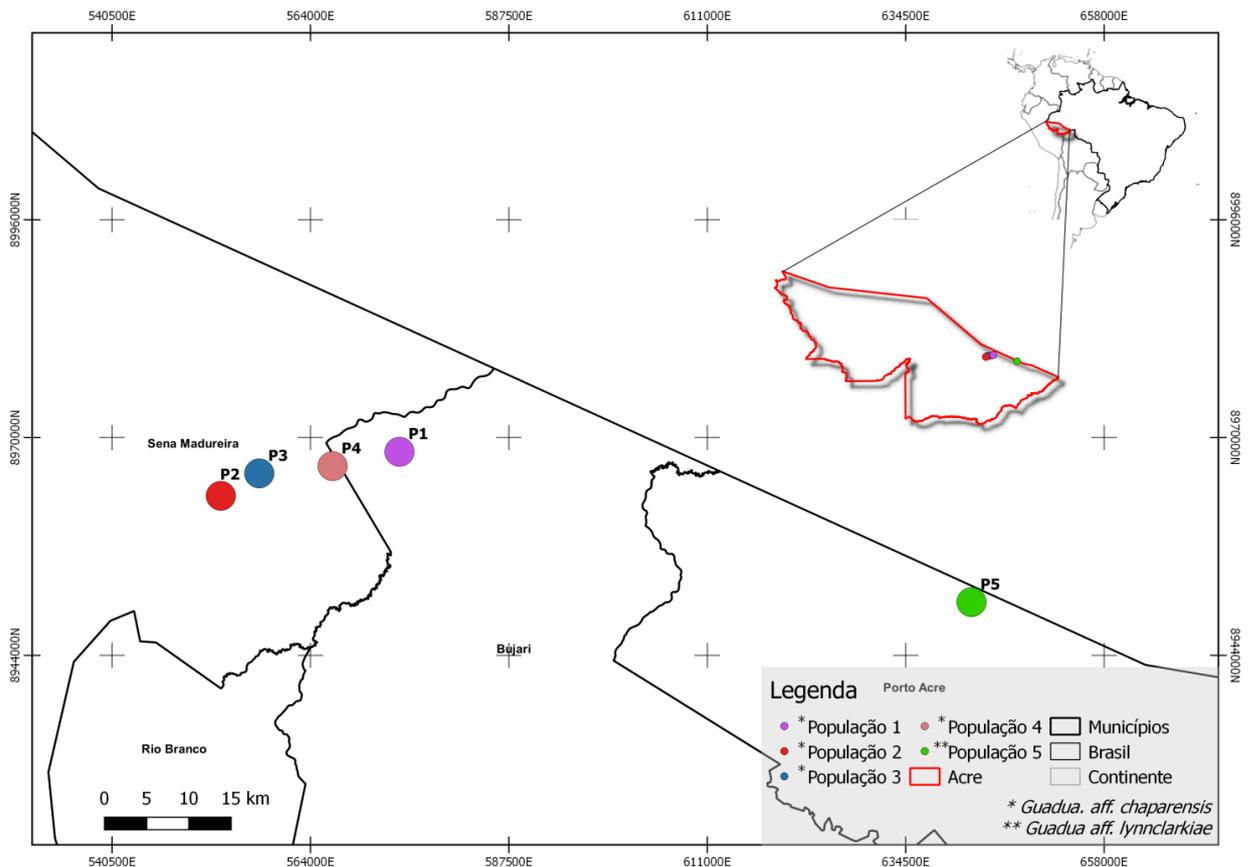


Figura 3. Localização das populações de bambu estudadas no estado do Acre, contemplando os municípios de Bujari, Sena Madureira e Porto Acre.

Por ser uma espécie de crescimento vegetativo, cada touceira foi considerada um indivíduo. Para a espécie *G. aff. chaparensis* foram realizadas duas amostragens: para as populações 1 e 5 (*G. aff. lynnclarkiae*) foram coletados 100 indivíduos (touceiras), nos quais todos os indivíduos encontrados na área percorrida foram amostrados e mapeados com o uso do GPS (modelo MAP 76CSX, Garmin). Para as populações 2, 3 e 4 foram coletados 50 indivíduos distantes entre 200 e 500 metros. De amostras populacionais foram montadas exsiccatas, as quais foram depositadas no Laboratório de Biologia e Ecologia Vegetal da Universidade Federal do Acre, Brasil, sob números 7685 para *G. aff. chaparensis* e 7686 para *G. aff. lynnclarkiae*.

Tabela 1. Caracterização das áreas de coleta do estudo com as espécies *Guadua aff. chaparensis* e *Guadua aff. lynnclarkiae* na região sudoeste da Amazônia – Acre.

População	Espécie	Município	Posição Geográfica	Área Total (ha)	Área de Coleta (ha)	Nº de indivíduos coletados
P1	<i>Guadua chaparensis</i>	Bujari	19L 574447 UTM 8968267	76000	12,4	100
P2	<i>Guadua chaparensis</i>	Sena Madureira	19L 552777 UTM 8962628	8000	63,2	50
P3	<i>Guadua chaparensis</i>	Sena Madureira	19L 557700 UTM 8965024	8000	69,4	50
P4	<i>Guadua chaparensis</i>	Sena Madureira	19L 567010 UTM 8967696	- *	111,0	50
P5	<i>Guadua lynnclarkiae</i>	Porto Acre	19L 642225 UTM 8950325	100	2,3	100

\*Área não estimada.

Para as análises genéticas foi coletado tecido foliar dos indivíduos (Figura 4), que foram identificados e armazenados em sacos de papel com sílica gel, e em microtubos de 1,5 mL, contendo tampão de transporte (com 30% de CTAB 2% e 70% de etanol 70%). As amostras em tampão de transporte foram armazenadas a -20°C para posterior extração de DNA.



Figura 4. Coleta do limbo foliar de *Guadua* aff. *lynnclarkiae* para as análises genéticas.

### 6.2.2 Análises de dados

A extração do DNA genômico dos indivíduos foi realizada de acordo com procedimento do CTAB 2% (DOYLE; DOYLE, 1987), adaptado para a espécie *Guadua angustifolia* Kunt (Comunicação pessoal com Paula Andrea Rugeles – Colômbia, por meio de correio eletrônico). As análises genéticas foram conduzidas utilizando a transferência de 10 locos microsatélites desenvolvidos para as seguintes espécies: *Guadua angustifolia* Kunt (FJ476075, FJ444935, FJ444931, FJ444932, FJ444929, FJ444930, FJ444936) (PÉREZ-GALINDO et al., 2009); *Saccharum* spp. (ESTC66, ESTC45) (OLIVEIRA et al., 2009) e *Oriza Sativa* L. (RM309) (TEMNYKH et al., 2000).

Os valores de coancestria foram gerados através do coeficiente de coancestria ( $\hat{\theta}_{xy}$ ) (LOISELLE et al., 1995), utilizando o programa SPAGeDi 1.3.a desenvolvido por Hardy e Vekemans (2002).

O tamanho efetivo populacional ( $N_e$ ) foi obtido com base na existência de coancestria ( $\hat{\theta}_{xy}$ ) entre indivíduos dentro das populações, segundo Sebbenn e Soane (2005):

$$N_e = \frac{0,5 n^2}{(1+\hat{f})(0,5n + \sum_{x=1}^n \sum_{y \neq 1}^n \hat{\theta}_{xy})}$$

Em que,  $\sum_{x=1}^n \sum_{y \neq 1}^n \hat{\theta}_{xy}$  corresponde à soma de todas as estimativas de coancestrias entre os pares de indivíduos de uma população,  $n$  o tamanho amostral e  $\hat{f}$  a estimativa do índice de fixação da população.

O tamanho efetivo populacional  $N_e$ , o tamanho efetivo de referência ( $N_{e(ref)}$ ), a densidade populacional ( $d$ ) (densidade por hectare) e o número amostral ( $n$ ) foram considerados para cálculo da Área Mínima Viável ( $AMV$ ) para conservação genética *in situ* das cinco populações naturais. Utilizou-se a expressão apresentada por Sebbenn; Kageyama; Vencovsky (2003).

$$AMV = \frac{n N_{e(ref)}}{d N_e}$$

Considerou-se o valor de 1.000 para tamanho efetivo de referência ( $N_{e(ref)}$ ), apresentado na equação. De acordo com Lynch (1996), a variância genética média (decorrente da deriva genética) torna-se independente do tamanho populacional quando o tamanho efetivo excede 1.000 indivíduos, sendo esse limite o mais adequado para a conservação em longo prazo.

A diversidade genética das espécies foi analisada pela heterozigosidade observada ( $\hat{H}_o$ ), heterozigosidade esperada pelo equilíbrio de Hardy-Weinberg ( $\hat{H}_e$ ) e número médio de alelos por loco ( $\hat{A}$ ). A partir das estimativas das frequências observadas e esperadas de heterozigotos, calculou-se o índice de fixação de Wright ( $\hat{f}$ ), ou índice de endogamia para cada população.. Essas estimativas foram obtidas a partir dos programas GDA (LEWIS; ZAYKIN, 2002).

O declínio da heterozigosidade populacional foi calculado para as populações, a partir do tamanho efetivo populacional ( $N_e$ ), com base na fórmula desenvolvida por Wrigth, 1931:

$$\Delta F = \frac{1}{2N_e}$$

Foi quantificada a presença de alelos raros, sendo estes os que ocorrem com frequência menor que 0,05 nas populações, e a de alelos privados, que são alelos ocorrentes em apenas umas das populações. A possível perda de variação genética decorrentes de gargalos genéticos, isto é, reduções recentes no tamanho efetivo da população, foi testada no nível da população para explorar a história demográfica das mesmas. Para tal, buscou-se evidências de heterozigosidade excessiva em relação ao número de alelos, usando o software Bottleneck 1.2.02 (CORNUET; LUIKART, 1996). Para essa análise, foram usados os modelos de mutação mais apropriados para marcadores microssatélites (SSR), o modelo de mutação passo a passo (SMM) e um modelo de duas fases (TPM), com 70% do componente passo a passo (*stepwise*). Foi aplicado o teste não paramétrico de Wilcoxon para identificar a significância estatística nos testes de heterozigosidade e na deficiência de heterozigose.

## 6.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 6.3.1 Tamanho Efetivo Populacional e Área Mínima Viável

As populações de *Guadua* aff. *chaparensis* e *Guadua* aff. *lynnclarkiea* apresentaram o tamanho efetivo populacional ( $N_e$ ) inferiores aos tamanhos demográficos, mesmo com formas diferentes de amostragem e coleta (Tabela 2). As maiores populações (P1 e P5) foram as que apresentaram maiores diferenças entre os valores de  $N$  e  $N_e$ , o que pode estar relacionado à maior similaridade genética entre os indivíduos e à presença de indivíduos clonais. O tamanho efetivo populacional de 50 indivíduos tem sido sugerido para manter o coeficiente de endogamia a uma taxa de 1% por geração por até 10 gerações (FRANKEL; SOULÉ, 1981). Neste tamanho, as populações podem manter-se conservadas e evitar danos por depressão endogâmica no curto prazo, mas não é o suficiente para manter por longo prazo grande proporção da variação genética (SEBBENN; KAGEYAMA; VENCOVSKY, 2003).

Todas as populações analisadas, independente da espécie, apresentaram  $N_e$  inferior ao número demográfico. Populações com nível baixo de  $N_e$  são menos capazes de responder a seleção, isso porque são mais susceptíveis a deriva genética, existindo uma maior probabilidade dos alelos serem perdidos com o tempo (UGELVIG et al., 2012). Ambientes estressantes para as populações proporcionam um tamanho efetivo populacional menor, bem como tamanhos populacionais censitários mais baixos (ESPELAND; RICE, 2010). A biologia da dispersão de sementes e pólen, e a divergência genética entre as populações também pode interferir no tamanho efetivo populacional, pois o fluxo gênico restrito pode limitar a diversidade e causar endogamia. A endogamia nas populações é responsável pelo  $N_e$  menor. Para as populações de bambu em estudo, os valores de endogamia não foram significativos (Tabela 3); mas apesar disso, o  $N_e$  foi menor que os valores demográficos. Nestes casos, o melhor seria coletar mais que 50 indivíduos, caso haja na população, para assim, tentar aumentar o número efetivo populacional ( $N_e$ ).

A Área Mínima Viável (AMV) foi calculada para as cinco populações das duas espécies estudadas, com base no  $N_e$ . As populações de *G. aff. chaparensis* apresentaram AMV bem superior as áreas de cada população para a conservação de  $N_{e\text{ (ref)}}$  de 1000 indivíduos (Tabela 2). Mas, levando em consideração a área total onde as populações estão inseridas (Tabela 1), caso não haja mudanças bruscas na paisagem, estes valores podem ser suportados e mantidos num cenário global. Apesar do cenário das ações antrópicas (desmatamento, fogo, construção de ramais e destruição dos bambuzais) ser uma realidade para algumas populações, a sua

manutenção genética populacional pode ser possível. A espécie *G. aff. lynnclarkiae* também apresentou uma área 10 vezes superior a área da população (Tabela 2). Mas dentro da área total de ocorrência, o valor da AMV calculado para 1000 indivíduos pode ser suportado, apesar desta população ser a mais vulnerável em relação as ações antrópicas, pois está situada um polo de assentamento rural, onde a destruição e coleta de bambu sem manejo tem sido feita em populações próximas. Estas espécies foram recentemente descritas para a flora no estado do Acre e possuem machas e distribuição populacionais bem restritas. A conservação de áreas mínimas viáveis para essas espécies é uma medida importante para que as populações possam ser manejadas e conservadas em longo prazo e a diversidade genética mantida por gerações.

Tabela 2. Parâmetros de conservação genética das populações de *Guadua aff. chaparensis* e *Guadua aff. lynnclarkiae* avaliadas na Amazônia Sul-Ocidental.

População	N	d	$N_e$	AP	AMV <sub>1000</sub> (ha)
1	90	8	78	12,4	144
2	47	0,79	44	63,18	1352
3	38	0,7	35	69,45	1551
4	46	0,79	39	111	1493
5	90	43,4	77	2,3	26,9

$N$  = Tamanho amostral;  $N_e$  = Tamanho Efetivo Populacional de acordo com Sebbenn e Seoane (2005);  $d$  = densidade populacional (touceiras por hectare); AP = Área de cada população em ha; AMV1000 (ha) = área necessária para reter  $\hat{N}_e$  (ref) = 1000 indivíduos, de acordo com Lynch (1996).

### 6.3.2 Diversidade genética, Declínio de Heterozigosidade Populacional e Gargalo

#### Genético

O número médio de alelos por espécie variou, sendo que a P1 foi a que obteve maior número de alelos por loco e a P5 menor (Tabela 4). A diversidade gênica expressa pela heterozigosidade esperada ( $\hat{H}_e$ ) populacional variou de 0,42 (P1) a 0,54 (P3) (Tabela 3), o que pode ser considerado um bom valor de diversidade, por se tratar de uma espécie com biologia reprodutiva peculiar (JANZEN, 1976; RAMANAYAKE, 2006). O índice de fixação  $\hat{f}$  não foi significativo para todas as populações estudadas. Os valores de heterozigosidade observada ( $\hat{H}_o$ ) foram baixos, indicando um maior número de indivíduos homozigotos nas populações (Tabela 3). O excesso de homozigotos pode ser resultado de processos demográficos, que podem estar relacionados a eventos de floração dessincronizados e a polinização não aleatória (HARDY; VEKEMANS, 2002) dentro das populações. Foi observado para a espécie de bambu *Dendrocalamus sinicus* que as sementes e o pólen não conseguem viajar longas

distâncias (YANG et al., 2018), o que pode favorecer o aumento da homozigose em populações naturais. Este pode ser o caso das populações analisadas neste trabalho.

Estudos conduzidos na Colômbia com *G. angustifolia* utilizando marcadores moleculares RAM (*Random Amplified Microsatellites*), encontraram valores para  $\hat{H}_e$  que variaram de 0,19 a 0,37 (RUGELIS-SILVA et al., 2012). Para a espécie de bambu *Aulonemia aristulata*, o  $\hat{H}_e$  variou de 0,245 a 0,321 utilizando cinco locos SSR (ABREU et al., 2014). Em populações de *Dendrocalamus sinicus* usando marcadores SSR o  $\hat{H}_e$  variou de 0,351 a 0,629 (YANG et al., 2018). Comparando esses trabalhos aos resultados encontrados para as espécies desse estudo é possível verificar que a diversidade genética de bambu tende a ter valores que vão de baixos a moderados, e que os valores vistos em outras espécies, como *Dendrocalamus sinicus*, são parecidos aos vistos nas espécies deste estudo.

Tabela 3. Diversidade genética e índice de fixação das populações das *Guadua* aff. *chaparensis* e *Guadua* aff. *lynnclarkiae* avaliadas na Amazônia Sul – Ocidental.

Espécie	População	N	$\hat{H}_e$	$\hat{H}_o$	$\hat{f}$
<i>Guadua</i> aff. <i>chaparensis</i>	1	90	0,42(0,28)	0,36(0,29)	0,141(0,353; -0,207)
<i>Guadua</i> aff. <i>chaparensis</i>	2	47	0,50(0,18)	0,49(0,34)	0,050(0,353; -0,207)
<i>Guadua</i> aff. <i>chaparensis</i>	3	38	0,54(0,28)	0,51(0,38)	0,074(0,353; -0,207)
<i>Guadua</i> aff. <i>chaparensis</i>	4	46	0,53(0,28)	0,50(0,21)	0,167(0,353; -0,207)
<i>Guadua</i> aff. <i>lynnclarkiae</i>	5	90	0,46(0,27)	0,38(0,28)	0,162(0,353; -0,207)

N= Número de indivíduos amostrados;  $\hat{H}_o$  = Heterozigosidade Observada;  $\hat{H}_e$  = Heterozigosidade Esperada;  $\hat{f}$  = Índice de Fixação () intervalo de confiança

Ao analisar o declínio de heterozigosidade populacional por geração ( $\Delta F$ ), verificou-se que as populações P2, P3 e P4 apresentaram 1,13%, 1,42% e 1,31%, enquanto as populações P1 e P5 apresentaram um valor de 0,64%. As menores populações foram as que apresentaram maior perda da heterozigosidade populacional por geração. Valores superiores a 1% indicam diminuição da diversidade genética e sugerem que a população está tendo uma perda de heterozigosidade. O declínio de heterozigosidade por geração é maior em populações menores e com maior número de alelos raros e privados (FRANKHAM; BALLOU; BRISCOE, 2008), e está relacionado à deriva genética. Entre as populações, P1 (*G. aff. chaparensis*) foi a que apresentou maior número de alelos totais e raros (Tabela 4). P2, P3 e P4 também apresentaram muitos alelos raros. A população de *G. aff. lynnclarkiae* (P5), apresentou um número menor de alelos totais e raros comparada a espécies *G. aff. chaparensis* (Tabela 4). Em se tratando de

alelos privados, todas as populações apresentaram muitos alelos privados, principalmente a P1(Tabela 4).

Comparando as espécies em estudo, é possível notar que as populações de *G. aff. chaparensis* possuem um número maior de alelos (total, privado e raro) comparadas com *G. aff. lynnclarkiae*. Estas diferenças alélicas entre as espécies podem ser influenciadas a partir da fundação ou estabelecimento destas populações em seus habitats.

Tabela 4. Dados alélicos e índice de fixação das populações das *Guadua aff. chaparensis* e *Guadua aff. lynnclarkiae* avaliadas na Amazônia Sul – Ocidental.

Espécie	População	N	AT	A	AP	Nº Alelos raros (freq <0,05)
<i>Guadua aff. chaparensis</i>	1	90	69	7,3 (4,9)	27	45
<i>Guadua aff. chaparensis</i>	2	47	49	5,0 (2,8)	24	24
<i>Guadua aff. chaparensis</i>	3	38	56	6,2(3,9)	20	25
<i>Guadua aff. chaparensis</i>	4	46	52	5,4(3,8)	21	21
<i>Guadua aff. lynnclarkiae</i>	5	90	40	4,0(1,8)	21	9

N= Número de indivíduos amostrados; AT; Número total de alelos dentro da população; A= Número médio de alelos; AP= Número de alelos privados

O alto número de alelos privados encontrados nas populações estudadas pode estar relacionando a eventos reprodutivos isolados, dentro das espécies. Por possuírem florescimento gregário e dessincronizado, em alguns casos, o fluxo gênico fica restrito e as populações não se conectam via pólen ou semente. Os alelos privados além de caracterizarem as populações, podem ser usados para calcular o número de indivíduos migrantes e podem indicar o nível de fluxo gênico entre as populações (SLATKIN, 1985; YAMAMICHI; INNAN, 2012). As populações de *G. aff. chaparensis* obtiveram um fluxo gênico estimado ( $\hat{N}m$ ) de 0,522 indicando a migração de um indivíduo a cada duas gerações. Valores menores que 1, revelam um baixo fluxo gênico e podem indicar diferenciação nas populações e isolamento genético (SLATKIN, 1985). O baixo fluxo gênico estimado pode ser confirmado pela alta presença de alelos raros e privados que foram vistos para esta espécie nas populações analisadas (Tabela 4).

Os alelos raros nas populações podem indicar que estas são recentes, contrastando com alelos mais comuns, que são considerados mais antigos dentro do *pool* gênico. Com base nas observações feitas por Yamanichi e Innan (2012), é possível notar que as populações analisadas podem ser consideradas jovens, do ponto de vista genético, pois apresentam muitos alelos privados e raros.

A presença de alelos raros e privados em populações são informações valiosas para a conservação genética (BAISVAR et al., 2018). Podem ser bons indicadores para manutenção das

populações em seus ambientes naturais. Além do mais, eles são importantes na escolha de estratégias de manejo e conservação, a partir deles pode-se inferir o nível de conectividade entre as populações e a manutenção dos alelos raros (LI et al., 2002; YOKOGAWA et al., 2013). Populações de uma mesma espécie podem ser substancialmente diferentes em termos genéticos, a ponto de ser necessário e justificável o seu manejo e a conservação de forma independente (FRANKHAM; BALLOU; BRISCOE, 2008). As populações de *G. aff. chaparensis* e *G. aff. lynnclarkiae* demonstraram ser diferentes do ponto de vista alélico e devem ser mantidas como tal. Perdas alélicas podem tornar estas populações vulneráveis em curto e longo prazo. O aumento de alelos raros também pode ser um indicativo de perda da diversidade por deriva genética (VIEGAS et al., 2011), que pode levar a perda de informações úteis ao desempenho dos indivíduos na população. Além do florescimento incerto, e um único evento reprodutivo no ciclo de vida das espécies, essas populações já sofrem pressão antrópica com a fragmentação e, nestes casos, os alelos raros são os mais vulneráveis as mudanças ambientais.

As populações não apresentaram gargalo genético (*Bottleneck*) por excesso de heterozigose. Conforme resultados presentes na Tabela 5, verificou-se que a população P1 apresentou em TPM nove locos com deficiência e um loco com excesso de heterozigose; para SMM oito locos apresentaram deficiência e dois excesso de heterozigose. A P2 apresentou em TPM cinco locos com deficiência e quatro com excesso de heterozigose, e para SMM seis locos com deficiência e três com excesso de heterozigose. Já a P3 apresentou em TPM oito locos com deficiência e dois com excesso de heterozigose, enquanto que para SMM nove locos com deficiência e um com excesso. Usando o teste de Wilcoxon, todos os modelos foram significativos ( $p < 0,05$ ), como excessão da P2 sob o modelo TPM, que não foi significativo (Tabela 5). Os resultados significativos indicam um processo de expansão populacional, o que corrobora com os baixos valores de heterozigosidade observada encontrados nas populações (Tabela 3).

Tabela 5. Deficiência de heterozigotos com base no programa Bottleneck para as espécies *Guadua aff. chaparensis* e *Guadua aff. lynnclarkiae* avaliadas na Amazônia Sul – Ocidental.

Espécie	População	SMM	TPM
<i>Guadua aff. chaparensis</i>	1	0,009*	0,004*
<i>Guadua aff. chaparensis</i>	2	0,02*	0,41
<i>Guadua aff. chaparensis</i>	3	0,05*	0,003*
<i>Guadua aff. chaparensis</i>	4	0,714	0,359
<i>Guadua aff. lynnclarkiae</i>	5	0,784	0,422

\*teste significativo para deficiência de heterozigotos com base no teste de Wilcoxon. SMM: Stepwise mutation model; TPM: Two-phase model

## 6.4 CONCLUSÕES

Os resultados desse estudo reforçam a ideia de que a conservação genética é uma medida preventiva e necessária para a manutenção das espécies florestais, como *G. aff. chaparensis* e *G. aff. lynnclarkiae* em seus ambientes naturais. O possível manejo futuro e a conservação destas espécies na região devem levar em conta não só as maiores áreas necessárias para manutenção da diversidade genética, como a possível perda desta para algumas populações ao longo das gerações, além da existência de muitos alelos privados e raros, que podem ser facilmente perdidos, caso não haja a manutenção da diversidade nas áreas de estudo. Manejar populações em que ainda não existam conhecimentos sobre a biologia, ecologia, taxonomia e genética são desafios encontrados para a maioria das espécies nativas de *Guadua* na Amazônia brasileira. É necessário entender e respeitar as particularidades da cada população e tentar mantê-las ao longo das gerações para que os seus *pools* gênicos sejam conservados e as populações continuem existindo em seus habitats naturais.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABREU, A. G.; GROMNONE-GUARATINI, M. T.; VAL, T. M.; ZUCCHI, M. I. Genetic diversity and age class structure of seedlings and saplings after a mast flowering of bamboo in the Brazilian Atlantic forest. **International Journal of Plant Sciences**, v. 175, p. 319-327, 2014.

ACRE, GOVERNO DO ESTADO DO ACRE. Zoneamento Ecológico-Econômico do Estado do Acre, Fase II (Escala 1:250.000): Documento Síntese. 2010. Disponível em: <[http://www.amazonia.cnptia.embrapa.br/publicacoes\\_estados/Acre/Fase%202/Documento\\_Sintese.pdf](http://www.amazonia.cnptia.embrapa.br/publicacoes_estados/Acre/Fase%202/Documento_Sintese.pdf)>. Acesso em: 26 de setembro de 2018.

ACREBIOCLIMA, GRUPO DE ESTUDOS E SERVIÇOS AMBIENTAIS. 2018. Disponível em: <<http://www.acrebioclima.pro.br/>>. Acesso: 26 de julho de 2018.

BAISVAR, V. S.; KUMAR, R.; SINGH, M.; SINGH, A. K.; CHAUHAN, U. K.; MISHRA, A. K.; KUSHWAHA, B. Genetic diversity analyses for population structuring in *Channa striata* using mitochondrial and microsatellite DNA regions with implication to their conservation in Indian Waters. **Meta Gene**, v. 16, p. 28-38, 2018.

CARVALHO, A.L. NELSON, B. W.; BIANCHINI, M.C.; PLAGNOL, D.; KUPLICH, T.M.; DALY, D.C. Bamboo-dominated forests of the Southwest Amazon: detection, spatial extent, life cycle length and lowering waves. **Plos One**, v. 8, p. 1-13, 2013.

CORNUET, J. M.; LUIKART, G. Description and power analysis of two tests for detecting recent population bottlenecks from allele frequency data. **Genetics**, v. 44, p. 2001-2014, 1996.

DOYLE, J. J.; DOYLE, J. L. Isolation of plant DNA from fresh tissue. **Focus**, Rockville, v. 12, n. 1, p. 13-15, 1987.

ESPELAND, E. K.; RICE, K. J. Ecological effects on estimates of effective population size in an annual plant. **Biological Conservation**, n.143, p. 946–951, 2010.

FRANKEL, O. H.; SOULÉ, M.S. **Conservation and evolution**. Cambridge: Cambridge University Press, 1981. 327p.

FRANKHAM, R.; BALLOU, J. D.; BRISCOE, D. A. **Fundamentos de Genética da Conservação**, Ribeirão Preto, SP: SBG (Sociedade Brasileira de Genética), 280p. 2008.

GUILHERME, E.; SANTOS, M. P. D. Birds associated with bamboo forests in eastern Acre, Brazil. **Bulletin of the British Ornithologists**, v. 129, n. 4, p. 229-240, 2009.

HARDY, O.J.; VEKEMANS, X. SPAGeDi: a versatile computer program to analyse spatial genetic structure at the individual or population levels. **Molecular Ecology**, v. 2, p. 618-620, 2002.

HUSEMANN, M.; ZACHOS, F E.; PAXTON, R. J.; HABEL, J. C. Effective population size in ecology and evolution. **Heredity**, n. 117, p. 191-192, 2016.

HOBAN, S.; KALLOW, S.; TRIVEDI, C. Implementing a new approach to effective conservation of genetic diversity, with ash (*Fraxinus excelsior*) in the UK as a case study. **Biological Conservation**, n. 225, p.10-21, 2018.

JANZEN, D. H. Why bamboos wait so long to flower. **Annual Review of Ecology and Systematics**. v. 7, p. 347-391, 1976.

JUDZIEWICZ, E.; CLARK, L.G.; LONDOÑO, X.; STERN, A. M. J. **American bamboos**. Smithsonian Institution Press, Washington and London, 1999, 392p.

KITAMURA, K; KAWAHARA, T. Estimation of outcrossing rates at small-scale flowering sites of the dwarf bamboo species, *Sasa cernua*. **Journal of Plant Research**, v. 124, p. 83-688, 2010.

KLEIN, C.; HIDALGO-MORALES, D. An inventory of *Guadua* (*Guadua angustifolia*) bamboo in the coffee region of Colombia. **European Journal of Forest Research**, v. 125, p. 361-368, 2006.

LEWIS, P. O.; ZAYKIN, D. **Genetic Data Analysis**: Computer program for the analysis of allelic data. Version 1.0 (d 15). Free program distributed by the authors over the internet from de GDA homepage at [http:// alleun.eeb.uconn.edu/gda/2002](http://alleun.eeb.uconn.edu/gda/2002).

LI, Q.; XUA, Z.; HE, T. Ex situ genetic conservation of endangered *Vatica guangxiensis* (Dipterocarpaceae) in China. **Biological Conservation**, v. 106, p. 151-156, 2002.

LONDOÑO, X.; CLARK, L.G. A revision of the Brazilian bamboo genus *Eremocaulon* (Poaceae: Bambuseae: Guaduinae). **Systematic Botany**, v. 27. p. 703-721, 2002.

LONDOÑO, X.; ZURITA, E. Two species of *Guadua* (Bambusoideae: Guaduinae) from Colombia and Bolivia. **Journal the Botanical Research Institute of Texas**, v. 2, p. 25-34, 2008.

LONDOÑO, X. Dos nuevos especies de *Guadua* para el Perú. **Journal the Botanical Research Institute of Texas**, v. 7, p. 145-153, 2013.

LÓPEZ, V.; MARTÍN, J.; HEIKE, V.; MOYA, G. E.; HERNÁNDEZ, V.; IGNACIO, J.; ROMERO, A.M.; CUEVAS, R. G. Effects of harvesting on the structure of a neotropical woody bamboo (otatea: guaduinae) populations. **Interciencia**, v. 29, p. 207-211, 2004.

LYNCH, M. A quantitative-genetic perspective on conservation issues. In: AVISE, J.; HAMRICK, J. (Ed.). **Conservation Genetics: Case Histories from Nature**. New York: Chapman e Hall, p. 471-501, 1996.

MENA, J.; VERA, S.; CORREAL, J. F.; LOPEZ, M. Assessment of fire reaction and fire resistance of *Guadua angustifolia* kunth bamboo. **Construction and Building Materials**, v. 27, p. 60–65, 2012.

MIZUKI, I.; SATO, A.; SUYAMA, Y.; SUZUKI, J-I.; MAKITA, A.; Clonal structure, seed set, and self pollination rate in mass – flowering bamboo species during of year flowering events. **Plos One**, v. 9, n. 8, e105051, 2014.

NELSON, B.; KALLIOLA, W, R.; SHEPARD, G. 1997. Tabocais de *Guadua* spp. no sudeste amazônico: extensão geográfica, mortalidade sincronizada e relação com incêndio florestais. In: **Congresso Nacional de Botânica XLVIII**, Crato, Resumos, p. 163.

OLIVEIRA, K.; PINTO, L.R.; MARCONI, T. G.; MOLLINAR, M.; ULIAN, E.C.; CHABREGAS, S.M.; FALCO, M.C.; BURNQUIST, W.; GARCIA, A.A.F.; SOUZA, A. P. Characterization of new polymorphic functional Markers for Sugarcane. **Genome**, v. 52, p.191-209, 2009.

PÉREZ, A. M. 2006. *Guadua angustifolia* Kunth, 1822. **Ficha para la conservación de recursos biológicos**. Instituto Alexander von Humboldt. Colombia. Disponível em: <http://www.siac.net.co/sib/catalogoespecies/especie.do?idBuscar=280&method=displayAAT>. Acesso em julho de 2015.

RAMANAYAKE, S. M. S. D. Flowering in bamboo: an enigma! **Ceylon Journal of Science (Biological of Science)**. v. 35, p. 95-105, 2006.

RATNAM, W.; RAJORA, O.; FINKELDEY, R.; ARAVANOPOULOS, F.; BOUVET, J-M.; VAILLANCOURT, R. E.; KANASHIRO, M.; FADY, B.; TOMITA, M.; VINSON, C. Genetic effects of forest management practices: Global synthesis and perspectives. **Forest Ecology and Management**, n. 333, p. 52–65, 2014.

RUGELES-SILVA.; TERRANOVA, A. M. P.; LONDOÑO, X.; BARRERA-MARÍN, N.; MUÑOZ-FLÓREZ, J. E. Caracterización molecular de *Guadua angustifolia* Kunth mediante marcadores moleculares RAMs. **Acta Agronómica**. v. 61, p. 325-330, 2012.

SEBBENN, A. M.; KAGEYAMA, P. Y.; VENCOVSKY, R. Conservação genética *in situ* e número de matrizes para a coleta de sementes em população de *Genipa americana* L. **Scientia Forestalis**, n. 63, p. 13-22, 2003.

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

SILVEIRA, M. **A floresta aberta com bambu no sudoeste da Amazônia: Padrões e processos em múltiplas escalas**. Rio Branco - AC: Edufac, 2005, 157p.

SLATKIN, M. Rare alleles as indicators of gene flow. **Evolution**, v. 39, p. 53–65, 1985.

SODERSTROM, T.R.; LONDOÑO, X. Two new genera of Brazilian bamboos related to *Guadua* (Poaceae: Bambusoideae). **American Journal of Botany**, v. 74, p. 27-39, 1987.

TEMNYKH, S.; PARK, W.D.; AYRES, N.; CARTINHO, S.; HAUCK, N.; LIPOVICH, L.; CHO, Y. G.; ISHII, T.; MCCOUCH, S. R. Mapping and genome organization of microsatellite sequence in rice (*Oryza sativa* L). **Theoretical and Applied Genetics**, v. 100, p. 697-712, 2000.

TIAN, G.; JUSTICIA, R.; COLEMAN, D.C.; CARROLL, C.R. Assessment of soil and plant carbon levels in two ecosystems (woody bamboo and pasture) in montane Ecuador. **Soil Science**, v. 172, p. 59-68, 2007.

UGELVIG, L.V.; ANDERSEN, A.; BOOMSMA, J. J.; NASH, D. R. Dispersal and gene flow in the rare, parasitic large blue butterfly *Maculinea arion*. **Molecular Ecology**, n.21, p.3224-3236, 2012.

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

WHITLOCK, R.; HIPPERSON, H.; THOMPSON, D.B.A.; BUTLIN, R.K.; BURKE, T. Consequences of in-situ strategies for the conservation of plant genetic diversity. **Biological Conservation**, v. 203, p.134–142, 2016.

WRIGHT, S. Evolution in mendelian populations. **Genetics**, n16, p.97-159, 1931.

YEASMIN, L.; ALI, MD. N.; GANTAIT, S.; CHAKRABORTY, S. Bamboo: on our view on its genetic diversity and characterization. **Biotech**, v. 5, p. 1-11, 2015.

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

YANG, J. B.; DONG, Y. R.; WONG, K. M.; GU, Z. J.; YANG, H. Q.; LI, D. Z. Genetic structure and differentiation in *Dendrocalamus sinicus* (Poaceae: Bambusoideae) populations provide insight into evolutionary history and speciation of woody bamboos. **Scientific Reports**, v. 8, n. 16933, p. 1-12, 2018.

YOKOGAWA, M.; KANEKO, S.; TAKAHASHI, Y.; ISAGI, Y. Genetic consequences of rapid population decline and restoration of the critically endangered herb *Polemonium kiushianum*. **Biological Conservation**, v. 157, p. 401-408, 2013.