



9

**Melhoramento  
e conservação  
genética de  
*Araucaria  
angustifolia***

Valderês Aparecida de Sousa  
Ananda Virginia de Aguiar  
José Elidney Pinto Júnior  
Jarbas Yukio Shimizu  
Neusa Steiner



## Introdução

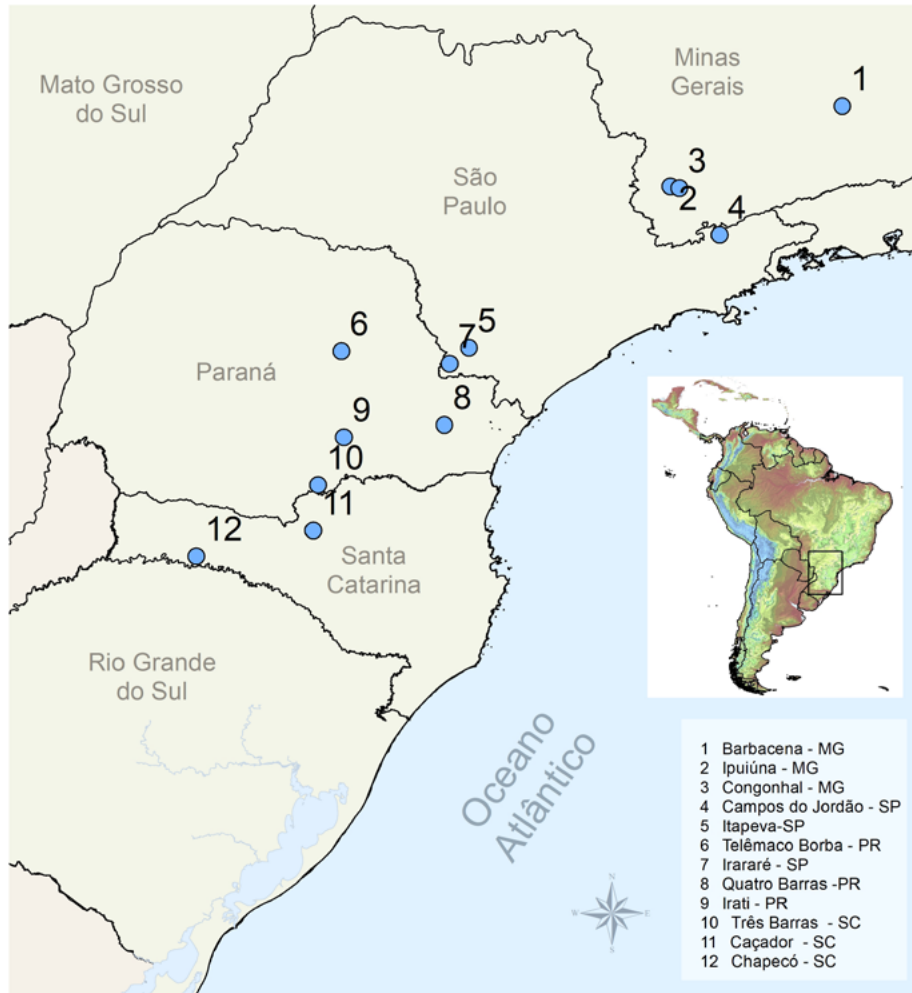
Devido à exploração indiscriminada para uso comercial, as florestas remanescentes de araucária [*Araucaria angustifolia* (Bert.) O. Kuntze] encontram-se extremamente fragmentadas no Brasil. Com isso, uma redução de 97% da sua área original foi apontada por Enright e Hill (1995). Em 2001, estudos realizados pelo Projeto Conservação e Utilização Sustentável da Diversidade Biológica Brasileira (Probio Araucária) (Fupef, 2001) estimaram que apenas 0,80% dos remanescentes primários eram mantidos no estado do Paraná. Como consequência, *A. angustifolia* é considerada espécie criticamente ameaçada de extinção, sob o critério A2 (Farjon, 2006; Thomas, 2013), pelo livro vermelho da International Union for the Conservation of Nature and Natural Resources (IUCN) e vulnerável na lista oficial das espécies da flora brasileira ameaçadas de extinção (CNCFlora, 2013). Em decorrência dessa situação, uma forte restrição legal foi estabelecida desde 24 de maio de 2001, por meio da Resolução do Conselho Nacional do Meio Ambiente (Conama) nº 278/2001 (Conama, 2001), proibindo o corte da araucária nativa, com a intenção de assegurar a conservação genética dos remanescentes, dada à ausência de conhecimentos básicos (estrutura genética e dinâmica das populações, dentre outros) que norteassem o seu uso adequado. Essa medida, no entanto, não tem contribuído efetivamente para a conservação da espécie, uma vez que as regenerações naturais têm sido eliminadas e consideradas um empecilho ao uso da terra nas propriedades rurais. A conservação pelo uso tem sido, atualmente, apontada como a forma mais efetiva para viabilizar a preservação da espécie. Assim, tem-se buscado incentivar o plantio para a produção da madeira, pinhão e de coprodutos visando reduzir a pressão sobre os remanescentes nativos. O uso da espécie, de forma sustentável, garante a conservação das populações naturais, além de contribuir efetivamente como fonte de renda às comunidades rurais.

A conservação e o uso sustentável da araucária trarão benefícios às comunidades existentes na sua região de ocorrência natural. Os estabelecimentos de parcerias visam enriquecer o conhecimento tácito do agricultor com os conhecimentos científicos gerados pelas instituições de pesquisas, universidades e empresas privadas, mediante a troca de experiências e conhecimentos práticos e científicos. Como resultado do ganho em conhecimento, poderá haver uma evolução mais rápida nos programas de melhoramento genético participativo, com ganhos em produção de pinhão e madeira, bem como na conservação mais efetiva do material genético remanescente dessa espécie. O conhecimento gerado poderá ser transferido para as comunidades, por meio de agentes multiplicadores da própria comunidade.

Apesar da grande importância que a espécie teve no passado, tanto sob o aspecto econômico quanto sociocultural, e continua até o presente momento, estudos mais expressivos para embasar programas de conservação e melhoramento genético se intensificaram somente no final do século passado.

Os primeiros testes de procedências e progênies de araucária foram estabelecidos nos estados do Paraná e São Paulo, com a participação do Instituto Florestal de São Paulo (IFSP), Universidade Federal do Paraná (UFPR), Universidade Federal de Lavras (Ufla), empresas florestais privadas, Embrapa Florestas (Figuras 1 e 2), dentre outras.

Resultados de experimentos têm demonstrado a possibilidade de obtenção de ganhos genéticos expressivos na produção de madeira (Gurgel; Gurgel Filho, 1965; Gurgel, 1980; Kageyama; Jacob, 1980; Shimizu; Higa, 1980; Pires, 1982; Sebbenn et al., 2003a, 2003b, 2003c; 2004; Duarte et al., 2012; Machado, 2018; Silva et al., 2018), comprovando o potencial de seleção das melhores procedências e progênies. Estudos de genética de populações subsequentes, tanto com o emprego de marcadores bioquímicos (Shimizu et al., 2000; Sousa, 2001; Sousa e Hattemer, 2001; Auler et



**Figura 1.** Populações de *Araucaria angustifolia* amostradas em diferentes municípios da região de ocorrência natural no Brasil (1 a 12), para o estabelecimento de teste de procedências e progênes e Banco Ativo de Germoplasma (BAG) no município de Colombo, PR.

Fonte: Wrege (2020).

Foto: Valderês Aparecida de Sousa



**Figura 2.** Teste de procedências e progênes de *Araucaria angustifolia* de diversas regiões do Brasil, plantado na Embrapa Florestas, no município de Colombo, PR.



al., 2002; Sousa et al., 2004; Mantovani et al., 2006) quanto moleculares (Mazza, 1997; Hampp et al., 2000; Stefenon et al., 2003; Puchalski et al., 2006; Bittencourt; Sebbenn, 2007; Stefenon et al., 2008a, 2008b, 2008c; Souza et al., 2009; Patreze; Tsai, 2010; Duarte, 2011; Sant'Anna et al., 2013; Medina-Macedo et al., 2015, 2016; Roque, 2019; Sousa et al., 2020) contribuíram para o entendimento da distribuição genética da espécie, evidenciando a existência de variações entre populações, especialmente, entre aquelas das regiões Sul e Sudeste. As variações entre populações têm sido atribuídas especialmente às distâncias geográficas e, conseqüentemente, ao isolamento por padrão de distância. A estruturação por padrões biogeográficos foi demonstrada recentemente, com a utilização de microssatélites cloroplastidiais por Stefenon et al. (2019), microssatélite nuclear por Sousa et al. (2020) e marcadores SNP (*Single Nucleotide Polymorphism*) por Silva et al. (2020). Os resultados obtidos por Sousa et al. (2020) mostraram duas grandes regiões ecogeográficas e genéticas, sendo uma na região Sudeste e outra na região Sul do Brasil, representando grandes unidades independentes e de grande importância para ações de conservação e melhoramento genético.

O grupo denominado “Norte” inclui os estados de São Paulo e Minas Gerais (pertencentes à Região Sudeste) e o grupo “Sul” inclui o Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul. Esses grupos já haviam sido observados em diversos estudos populacionais (Sousa, 2001; Sousa e Hattemer, 2001; Stefenon et al., 2008b; Sousa et al., 2009; Valgas, 2009; Valgas et al., 2010), coincidindo com os obtidos por Sebbenn et al. (2004) em testes de procedências e progênies com material representativo dessas regiões. Adicionalmente, Stefenon et al. (2019), usando microssatélites de DNA cloroplastidial e um número maior de populações na região “Sul”, encontrou ainda diferentes subgrupos dentro da região Sul, onde populações do Paraná divergem daquelas de Santa Catarina e do Rio Grande do Sul. Portanto, é importante que esses grupos e subgrupos sejam considerados como unidades independentes na implementação dos trabalhos de conservação e melhoramento dos recursos genéticos da espécie.

## Potencial produtivo da espécie

A araucária é uma das espécies nativas mais plantadas no Brasil. Segundo IBÁ (2014), a área reflorestada com araucária em 2013 foi 11.122 hectares. Dois produtos da espécie têm alto valor econômico, a madeira e o pinhão. Ainda, podem ser explorados também outros produtos não madeiráveis, tais como a resina para a fabricação de breu, a terebintina, o nó de pinho, a grimpã e outros (Reitz; Klein, 1966; Sousa; Aguiar, 2012). O breu, fração da resina, é utilizado na fabricação de vários produtos como adesivos, ceras para depilação, espessantes, tintas, vernizes, produtos farmacêuticos, perfumes e outros. A terebintina, fração volátil da resina, é fundamental na fabricação de medicamentos, e produtos cosméticos e de perfumaria, bem como solventes orgânicos e aromatizantes etc. A espécie é utilizada também em programas de reflorestamentos e paisagismo devido à beleza de sua forma arbórea e à utilidade das sementes comestíveis, contribuindo para a biodiversidade da flora local e à alimentação humana e da fauna associada.

A madeira da araucária é usada na fabricação de móveis, artigos de esportes, compensados, produtos para construções internas (painéis, pisos), dentre outros usos (Sousa; Aguiar, 2012). Apesar da madeira de *A. angustifolia* ser de alta qualidade, com densidade média de 55 g/cm<sup>3</sup>, atualmente não tem sido muito utilizada visto que sua exploração representa risco de conflitos com a Lei de Crimes Ambientais (Aquino, 2005). Atualmente, a madeira utilizada provém de povoamentos plantados (Figueiredo Filho et al., 2015), os quais apresentam grande variação em



crescimento e rendimento de madeira. Mesmo as áreas plantadas da espécie, se não forem registradas adequadamente antes do plantio, não poderão ser exploradas comercialmente como fonte de madeira no futuro.

As sementes são utilizadas na alimentação humana, além de serem muito apreciadas pela avifauna silvestre (Sousa et al. 2010c). As comunidades e as famílias que colhem e comercializam o pinhão consideram este produto como uma importante fonte de renda familiar complementar (Balbinot et al., 2008). Os produtores/coletores de pinhão devem seguir as normas e as instruções estabelecidas por lei, para a coleta, transporte e comercialização do pinhão, as quais apresentam diferentes períodos de coleta, de acordo com o Estado em questão. A permissão para a comercialização do pinhão é restrita aos meses de máxima produção, que se estende de abril a junho. Essa restrição visa garantir o consumo sustentável e as condições adequadas para a regeneração natural da espécie. No entanto, na prática, a lei tem inibido o seu plantio e uso. Assim, um programa de conservação e melhoramento genético da espécie se justifica em todos os aspectos.

A produção de madeira em tora atingiu 28.614 m<sup>3</sup> em 2019 e a de pinhão totalizou 8.889 t no ano de 2013, cerca de 8.777 t em 2014 e 9.342 t em 2019 (IBGE, 2013; 2016, 2019). A produção de nó de pinho foi 8.341 m<sup>3</sup> no ano de 2019, de acordo com o IBGE. Esses valores oscilam em função da sazonalidade da safra, das condições climáticas e, principalmente, em função das políticas de proteção da espécie. Acredita-se que, com o melhoramento genético, emprego de técnicas silviculturais apropriadas e a formulação de políticas públicas adequadas, a produção possa atingir níveis quantitativos mais elevados e de melhor qualidade que as atuais.

O potencial produtivo da araucária, estimado por pesquisas realizadas em populações naturais, em testes de procedências e progênies e em povoamentos comerciais, indica que ganhos expressivos de produção poderão ser obtidos se técnicas silviculturais forem aplicadas adequadamente (Sebbenn et al., 2004; Silva, 2016; Moraes, 2017; Machado, 2018; Silva et al., 2018). Nesses estudos, verificou-se maior produtividade das populações estudadas em relação a de outras regiões e os resultados foram diferentes para cada tipo de sítio de plantio. Na região de transição entre as populações do Sul e do Sudeste (Itapeva, SP), o desenvolvimento da espécie foi afetado não somente pelas condições climáticas, mas, principalmente, pelas condições edáficas e pedológicas (pequenos mosaicos de solos de Cerrado e solos menos profundos). Em teste de procedências e progênies estabelecido em Itapeva, SP, Sebbenn et al. (2004) relataram médias de 20,47 cm e 18,12 m para diâmetro à altura do peito e altura total, respectivamente, aos 30 anos de idade. Além da área de estudo ser considerada limítrofe para a ocorrência da espécie, o teste não sofreu desbaste seletivo. Porém, um segundo teste de procedências e progênies envolvendo cinco procedências da região Sul e Sudeste apresentou sobrevivência média de 87% aos 33 anos de idade, na região de Itapeva, SP, apresentando-se bem adaptadas (Machado, 2018). Em Itapeva, as procedências oriundas de menores latitudes apresentaram maior sobrevivência que aquelas de maiores latitudes (Sebbenn et al., 2003c). Em relação ao desempenho de crescimento, as procedências do estado de São Paulo, principalmente as dos municípios de Cunha, Itararé e Campos do Jordão apresentaram maior crescimento que àquelas de Santa Catarina (São Joaquim e Bom Jardim da Serra). Esse padrão pode estar associado à diferença na altitude e, conseqüentemente, às diferenças nas condições edafoclimáticas do local de plantio em relação àquelas da origem (Machado, 2018). Testes de procedências e progênies estabelecidos em Colombo, PR, submetidos a dois desbastes seletivos (50%) (Figura 3), apresentaram maior crescimento que aqueles plantados na região de Itapeva e Itararé, SP e ao teste não desbastado e sem manejo da vegetação em Colombo, PR (20 cm, 13,26 m e 0,26 m<sup>3</sup> arv.<sup>-1</sup> para DAP, altura e volume de madeira, aos 32 anos de idade) (Silva, 2016). Isso indica que o manejo das florestas plantadas de araucária é imprescindível para se obter maior



Foto: Ananda Virgínia de Aguiar



**Figura 3.** Teste de procedências e progênes de *Araucaria angustifolia* após desbaste de 50%, no município de Colombo, PR.

produção de madeira que aquela observada em plantações naturais.

Em reflorestamentos estabelecidos em sítios adequados, com mudas seminais, sem qualquer grau de melhoramento, a araucária pode apresentar um incremento médio anual em altura de 1 m até o quarto ano de idade e, a partir do quinto ano, de 1,5 m a 2,0 m e o incremento médio anual em volume de madeira pode atingir 30 m<sup>3</sup>/ha (Carvalho, 1994). Entretanto, valores dessa ordem estão sendo constatados em testes de progênes de segunda geração, com aplicação de algumas práticas silviculturais como adubação, aumento de espaçamento de plantio e desrama. O plantio mais adensado ou consorciado com outras culturas também pode ser realizado e, inicialmente, viabilizará o uso mais adequado da terra. Porém, nesses sistemas o desbaste seletivo é necessário.

Variáveis associadas à produção de pinhão, mensuradas por Silva (2016), apresentaram valores maiores que aquelas avaliadas por Figueiredo Filho et al. (2011) e Mantovani et al. (2004), na maioria dos caracteres

estudados. As árvores avaliadas por Silva (2016) são provenientes de um pomar de sementes por mudas, estabelecido após dois desbastes seletivos, com base em caracteres de crescimento que não apresentam relação fenotípica com a produção de sementes. Figueiredo Filho et al. (2011) observaram os seguintes resultados médios: 1,39 kg para peso da pinha, 0,37 kg para peso de pinhões por pinha, 5,80 g para peso unitário do pinhão e 57,47 números de pinhões por pinha, em área plantada. Mantovani et al. (2004) avaliaram a produção de pinhões em dois anos consecutivos (2001 e 2002) de uma população natural de araucária, revelando, respectivamente, valores de 93,9 g e 80,7 g para número de pinhões por pinha (NPP) e 6,58 g e 7,00 g para peso unitário do pinhão (PP). Segundo os autores, a produção anual de pinhão foi 117 kg ha<sup>-1</sup> e 160 kg ha<sup>-1</sup> em 2001 e 2002, respectivamente. Essas produções foram menores que aquela estimada por Solórzano (2001) em 1998 (427 kg ha<sup>-1</sup>), na mesma região. Na avaliação de um grupo de populações de araucária em Santa Catarina, foram registradas médias de 15,5 cm, 15,6 cm, 1,58 kg e 17,4 em diâmetro, altura e massa fresca de pinhas e produção de pinha por ano, respectivamente, (Zechini, 2012). Nos plantios experimentais de Colombo, PR, aproximadamente 44% do peso da pinha referiam-se a pinhões bem formados. Percentuais menores desse componente foram verificados por Mantovani et al. (2004) (22,6%) em povoamentos plantados e por Figueiredo Filho et al. (2011) em áreas naturais (28,8%) e em plantios (22,6%). Silva (2016) registrou pesos de falhas por pinha em duas áreas, da ordem de 872,75 g na área 1 e 721,67 g na área 2, sugerindo que essa diferença pode estar relacionada às condições climáticas desfavoráveis, especialmente nos períodos de polinização, uma vez que as falhas das pinhas (pinhões estéreis) resultam da falha na fecundação ocorrida tanto pela ausência de pólen no período receptivo dos óvulos quanto pelo aborto do óvulo.

Árvores de áreas de produção de sementes têm sido ranqueadas para a produção de pinhão, com base nos caracteres fenotípicos de pinha e pinhão, sendo revelados indivíduos com grandes potenciais genéticos. Para assegurar e validar o potencial produtivo dos indivíduos, recomenda-se o uso de polinização controlada e a validação em testes de progênes (Silva, 2016), bem como a avaliação da produção em, pelo menos, três anos consecutivos. De acordo com Carvalho (2002), a



araucária apresenta ciclos de produção com anos de contra-safra após dois ou três anos consecutivos de alta produção de sementes.

Estudos realizados em Santa Catarina têm demonstrado variações, de moderadas a significativas, na produção de pinhão entre populações naturais, no mesmo ano. Verificou-se, também, que algumas populações alternam alta e baixa produção de um ano para outro, enquanto outras mantêm produção estável ao longo dos anos (Zechini, 2012). Segundo este autor, há uma assincronia em escala regional e diferenças entre locais e anos, porém, não é possível afirmar que a espécie apresente, em níveis regionais, anos de maior ou menor produção. Uma metodologia para avaliar a produção de pinhão, bem como uma estratégia de amostragem representativa para a avaliação da produção, foi proposta por Do Carmo et al. (2015). Neste trabalho, foram avaliadas todas as pinhas e sementes produzidas, considerando as faces norte, sul, leste e oeste no teste de procedências e progênies instalado em Colombo, PR. No total foram consideradas 77 pinhas e 7.912 pinhões. Neste trabalho, o peso dos pinhões foi considerado o principal fator na definição dos critérios de amostragem das sementes. Para se obter um nível de confiança de 95%, determinou-se que há necessidade de amostrar seis pinhões grandes, 28 pinhões médios e 7 pinhões pequenos, por árvore (ou progênie), num total de 41. Com base nos resultados obtidos por Do Carmo et al. (2015) e observações de campo, conclui-se que a avaliação da capacidade de produção de pinhões de uma população requer observações se estendendo por, no mínimo, três anos, para gerar informações sólidas que sirvam como elementos na definição de políticas públicas associadas à coleta do pinhão.

## Aspectos intrínsecos da araucária

### Sistema sexual

*A. angustifolia* é uma espécie dioica, com estruturas reprodutivas organizadas em estróbilos masculinos e femininos, em plantas distintas (Figura 4) (Imaguire, 1979). A ocorrência de indivíduos monoicos é rara em populações naturais e tem sido atribuída a traumas e, ou doenças, já que não há evidências da hereditariedade desse caráter (Reitz; Klein, 1966; Bandel; Gurgel, 1967). No entanto, Stefenon e Caprestano (2009) observaram a ausência de injúrias ou infecções em plantas monoicas femininas e masculinas, sugerindo outras razões para esse comportamento. Sinclair et al. (2012) destacaram como causas da mudança de sexo, fatores como: idade, temperatura, disponibilidade de água, ácaros, luz, nitrogênio, potássio, monóxido de carbono, fotoperíodo e trauma. Portanto, este caráter requer mais estudos, especialmente aos aspectos genético, fisiológico e fenológico.

Embora a monoiccia seja o sistema sexual predominante nas Angiospermas, a dioiccia predomina na família Araucariaceae. Dentre os principais fatores que podem ter contribuído para a formação de espécies dioicas e fixação de arranjos sexuais diferenciados, destacam-se a depressão endogâmica, a partir da pressão por seleção, precedida por mutações relacionadas às alterações gênicas (Barrett, 1998; Goodwillie et al., 2005; Diggle et al., 2011).

O conhecimento da proporção sexual é muito importante para se estimar a variabilidade genética de uma população, visto que esta é diretamente relacionada ao tamanho efetivo populacional (Murakami, 2002; Sinclair et al., 2012). Assim, a razão sexual desproporcional contribui para reduzir o tamanho efetivo da população, podendo ocasionar gargalos genéticos (Sinclair et al., 2012), especialmente durante a seleção ou amostragem de uma população, dando origem ao efeito da deriva genética.





**Figura 4.** Detalhes de estróbilos masculinos de *Araucaria angustifolia*: verde (A), maduro (B), liberando pólen (C), posteriormente à liberação de pólen (D) e femininos, em desenvolvimento (E), logo após a polinização (F), em desenvolvimento verde (G), cone maduro pronto para a liberação de sementes (H).



A participação equitativa dos sexos na formação da geração subsequente é ideal para a sobrevivência de indivíduos de ambos os sexos em espécies dioicas. O desbalanço sexual implica na contribuição desigual do número de gametas, favorecendo o sexo mais abundante (Zanon, 2007). O conhecimento do tamanho efetivo populacional, considerando a proporção sexual (Vencovsky et al., 2012), é de extrema importância para o estabelecimento de pomares de sementes por mudas ou clonal, a partir da seleção de testes de progênies. Portanto, em espécies dioicas como a araucária, a proporção sexual inadequada pode afetar a variabilidade genética nas próximas gerações e a qualidade genética das sementes produzidas. Isso pode frustrar as expectativas nos programas de melhoramento genético visando às gerações avançadas, bem como nos programas de conservação de germoplasma.

A determinação do sexo em idade precoce não tem sido possível para a araucária devido à ausência das estruturas reprodutivas, visto que isso só se verifica em árvores adultas (Sousa et al., 2004; Zanon et al. 2009; Figueiredo Filho et al., 2015). Estudos sobre dimorfismo sexual em araucária, com base em marcadores bioquímicos e moleculares, têm buscado a identificação de genes (marcadores) relacionados ao sexo, mas sem muito sucesso (Murakami, 2002; Sousa et al., 2004; Zanon et al., 2009; Figueiredo Filho et al., 2015). Pressupõe-se que essa característica esteja ligada à expressão gênica. Porém, a expressão tardia desses genes (em torno de 15 a 20 anos) tem dificultado a aplicação de marcadores moleculares e técnicas genômicas para essa finalidade. Portanto, pesquisas baseadas na expressão gênica deveriam ser melhor exploradas para viabilizar a sexagem precoce da araucária.

Estudos sobre a razão sexual em populações adultas de araucária têm mostrado resultados discrepantes. Em populações naturais, tem sido verificado que essa razão não diverge significativamente de um (1:1) (Mattos, 1994; Sólorzano-Filho, 2001; Sousa, 2001; Paludo et al., 2009; Zanon et al., 2009; Adan, 2013). Não obstante, desvios significativos em favor das árvores masculinas têm sido encontrados em populações naturais e fragmentos florestais (Bandel; Gurgel, 1967; Mattos, 1972; Paludo et al., 2009; Zechini et al., 2012; Tagliari, 2013); também relataram uma maior proporção de árvores masculinas (60% contra 40% de femininas). Os desvios observados podem estar relacionados tanto ao histórico das populações quanto à exploração seletiva (Murakami, 2002) de árvores com maior desenvolvimento.

Em florestas plantadas de araucária também têm sido registrados desvios na proporção entre os sexos (Bandel; Gurgel, 1967; Pinto, 1982), com a predominância de indivíduos masculinos. Uma maior abundância de árvores masculinas (0,6 feminina:1 masculina) foi observada também por Tagliari (2013). Infere-se, portanto, que a proporção sexual seja influenciada não apenas pelo componente genético, mas principalmente pelo ambiental.

## Sistema reprodutivo e fluxo gênico

Por sua característica dioica, a araucária é uma espécie alógama (de reprodução cruzada) obrigatória. No entanto, um certo grau de endogamia tem sido observado em populações naturais, expresso em diversos parâmetros mediante ferramentas bioquímicas e moleculares como isoenzimas, AFLP, microssatélites e SNP (Shimizu et al., 2000; Sousa, 2001, Auler et al., 2002; Sousa et al., 2005; Bittencourt; Sebbenn, 2008; Sant'Anna et al., 2013; Silva et al., 2020; Sousa et al., 2020) (Tabela 1). Resultados similares de endogamia foram constatados em árvores adultas e em progênies (Sousa et al., 2005; Bittencourt; Sebbenn, 2008; Sant'Anna et al., 2013; Costa et al., 2015; Medina-Macedo et al., 2015).

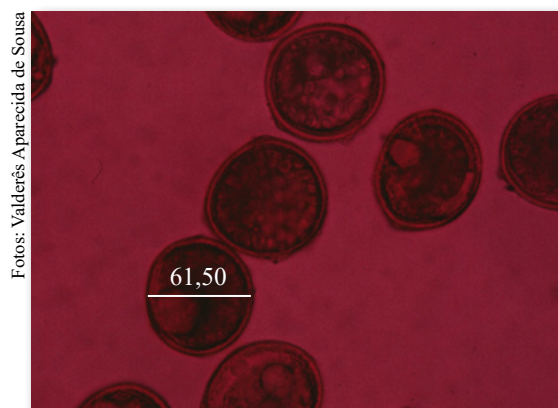
**Tabela 1.** Estimativas de parâmetros do sistema de reprodução para populações de *A. angustifolia* avaliadas em diferentes localidades do Brasil.

$N_p$	$t_m$	$r_p$	$Q$	$N_{e(v)}$	$m$	Referências
4	0,990	0,230	0,160	3,21	31	Sousa et al. (2005)
1	0,991	0,196	0,174	2,87	46	Bittencourt e Sebbenn (2008)
3	1,00	0,237	0,153	3,20	48	Ferreira (2008)

$N_p$  = número de populações,  $t_m$  = taxa populacional de cruzamento multiloco,  $r_p$  = correlação multiloco de paternidade,  $Q$  = coeficiente de coancestria,  $m$  = número de matrizes e  $N_{e(v)}$  = tamanho efetivo populacional.

Elevados coeficientes de coancestria da ordem de 0,169 a 0,193 (Ferreira, 2008), de 0,130 a 0,200 (Danner et al., 2013), de 0,128 a 0,129 (Cristofolini, 2013), de 0,021 a 0,197 (Silva, 2014), de 0,138 a 0,200 (Sousa et al., 2005) e número restrito de doadores de pólen foram observados em análises de progênies de araucária (Sousa et al., 2005; Ferreira, 2008; Cristofolini, 2013; Danner et al., 2013; Silva, 2014; Silva et al., 2015). A variação na nuvem efetiva de pólen favorece consideravelmente a diferenciação entre as progênies, o desvio do sistema de cruzamento ao acaso, contribuindo para o surgimento de progênies com endogamia biparental (Sousa, 2001; Sousa et al., 2005).

Cruzamentos entre indivíduos aparentados nessa espécie têm sido atribuídos aos diversos fatores, inclusive ao reduzido potencial de fluxo gênico, tanto no sentido restrito (pólen) quanto amplo ou migração (sementes). O pólen da araucária é disperso pelo vento e, teoricamente, deveria apresentar uma eficiente dispersão. No entanto, as características morfológicas e estruturais do grão de pólen apresentam-se (Caccavari, 2003) como sendo pesadas (em média 61,50  $\mu\text{m}$ ) (Figura 5), o que concorre para a baixa taxa de flotação (Sousa; Hattemer, 2003a) e a dispersão somente à curta distância. De acordo com Caccavari (2003), esse potencial de dispersão é menor que aquele ocorrendo em outras Gimnospermas que podem chegar a 600 m ou mais, conforme apontado por Niklas (1985). Além disso, a Floresta com Araucária, geralmente, apresenta uma alta densidade de vegetação que pode criar barreiras à dispersão do pólen, limitando o movimento dentro dessas populações (Sousa; Hattemer, 2003a). Diversos autores demonstram resultados nesse sentido (Bittencourt; Sebbenn, 2008; Sant'Anna, 2012; Medina-Macedo et al., 2015). Na análise de progênies de polinização aberta, tanto dentro de remanescentes florestais fechados quanto em floresta aberta, observou-se que as distâncias de movimento do pólen de araucária foram menores



Fotos: Valderês Aparecida de Sousa

**Figura 5.** Polens de *Araucaria angustifolia* visualizados em microscópio óptico (aumento de 400 vezes).



que 600 m (Niklas, 1985), variando de 109 m a 600 m (Bittencourt; Sebbenn, 2008; Ferreira, 2008; Cristofolini, 2013; Danner et al., 2013; Silva, 2014; Medina-Macedo et al., 2015). O incremento na densidade populacional da araucária também parece favorecer a ocorrência de cruzamentos biparentais (Sousa; Hattemer, 2003a). Medina-Macedo et al. (2015) notaram que as distâncias de dispersão do pólen variam de 7 m a 263 m dentro de capão e de 178 m a 458 m em floresta aberta.

Medina-Macedo et al. (2015) constataram substancial fluxo de pólen externo em capão (26%) e floresta aberta (20%), favorecendo o aumento da diversidade, apesar do potencial restrito de dispersão do pólen de araucária e do alerta de Caccavari (2003) sobre a real possibilidade de que apenas uma fração do pólen dos estratos superiores da nuvem de pólen (cerca de 30 m de altura) ser transportada à longa distância. Por ser produtora de grande quantidade de pólen e ocupar uma posição dominante no dossel, de alguma forma, a araucária supera o problema do baixo potencial de dispersão de pólen (Tabela 2). Já a semente da araucária, por sua vez, é pesada e autocórica (Carvalho, 2003), com tendência a se dispersar próxima à árvore mãe. Apesar da existência de disseminadores de semente como a gralha-azul, os papagaios, pequenos roedores e cutias (Bordignon; Monteiro-Filho, 2000; Lamberts, 2003, Tella et al., 2019; Vieira; Iob, 2009), a dispersão da sementes é predominante autocórica. Com isso, é comum a ocorrência de endogamia devido à estruturação genética espacial (SGS) em populações de araucária (Mantovani et al., 2006; Bittencourt; Sebbenn, 2008; Sant'Anna, 2012; Medina-Macedo et al., 2015).

**Tabela 2.** Estimativa da distância de distribuição espacial entre genótipos (fluxo efetivo de sementes) e fluxo de pólen em populações de *Araucaria angustifolia* avaliadas em diferentes localidades do Brasil.

Distância		Referências
Fluxo de pólen (m)	Fluxo de sementes (m)	
83	50	Bittencourt e Sebbenn (2007)
102	75	Bittencourt e Sebbenn (2008)
-	70	Mantovani et al. (2006)
131	20	Sant'Anna et al. (2013)

Estrutura populacional foi observada na primeira classe de distância estudada (70 m), a partir da análise de autocorrelação espacial com dados isoenzimáticos (Mantovani et al., 2006). Em estudos envolvendo microssatélites, foram constatadas, também, estruturas genéticas espaciais significativas, variando de 20 m a 75 m (Bittencourt; Sebbenn, 2008; Patreze; Tsai, 2010; Sant'Anna et al., 2013) Esse tipo de estruturação propicia desvios no padrão dos cruzamentos ao acaso. Portanto, nas coletas de pinhão para fins de plantios comerciais ou para conservação, deve-se estipular uma distância mínima entre as matrizes para evitar a endogamia.

A proporção de indivíduos envolvidos em um evento reprodutivo também pode contribuir para o desvio em relação à reprodução ao acaso. Em população natural de Campos do Jordão, SP, apenas 20% dos machos contribuíram efetivamente com pólen, uma vez que havia uma grande proporção de indivíduos jovens na população (Sousa, 2001). Além disso, a distância física entre os indivíduos e a assincronia do florescimento podem ter concorrido para esse resultado. Em casos dessa natureza, um número maior de árvores deve ser envolvido na coleta de semente para superar esse problema de amostragem. Para compor pomares de semente, também, deve ser considerada a representatividade das árvores fornecedoras de pólen.



O fator antrópico também tem sido enfatizado na dispersão da araucária. Mediante estudos filogeográficos utilizando DNA cloroplastidiano, Lauterjung et al. (2018) argumentaram sobre o impacto humano pré-colombiano na distribuição da araucária, durante o refúgio glacial do Pleistoceno (2.000 anos atrás).

## Aspectos sobre a produção de sementes

A literatura registra o início da produção de estróbilos em idades diferenciadas, em função das características das populações, plantios, povoamentos naturais, dentre outros. Em estudos de campo, essa variação tem sido verificada em plantios de 14 a 16 anos (Sousa; Hattemer, 2003b). Em teste de progênies instalado em Ponta Grossa, PR, a partir de sementes coletadas em Barbacena, MG, a produção de estróbilos se iniciou aos nove anos após o plantio (Comunicação pessoal<sup>1</sup>). Mattos (2011) verificou que, em plantios e florestas naturais, a produção de estróbilos pode ser observada antes dos 15 anos de idade. Porém, somente após os 20 anos, um número significativo de árvores das populações naturais havia iniciado a produção de estróbilos (Mattos, 2011; Comunicação pessoal<sup>1</sup>). Variações significativas na fenologia reprodutiva são reportadas tanto para os estróbilos femininos quanto para os masculinos. Isso se deve à ampla área de ocorrência natural da espécie, com consequentes diferenças ambientais, bem como variações genéticas entre e dentro de populações.

Os estróbilos masculinos e femininos são produzidos anualmente (Solórzano-Filho, 2001), sendo que a emissão dos masculinos ocorre de fevereiro a outubro, e dos femininos ocorre antes desses, apesar de serem mais visíveis a partir dos meses de maio e julho (Solórzano-Filho, 2001; Sousa; Hattemer, 2003b; Mantovani et al., 2004). Portanto, durante alguns meses, as estruturas reprodutivas masculinas estão ausentes (Solórzano-Filho, 2001). Os estróbilos masculinos surgem em ramos jovens, sendo que esses não emitirão novos estróbilos no ano seguinte (Mantovani et al., 2004). Os estróbilos imaturos apresentam eixo longitudinal e reto variando de 10 cm a 15 cm, mudando de cor durante a maturação, de verde para amarelado/acastanhada, e o eixo longitudinal do estróbilo torna-se curvado. A maturação do estróbilo se dá de agosto a outubro com a liberação total do pólen (Solórzano-Filho, 2001; Sousa; Hattemer, 2003b; Mantovani et al., 2004; Mattos, 2011).

Os ginoestróbilos (estruturas reprodutivas femininas) são observados durante todo o ano, em vários estágios de desenvolvimento. Além disso, apresentam coloração verde durante todo o ano, de diferentes tamanhos (Shimoya, 1962). Na mesma árvore, podem ocorrer ginoestróbilos em três estágios: não visível, brácteas abertas e prontos para receber pólen, em período de polinização, e brácteas fechadas em maturação. Em novembro, ocorre a indução de novos ginoestróbilos (estágio não visível). A polinização em Santa Catarina ocorre entre os meses de agosto e setembro, quando as escamas do estróbilo feminino se encontram abertas, propiciando a entrada do pólen (Mantovani et al., 2004). No Paraná, as polinizações ocorrem, geralmente, em outubro, podendo variar entre anos e árvores. Nos anos mais secos o período de polinização é mais curto, enquanto que, nos anos com alta pluviosidade, o período de polinização se estende por até três meses (Sousa; Hattemer, 2003b).

Após a polinização, os estróbilos apresentam lento incremento de diâmetro, durante 10 a 13 meses (Mantovani et al., 2004, Rogge Renner et al., 2017; Goeten et al., 2020). Durante este período

<sup>1</sup> Dados de pesquisa não publicados referentes ao período de 2015 a 2021 da pesquisadora Ananda Virginia de Aguiar da Embrapa Florestas, Colombo, PR.

ocorre o desenvolvimento das arquegônias que serão fecundadas somente entre 13 a 14 meses após a polinização, sendo que durante este período o pólen permanece dormente na base da micrópila (Goeten et al., 2020). Imediatamente após a fertilização, nos últimos 13 a 15 meses, os estróbilos apresentam um rápido incremento em diâmetro (Shimoya, 1962; Rogge Renner et al., 2017; Goeten et al., 2020). A fertilização de inúmeras arquegônias resulta na formação de poliembriões, mas somente um dos embriões se desenvolve e permanece na semente madura (Rogge Renner et al., 2013; Goeten et al., 2020). Após a polinização ocorrida em agosto e setembro, os pinhões atingem a maturação em 18 a 20 meses, de março a junho do segundo ano, ou até mais tarde, 24 meses, em algumas variedades (Reitz; Klein, 1966; Anselmini et al., 2006; Goeten et al., 2020) (Figura 4). Em estudo realizado em casa de vegetação, em Minas Gerais, observou-se que o ciclo reprodutivo de *A. angustifolia* dura entre 30 a 32 meses a partir da polinização (Shimoya, 1962) e, aproximadamente, 48 meses da diferenciação do botão reprodutivo à liberação de sementes (Figura 6). Em sítios da região Sul, como em Colombo, PR, tem sido observada produção de pinhões iniciando-se em fevereiro e atingindo o pico máximo entre abril e junho. Nas regiões onde ocorre um grande número de variedades da espécie, esse evento pode ser observado de fevereiro a dezembro. Esse assunto é abordado em outro capítulo do presente livro. Além disso, há grande possibilidade de que as variações observadas no ciclo reprodutivo ocorram por influência de fatores ambientais (Mantovani et al., 2004).

Fotos: Amanda Virgínia de Aguiar (A);  
Valdêres Aparecida de Sousa (B)



**Figura 6.** Pinha (A) e pinhões de *Araucaria angustifolia* (B).

As sementes são formadas a partir de óvulos nus, apresentando tegumento duro e o megagametófito (“endosperma”) com alto teor de aminoácidos e cerca de 55% de amido (Carvalho, 2002). Essas são carnosas e apresentam dimensões médias de 3 cm a 8 cm de comprimento, de 1 cm a 3,5 cm de largura e 8,7 g de peso médio (Reitz; Klein, 1966; Carvalho, 2002). Como são recalcitrantes, as sementes perdem a viabilidade sob redução da umidade para 38% (Eira et al., 1994, Farias-Soares et al., 2013). Os cones são produzidos nos ramos primários e secundários ou em ambos, sendo a produção incrementada quando ocorrem em ambos os ramos (Danner et al., 2013). A produção média de pinhas varia de 1,3 a 20 por árvore, em condições de florestas e experimentos (Figura 6) (Mantovani et al., 2004; Silva; Reis, 2009; Figueiredo Filho et al., 2011). Médias de 13 pinhas/árvore a 19,5 pinhas/árvore foram registradas por Mantovani et al. (2004) nos anos de 2001 e 2002, em talhões com 60 anos de idade estabelecidos em Campos do Jordão, SP, 5,6 pinhas/árvore foram relatadas por Vieira-da-Silva e Reis (2009), 20,4 pinhas/árvore por Figueiredo Filho et al. (2011) e 40 pinhas/árvore a 49,5 pinhas/árvore por Mattos (2011). No entanto, é possível encontrar araucária



produzindo até 280 pinhas. Adicionalmente, Zechini et al. (2012) observaram uma variação de 0 pinhas/árvore a 232 pinhas/árvore. Todavia, casos excepcionais são reportados tal como o de Caçador, SC, em que uma única árvore foi observada produzindo aproximadamente 700 pinhas (<https://globoplay.globo.com/v/4186307/>).

Dados observados sobre o comprimento médio das pinhas também é variável. Zechini (2012) registrou média de 15,5 cm no comprimento das pinhas, com massa fresca de 1,584 kg/pinha e 83 pinhões por pinha, variando de 19 a 143 (Zechini, 2012). Já Mattos (2011) observou números médios de 90 a 92 pinhões por pinha, variando de 2 a 198 pinhões. Guerra et al. (2002) relataram produção satisfatória de pinhão como sendo 75 kg/árvore.

A produção de estróbilos e sementes depende de diversos fatores, dentre os quais a idade do povoamento, o ano de produção, condições do povoamento, densidade populacional, número de árvores femininas em reprodução, número de doadores de pólen, condições edafoclimáticas, fatores genéticos, fisiológicos e ambientais, ataque de pragas, dentre outros (Mattos, 2011). Umidade do ar, a direção e a intensidade dos ventos são fatores ambientais que afetam a polinização. Adicionalmente, tratos silviculturais podem desempenhar papel primordial na produção de estróbilos e sementes. Os fatores genéticos são evidentes como determinantes na variação da produção de sementes, conforme evidenciado pelas variações entre procedências e, também, entre e dentro de progênies. Maior produção de estróbilos foi observada na réplica de um teste de procedências e progênies em Colombo, PR que aquela ocorrida em Itapeva, SP (Silva, 2016; Machado, 2018). Segundo esses autores, a falta de manejo, incluindo desbaste seletivo e adubação, bem como as condições edafoclimáticas no teste de Itapeva, por ser uma região limítrofe de ocorrência da espécie (Itapeva), são apontados como os principais fatores que podem ter influenciado negativamente na produção de estróbilos, tanto masculinos quanto femininos e, conseqüentemente, afetando também a produção de sementes. Mantovani et al. (2004) observaram variação de 30% na produção de sementes de um ano para o outro, em uma população específica. Segundo Mattos (1994), alta produção de sementes em araucária ocorre por dois ou três anos consecutivos, seguidos de dois a três anos de baixa produção.

A densidade populacional é um dos importantes fatores que afetam a produção de estróbilos e, conseqüentemente, de pinhas (Guerra et al., 2002; Paludo, 2013). Vários autores têm apontado uma maior produção de sementes ocorrendo em campos abertos do que em florestas, especificamente, em áreas de capão, onde se tem uma maior concentração de árvores femininas e menor densidade de árvores (Paludo, 2013). A quantidade de árvores por hectare é muito variável em alguns locais da região Sul, como em Santa Catarina, onde se observou de 1 indivíduo ha<sup>-1</sup> a 200 indivíduos ha<sup>-1</sup> (Reitz et al., 1978). Zechini (2012) e Figueiredo Filho et al. (2011) registraram médias entre 39,5-42,5 plantas por hectare, nos estados de Santa Catarina e Paraná.

Zechini et al. (2012) sugeriram que a araucária tende a aumentar a produção de pinhas à medida em que aumenta o diâmetro médio à altura do peito (DAP), como reflexo da idade, podendo ser a classe diamétrica um indicativo da produção média anual de uma determinada população. Essa possibilidade foi sugerida com base na correlação positiva e significativa ( $r = 0,97$ ) entre classes de diâmetro e a produção média de pinhas, durante três anos, em quatro populações. A menor e a maior produções anuais foram de 8,5 pinhas árvore<sup>-1</sup> e 40,6 pinhas árvore<sup>-1</sup> por ano, para as classes de diâmetro variando de 25 cm a mais de um metro de DAP. A expectativa lógica é de que a produção de sementes dessa espécie se eleve com o aumento na classe diamétrica (25 cm a 100 cm), o que ocorre com o aumento da idade (Zechini, 2012).



Os fatores genéticos desempenham um papel primordial na produção de pinhas e sementes. Tem sido observadas variações nesse aspecto entre populações, progênies e indivíduos (Mantovani et al., 2004; Silva; Reis, 2009; Nardin, 2010; Mattos, 2011; Adan, 2013). A ciclicidade na produção de sementes em populações foi reportada por Mantovani et al. (2004) e em floresta contínua de araucárias em Campos do Jordão, SP, por Silva e Reis (2009), Nardin (2010), Figueiredo Filho et al. (2011), Mattos (2011), Adan (2013). No entanto, Zechini et al. (2012) verificaram uma estabilidade na produção ao longo dos anos, quando diversas populações foram consideradas. Isso explica a alternância entre alta e baixa produção de sementes entre árvores, resultando na compensação e estabilidade verificada no povoamento durante o mesmo evento e população. Assim, não se pode confirmar a alternância de anos de alta e baixa produção geral, visto que tais oscilações ocorrem apenas em níveis individuais e populacionais locais.

Em condições naturais, os fatores genéticos que afetam a produção de pinhão são confundidos com os ambientais. Portanto, a seleção de indivíduos mais produtivos nessas condições não é garantia de alta produção nas gerações subsequentes. Para se obter sucesso com a seleção de indivíduos de alta produção, é necessário realizar testes de procedências e, ou progênies para comprovar o valor genético das árvores selecionadas e obter avanço no melhoramento genético das populações.

Apesar da importância socioeconômica da araucária, a maneira extrativista e mal conduzida como esse produto vem sendo explorado pode gerar impactos ambientais negativos, tanto em nível genético quanto em nível da cadeia alimentar. Portanto, programas de melhoramento genético para atender os quesitos básicos da demanda, como produzir pinhões maiores e em maior quantidade ao longo dos anos, podem contribuir para reduzir o efeito negativo da alta demanda e definir um mercado mais estável para esse produto.

## Avanços e estratégias de conservação genética

Para a araucária, têm sido adotadas estratégias de conservação genética *in situ* e *ex situ*. A estratégia *in situ* é muito importante para assegurar a evolução natural da espécie. Porém, a sua implementação é a mais conflitante e dispendiosa devido ao fato das Florestas com Araucária ocorrerem em regiões onde o desenvolvimento econômico é mais acelerado. Nesse tipo de conservação para araucária, destacam-se as Unidades de Conservação (UCs) para a conservação *in situ* da araucária (Shimizu, 2007; Danner et al., 2012; Montagna et al., 2012). Todavia, os custos de estabelecimento e de manutenção têm limitado a expansão dessas áreas. De maneira geral, a implementação de um programa de conservação *in situ* requer o estabelecimento de mecanismos de gestão territorial eficientes, sem prejuízo ao crescimento econômico (Pires et al., 2012).

Remanescentes de Florestas com Araucária encontram-se nas UCs e, também, em inúmeros fragmentos florestais naturais, de tamanhos variados, em propriedades rurais privadas e de instituições públicas. Devido à dificuldade no estabelecimento de uma maior quantidade de UCs, tem sido recomendada a consideração dos pequenos fragmentos remanescentes de araucária para o incremento do *pool* gênico. A manutenção de fragmentos menores é importante na conservação *in situ* (Shimizu, 2007; Danner et al., 2012; Lacerda, 2016; Medina-Macedo et al., 2016), sendo fundamental o envolvimento dos produtores rurais, inclusive de pequenos proprietários, para consolidar a formação de corredores da biodiversidade. Reis et al. (2018), estudando populações de araucária em áreas de pequenos agricultores, notaram que a diversidade genética foi alta na maioria das propriedades e o grupo das populações funcionou como uma metapopulação. No entanto, a efetividade dos fragmentos florestais na conservação do *pool* genético da araucária





depende da manutenção do fluxo gênico, para evitar que a fragmentação populacional tenha efeitos negativos na evolução da espécie (Stefenon et al., 2008c). Nesse sentido, a importância dos corredores da biodiversidade é destacada em diversos trabalhos de conservação (Bittencourt, 2007; Shimizu, 2007; Stefenon, 2011; Danner et al., 2012). Vale considerar ainda que os fragmentos de araucária ocorrem, frequentemente, em formações mistas, juntamente com espécies folhosas e densos sub-bosques que dificultam a regeneração natural da espécie (Shimizu et al., 2000) e a sua conservação *in situ*.

Para a conservação efetiva dos remanescentes nativos, é importante o conhecimento de parâmetros tais como: diversidade genética, fluxo gênico, autoecologia, estrutura de populações, sistema reprodutivo, qualidade de sementes, índices de parentesco, características demográficas e geográficas, índices de diversidades (Bittencourt, 2007; Valgas et al., 2009; Stefenon, 2011; Lacerda, 2016; Medina-Macedo et al., 2016; Montagna et al., 2019) (Tabela 3), como subsídios técnicos na tomada de decisões.

**Tabela 3.** Diversidades genéticas de populações naturais de *Araucaria angustifolia* avaliadas em diferentes localidades brasileiras, obtidas com base em marcadores moleculares e bioquímicos.

Referências	Marc	Pop.	Locos	Ind.	R	$A_e$ (M)	$H_t$	$H_e$	$H_o$	F
Auler et al. (2002)	Iso	9	21					0,08	0,15	
Sousa et al. (2004)	Iso	13	7					0,13	0,13	
Ferreira (2008)	Iso	4	17	50				0,13	0,07	0,440
Ferreira (2008)	Iso	4	17	50				0,13	0,08	0,360
Zechini et al. (2018)	Iso	6	10	325		23-26 (25)		0,74	0,72	0,021
Salgueiro et al. (2005)	SSR	3	8	60	49	3-11 (7,12)		0,34	0,31	0,146
Stefenon et al. (2008b)	SSR	6	5	384	73	7-21 (14,6)		0,71	0,58	0,110
Bittencourt e Sebbenn (2007)	SSR	1	8	617	77	4-16 (9,6)		0,59	0,51	0,158
Bittencourt e Sebbenn (2008)	SSR	1	8	298	62	3-15 (7,75)		0,58	0,55	0,058
Bittencourt e Sebbenn (2009)	SSR	1	8	1179	106	4-20 (13,25)		0,61	0,54	0,119
Patreze e Tsai (2010)	SSR	1	6	105	70	5-18 (11,7)		0,74	0,81	-0,089
Sant'Anna et al. (2013)	SSR	1	9	513	86	3-22 (9,56)		0,63	0,56	0,130
Medina-Macedo et al. (2015)	SSR	2	10	295	81	4-16 (8,1)		0,70	0,91	-0,310
Pádua (2015)	SSR	9	8	450	64	2-15 (8)		0,77	0,82	-0,067
Dal Bem et al. (2015)	SSR	1	8	158	77	-		0,08	0,08	0,030
Roque (2019)	SSR	1	11	48	120	3-22 (10,91)		0,74	0,72	0,021
Sousa et al. (2020)	SSR	12	15	120		4-18 (11,13)	0,68	0,67	0,61	0,070
Silva et al. (2020)	SSR	15	8					0,71	0,64	0,100
Silva et al. (2020)	SNP	15	2022					0,31	0,31	0,00
Medri et al. (2003)	RAPD							0,26		
Stefenon et al. (2008b)	AFLP	6	166				0,30			
Souza et al. (2009)	AFLP							0,27		
Inza et al. (2018)	AFLP	10	706	312			0,15	0,12		

Número de populações estudadas (Pop), Número de locos (Loci), Número de indivíduos (Ind.), Riqueza alélica (R), amplitude de alelo por locos (média de alelos por locos) ( $A_e$  (M)), heterozigosidade esperada ( $H_e$ ), heterozigosidade observada ( $H_o$ ) e Índice de fixação (F), Iso = Isoenzimas; AFLP = Polimorfismo de comprimento de fragmento amplificado; SSR = Repetições de sequência única; SNP = polimorfismo de nucleotídeo único; RAPD = Polimorfismo de DNA amplificado aleatoriamente.

A conservação *ex situ* empregada como complemento à conservação *in situ* é importante para manter a diversidade genética da espécie no seu habitat natural, em diferentes condições. As vantagens e desvantagens dessas duas estratégias têm sido analisadas em diversos trabalhos e



o principal aspecto é relacionado ao custo. A estratégia de conservação *ex situ* de sementes em laboratório (câmara fria) implica em baixos custos, aproximadamente 1% do custo da conservação *in situ*, principalmente no tocante à coleta, ao beneficiamento e transporte das sementes, dentre outros aspectos (Li; Pritchard, 2009). De acordo com esses autores, isso representa uma excelente relação custo-benefício, como se fosse uma boa apólice de seguro contra a perda irreversível das espécies no ambiente natural. A conservação *ex situ* funciona também como um backup de certas frações da diversidade que poderiam ser perdidas na natureza (Li; Pritchard, 2009). Todavia, as sementes de araucária são recalcitrantes e perdem a viabilidade em menos de um ano, não permitindo a conservação em bancos convencionais de sementes (Farias-Soares et al., 2013; Shibata et al., 2013; Goeten et al., 2020). Portanto, a cultura de tecidos constitui uma ferramenta importante para o melhoramento e conservação desse tipo de espécie (Stefenon et al., 2009, Steiner et al., 2020), bem como a criopreservação de linhagens celulares (Steiner et al., 2008; Demarchi et al., 2014) e de embriões zigóticos (Steiner et al., 2020). A conservação *ex situ* vem sendo realizada basicamente na modalidade de Bancos Ativos de Germoplasma (BAGs) e outros tipos de plantios. Os BAGs são recomendados com os objetivos de incrementar a viabilidade da espécie (Bittencourt, 2007; Stefenon et al., 2008c; Danner et al., 2012; Ferreira et al., 2012), conservar os recursos genéticos mediante uso (Danner et al., 2012) e restaurar o patrimônio genético (Montagna et al., 2019).

O plantio de araucária para exploração econômica de produtos não madeireiros é a maneira recomendada para a conservação (pelo uso) do recurso genético dessa espécie. Esses plantios, em geral, são representativos da variabilidade encontrada em uma população nativa contínua. Sousa (2001) verificou que os índices de diversidade não diferem entre o material coletado na floresta nativa e em plantio aos 37 anos de idade, na Flona de Irati. Stefenon et al. (2008b) não notaram diferenças significativas entre as medidas de diversidade genética com dados de AFLP (*Amplified Fragment Length Polymorphism*) e SSRs (*Single Sequence Repeats* - microssatélites) de populações naturais e plantadas. Vieira (2017) verificaram que tanto as árvores nativas quanto plantadas, indiferentemente, apresentaram características que justificam os esforços para a sua conservação. Portanto, recomenda-se que os plantios sejam estabelecidos com material apresentando ampla variabilidade genética, usando-se sementes devidamente amostradas ao serem indicadas para a conservação pelo uso (Danner et al., 2012). Machado (2018) demonstrou que a conservação pelo uso é uma estratégia viável, tanto tecnicamente quanto economicamente. Além disso, Stefenon (2011) ressalta que os plantios com material genético bem amostrado contribuem para o enriquecimento de populações de áreas degradadas. No entanto, deve-se considerar que os plantios são estratégias complementares de conservação, não garantindo o suprimento das necessidades para futuros programas de conservação, melhoramento e uso (Sousa; Aguiar, 2012).

O enriquecimento de BAGs também se configura como medida estratégica importante para reduzir os riscos de extinção da araucária. Essa medida protege o material genético representativo de suas populações e possibilita que esses sejam usados em programas de melhoramentos no futuro, incluindo genes alelos para adaptação às condições adversas decorrentes de mudanças climáticas e outros desafios que venham a surgir. A manutenção de bancos de pólen é uma opção interessante de conservar os genes alelos das plantas masculinas, que deve ser acompanhada do desenvolvimento de tecnologias de manuseio, armazenamento e testes de viabilidade dos pólenes. A Embrapa Florestas tem trabalhado nessas iniciativas.

As áreas para a coleta de sementes, visando à composição de novas populações, devem ser escolhidas com base em critérios técnicos e científicos. Montagna et al. (2019) consideraram



características genéticas, demográficas e geográficas para identificar áreas destinadas à coleta de sementes de araucária para a restauração.

É importante considerar os resultados de estudos de diversidade genética realizados com base em caracteres quantitativos e marcadores moleculares (Tabela 3), na definição das populações a serem conservadas ou amostradas, para compor bancos de germoplasma. O mesmo se aplica para definir os locais estratégicos para se estabelecer ensaios, identificar áreas de ocorrência natural e nicho ecológico que indique adequabilidade ambiental. Parâmetros genéticos como riqueza de genes alelos de interesse e diversidade genética (Tabela 3) podem ser utilizados como indicadores das populações que devem ser ou não priorizadas para a amostragem, visando à implantação de banco ativo de germoplasma, povoamentos florestais e identificar locais de coleta de propágulos (Tabela 3). Adicionalmente, para a conservação da espécie deve-se considerar o mapa de vulnerabilidade (Wrege et al., 2009, 2017), já que a araucária poderá ser afetada fortemente pelas mudanças climáticas, no futuro (Machado, 2018). Sousa et al. (2020) verificaram que os efeitos ambientais e, provavelmente, as forças evolutivas (fluxo gênico, migração, deriva genética, mutação e seleção) são importantes na modelagem das populações de araucária da região Sul e Sudeste do Brasil, havendo correlação entre os dados genéticos e o modelo de nicho.

Dada a expressiva divergência genética observada entre as populações do Sul e do Sudeste, segundo resultados de pesquisas conduzidas pela Embrapa Florestas e outras instituições públicas e privadas, pode-se inferir que a polinização interpopulacional entre indivíduos desses dois grupos gera riscos para as próximas gerações, devido aos efeitos negativos da depressão por exogamia (Young et al., 1996). Portanto, o manejo e a subsequente conservação desses dois grupos devem ser considerados independentemente. Logo, deve ser estabelecido um plano estratégico de conservação considerando a divergência e a diversidade genética das populações, com base em amostragem de um grande número de populações para preservar a variação genética suficiente à viabilização da adaptação da espécie. Assim, nas estratégias de conservação genética do germoplasma da araucária, propõe-se que dois grandes grupos (“Norte” e “Sul”) e as subdivisões do “Sul” (Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul) sejam amostradas e conservadas separadamente, para evitar o efeito de exogamia, diluição do efeito dos genes associados à adaptação e, ou rompimento dos complexos gênicos/alelos coadaptados e, ou divergência genética significativa entre genótipos, que contribuiriam para anomalias quando cruzados entre si (Shimizu, 2007).

A estratégia de conservação para a espécie deve considerar também as características climáticas regionais. As populações do Sudeste se encontram em um regime climático diferente das populações do Sul. O clima atual do Sudeste se assemelha aos cenários futuros mais prováveis no Sul, em função das mudanças climáticas (Wrege et al., 2017). Com o grau de divergência genética observado e a identificação de marcadores populacionais específicos nas populações do Sudeste (Silva et al., 2020; Sousa et al., 2020), é imprescindível conservar essas populações para assegurar o futuro da espécie, pois constituem um reservatório genético que já pode estar adaptado ao incremento da temperatura (Pye; Gadek, 2004) e a um período maior de déficit hídrico. Nesse sentido, deve-se também considerar estudos sobre o nicho ecológico e dados genéticos para nortear as coletas de sementes visando compor os bancos de germoplasma e de propágulos (sementes, tecidos vegetativos e polens), para o resgate de populações mais vulneráveis ou localizadas em regiões climáticas extremas. Modelos de nicho tal como o da araucária expressam o limite de ocorrência das espécies em determinado espaço geográfico (Sexton et al., 2009) e têm sido utilizados na coleta de espécies raras e daquelas ameaçadas de extinção (Menon et al., 2010) para orientar os trabalhos de sua conservação e uso. Esse tema é abordado no Capítulo 5 deste livro. Assim, o melhor entendimento sobre o ecossistema da araucária, bem como o acúmulo de mais



conhecimentos, principalmente, quanto à caracterização genética das populações naturais ainda não contempladas, representam uma valiosa base científica para orientar novas coletas e o enriquecimento da base genética para assegurar o avanço do seu melhoramento genético.

## Avanços e estratégias de melhoramento genético

Com a crescente demanda por materiais genéticos mais apropriados aos plantios comerciais e projetos ambientais, foi estabelecido um programa de melhoramento genético da araucária pela Embrapa Florestas e parceiros, voltado à qualidade genética para a produção de madeira e pinhão. Este programa visa incentivar o plantio de araucária com material mais produtivo, tanto em ensaios experimentais quanto em povoamentos comerciais e, assim, reduzir a pressão ambiental sobre os remanescentes naturais e, conseqüentemente, contribuir para a conservação da espécie.

O programa tem considerado ampla área de ocorrência natural da espécie e as suas especificidades, como o período diferenciado de produção de sementes (variedades), o lento desenvolvimento das estruturas reprodutivas (ciclo total em torno de quatro anos), a assincronia de produção de estruturas reprodutivas (estróbilos), a expressiva diversidade genética entre e dentro de populações e as duas grandes regiões de ocorrência natural da espécie (Sul e Sudeste) (Gurgel; Gurgel Filho, 1965, 1977; Baldanzi et al., 1973; Kageyama; Jacob, 1980; Monteiro; Speltz, 1980; Shimizu; Higa, 1980; Giannotti et al., 1982; Shimizu, 1999; Sebbenn et al., 2003a, 2003b, 2003c.; Sebbenn et al., 2004; Silva, 2016; Moares, 2017; Machado, 2018; Silva et al., 2018) e a proporção de plantas masculinas e femininas que devem ser mantidas nas áreas de produção de semente e para a conservação da variabilidade genética, dentre outros aspectos.

As ações de melhoramento da araucária na Embrapa Florestas foram iniciadas com a utilização de procedências e progênies estabelecidas na década de 1980, tanto em áreas de sua estrutura física em Colombo, PR, quanto na área de parceiros, tal como o Instituto Florestal de São Paulo (IF), dentre outros (Tabela 4) (Sousa; Aguiar, 2012). Os testes de procedências e de progênies contemplaram amostras de sementes de uma extensa área de ocorrência natural com maior densidade populacional da espécie (Figura 7). Esses testes foram estabelecidos em vários locais com o objetivo de identificar indivíduos superiores, quanto à produção de madeira e de pinhão, bem como promover recombinações entre possíveis raças geográficas e preservar a variabilidade genética (Sousa; Aguiar, 2012). Como as correlações entre os caracteres de crescimento (produção de madeira) e os de produção de pinhão oscilam de baixa a moderada (Zechini, 2012; Silva, 2016;), as duas propostas com diferentes objetivos de melhoramento estão sendo contempladas conjuntamente, somente nas primeiras gerações. Assim, em gerações mais avançadas ou para a formação de pomares de sementes, há a necessidade de se prosseguir com as duas propostas separadamente. Observações sobre a fenologia reprodutiva das árvores de diferentes procedências são imprescindíveis para o estabelecimento de populações base para ambas as finalidades, já que a recombinação entre indivíduos pode ser dificultada, bem como nas avaliações da produção de pinhão entre os indivíduos.

A base genética do programa de melhoramento tem sido incrementada com a introdução de indivíduos de novas populações naturais e selecionados fenotipicamente em ensaios experimentais, florestas naturais (fragmentos) e povoamentos comerciais. A Embrapa Florestas estabeleceu a partir de 2006, nos estados de Santa Catarina e Paraná, duas importantes e representativas populações bases oriundas de populações naturais de Minas Gerais, amostradas em Camanducaia e Barbacena, com cerca de 100 progênies de cada município (Figura 8).



**Tabela 4.** Materiais genéticos de diferentes procedências de *Araucaria angustifolia* estabelecidos em forma de testes, de procedências e, ou progênes e área de demonstração (Sousa; Aguiar, 2012).

Tipos de povoamento	Município	Data de plantio	Procedências (número de progênes)
APS	Ribeirão Branco, SP	Out-73	Vargem Grande do Sul, RS, Itatiaia, RJ, Campos do Jordão, SP, Bocaina, SP, Telêmaco Borba, PR, Campo Mourão, PR, Itapeva, SP, Cascavel, PR, Irati, PR, Quedas do Iguaçu, PR, Barracão, PR, Caçador, SC, Chapecó, SC, Passo Fundo, RS, São Joaquim, SC, Lauro Müller, SC, São Francisco de Paula, RS, Santa Maria, RS.
APS	Colombo, PR	Abr-80	Irati, PR, Telêmaco Borba, PR, Quatro Barras, PR, Três Barras, SC, Caçador, SC,
APS	Colombo, PR	Abr-80	Chapecó, SC (7 procedências), Quatro Barras, PR (10), Caçador, SC (9), Três Barras, SC (9), Itapeva, SP (10), Irati, PR (10), Campos do Jordão, SP (10), Itararé, SP (10), Congonhal, MG (6), Barbacena, MG (7), Ipiúna de Caldas, MG (14),
APS	Colombo, PR	Set-80	Irati, PR, Quatro Barras, SC, Chapecó, SC, Três Barras, SC, Teixeira Soares, PR, Caçador, SC, Telêmaco Borba, PR.
TPP	Itapetininga, SP	1981	Barracão, SC (9), Curitibaanos, SC (16), Guarapuava, PR (9), São João do Triunfo, PR (12), Ipiúna de Caldas, MG (10), Campestre, MG (4), Pinhão, PR (10)
TProc	Itararé, SP	Jan-74	Barbacena, MG (9), Ipiúna de Caldas, MG (14), Congonhal, MG (6), Lambari, MG (5), Vargem Grande do Sul, SP (5), Camanducaia, MG (7), Campos do Jordão, MG (9), Itapeva, SP (9), Itararé, SP (10), Irati, PR (7), Irati (Tardio, coleta conduzida ao final da produção de sementes), PR (10), Quatro Barras, PR (9), Caçador, SC (4), Chapecó, SC (9) e Três Barras, SC (10)
TP	Ponta Grossa, PR	Nov-06	Barbacena, MG (102 progênes)
AD	Campo Belo do Sul, SC	Nov-07	Camanducaia, MG (103 progênes)
TP	General Carneiro, PR	Mar-09	General Carneiro, PR (77 progênes)
TP	Ponta Grossa, PR	Mai-11	Teste de progênes de segunda geração (16 progênes das APSs de Colombo)
TP	Curitibaanos, SC	Abr-11	Teste de progênes de segunda geração (33 progênes das APSs de Colombo)
TP	Macieira, SC	Jul-18	Teste de progênes de segunda geração (16 progênes das APSs de Colombo)
TP	Curitibaanos, SC	Jul-18	Teste de progênes de segunda geração (30 progênes da APSs de Colombo)
TP	Colombo, PR	Jul-17	Teste de variedades de araucária (12 progênes coletadas pela UTFPR)

APS: Área de produção de sementes; PSM = Pomar de Sementes por Mudanças; TP = Teste de Progênes; TPP: Teste de Procedências e Progênes.

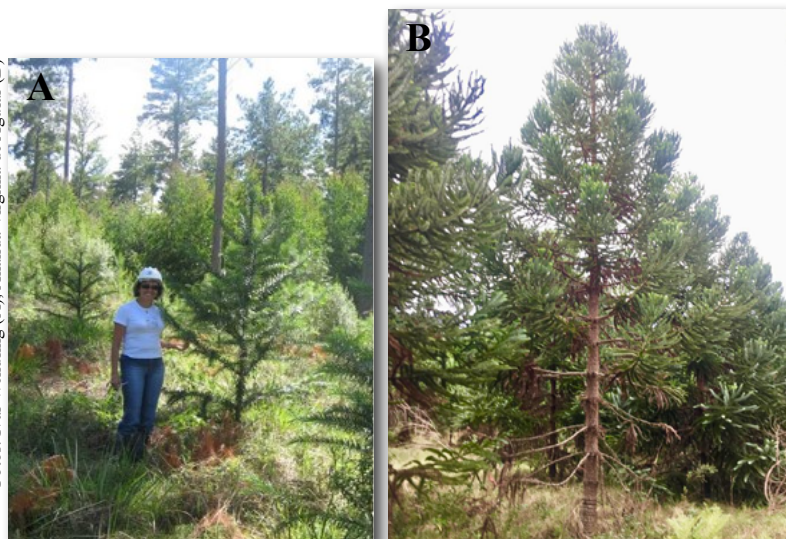


Fotos: Ananda Virginia de Aguiar



**Figura 7.** Testes de procedências e progênies de *Araucaria angustifolia* estabelecidos na década de 1980, nos municípios de Colombo, PR (A e B) e Itapeva, SP (C e D).

Fotos: Ivar Wendling (A); Ananda Virginia de Aguiar (B)

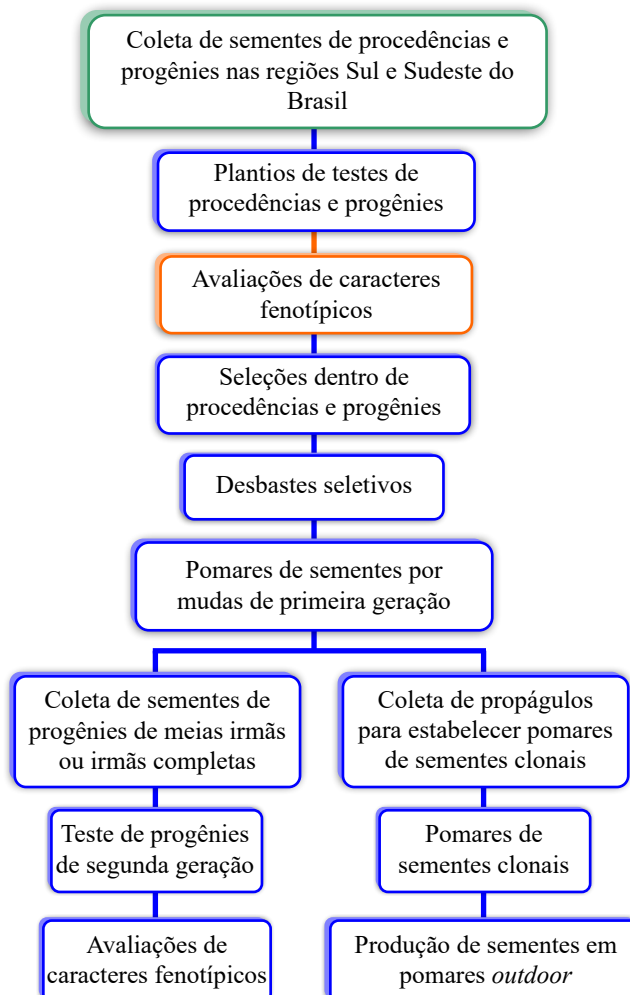


**Figura 8.** Populações base de *Araucaria angustifolia* procedentes de Camanducaia e Barbacena, MG, estabelecidas nos municípios de Campo Belo do Sul, SC e Ponta Grossa, PR.



As caracterizações de populações naturais nos âmbitos genético, fenotípico e ambiental também têm sido priorizadas, principalmente aquelas do Rio Grande do Sul que não estão contempladas nos BAGs e, portanto, devem ser incluídas no material do programa conduzido pela Embrapa Florestas, bem como materiais genéticos de outros locais envolvendo os materiais de reflorestamentos ou de testes estabelecidos na década de 1970 (Wrege et al., 2017). Adicionalmente, testes com diferentes variedades de araucária vêm sendo estabelecidos na Embrapa Florestas. A composição de uma população de ampla base genética será usada em programas de conservação e melhoramento genético, no curto e longo prazos. Esses materiais também são importantes e estratégicos para a conservação genética da espécie, sendo representados pelos BAGs de conservação *ex situ*.

A estratégia de melhoramento adotada para *A. angustifolia* tem sido a seleção recorrente intrapopulacional, com seleção de matrizes de alto valor genético para a produção de madeira e pinhão, em testes de procedências e progênes, com o propósito de formar pomares de sementes por mudas e pomares clonais (Figura 9). Embora híbridos de araucária já tenham sido produzidos entre *A. araucana* e *A. angustifolia*, visando combinar as características favoráveis de cada espécie para atender a demanda do mercado de madeira e pinhão e suprir as necessidades de médios e pequenos produtores que, normalmente, não têm acesso às sementes de qualidade (Sousa; Aguiar, 2012), no Brasil, ainda não foi adotada a seleção recorrente recíproca, visando à formação de híbridos interespecíficos.



**Figura 9.** Esquematização do programa de melhoramento genético de *Araucaria angustifolia* conduzido pela Embrapa Florestas e instituições parceiras.



Dois tipos de híbridos interespecíficos de araucária foram obtidos na década de 1952: entre as duas espécies de araucária da América Latina na Argentina (*A. angustifolia* x *A. araucana* e *A. araucana* x *A. angustifolia*) (Tesdorff, 1956). Segundo este autor, com a polinização de 77 estróbilos femininos de *A. araucana* com pólen de *A. angustifolia*, foram obtidas 429 sementes e 68 mudas; do cruzamento recíproco de 143 estróbilos femininos de *A. angustifolia* foram obtidas somente três mudas devido às perdas de ramos pela ocorrência de ventos. Em ambos os tipos de cruzamentos, predominaram as características da espécie da árvore mãe. Isso sugere que o efeito da herança maternal deve ser melhor estudado na família Araucariaceae.

As atividades realizadas nas últimas três décadas ao programa de melhoramento genético implementado pela Embrapa Florestas e seus parceiros encontram-se resumidas na Figura 10. No geral,

- ➔ 1972 e 1973 Coleta de sementes de 18 procedências (locais) de araucária em vários Estados de ocorrência natural.
- ➔ 1973 e 1974 Implantação de testes de procedências e progênes de araucária em Ribeirão Branco, SP e Itapetininga, SP.
- ➔ 1979 Coleta de sementes de 16 procedências e mais de 100 progênes de araucária, em vários Estados de ocorrência natural.
- ➔ 1980 e 1981 Implantação de testes de procedências e progênes de araucária em Colombo, PR e Itararé, SP.
- ➔ 1975 a 1996 Avaliações fenotípicas nos testes implantados nos estados de São Paulo e Paraná.
- ➔ 2000 a 2002 Desbaste seletivo dos testes de procedências e progênes de araucária em Colombo, PR.
- ➔ 2005 Coleta de sementes de araucária em Barbacena, MG e Camanducaia, MG.
- ➔ 2006 a 2007 Implantação de testes de progênes de araucária em Monte Belo do Sul, SC e Ponta Grossa, PR.
- ➔ 2009 e 2010 Coleta de sementes e implantação dos testes de progênes de araucária em General Carneiro, PR.
- ➔ 2010 e 2011 Coleta de sementes de araucária nas APS em Colombo, PR.
- ➔ 2011 Implantação de testes de progênes de segunda geração de araucária em Ponta Grossa, PR, e Curitiba, SC.
- ➔ 2011 Caracterização genética de germoplasma de araucária das APS de Colombo, PR, com base em marcadores genéticos.
- ➔ 2012 a 2021 Implantação de novos testes de progênes de segunda geração de araucária em Itapeva, SP, Curitiba, SC e em outros municípios das regiões Sul e Sudeste.
- ➔ 2012 a 2023 Desenvolvimento de marcadores SNPs e identificação de genótipos mais produtivos e divergentes, a partir da seleção genômica ampla.
- ➔ 2012 a 2023 Desenvolvimento de protocolos para a propagação vegetativa e criopreservação de araucária.
- ➔ 2008 em curso Avaliação dos testes de progênes de Monte Belo do Sul, SC, General Carneiro, SC, Ponta Grossa, PR, Curitiba, SC e Colombo, PR.
- ➔ 2017 a 2023 Obtenção de genótipos elite (primeira e segunda gerações) das APS de araucária de Colombo, PR e Curitiba, SC.
- ➔ 2021 a 2025 Aplicação de ferramentas genômicas para a identificação de marcadores (genes) relacionados ao dimorfismo sexual em plantas jovens.

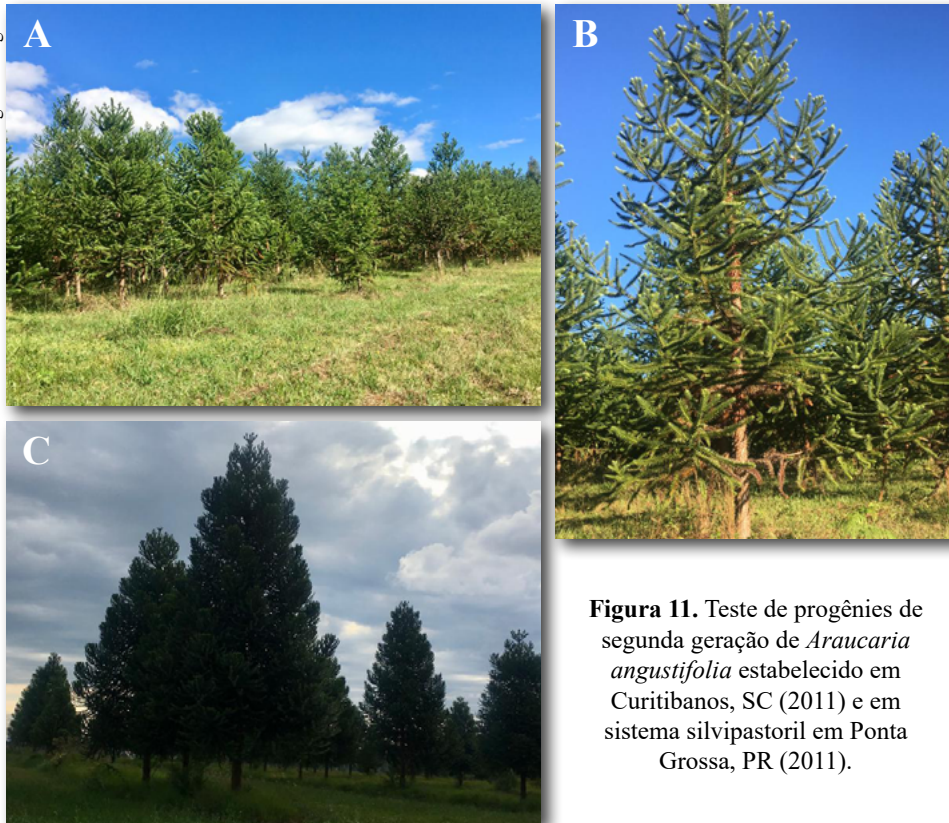
**Figura 10.** Linha do tempo dos principais eventos do programa de conservação e melhoramento de *Araucaria angustifolia* realizados e previstos no programa da Embrapa Florestas e parcerias.





foram executados desbastes seletivos, com base no volume de madeira, em parte dos testes de procedências e progênies estabelecidos na década de 1980, para formar áreas de produção de sementes (APS). As sementes produzidas nessas APS estão sendo usadas para estabelecer os testes de segunda geração, em diferentes regiões do Paraná e de Santa Catarina, bem como a concepção de pomares clonais *indoor* e *outdoor*, e para compor sistemas de produção silvipastoril (Figura 11), dentre outros.

Fotos: Amanda Virginia de Aguiar



**Figura 11.** Teste de progênies de segunda geração de *Araucaria angustifolia* estabelecido em Curitiba, SC (2011) e em sistema silvipastoril em Ponta Grossa, PR (2011).

Os testes de progênies de segunda geração, em Curitiba, SC (plântio homogêneo), em Ponta Grossa, PR (sistema silvipastoril) em 2011 e Macieira, SC, estabelecidos com sementes das APS de Colombo, estão apresentando médias produtivas e controle genético significativos em volume de madeira (Figura 11). Novos testes de progênies, com as sementes das APS, serão estabelecidos em diversos locais de ocorrência da espécie, com o apoio de empresas privadas, produtores rurais e instituições de pesquisa.

Os métodos e as intensidades de seleção têm sido definidos com base no potencial produtivo e nos ganhos genéticos mediante seleção, observados nos ensaios experimentais. De maneira geral, o controle genético na araucária é altamente variável, conforme verificado com base nos coeficientes de herdabilidade que têm oscilado entre 0,00 e 0,64 (Sebbenn et al., 2004; Silva, 2016; Moraes, 2017; Machado, 2018; Silva et al., 2018). Kageyama e Jacob (1980) também obtiveram coeficientes de herdabilidades individuais no sentido restrito altamente variáveis para os caracteres de crescimento altura (0,00 a 0,56) e diâmetro à altura do peito (0,03 a 0,64), para três procedências de *A. angustifolia*, aos 3,5 anos de idade, em Campos do Jordão, SP. Sebbenn et al.



(2003b) observaram coeficientes de herdabilidade individual baixos para DAP (0,06), altura (0,05) e volume de madeira (0,05), em um teste de procedências e progênies, aos 21 anos de idade, em Itapeva, SP. Machado (2018) constatou que um maior controle genético para crescimento foram observados nas procedências de Cunha, SP, Bom Jardim, SC e Campos do Jordão, SP do que nas procedências de São Joaquim, SC e Itararé, SP, sendo que aquelas de Cunha e Itararé apresentaram as melhores médias de crescimento. Ganhos genéticos expressivos para caracteres de crescimento também foram confirmados por outros vários autores (Sebbenn et al., 2004; Silva, 2016; Moraes, 2017; Machado, 2018; Silva et al., 2018). Os indivíduos com melhor desempenho em crescimento devem ser priorizados para compor as populações de melhoramento visando aumentar o ganho genético.

O potencial produtivo da araucária para pinhão também vem sendo mensurado, tanto em populações naturais quanto em testes de procedências e progênies (Do Carmo et al., 2015; Silva, 2016; Silva et al., 2018,) e, um aspecto a considerar é que variações entre plantas quanto à massa das sementes se devem, principalmente, ao efeito materno, visto que o megagametófito é de origem materna (Mantovani et al., 2004). Diante dos desafios encontrados para os acompanhamentos e as avaliações desses caracteres, trabalhos para melhorar a produção e a qualidade de pinhões requerem esforços colaborativos envolvendo apoio de produtores rurais e empresas. Portanto, é imprescindível a participação de um grande número de pessoas na identificação de matrizes e acompanhamento dos eventos reprodutivos, o que caracteriza como melhoramento participativo. Ademais, grande parte dos fragmentos florestais com araucárias se encontram em propriedades privadas e, normalmente, os produtores rurais já conhecem os pinheiros mais produtivos em suas áreas. Todavia, até o momento, o envolvimento de comunidades que utilizam os produtos e subprodutos desta espécie como fonte alternativa de renda não tem sido adequadamente explorado no melhoramento genético para produção de pinhão.

Como grande parte da produção de sementes comercializada é proveniente da exploração de florestas naturais ou de pequenos plantios, a incorporação das raças/variedades locais em sistemas produtivos de pequenos produtores poderá contribuir para ampliar o período de coleta de pinhão, atendendo melhor ao mercado consumidor e às demandas de semente para plantio.

O melhoramento genético participativo (MGP) é uma abordagem aplicada, principalmente para espécies de valor social, ambiental e econômico para a comunidade rural, como a araucária. Essa abordagem é pautada também na conservação pelo uso ou conservação *on farm* (conservação sob cultivo na propriedade), que almeja também valorizar e viabilizar a utilização dos produtos não madeiráveis, como o pinhão. Assim, essa abordagem é muito interessante para a araucária, no quesito produção de pinhão.

No programa de melhoramento genético da araucária, vêm sendo consideradas as variedades identificadas para uso em cruzamentos controlados, com vistas à obtenção de genótipos mais produtivos e com períodos mais estendidos de produção de sementes ao longo do ano.

Estudos genéticos realizados com as variedades de araucária: ponta-branca, pinhão macaco e são josé, foram conduzidos pela Embrapa Florestas, em parceria com a empresa Remasa, em Bituruna, PR (Sousa et al. 2010c). Nessas pesquisas, além de envolver a caracterização, foram abordadas também as questões sobre polinizações controladas entre as referidas variedades. Polinizações controladas entre indivíduos de progênies de diferentes procedências de araucária também vêm sendo realizadas nas APS de Colombo, PR. Na próxima etapa do projeto de melhoramento genético, dar-se-á continuidade às polinizações controladas entre variedades e a geração de híbridos com *A. araucana*, visando a adaptação em novos ambientes, frente às mudanças climáticas globais.



Do híbrido *A. angustifolia* x *A. araucana*, poderão surgir combinações de características de tolerância aos solos pobres (oriundas de *A. araucana*) com maior produtividade de madeira (oriunda de *A. angustifolia*). A similaridade cariotípica entre essas espécies foi observada por Bandel (1970) e enfatizada por Setoguchi (1988), Escapa e Catalano (2013) e Hizume e Kan (2015) e a possibilidade da produção de híbridos interespecíficos foi indicada por Vidakovic (1991). Apesar da compatibilidade genética entre essas espécies, a não ocorrência de híbridos naturais é óbvia pela distância geográfica entre os locais de ocorrência delas. *A. araucana* é natural das regiões áridas do Chile e Argentina, enquanto que *A. angustifolia* ocorre na Floresta Ombrofila Mista, em sua maior parte no Planalto Sul do Brasil.

Com base nos resultados de pesquisas conduzidas até então realizadas com *A. angustifolia*, por instituições públicas e privadas, para o melhoramento propõe-se que indivíduos amostrados nos grandes grupos (“Norte” e “Sul”) e subdivisões do Sul do Brasil sejam reproduzidos e mantidos em um mesmo espaço físico, de maneira que cruzamentos, tanto aqueles obtidos por polinizações livres quanto aqueles controlados entre indivíduos mais distantes, possam ocorrer, visando à exploração da heterose e incorporação de genes alelos que promovam melhor adaptação a regiões específicas.

As mais recentes gerações de melhoramento de araucária vêm sendo estabelecidas em vários sítios para que o efeito da interação genótipo x ambiente possa ser estimado, visto que a espécie é muito sensível às condições edafoclimáticas. Este efeito poderá ser estimado para diferentes caracteres relacionados à produção de madeira e pinhão.

## Tecnologias aplicadas ao melhoramento genético

Várias tecnologias vêm sendo empregadas no melhoramento e na conservação genética da espécie, tais como: a clonagem via enxertia, a indução de florescimento precoce, o emprego da seleção genômica para reduzir o ciclo de melhoramento genético, o estabelecimento de pomar *indoor* e *outdoor* para a polinização controlada, criopreservação das sementes, dentre outras. Espera-se que essas ferramentas tecnológicas contribuam de maneira eficiente para reduzir o ciclo de melhoramento da espécie, que é aproximadamente 30 anos.

As técnicas genômicas, conforme já mencionado, têm sido aplicadas nos programas de conservação e melhoramento genético da araucária (Resende et al., 2014; Silva et al., 2020), podendo propiciar avanços, especialmente no que diz respeito ao entendimento da variabilidade genética entre e dentro de populações naturais, da diferenciação entre variedades e raças locais, da identificação sexual em idade precoce e da fisiologia do plagiotropismo positivo. No futuro, acredita-se que o uso de tecnologias mais avançadas, como a edição genômica, exemplo a CRISPR/Cas9 que tem sido utilizada em *Pinus radiata* (Poovaiah et al., 2020), poderá ser aplicada para outras espécies de interesse, considerando características de interesse, tais como a indução de florescimento precoce, maior produção de estróbilos femininos, dentre outras.

Encontra-se em curso, em parceria com a Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia (Embrapa Cenargen) e com o Instituto Florestal de São Paulo (IFSP), a adoção de marcadores moleculares SNPs (*Single Nucleotide Polymorphism*). Um dos objetivos de aplicação desses marcadores é para a seleção de genótipos mais produtivos em madeira e pinhão (Silva et al., 2020), em idade precoce, visando reduzir a duração dos ciclos de melhoramento e acelerar o programa de seleção recorrente. Para isso, dados de caracteres fenotípicos (volume de madeira e forma) e de propriedades físicas e químicas da madeira estão sendo utilizados para o desenvolvimento de modelos preditivos de



seleção genômica ampla (SGA), conforme sugerido por Resende et al. (2008). O teste de procedências e progênies de Itapeva, SP, estabelecido em 1980, vem sendo usado como população piloto. Os modelos desenvolvidos contribuirão para acelerar o programa de seleção recorrente da espécie.

As estimativas de correlações genéticas e fenotípicas entre os caracteres de crescimento, mensurados em idades juvenis e adultas, poderão ainda contribuir para acelerar os programa de melhoramento genético. Se as correlações entre os caracteres avaliados em diferentes idades forem altas e significativas, a seleção precoce poderá ser aplicada para a araucária, gerando ganhos expressivos de produtividade.

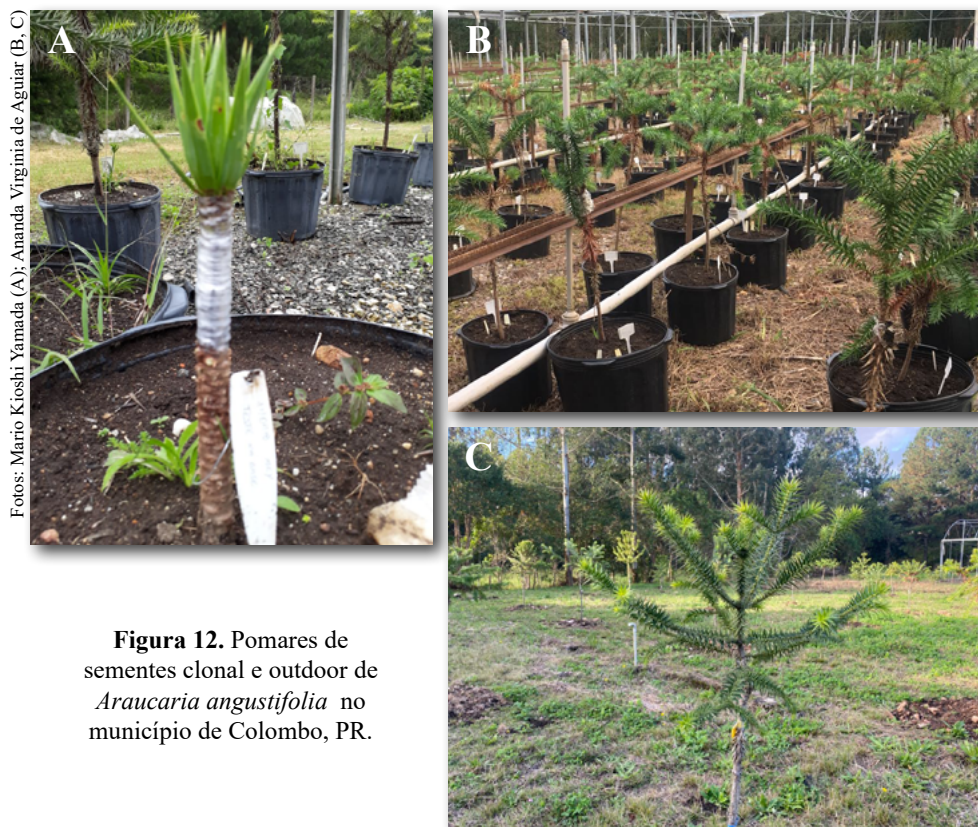
Pesquisas relativas ao desenvolvimento de protocolos de armazenamento e criopreservação de sementes têm sido conduzidas (Medeiros et al., 2004; Saloio et al., 2013; Voig et al., 2017) objetivando, especialmente, o resgate e a clonagem ex vitro de indivíduos mais produtivos em madeira e pinhão. Além disso, será dado prosseguimento ao monitoramento da fenologia reprodutiva conduzido para inferências sobre a qualidade de produção das sementes.

Estudos para a identificação sexual em idade precoce e cultura de embriões também terão continuidade, visando encurtar o longo ciclo reprodutivo e dar suporte aos programas de conservação e melhoramento genético.

## Propagação vegetativa

No melhoramento genético, a propagação vegetativa convencional e a micropropagação são importantes ferramentas não só para reduzir o ciclo de melhoramento, mas também para multiplicar os genótipos com características desejadas em termos de produtividades, resistência a pragas/doenças e às condições ambientais adversas, dentre outras. Técnicas de propagação vegetativa de *A. angustifolia* têm sido promissoras (Kageyama; Ferreira, 1975) e vêm sendo utilizadas no melhoramento genético da araucária, com avanço especial na última década (Pires et al., 2010; Wendling, 2011, 2015; Gaspar et al., 2017), principalmente para estabelecer pomares de sementes clonais, indoors e outdoors e indução de florescimento precoce (Figura 12).

As espécies da família Araucariaceae apresentam algumas peculiaridades em relação à propagação vegetativa. Como exemplo ocorrendo para a maioria das espécies de coníferas, o envelhecimento fisiológico dificulta a multiplicação, por estaquia, de indivíduos adultos, devido à dificuldade de enraizamento das plantas. Além disso, com exceção dos propágulos dos brotos apicais das copas das árvores, os meristemas produzem plantas em estado plagiotrópico (Sehgal et al., 1989). Pesquisas têm sido realizadas tanto para induzir a juvenilidade em *Araucaria* spp. quanto para reverter o estado do crescimento plagiotrópico para ortotrópico (Maene; Debergh, 1981; 1987), com pouco sucesso. Estudos envolvendo a propagação de diferentes espécies de araucária como *A. excelsa*, *A. heterophylla* (Salisb.) e *A. cunninghamii* (D. Don) Aiton têm mostrado diferentes respostas aos tratamentos utilizados, sendo que a reversão do plagiotropismo não tem sido bem sucedida. Para *A. excelsa*, tanto as podas sucessivas dos ramos quanto os tratamentos destes com solução de diferentes compostos hormonais, além das enxertias seriadas de propágulos, não foram eficientes para a indução de brotações juvenis e reversão do crescimento de ramos plagiotrópico para ortotrópico (Maene; Debergh, 1987). Já Maene e Debergh (1987) apresentaram bons resultados para *A. cunninghamii*, utilizando compostos hormonais. Os autores afirmam que a enxertia de pequenos ramos epicórmicos ortotrópicos de *A. excelsa*, encontrados no caule nu de plantas-mãe velhas sobre mudas de um ano de idade, produziram uma taxa de pegamento de 50%, sendo que os brotos enxertados tornaram-se mais juvenis. A indução de brotações epicórmicas ortotrópicas



Fotos: Mario Kioshi Yamada (A); Ananda Virginia de Aguiar (B, C)

**Figura 12.** Pomares de sementes clonal e outdoor de *Araucaria angustifolia* no município de Colombo, PR.

na propagação vegetativa foi estudada por Wendling et al. (2009). Os autores notaram que, apesar de uma maior eficiência utilizando a decepta e poda de ramos, a emissão de ramos em galhos removidos não foi bem sucedida, em decorrência da alta mortalidade e baixa emissão de brotação.

A estaquia é outra técnica investigada para espécies da família Araucariaceae. Francis (1987) reportou sucesso para a clonagem, via estaquia, de plantas jovens (15 cm) de *Araucaria heterophylla* (Salisb.). Para *A. angustifolia* destacam-se os trabalhos de Bettio et al. (2008) e Delgado et al. (2007). Em brotações de cepas submetidas ao corte raso, Delgado et al. (2007) evidenciaram que árvores masculinas apresentaram uma maior capacidade de enraizamento, comparativamente às femininas, sendo a vermiculita o melhor substrato. Burrows et al. (1988) demonstraram a possibilidade de se micropropagar plantas tanto jovens quanto adultas de *A. cunninghamii*, mediante a indução de botões ortotrópicos de meristemas axilares ocultos da porção superior do tronco principal. Nesse caso, os botões dormentes dentro da casca desenvolveram ramos ortotrópicos. Segundo os autores, esse procedimento também foi bem sucedido para outras espécies de coníferas adultas (20 anos), *A. balansae*, *A. bidwillii*, *A. columnaris*, *A. hunsteinii*, *A. luxurians*, *A. montana*, *A. rulei*, *A. scopulorum* e *Agathis robusta*. Para essas espécies, os brotos ortotrópicos foram obtidos da parte baixa do tronco após corte raso da árvore. Técnicas de propagação vegetativa também mostraram resultados positivos com *A. angustifolia*, à partir de 1975 (Kageyama; Ferreira, 1975).

A miniestaquia, por sua vez, também tem sido objeto de pesquisas na propagação da espécie. Pires et al. (2013) notaram que as mudas obtidas por miniestaquia apresentaram crescimento ortotrópico, demonstrando o potencial da tecnologia para a clonagem de famílias selecionadas da espécie. A aplicação de ácido indolbutírico (AIB) na miniestaquia de *A. angustifolia* foi conduzida



por Pires et al. (2013), para avaliar a influência de diferentes concentrações desse produto. Os autores evidenciaram que o aumento das concentrações de AIB promoveu um pequeno incremento na sobrevivência (até  $3,0 \text{ g L}^{-1}$ ), número de raízes das miniestacas (até estimativa de  $2,3 \text{ g L}^{-1}$ ) e enraizamento (até  $1,5 \text{ g L}^{-1}$ ), embora a melhor taxa de enraizamento obtida, de apenas 32%, seja considerada baixa. Portanto, a continuidade de estudos utilizando esse produto se faz necessária para elucidar as concentrações adequadas desse hormônio. Assim, para *A. angustifolia* ainda são necessárias pesquisas na área de micropropagação.

A enxertia tem sido a técnica mais promissora para propagação vegetativa da araucária. Nas últimas décadas, avanços importantes foram conseguidos também com enxertia de *A. angustifolia*. Wendling (2011) obteve produção precoce de estróbilos masculinos quatro anos após o procedimento. O autor verificou que técnicas como a garfagem em fenda cheia, no topo do cavalo, e a borbulhia de placa mostraram resultados promissores, com relação à taxa de pegamento. Ficou evidente, ainda, que os propágulos originários de brotações ortotrópicas da cepa e de brotações com “tendência de crescimento ortotrópico” emergentes dos ramos primários foram os melhores. Zanette et al. (2011), conduzindo estudos de enxertia de placagem lenhosa, observaram que o início do outono é o período mais adequado, com obtenção de 50% de sobrevivência dos enxertos. Por outro lado, Wendling (2015) evidenciou que, para o método borbulhia em janela aberta, placa ou escudo, a primavera ou verão mostrou-se o período mais adequado, exibindo sobrevivência entre 80% e 90%, utilizando as brotações da copa de plantas adultas. Gaspar et al. (2017) estudaram a influência dos porta-enxertos na produção de mudas de araucária. Os autores obtiveram maior sucesso na enxertia de copa utilizando porta-enxertos mais jovens (oito anos), especialmente com propágulos plagiotrópicos, quando a enxertia é praticada no outono (71,9%). Os enxertos exibiram hábito de crescimento equivalentes ao do enxerto original. Para agilizar os programas de melhoramento genético, a clonagem de propágulos de galhos dos indivíduos adultos selecionados poderiam ser utilizados para a produção de indivíduos baixos e estudos de florescimento precoce, o que facilitaria a realização de polinizações controladas.

Além da propagação vegetativa convencional, inúmeros protocolos de cultura de tecidos foram testados utilizando explantes de diversas espécies de araucária: *A. angustifolia* (plantas de 30 dias), *A. araucana* (tecido embrionário e tecido adulto de 25 anos), *A. cunninghamii* (plantas de dois, sete e 20 anos), *A. excelsa* (explantes de árvores com 70 a 100 anos), *A. balansae* (plantas de dois anos), *A. bidwili* (plantas de dois anos), *A. columnaris* (dois anos), *A. hunsteinii* (dois anos), *A. luxurians* (dois anos), *A. rulei* (dois anos), *A. scopulorum* (dois anos). Os resultados obtidos foram os mais variados, desde tecido caulinar, brotos adventícios a axilares e raízes (Beniest; Debergh, 1976; Haines; Fossard, 1977; Handro; Ferreira, 1980; Burrows, 1981, 1983; Cardemil; Jordan, 1982; Boulay, 1987; Maene; Debergh, 1987; Sarmast et al., 2012). Iritani et al. (1992, 1993) também desenvolveram protocolos iniciais via organogênese para *A. angustifolia*, no entanto, com baixos índices de regeneração dos brotos, indicando que estes estudos ainda são incipientes e merecem ser aprimorados. Apesar das várias tentativas, ainda não se têm protocolos de micropropagação recomendável para as espécies de araucária, exceto *A. cunninghamii*. Para esta espécie obteve-se enraizamento de tecido de brotos cultivados, sendo demonstrada a possibilidade de se micropropagar plantas jovens e adultas para o estabelecimento bem-sucedido dos seus clones no campo (Maene; Debergh, 1987; Burrows et al., 1988).

A embriogênese somática para esta espécie vem sendo estudada há mais de 25 anos e diversos estudos descrevem os avanços obtidos incluindo um vasto conhecimento morfológico, fisiológico, genético e bioquímico do desenvolvimento embrionário (Guerra; Kemper, 1992; Astarita; Guerra 1998; Silveira et al., 1999, 2002, 2006; Guerra et al., 2000; Santos et al., 2002; Steiner, 2005;

Steiner et al., 2005, 2007, 2008, 2012, 2015; Farias-Soraes et al., 2014; Pereira-Dias et al., 2020; Stefenon et al., 2020). Todas as etapas iniciais da embriogênese somática em *A. angustifolia* foram estabelecidas com sucesso, no entanto a obtenção de um reduzido número de embriões somáticos maduros restringe o estabelecimento de um protocolo comercial (Steiner et al., 2008, 2015; Farias-Soraes et al., 2014). De acordo com estes autores, anormalidades do desenvolvimento embrionário inicial restringem a regulação da etapa de maturação dos embriões somáticos da espécie (Steiner et al., 2015). A criopreservação de culturas embriogênicas obtidas a partir de embriões zigóticos permite o estabelecimento de uma coleção genética de germoplasma, o qual pode ser empregado em futuros programas de conservação e melhoramento genético (Stefenon et al., 2009, Demarchi et al., 2014). De maneira geral, a propagação clonal da araucária em massa, para fins comerciais ou para melhoramento genético, ainda não é uma realidade, principalmente devido às limitações relacionadas à coleta de embriões zigóticos (dezembro a fevereiro) e aos métodos para promover a maturação e a produção de embriões somáticos.

Para a indução de florescimento precoce, a enxertia de topo em fenda cheia (*top grafting*) tem sido empregada em coníferas. Essa técnica consiste em enxertar propágulos de plantas jovens em árvores adultas na idade reprodutiva (*top grafting*). Essa técnica tem sido testada em árvores adultas de araucária, com resultados preliminares promissores (Comunicação pessoal<sup>2</sup>) (Figura 13). O princípio do *top grafting* é que a aptidão, a estabilidade fisiológica e a competência reprodutiva do interenxerto são transferidas para o enxerto que carrega o atributo genético almejado para reprodução (Hartmann; Kester, 1983; Almqvist; Ekberg, 2001). Essa técnica tem sido utilizada para espécies perenes, principalmente frutíferas, para incrementar a produção inicial de frutos e superar os problemas específicos relacionados a pragas e ao déficit hídrico, dentre outros. Na silvicultura, o *topgrafting* tem sido utilizado como uma ferramenta para incrementar a produção de sementes e assegurar a conservação de material genético. Nos programas de melhoramento genético de coníferas, a produção precoce de estróbilos femininos e masculinos viabiliza a redução



**Figura 13.** Enxertia de topo em fenda cheia (*top grafting*) de mudas de *Araucaria angustifolia* com dois a cinco anos de idade sobre árvores adultas em produção .

<sup>2</sup> Dados de pesquisa não publicados referentes ao período de 2015 a 2021 da pesquisadora Ananda Virginia de Aguiar da Embrapa Florestas, Colombo, PR.



no ciclo de melhoramento genético. Essa técnica tem sido aplicada em espécies de coníferas, especialmente do gênero *Pinus* (Schmidtling, 1983; Bramlett et al., 1995; Bramlett; Burris, 1995; Bramlett, 1997; Gooding et al., 1999; McKeand; Raley, 2000; Almqvist; Ekberg, 2001). Segundo McKeand e Raley (2000), esse método, juntamente com aplicação de técnicas genômicas, pode auxiliar na redução do ciclo de melhoramento em pínus.

A aplicação de fitormônios exógenos (reguladores de crescimento) como as giberilinas GA4 e GA7 (GA4/7) e, ou BA (6-benzilaminopurina), bem como alguns dos seus metabólicos, é uma ferramenta que vem sendo utilizada também em coníferas, principalmente *Pinus* spp. (Wheeler et al., 1980; Pharis et al., 1987; Ross, 1989; Pijut, 2002; Zhao et al., 2011; Niu et al., 2014), para a indução precoce ou incremento do número de estróbilos, especialmente os femininos. Resultados significativos têm sido obtidos para alguns genótipos de *Pinus contorta* (Kong et al., 2018). A aplicação dessas substâncias em *A. angustifolia* poderá gerar resultados promissores. Pretende-se testar diferentes concentrações desses fitormônios em plantas de diferentes idades, provenientes de matrizes selecionadas para madeira e pinhão, em materiais clonados por via da enxertia.

O aprimoramento da técnica de clonagem poderá viabilizar a implantação de pomares de sementes clonais, bancos clonais e testes clonais com materiais resgatados de povoamentos comerciais, testes de procedências e progênes de segunda geração e populações naturais, dentre outros.

A clonagem da araucária via enxertia pode ser uma forma eficaz para o estabelecimento de áreas de produção de sementes com propágulos de indivíduos adultos, em idade reprodutiva. Neste caso, existem opções de compor povoamentos contendo proporções desejadas de árvores masculinas e femininas, bem como a espacialização (modelos de plantio) adequada entre árvores. Apesar de ser preferível uma maior quantidade de árvores femininas por área, para a produção de sementes (pinhões) como produto final, deve-se atentar para a sincronia de produção e maturação de estróbilos entre as árvores clonadas. Para que a polinização entre as árvores seja viabilizada, é necessária a sincronia entre a abertura do ginostrobilo e dos estróbilos masculinos (Anselmini et al., 2006). É essencial, também, que haja uma efetiva dispersão do pólen nesses povoamentos e reduzida chance de autoincompatibilidade entre alguns pares de árvores. Para uma polinização eficiente, a proximidade entre indivíduos femininos e masculinos e a velocidade dos ventos são fatores determinantes, devido ao maior fluxo de pólen entre as árvores e, conseqüentemente, maiores chances de produção de sementes (pinhões) (Mattos, 1994).

## Genômica

As Gimnospermas possuem grandes genomas quando comparados aos das Angiospermas. As espécies do gênero *Araucaria* apresentam um tamanho de genoma médio 20 vezes superior ao das espécies de Angiospermas (20,15 bilhões de pares de base) (Bowe et al., 2000; Peterson et al., 2002; Ahuja; Neale, 2005; Morse et al., 2009; Zonneveld, 2012a; Zimin et al., 2014). Apesar do grande avanço no sequenciamento dos genomas, não houve progresso significativo para as Gimnospermas, devido ao seu tamanho e complexidades, como sequências repetitivas, elementos transponíveis e duplicação gênica (Ahuja; Neale, 2005; Morse et al., 2009; Kovach et al., 2010; Mackay et al., 2012; Zimin et al., 2014).

As 17 espécies de araucária apresentam o mesmo número de cromossomos, diferenciando-se entre si quanto ao conteúdo de DNA nuclear, que varia de 31,3 pg a 45,4 pg (valor 2C) (Murray et al., 2010; Zonneveld, 2012b). As diferenças no DNA nuclear, bem como as inserções e, principalmente, o aumento do número de elementos transponíveis, ocorridos ao longo dos anos, são os





fatores que contribuíram para a especiação na família *Araucariaceae* (Zonneveld, 2012b). Há uma relação entre o tamanho do genoma, a divisão seccional e a distribuição geográfica das espécies. As espécies que apresentam genomas de tamanhos similares são, também, geograficamente, mais próximas. Por exemplo, as araucárias da América do Sul apresentam conteúdos de DNA muito semelhantes: 45,4 pg e 44,7 pg em *A. araucana* e *A. angustifolia*, respectivamente (Zonneveld, 2012b). A dimensão do genoma pode fornecer contribuições mais conclusivas sobre o gênero/espécie do que determinado caráter morfológico. Segundo Zonneveld (2012b), o tamanho do genoma de algumas espécies é 50 vezes superior ao das demais, sendo um indicativo da capacidade das espécies desta família de evoluir, sobreviver e manter um crescimento lento ao longo dos anos, tornando-se árvores dominantes nos biomas de ocorrência natural e sobrevivendo à seca e à competição com as inúmeras espécies de Angiospermas.

O sequenciamento do genoma de *A. angustifolia* ainda não foi realizado em razão do seu tamanho e complexidade. Porém, ferramentas desenvolvidas mais recentemente na área da genômica facilitarão o avanço no sequenciamento da espécie. Por exemplo, nos últimos anos, foi lançada a terceira geração de sequenciamento de alto rendimento que é utilizada juntamente com o NGS (Illumina). Os dois sistemas mais utilizados ao sequenciamento no *Pacific Biosciences* (PacBio) são o RSII e o Sequel (I, II e IIe). Essas ferramentas oferecem uma alternativa viável para o sequenciamento de organismos que têm grandes genomas, como é caso da araucária. O Sequel I e II são os sequenciadores PacBio de segunda e terceira gerações, respectivamente, que geram mais dados de sequenciamento por célula SMRT (*single-molecule, real-time*) em comparação com o sequenciador PacBio RSII de primeira geração, possibilitando leitura longa de alta fidelidade (HIFI). O PacBio RS II constitui-se em um método para o sequenciamento em tempo real e não requer pausa entre as etapas de leitura (Schadt, 2010). Esta ferramenta, usando a sexta geração de polimerase e a quarta geração de química (química P6-C4), oferece comprimento médio de leitura maior que as plataformas SGS, mas apresenta maior taxa de erro e menor rendimento (Rhoads; Au, 2015). Este sistema apresenta comprimentos médios de leitura superiores a 10 kb e comprimentos máximos de 60 kb (Pacific Biosciences, 2018). Em contraste, o comprimento máximo de leitura pelo Illumina HiSeq 2500 é de apenas 250 pb (Illumina, 2018). Como as vantagens do sequenciamento usando PacBio e SGS são complementares, as estratégias de sequenciamento híbrido, fazendo uso de ambas as tecnologias, para superar as desvantagens das técnicas individualmente, vêm sendo muito aplicadas em trabalhos genômicos. Mesmo com essas tecnologias, apenas um pequeno progresso tem sido observado no sequenciamento de genomas complexos, como o da araucária.

Com a introdução do Sequenciamento de Próxima Geração (*Next Generation Sequencing* - NGS), mesmo sem genoma de referência, vem sendo possível a descoberta de vários marcadores SNP (Polimorfismos de Nucleotídeo Único) com o uso de métodos como o sequenciamento de RNA (RNA-seq) que permitem a redução da complexidade genômica, métodos baseados que adotam diferentes abordagens de digestão de enzimas de restrição e sequenciamento de alto rendimento, como o RAD-seq (Baird et al., 2008), bem como os métodos de genotipagem por sequenciamento (GbS) e enriquecimento para captura de sequência (Silva et al., 2020). Assim, a genotipagem com alta densidade de marcadores é acessível para inúmeros organismos, como a araucária, por um custo muito acessível. Para a araucária, foram aplicados os métodos de sequenciamento de RNA-seq e RAD-seq. Esses métodos geraram uma plataforma de marcadores SNPs. Em relação à eficiência dos métodos, verificou-se que o RNA-seq é 1,6 vezes mais eficiente que o RAD-seq, para identificar polimorfismos em termos de SNPs analisáveis por leitura de sequência bruta e três vezes mais eficiente para fornecer variantes de sequência bruta (Silva et al., 2020). Por outro lado, um grande número de SNPs raros foi observado, com  $MAF \leq 0,005$ , provenientes de dados



RAD-seq. Segundo os autores, a captura de RNA-seq ou exoma tem apresentado uma melhor eficiência na redução da complexidade de genomas e identificação de polimorfismos, pelo menos, em espécies que têm genomas complexos e grandes, como a araucária (Silva et al., 2020). Essas ferramentas possibilitaram o desenvolvimento e a validação de um conjunto de SNPs Axiom® com ~ 3.400 SNPs (2.565 do RNA-seq e 835 do RAD-seq), a partir de múltiplos dados de tecidos de RNA-seq e dados genômicos de RAD-seq. Matrizes de plataforma fixas de SNPs, como Axiom® com ~ 3.000 SNPs, desenvolvido para araucária, têm sido modelos adotados para a genotipagem de várias espécies, com um custo muito mais acessível que aquele de métodos Gbs (Silva et al., 2020). Além disso, os autores também desenvolveram novos marcadores SSRs (137 locos), que vêm sendo aplicados juntamente com os SNPs em estudos de diversidade genética da espécie.

Os SNPs (polimorfismos de nucleotídeo único) obtidos com os dois métodos citados serão adotados em diferentes estudos genéticos para a predição, com alta precisão, da variabilidade genética das populações para conservação e melhoramento genético, bem como para elucidar questões de história evolutiva. Recentemente, o catálogo de SNPs foi utilizado em estudos de diversidade genética e estrutura de 15 populações procedentes da faixa natural da espécie no Brasil. Isso tem refletido melhor os padrões reais de diversidade das espécies do que os obtidos até o momento com outras ferramentas moleculares (SSRs e Isoenzimas), deixando evidente a alta diversidade dentro das populações e colaborando para diferenciação “Norte” e “Sul”, conforme já observada em outros estudos, mas com o dobro da magnitude (Silva et al., 2020). Esses autores também observaram estimativas mais acuradas de  $F_{st}$  bem como a diferença entre as regiões “Norte” e “Sul” de ocorrência da araucária. Além disso, segundo os autores, o catálogo de SNPs poderá fornecer resultados mais acurados para análises genéticas intrapopulacionais, viabilizando a reconstrução de parentesco e do sistema de cruzamentos, bem como da estrutura populacional em escala fina e relações filogeográficas.

O catálogo de SNPs será aplicado também no melhoramento genético da araucária, em teste piloto de procedências (15) e progênies estabelecido em 1980, em Itapeva, SP (Instituto Florestal de São Paulo). Matrizes selecionadas foram analisadas com o uso de marcadores SNPs, usando-se o Axiom® com ~ 3.000 marcadores SNPs desenvolvidos para a espécie. Os dados de genotipagem serão relacionados com caracteres fenotípicos de crescimento, produção de pinhão e outros. O objetivo é reduzir o ciclo de melhoramento genético da araucária que, atualmente, é em torno de 30 anos, bem como selecionar indivíduos de melhor qualidade, com base nos valores genômicos.

Além do catálogo de SNPs desenvolvido por Silva et al. (2020), transcriptoma da espécie também foi estabelecido, com características similares àquelas de outras coníferas, em termos de tamanho (54 Mbp), número de contigs (43.608 transcritos) e comprimento médio de transcrição (1.205 pb), com uma boa qualidade de montagem (pontuação >0,3), superiores àquelas depositadas no NCBI. Esse transcriptoma poderá ser usado para outros estudos genômicos da espécie.

A análise da expressão gênica é vista também como uma importante ferramenta para elucidar os gargalos que comprometem a eficácia das medidas de conservação e melhoramento genético da araucária. Essa ferramenta tem sido usada na prospecção de genes expressos, em ambientes e, ou condições fisiológicas divergentes, possibilitando análises comparativas entre indivíduos, variedades e populações, bem como a descrição de vias metabólicas e comparações filogenéticas, dentre outros. No caso da araucária, essa pode ser uma ferramenta importante, principalmente na identificação precoce do sexo (dimorfismo sexual) em pomares de sementes e em povoamentos destinados à produção de pinhão, de maneira a estabelecer o arranjo ideal para cada situação.

## Manuseio de pólen e polinização controlada na Embrapa Florestas

Uma das principais dificuldades do melhoramento genético da araucária ocorre na polinização controlada (Shimizu; Oliveira, 1981), em razão das características biológicas próprias da espécie anteriormente apontadas. Os estudos de fenologia e de manuseio de pólen de araucária visando à conservação e à manutenção da sua viabilidade tiveram início na década de 2000 (Sousa, 2001; Sousa, Hattemer, 2003a). Para o cruzamento entre árvores selecionadas de regiões distintas e reprodução em períodos distintos, é primordial recorrer-se ao manuseio de pólen. Etapas como a coleta, secagem, extração, armazenamento e testes de viabilidade fazem parte desse processo (Figura 14).



**Figura 14.** Manuseio de pólen de *Araucaria angustifolia* para armazenamento e polinização controlada.

Resultados obtidos pela Embrapa Florestas têm mostrado que a coleta de estróbilos masculinos deve ser feita no período de setembro a outubro, na região de Colombo, PR. Em outras regiões, deverão ser realizados estudos de fenologia para orientar essa etapa. Os estróbilos devem ser coletados ainda verdes, mas próximos à maturação (quando os estróbilos mudam de cor para amarelada e, ou, depois da liberação do pólen, para a cor marrom). Quando a intenção é realizar cruzamentos específicos, os estróbilos devem ser manipulados de maneira a evitar a contaminação com pólen indesejável de outras árvores .

O nível de desidratação ideal deve considerar a temperatura de armazenamento do pólen, devendo ser mais drástica para o armazenamento em freezers (-20 °C, -40 °C e -80 °C) e temperaturas

criogênicas (gases liquefeitos:  $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$ ). A secagem do pólen de araucária pode ser realizada de três maneiras: i) em dessecadores com sílica-gel e sob vácuo, ii) em estufa sob temperatura de  $30\text{ }^{\circ}\text{C}$  e de preferência com circulação forçada de ar ou iii) no liofilizador, para a redução drástica da umidade (Sousa et al., 2010b). Estudos apontam que a umidade do pólen próxima de 10% permite a manutenção da viabilidade (Sprague; Johnson, 1977), impedindo a formação de cristais de gelo no processo de congelamento e, conseqüentemente, o rompimento da membrana celular e a destruição do pólen. A combinação da liofilização com a criopreservação constitui-se em um método mais promissor para manter a viabilidade do pólen no longo prazo e está sendo aplicada no armazenamento e na conservação do pólen de araucária, semelhante aos trabalhos realizados para o armazenamento de outras espécies de plantas (Perveen; Khan, 2009; Perveen; Ali, 2010; Khan; Perveen, 2011).

Esforços para a otimização do teste de viabilidade, ferramenta essencial para avaliar o pólen (Figura 15) fresco e armazenado, têm sido também dispendidos. Tem sido considerada principalmente a germinação *in vitro*, que busca reproduzir as condições naturais onde o pólen germina. Todavia, não foi possível, até o momento, definir o meio de cultura adequado para essa finalidade. O meio mais utilizado para outras espécies, com 0,80% de ágar, é ideal para araucária, mesmo com a adição de açúcares e micronutrientes (Sousa-Lang; Pinto Júnior, 1996; Guimarães et al., 2018; Sousa et al., 2019). A germinação não tem sido satisfatória, mesmo com uso de longos períodos de incubação (72 e 96 horas). Esse fato pode ser explicado pelas características biológicas da espécie como o longo ciclo reprodutivo, com efeito direto no período de germinação do pólen, acrescido da dificuldade de incrementar o período de incubação devido à contaminação por fungos e bactérias



**Figura 15.** Teste de germinação *in vitro* do pólen de *Araucaria angustifolia* no laboratório da Embrapa Florestas.

Em decorrência dessa situação, cogita-se estudar outras variáveis como o incremento do período de reidratação do pólen antes da germinação, dentre outras. Adicionalmente, o uso de corantes específicos pode ser promissor e, dentre esses, destacam-se: o cloreto de trifeniltetrazólio (TTC), o carmim acético, o azul de anilina, o azul de algodão, o iodeto de potássio (indicados por Linskens e Stanley (1974) e o corante de Alexander (1969, 1980). Apesar da possibilidade de que corantes específicos possam induzir à superestimação da viabilidade do pólen (Linskens; Stanley, 1974; Munhoz et al., 2008), poderá vir a ser uma forma mais rápida e prática de fornecer as informações necessárias para o manuseio adequado do pólen.

## Polinização controlada

Estudos de fenologia reprodutiva em araucária são primordiais nas atividades de polinização controlada, especialmente pelo fato do ciclo reprodutivo ser longo (Shimoya, 1962; Sólorzano-Filho, 2001). O ciclo completo no caso dos estróbilo masculinos é de um ano (Sólorzano-Filho, 2001) e de aproximadamente quatro anos para os estróbilos femininos (Shimoya, 1962; Solórzano-Filho, 2001). Como a liberação do pólen se dá basicamente do final de agosto a outubro (Shimoya, 1962; Carvalho, 1994; Mantovani et al., 2004), o isolamento dos estróbilos femininos para a polinização controlada deverá ocorrer no final de julho ou no início de agosto. A polinização do estróbilo feminino deve ser feita no estágio adequado de maturação do estróbilo (Figura 16), para propiciar maior produção de sementes. Quando houver dificuldade na identificação do estágio ideal de maturação, é recomendável efetuar a polinização duas vezes. Shimoya (1962) estimou um período de 12 a 13 meses após a polinização para que ocorra a fertilização e mais 15 meses para as sementes atingirem a maturação. Ainda, segundo Shimoya (1962), o período compreendido desde a diferenciação do botão feminino até a liberação das sementes estende-se por, aproximadamente, quatro anos.



**Figura 16.** Estróbilos femininos de *Araucaria angustifolia* em casa de vegetação, aos onze meses após a enxertia em topo de fenda cheia.

Em Colombo, PR, o isolamento dos estróbilos femininos da araucária é realizado no período de agosto a outubro e a polinização é feita em outubro. As sementes originadas desse cruzamento são coletadas em torno de 24 meses após a polinização.

## Considerações finais

Apesar do grande valor social, ambiental e econômico da araucária, obstáculos ao avanço no programa de melhoria e conservação genética persistem. Esses problemas têm limitado o avanço, especialmente dos programas de melhoria genético. Todavia, progressos interessantes têm sido obtidos no avanço das pesquisas em diferentes frentes.

De maneira geral, nas estratégias de melhoria genético e conservação, devem ser consideradas a divergência e a diversidade genética entre as duas grandes regiões de ocorrência natural da espécie (“Norte” e “Sul”). No melhoria genético, as progênies oriundas dessas duas regiões



podem ser estabelecidas em diferentes sítios, tanto nas regiões de ocorrência da espécie quanto fora delas, no intuito de propiciar a expressão de características para seleção e identificação de cultivares para a produção de pinhão e madeira. Para a conservação genética da espécie, deve-se adotar as diferentes estratégias *in situ*, *ex situ* e *on farm* como descrito ao longo desse capítulo. Os bancos ativos de germoplasma devem ser estabelecidos, pelo menos, nas duas grandes regiões de ocorrência da espécie, cada um composto por diferentes acessos (progênies) de cada região. No contexto do melhoramento genético, deve-se priorizar as atividades de acompanhamentos dos eventos fenológicos, bem como a execução de polinizações controladas para a produção de novos genótipos superiores de araucária.

A caracterização genética também deve ser realizada não somente para auxiliar na conservação e uso das populações naturais de *A. angustifolia*, mas principalmente para proporcionar suporte científico no desenvolvimento de políticas públicas voltadas à elaboração de propostas para o uso e o manejo sustentável da espécie, nas diferentes regiões de ocorrência natural.

## Agradecimentos

Ao pesquisador Sergio Gaiad pelo incentivo e apoio na elaboração deste capítulo e do livro de araucária como um todo. Aos técnicos da Embrapa Florestas: Harry Albino Hoffman, Antonio Sadao Kodama, Roberto Carletto, José Amauri Moreira Antunes, Ademar Cecon, Arnaldo de Oliveira Soares, Carlos Roberto Urio, e aos assistentes da Embrapa Florestas Mário Kioshi Yamada, Reginaldo Gonçalves e Ozias Nunes da Veiga, pelo apoio em inúmeros trabalhos de campo. À Daiane Rigoni e Marianne Bernardes da Embrapa Florestas, pelo apoio nas atividades laboratoriais. Aos parceiros pelo apoio, especialmente, instituições públicas e privadas, universidades, produtores rurais e demais colaboradores que contribuíram, direta e indiretamente, com as atividades de pesquisas para a espécie.

## Referências

- ADAN, N. **Uso, manejo, conhecimento local e caracterização morfológica de variedades de *Araucaria angustifolia* (Bert.) Ktze., no planalto serrano catarinense.** 2013. 153 f. Dissertação (Mestrado em Biologia Vegetal) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis.
- AHUJA, M. R.; NEALE, D. B. Evolution of genome size in conifers. **Silvae Genetica**, v. 54, p. 126-137, 2005.
- ALEXANDER, M. P. A versatile stain for pollen fungi, yeast and bacteria. **Stain Technology**, v. 55, n. 1, p. 13-18, 1980.
- ALEXANDER, M. P. Differential staining of aborted and nonaborted pollen. **Stain Technology**, v. 44, n. 3, p. 117-122, 1969.
- ALMQVIST, C.; EKBERGZ, I. Interstock and ga, effects on flowering after topgrafting in pznus sylvestrzs. **Forest Genetics**, v. 8, n. 4, p. 279-284, 2001.
- ANSELMINI, J. I.; ZANETTE, F.; BONA, C. Fenologia reprodutiva da *Araucaria angustifolia* (Bert.) O. Ktze, na região de Curitiba – PR. **Floresta e Ambiente**, v. 13, n. 1, p. 44-52, 2006.
- AQUINO, F. M. **Cultivo da *Araucaria angustifolia*: viabilidade econômico financeira e alternativas de incentivo.** Florianópolis: Banco Regional de Desenvolvimento do Extremo Sul, 2005. p. 53.
- ASTARITA, L. V.; GUERRA, M. P. Early somatic embryogenesis in *Araucaria angustifolia*: induction and maintenance of embryonal-suspensor mass cultures. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, v. 10, p. 113-118, 1998.



- AULER, N. M. F.; REIS, M. S. dos; GUERRA, M. P.; NODARI, R. O. The genetics and conservation of *Araucaria angustifolia*: genetic structure and diversity of natural populations by means of nonadaptive variation in the state of Santa Catarina, Brazil. **Genetics and Molecular Biology**, v. 25, p. 239-338, 2002.
- BAIRD, N. A.; ETTER, P. D.; ATWOOD, T. S.; CURREY, M. C.; SHIVER, A. L.; LEWIS, Z. A.; SELKER, E. U.; CRESKO, W. A.; JOHNSON, E. A. Rapid SNP discovery and genetic mapping using sequenced RAD markers. **PLoS One**, v. 3, n. 10, e3376, 2008.
- BALBINOT, R.; GARZEL, J. C. L.; WEBER, K. S.; RIBEIRO, A. B. Tendências de consumo e preço de comercialização da pinhão semente da *Araucaria angustifolia* (Bert.) Ktze.), no Estado do Paraná. **Ambiência**, v. 4, n. 3, p. 463-472, 2008.
- BALDANZI, G.; RITTERSHOFER, F. O.; REISSMAN, C. B. Ensaio comparativo de procedências de *Araucaria angustifolia* (Bert.) O. Ktze. In: CONGRESSO FLORESTAL BRASILEIRO, 2., 1973, Curitiba. **Anais [...]**. Curitiba: FIEP, 1973. p. 123-124.
- BANDEL, G.; GURGEL, J. A. A. Proporção do sexo em *Araucaria angustifolia* (Bert.) O. Ktze. **Silvicultura em São Paulo**, v. 6, n. único, p. 209-220, 1967.
- BANDEL, G. Os Cromossomos da *Araucaria angustifolia* (Bert.) E. da *Araucaria araucana* (Molina) Kovh. **O Solo**, v. 12, p. 69-72, 1970.
- BARRETT, S. C. H. The evolution of mating strategies in flowering plants. **Trends in Plant Science**, v. 3, n. 9, p. 335-341, 1998.
- BENIEST, J.; DEBERGH, P. Nutritional and hormonal requirements for the growth of *Araucaria araucana* callus in vitro. **Mededelingen van de Faculteit Landbouwwetenschappen, Rijksuniversiteit Gent.**, v. 41, p. 1599-1610, 1976.
- BETTIO, G. P.; WENDLING, I.; DUTRA, L. F. Enraizamento de estacas de *Araucaria angustifolia*. In: EVENTO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA EMBRAPA FLORESTAS, 7., 2008, Colombo. **Anais [...]**. Colombo: Embrapa Florestas, 2008. 1 CD Rom. Resumo.
- BITTENCOURT, J. V. M. Proposta para conservação genética da *Araucaria angustifolia*. **Pesquisa Florestal Brasileira**, v. 55, p. 87, 2007.
- BITTENCOURT, J. V. M.; SEBBENN, A. M. Genetic effects of forest fragmentation in high-density *Araucaria angustifolia* populations in Southern Brazil. **Tree Genetics & Genomes**, v. 5, n. 4, p. 573-582, 2009.
- BITTENCOURT, J. V. M.; SEBBENN, A. M. Patterns of pollen and seed dispersal in a small, patterns of pollen and seed dispersal in a small, *Araucaria angustifolia* in southern Brazil. **Heredity**, v. 99, p. 580-59, 2007.
- BITTENCOURT, J. V. M.; SEBBENN, A. M. Pollen movement within a continuous forest of wind-pollinated *Araucaria angustifolia*, inferred from paternity and two gener analysis. **Conservation Genetics**, v. 9, n. 4, p. 855-868, 2008.
- BORDIGNON, M.; MONTEIRO-FILHO, E. L. O serelepe *Sciurus ingrami* (Sciuridae: Rodentia) como dispersor do pinheiro do Paraná *Araucaria angustifolia* (Araucariaceae: Pinophyta). **Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia da UNIPAR**, v. 3, n. 2, 2000.
- BOULAY, M. Conifer micropropagation: applied research and commercial aspects. In: BONGA, J. M.; DURZAN, D. J. (ed.). **Cell and tissue culture in forestry**. Dordrecht: Springer, 1987. p. 185-206. (Forestry Sciences, 24-26).
- BOWE, L. M.; COAT, G.; DEPAMPHILIS, C. W. Phylogeny of seed plants based on all three genomic compartments: extant gymnosperms are monophyletic and Gnetales' closest relatives are conifers. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 97, p. 4092-4097, 2000. DOI: <https://doi.org/10.1073/pnas.97.8.4092>.
- BRAMLETT, D. L.; BURRIS, L. C. Topworking young scions into reproductively: mature loblolly pine. In: WEIR, R. J.; HATCHER, A. V. (ed.). **Proceedings of the 23rd Southern Forest Tree Improvement Conf; 1995 June 20-22. Asheville, NC**. Raleigh: North Carolina State University, 1995. p. 234-241.
- BRAMLETT, D. L. Genetic gain from mass controlled pollination and topworking. **Journal of Forestry**, v. 95, n. 3, p. 15-19, 1997.



BRAMLETT, D. L.; WILLIAMS, C. G.; BURRIS, C. Surrogate pollen induction shortens the breeding cycle in loblolly pine. **Tree Physiology**, v. 15, p. 531-535, 1995.

BURROWS, G. E.; DOLEY, D. D.; HAINES, R. J.; NIKLES, D. G. In vitro propagation of *Araucaria cunninghamii* and other species of the Araucariaceae via axillary meristems. **Australian Journal of Botany**, v. 36, n. 6, p. 665-676, 1988.

BURROWS, G. E. In vitro culture of hoop pine (*Araucaria cunninghamii* Aiton exDon). Queensland Department of **Forestry Research Report**, v. 3, p. 36-37, 1981.

BURROWS, G. E. Organ culture of some species of the Araucariaceae. Anatomical aspects of bud development. In: AUSTRALIA PLANT TISSUE CULTURE CONFERENCE, 2., 1983, Sydney. **Proceeding [...]**. Sydney: Spring, 1983. p.18.

CACCAVARI, M. Dispersión del polen en *Araucaria angustifolia* (Bert.) O. Kuntze. **Revista del Museo Argentino de Ciencias Naturales nueva serie**, v. 5, n. 2, p. 135-138, 2003.

CARDEMIL, L.; JORDAN, M. Light and electron microscopic study of in vitro cultured female gametophyte of *Araucaria araucana* (Mo~) Koch. **Pflanzenphysiologie**, v. 107, p. 329-338, 1982.

CARVALHO, P. E. R. **Espécies arbóreas brasileiras**. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica; Colombo: Embrapa Florestas, 2003. 1.039 p.

CARVALHO, P. E. R. **Espécies florestais brasileiras: recomendações silviculturais, potencialidades e uso da madeira**. Colombo: EMBRAPA-CNPQ; Brasília, DF: EMBRAPA-SPI, 1994. 639 p.

CARVALHO, P. E. R. **Pinheiro-do-Paraná**. Colombo: Embrapa Florestas, 2002. (Embrapa Florestas. Circular técnica, 60).

CNCFLORA. Centro Nacional de Conservação da Flora. *Araucaria angustifolia*. In: \_\_\_\_\_. **Lista vermelha da flora brasileira versão 2012.2**. Rio de Janeiro, [2013]. Disponível em: [http://cncfl.ora.jbrj.gov.br/portal/pt-br/profi/le/Araucaria angustifolia](http://cncfl.ora.jbrj.gov.br/portal/pt-br/profi/le/Araucaria%20angustifolia). Acesso em: 19 abr. 2021.

CONAMA. Conselho Nacional do Meio Ambiente (Brasília, DF). Resolução CONAMA 278, de 24 de maio de 2001. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, n. 138-E, p. 51-52, 18 jul. 2001.

COSTA, N. C. F.; GUIDOLIN, A. F.; VARGAS, O. F.; MANTOVANI, A. Efeitos da paisagem de campo e florestamento com Pinus na diversidade e estrutura genética de pequenas populações remanescentes de *Araucaria angustifolia*. **Scientia Forestalis**, v. 43, p. 551-560, 2015.

CRISTOFOLINI, C. **Dinâmica da diversidade genética de *Araucaria angustifolia* (Bertol.) Kuntze em paisagem de campo no Estado de Santa Catarina**. 2013. 93 f. Dissertação (Mestrado em Recursos Genéticos Vegetais) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis.

DAL BEM, E. A.; BITTENCOURT, J. V. M.; MORAES, M. L. T.; SEBBENN, A. M. Cenários de corte seletivo de árvores na diversidade genética e área basal de populações de *Araucaria angustifolia* com base em modelagem Ecogene. **Scientia Forestalis**, v. 43, n. 406, p. 453-466, 2015.

DANNER, M. A.; RIBEIRO, J. Z.; ZANETTE, F.; BITTENCOURT, J. V. M.; SEBBENN, A. M. Impact of monoecy in the genetic structure of a predominately dioecious conifer species, *Araucaria angustifolia* (Bert.) O. Kuntze. **Plant Systematics and Evolution**, v. 299, n. 5, p. 949-958, 2013.

DANNER, M. A.; ZANETTE, F.; RIBEIRO, J. Z. O cultivo da araucária para produção de pinhões como ferramenta para a conservação. **Pesquisa Florestal Brasileira**, v. 32, n. 72, p. 441-551, 2012.

DEMARCHI, G.; STEFENON, V. M.; STEINER N.; VIEIRA, F. N.; VESCO, L. L.; GUERRA, M. P. Ultra-low temperature conservation of Brazilian Pine embryogenic cultures. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 86, n. 4, p. 2057-2063, 2014. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/0001-3765201420130405>.

DELGADO, M. E.; WENDLING, I.; BRONDANI, G. E. Indução de brotações basais e estaquia de *Araucaria angustifolia* (Bert.) O. Ktze. In: EVENTO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA EMBRAPA FLORESTAS, 6., 2007, Colombo. **Anais [...]**. Colombo: Embrapa Florestas, 2007. Resumo.





DIGGLE, P. K.; DI STILIO, V. S.; GSCHWEND, A. R.; GOLENBERG, E. M.; MOORE, R. C.; RUSSELL, J. R. W.; SINCLAIR, J. P. Multiple developmental processes underlie sex differentiation in angiosperms. **Trends Genetics**, v. 27, p. 368-376, 2011.

DO CARMO, J. L.; DE SOUSA, V. A.; LAVORANTI, O. J. Critérios de amostragem de sementes de araucária via análise multivariada. In: EVENTO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA EMBRAPA FLORESTAS, 14., 2015, Colombo. **Anais[...]**. Colombo: Embrapa Florestas, 2015. CD Room.

DUARTE, R. I. **Caracterização da diversidade genética de uma população de *Araucaria angustifolia* (BERT.) O. Kuntze**. 2011. 52 f. Monografia (Graduação em Agronomia) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis.

DUARTE, R. I.; SILVA, F. A. L. S.; SCHULTZ, J.; SILVA, J. Z.; REIS, M. S. Características de desenvolvimento inicial em teste de progênie de uma população de araucária na flona de Três Barras-SC. **Biodiversidade Brasileira**, v. 2, n. 2, p. 114-123, 2012.

EIRA, M. T. S.; SALOMÃO, A. N.; CUNHA, R. da; CARRARA, D. K.; MELLO, C. M. C. Efeito do teor de água sobre a germinação de sementes de *Araucaria angustifolia* (Bert.) O. Ktze. - Araucariaceae. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 16, p. 71-75, 1994. DOI: <https://doi.org/10.17801/0101-3122/rbs.v16n1p71-75>.

ENRIGHT, N. J.; HILL, R. S. (ed.) **Ecology of the Southern Conifers**. Melbourne: Melbourne University Press, 1995. 342 p.

ESCAPA, I. H.; CATALANO, S. A. Phylogenetic analysis of Araucariaceae: integrating molecules, morphology, and fossils. **International Journal of Plant Sciences**, v. 174, n. 8, p. 1153-1170, 2013.

FARJON, A. *Araucaria angustifolia*. 2006. In: IUCN Red List of Threatened Species. V. 2011.2. 2006. Disponível em: <http://www.iucnredlist.org>. Acesso em: 17 fev. 2019.

FARIAS-SOARES, F. L.; BURRIEZA, H. P.; STEINER, N.; MALDONADO, S.; GUERRA, M. P. Immunoanalysis of dehydrins in *Araucaria angustifolia* embryos. **Protoplasma**, v. 250, p. 911-918, 2013.

FARIAS-SOARES, F. L.; STEINER, N.; SCHMIDT, E. C.; PEREIRA, M. L. T.; ROGGE-RENNER, G. D.; BOUZON, Z. L.; FLOH, E. I. S.; GUERRA, M. P. The transition of proembryogenic masses to somatic embryos in *Araucaria angustifolia* (Bertol.) Kuntze is related to the endogenous contents of IAA, ABA and polyamines. **Acta Physiologiae Plantarum**, v. 36, p. 1853-1865, 2014.

FERREIRA, D. K. **Caracterização genética e estrutura populacional de diferentes origens de *Araucaria angustifolia* na FLONA de Três Barras**. 2008. 83 f. Dissertação (Mestrado em Recursos Genéticos) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, SC.

FERREIRA, D. K.; NAZARENO, A. G.; MANTOVANI, A.; BITTENCOURT, R.; SEBBENN, A. M.; REIS, M. S. Genetic analysis of 50-year old Brazilian pine (*Araucaria angustifolia*) plantations: implications for conservation planning. **Conservation Genetics**, v. 13, n. 2, p. 435-442, 2012.

FIGUEIREDO FILHO, A.; ORELLANA, E.; NASCIMENTO, F.; DIDAS, A. N.; INOUE, M. T. Produção de sementes de *Araucaria angustifolia* em plantio e em floresta natural no centro-sul do Estado do Paraná. **Floresta**, v. 41, n. 1, p. 153-160, 2011.

FIGUEIREDO FILHO, A.; RETSLAFF, F. A. S.; KOHLER, S. V.; BECKER, M.; BRANDES, D. Efeito da Idade no afilamento e sortimento em povoamentos de *Araucaria angustifolia*. **Floresta e Ambiente**, v. 22, n. 1, p. 50-59, 2015.

FRANCIS, J. K. ***Araucaria heterophylla* (Salisb) Franco, Norfolk-Island-pine**. New Orleans: US Department of Agriculture, Forest Service, Southern Forest Experiment Station. 1987. Res. Note SO-ITF-SM-11.

FUPEF. Fundação de Pesquisas Florestais do Paraná. **Conservação do Bioma Floresta com Araucária: relatório final**: diagnóstico dos remanescentes florestais/ PROBIO Araucária. Curitiba, 2001. 2 v. 236 p.

GASPAR, R. G. B.; WENDLING, I.; STUEPP, C. A.; ANGELO, A. C. Idade do porta-enxerto e hábito de crescimento influenciam na enxertia de compa em *Araucaria angustifolia*. **Cerne**, v. 2, n. 4, p. 465-471, 2017.

GIANNOTTI, E.; TIMONI, J. L.; MARIANO, G.; COELHO, L. C. C.; FONTES, M. de A.; KAGEYAMA, P. Y. Variação genética entre procedências e progênies de *Araucaria angustifolia* (Bert.) O.Ktze. **Silvicultura em São Paulo**, v. 16-A, pt. 2, p. 970-975, 1982.



GOETEN, D.; ROGGE-RENNER, G. D.; SCHMIDT, E. C.; BOUZON, Z. L.; FARIAS, F. L.; GUERRA, M. P.; STEINER, N. Updating embryonic ontogenesis in *Araucaria angustifolia*: from Burlingame (1915) to the present. **Protoplasma**, v. 257, p. 931-948, 2020.

GOODING, G. D.; BRIDGWATER, F. E.; BRAMLETT, D. L.; LOWE, W. J. Topgrafting loblolly pine in the Western Gulf Region. In: BIENNIAL SOUTHERN FOREST TREE IMPROVEMENT CONFERENCE, 25., 1999, New Orleans, Louisiana. **Proceedings** [...]. [S.l. : s.n.], 1999. (Scientific Journal).

GOODWILLIE, C.; KALISZ, S.; ECKERT, C. G. The evolutionary enigma of mixed mating systems in plants: occurrence, theoretical explanations, and empirical evidence. **Annual Review Of Ecology Evolution, and Systematics**, v. 36, p. 47-79, 2005.

GUERRA, M. P.; KEMPER, E. Tecnologias Futuras: Aplicação da poliembriogenese somatica para a propagar massal de plantas elite de *Araucaria angustifolia* (Bert) O Ktze. In: CONGRESSO NACIONAL SABRE ESSENCIAS, São Paulo, 1992. **Anais** [...]. São Paulo: [s.n.], 1992. p. 1233-1236.

GUERRA, M. P.; SILVEIRA, V.; REIS, M. S.; SCHNEIDER, L. Exploração, manejo e conservação da araucária (*Araucaria angustifolia*). In: SIMÕES, L. L.; LINO, C. F. (org.) **Sustentável Mata Atlântica: a exploração de seus recursos florestais**. São Paulo: Editora SENAC, 2002. p. 85-102.

GUERRA M. P.; SILVEIRA V.; SANTOS, A. L. W.; ASTARITA, L. V.; NODARI, R. O. Somatic embryogenesis in *Araucaria angustifolia* (Bert) O. Ktze. In: JAIN, S. M.; GUPTA, P. K.; NEWTON, R. J. (ed.). **Somatic embryogenesis in woody plants**. Dordrecht: Kluwer, 2000. v. 6. p. 457-478.

GUIMARÃES, G.; SOUSA, V. A. de; AGUIAR, A. V. de. Adequação do meio de cultura para a germinação in vitro do pólen de araucária. In: EVENTO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA EMBRAPA FLORESTAS, 17., 2018, Colombo. **Anais** [...]. Colombo: Embrapa Florestas, 2018.

GURGEL FILHO, O. A. Silvicultura da *Araucaria angustifolia* (Bert.) O. Ktze. In: IUFRO MEETING ON FORESTRY PROBLEMS OF THE GENUS ARAUCARIA, 1980. **Anais** [...]. Curitiba: FUPEF, p. 29-68, 1980.

GURGEL, J. T. A.; GURGEL FILHO, O. A. Evidências de raças geográficas no pinheiro-brasileiro, *Araucaria angustifolia* (Bert.) O. Ktze. **Ciência e Cultura**, v. 17, n. 1, p. 33-39, 1965.

HAINES, R. J.; FOSSARD, R. A. Propagation of Hoop pine (*Araucaria cunninghamii* Ait.) by organ culture. **Acta Horticulture**, v. 78, p. 297-302, 1977.

HAMPP, R.; MERTZ, A.; SCHAIBLE, R.; SCHWAIGERER, M.; NEHLS, U. Distinction of *Araucaria angustifolia* seeds from different locations in Brazil by a specific DNA sequence. **Trees**, v. 14, n. 8, p. 429-434, 2000.

HANDRO, W.; FERREIRA, C. M. Preliminary report on tissue culture of *Araucaria angustifolia*. **Boletim de Botânica da Universidade de São Paulo**, v. 8, p. 71-84, 1980.

HARTMANN, H. T.; KESTER, D. E. **Plant propagation: principals and practices**. 4th ed. Englewood Cliffs: Prentice-Hall, 1983.

HIZUME, M.; KAN, M. Fluorescent banding pattern of chromosomes in *Araucaria araucana*, Araucariaceae. **Cytologia**, v. 80, n. 4, p. 399-403, 2015.

IBÁ. Indústria Brasileira de Árvores. **Relatório IBÁ 2014**. São Paulo, 2014. Disponível em: [http://iba.org/images/shared/iba\\_2014\\_pt.pdf](http://iba.org/images/shared/iba_2014_pt.pdf). Acesso em: 15 jun. 2021.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Produção da extração vegetal e da silvicultura: PEVS**. Rio de Janeiro, 2013, v. 28, p. 1-69.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Produção da extração vegetal e da silvicultura: PEVS**. Rio de Janeiro, 2016. 230 p.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Produção da extração vegetal e da silvicultura: PEVS**. Rio de Janeiro, 2019. Acesso em: <https://sidra.ibge.gov.br/pesquisa/pevs/quadros/brasil/2019>. Acesso em 19 abril 2021.

ILLUMINA. **HiSeq 2500 specifications**. Disponível em: [http://www.illumina.com/systems/hiseq\\_2500\\_1500/performance\\_specifications.html](http://www.illumina.com/systems/hiseq_2500_1500/performance_specifications.html). Acesso em: 14 fev. 2018.



- IMAGUIRE, N. Condições ambientais para a *Araucaria angustifolia* Bert. O. Ktze. **Dusenía**, v. 11, n. 3, p. 121-127, 1979.
- INZA, M. V.; AGUIRRE, N. C. TORALES, S. L., PAHR, N. M., FASSOLA, H. E., FORNES, L. F., ZELENER, N. Genetic variability of *Araucaria angustifolia* in the Argentinean Parana Forest and implications for management and conservation. **Trees**, v. 32, n. 4, p. 1135-1146, 2018.
- IRITANI, C.; ZANETTE, F.; CISLINKSKI, J. Aspectos anatômicos da cultura in vitro da *Araucaria angustifolia*. I. Organização e desenvolvimento dos meristemas axilares ortotrópicos de segmentos caulinares. **Acta Biológica Paranaense**, v. 21, p. 57-76, 1992.
- IRITANI, C.; ZANETTE, F.; CISLINKSKI, J. Aspectos anatômicos da cultura in vitro da *Araucaria angustifolia*. II. O enraizamento dos brotos axilares. **Acta Biológica Paranaense**, v. 22, p. 1-13, 1993.
- KAGEYAMA, P. Y.; FERREIRA, M. Propagação vegetativa por enxertia *Araucaria angustifolia* (Bert.) O. Ktze. **Instituto de Pesquisas e Estudos Florestais**, n. 11, p. 95-102, 1975.
- KAGEYAMA, P. Y.; JACOB, W. S. Variação genética entre e dentro de populações de *Araucaria angustifolia* (Bert.) O. Ktze. In: IUFRO MEETING ON FORESTRY PROBLEMS OF THE GENUS ARAUCARIA, 1979, Curitiba. **Forestry problems of the genus Araucaria**. Curitiba: FUPEF, 1980. p. 83-86.
- KHAN, S. A.; PERVEEN, A. Pollen germination capacity and viability in *Lagenaria siceraria* (Molina) Standley (Cucurbitaceae). **Pakistan Journal of Botany**, v. 43, n. 2, p. 827-830, 2011.
- KONG, L.; ADERKAS, P. V.; ZAHARIA, L. I. Effects of stem-injected gibberellins and 6-benzylaminopurine on phytohormone profiles and cone yield in two lodgepole pine genotypes. **Trees: Structure and Function**, v. 32, n. 3, p. 765-775, 2018.
- KOVACH, A.; WEGRZYN, J. L.; PARRA, G.; HOLT, C.; BRUENING, G. E.; LOOPSTRA, C. A.; HARTIGAN, J.; YANDELL, M.; LANGLEY, C. H.; KORF, I.; NEALE, D. B. The *Pinus taeda* genome is characterized by diverse and highly diverged repetitive sequences. **BMC Genomics**, v. 11, article number 420, 2010.
- LACERDA, A. E. Conservation strategies for Araucaria Forests in Southern Brazil: assessing current and alternative approaches. **Biotropica**, v. 48, n. 4, p. 537-544, 2016.
- LAMBERTS, A. V. D. H. **Predação e sobrevivência de sementes de *Araucaria angustifolia* (Bert.) Kuntze em áreas de mata nativa e plantação de *Pinus eliotti* na Floresta Nacional de São Francisco de Paula, RS**. 2003. 76 f. Dissertação (Mestrado em Ecologia) - Universidade de Campinas, Campinas.
- LAUTERJUNG, M. B.; BERNARDI, A. P.; MONTAGNA, T.; CANDIDO-RIBEIRO, R., DA COSTA, N. C. F.; MANTOVANI, A.; DOS REIS, M. S. Phylogeography of Brazilian pine (*Araucaria angustifolia*): integrative evidence for pre-Columbian anthropogenic dispersal. **Tree Genetics & Genomes**, v. 14, n. 3, article number 36, 2018.
- LI, D. Z.; PRITCHARD, H. W. The science and economics of *ex situ* plant conservation. **Trends in Plant Science**, v. 14, n. 11, p. 614-621, 2009.
- LINSKENS, H. F.; STANLEY, R. G. **Pollen: biology, biochemistry, management**. Berlin: Springer-Verlag, 1974. 307 p.
- MACHADO, J. A. R. **Viabilidade técnica e econômica da conservação e uso da *Araucaria angustifolia* (Bert.) O. Ktze em teste de procedências e progênies**. 2018. 98 f. Tese (Doutorado em Sistema de Produção) – Universidade do Estado de São Paulo, Ilha Solteira.
- MAENE, L.; DEBERGH, P. Araucaria. In: BONGA, J. M.; DURZAN, D. J. **Cell and tissue culture in rorestry, cell histories, gymnosperms, angiosperms and palms**. Martinus Nijhoff, Dordrecht: Springer, 1987. p. 176-184.
- MAENE, L. J.; DEBERGH, P. C. Preliminary results on organ culture of *Araucaria excelsa* (Lamb.) R. Br. In: PROCEEDINGS COLL INT SUR LA CULTURE IN VITRO DES ESSENCES FORESTIÈRES. Nangis, France: AFOCEL, 1981. p. 155 -158.
- MANTOVANI, A.; MORELLATO, L. P. C.; DOS REIS, M. S. Internal genetic structure and outcrossing rate in a natural population of *Araucaria angustifolia* (Bert.) O. Kuntze. **Journal of Heredity**, v. 97, n. 5, p. 466-472, 2006.



- MANTOVANI, A.; MORELLATO, L. P. C.; REIS, M. S. D. Fenologia reprodutiva e produção de sementes em *Araucaria angustifolia* (Bert.) O. Kuntze. **Brazilian Journal of Botany**, v. 27, n. 4, p. 787-796, 2004.
- MATTOS, J. R. **O pinheiro brasileiro**. 2 ed. Lajes: Artes Gráficas Princesa, 1994. 225 p.
- MATTOS, J. R. **O pinheiro brasileiro**. Florianópolis: Ed. da UFSC, 2011. 700 p.
- MATTOS, J. R. **The Brazilian Pine [*Araucaria angustifolia*]**. Lajes: Artes Gráficas Princesa, 1972. 620 p.
- MAZZA, M. C. M. Use of rapid markers in the study of genetic diversity of *Araucaria angustifolia* (Bert.) populations in Brazil. In: INTERNATIONAL FOUNDATION SCIENCE (Stockholm, Sweden). **Recent advances in biotechnology for tree conservation and management: Proceedings of an INF Workshop**, Florianópolis, Brazil, 15-19 September 1997. Stockholm: IFS / UFSC, 1997. p. 103-111
- MCKEAND, S. E.; RALEY, F. Interstock effect on strobilus initiation in topgrafted loblolly pine. **Forest Genetics**, v. 7, n. 3, p. 179-182, 2000.
- MEDeiros, A. D. S.; WALTERS, C.; HILL, L. Sensibilidade de embriões do pinheiro-brasileiro (*Araucaria angustifolia*) à desidratação e baixa temperatura. **Pesquisa Florestal Brasileira**, v. 48, p. 129-137, 2004.
- MEDINA- MACEDO, L.; DE LACERDA, A. E. B.; SEBBENN, A. M.; RIBEIRO, J. Z.; SOCCOL, C. R.; BITTENCOURT, J. V. M. Using genetic diversity and mating system parameters estimated from genetic markers to determine strategies for the conservation of *Araucaria angustifolia* (Bert.) O. Kuntze (Araucariaceae). **Conservation Genetics**, v. 17, n. 2, p. 413-423, 2016.
- MEDINA-MACEDO, L.; SEBBENN, A. M.; LACERDA A. E.; RIBEIRO, J. Z.; SOCCOL, C. R.; BITTENCOURT, J. V. High levels of genetic diversity through pollen flow of the coniferous *Araucaria angustifolia*: a landscape level study in Southern Brazil. **Tree Genetics & Genomes**, v. 1, n. 1, 814, 2015.
- MEDRI, C.; RUAS, P. M.; HIGA A. R., MURAKAMI, M.; DE FÁTIMA RUAS, C. Effects of forest management on the genetic diversity in a population of *Araucaria angustifolia* (Bert.). **O Kuntze Silvae Genetica**, v. 52, p. 202-205, 2003.
- MENON, S.; CHOUDHURY, B. I.; KHAN, M. L.; PETERSON, A. T. Ecological niche modeling and local knowledge predict new populations of *Gymnocladus assamicus* a critically endangered tree species. **Endanger Species Research**, v. 11, n. 2, p. 175-181, 2010.
- MONTAGNA, T.; FERREIRA, D. K.; STEINER, F.; DA SILVA, F. A. L. S.; BITTENCOURT, R.; DA SILVA, J. Z.; DOS REIS, M. S. A importância das Unidades de Conservação na manutenção da diversidade genética de araucária (*Araucaria angustifolia*) no Estado de Santa Catarina. **Biodiversidade Brasileira**, v. 2, n. 2, p. 18-25, 2012.
- MONTEIRO, R. F. F.; SPELTZ, R. M. Ensaio de 24 procedências de *Araucaria angustifolia* (Bert.) O. Kuntze. In: IUFRO MEETING ON FORESTRY PROBLEMS OF THE GENUS ARAUCARIA, 1., 1979, Curitiba. **Forestry problems of the genus Araucaria**. Curitiba: FUPEF, 1980. p. 181-200.
- MORAES, A. S. L. **Desempenho produtivo e variação genética entre procedências e progênes de *Araucaria angustifolia***. 2017. 41 f. Faculdade de Ciências Sociais e Agrárias de Itapeva, Itapeva, SP. Não publicado.
- MORSE, A. M.; PETERSON, D. G.; ISLAM-FARIDI, M. N.; SMITH, K. E.; MAGBANUA, Z.; GARCIA, S. A.; KUBISIAK, T.L.; AMERSON, H. V.; CARLSON, J. E.; NELSON, C. D.; DAVIS, J. M. Evolution of genome size and complexity in *Pinus*. **PLoS One** v. 4, n. 2, p. e4332, 2009.
- MUNHOZ, M.; LUZ, C. F. P. D.; MEISSNER FILHO, P. E.; BARTH, O. M.; REINERT, F. Viabilidade polínica de *Carica papaya* L.: uma comparação metodológica. **Brazilian Journal of Botany**, v. 31, n. 2, p. 209-214, 2008.
- MURAKAMI, M. H. **Identificação de marcador molecular associado a expressão sexual em *Araucaria angustifolia* (Bert) O. Ktze**. 2002. Tese ( de Doutorado) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba.
- MURRAY, B. G.; LEITCH, I. J.; BENNETT, M. D. **Gymnosperm DNA Cvalues database** (release 4.0, Dec. 2010). Disponível em: <http://www.kew.org/cvalues/>. Acesso em: dez. 2010.
- NARDIN, C. F. **Demografia da *Araucaria angustifolia* (Bertol.) Kuntze e recomendações para a exploração sustentável do pinhão no município do Turvo (PR)**. 2010. 92 f. Dissertação (Mestrado em Conservação da Biodiversidade e Desenvolvimento Sustentável) - Instituto de Pesquisas Ecológicas, Nazaré Paulista.



- NIKLAS, K. J. The aerodynamics of wind pollination. **The Botanical Review**, v. 5, p. 328-386, 1985.
- NIU, S.; YUAN, L.; ZHANG, Y.; CHEN, X.; LI, W. Isolation and expression profiles of gibberellin metabolism genes in developing male and female cones of *Pinus tabulaeformis*. **Functional & Integrative Genomics**, v. 14, n. 4, p. 697-705, 2014.
- PACIFIC BIOSCIENCES. **SMRT sequencing**: read lengths. Disponível em: <http://www.pacb.com/smrt-science/smrt-sequencing/read-lengths/>. Acesso em: 14 fev. 2018.
- PÁDUA, J. A. R. D. **Diversidade e estrutura genética de populações naturais de *Araucaria angustifolia* (Araucariaceae) no estado de Minas Gerais**. 2015. 12 f. Tese (Doutorado em Silvicultura e Genética Florestal) - Universidade Federal de Lavras, Lavras.
- PALUDO, G. F. **Estudo populacional de *Araucaria angustifolia* em paisagem de campo e de floresta**. 2013. 117 f. Dissertação (Mestrado em Ecologia) - Universidade Federal de Santa Catarina, Santa Catarina.
- PALUDO, G. F.; MANTOVANI, A.; KLAUBERG, C.; REIS, M. S. D. Estrutura demográfica e padrão espacial de uma população natural de *Araucaria angustifolia* (Bertol.) Kuntze (Araucariaceae), na Reserva Genética Florestal de Caçador, Estado de Santa Catarina. **Revista Árvore**, v. 33, n. 6, p. 1109-1121, 2009.
- PATREZE, C. M.; TSAI, S. M. Intrapopulational genetic diversity of *Araucaria angustifolia* (Bertol.) Kuntze is different when assessed on the basis of chloroplast of nuclear markers. **Plant Systematic and Evolution**, v. 284, p. 111-122, 2010.
- PERVEEN, A.; ALI, S. Maintenance of pollen germination capacity of *Vitis vinifera* L. (vitaceae). **Pakistan Journal of Botany**, v. 4, n. 5, p. 3001-3004, 2010.
- PERVEEN, A.; KHAN, S. A. Maintenance of pollen germination capacity of *Glycine max* (L.) Merr., (Papilionaceae). **Pakistan Journal of Botany**, v. 41, n. 5, p. 2083-2086, 2009.
- PEREIRA-DIAS, F.; STEINER, N.; CANGAHAULA-INOCENTE, C. G.; LANDO, A. P.; SANTOS, M.; GUERRA, M. P. Integrated proteomics and histochemical analysis of *Araucaria angustifolia* (Bertol.) Kuntze (Araucariaceae) in embryogenic suspension culture. **Annals of Forest Research**, v. 63, n. 2, p. 27-43, 2020.
- PETERSON, D. G. S. R.; SCHULZE, E. B.; SCIARA, S. A.; LEE, J. E.; BOWERS, J. E.; NAGEL, A.; JIANG, N.; TIBBITS, D. C.; WESSLER, S. R.; PATERSON, A. H. Integration of Cot analysis, DNA cloning, and highthroughput sequencing facilitates genome characterization and gene discovery. **Genome Research**, v. 12, p. 795-807, 2002.
- PHARIS, R. P.; WEBBER, J. E.; ROSS, S. D. The promotion of flowering in forest trees by gibberellin A47 and cultural treatments: a review of the possible mechanisms. **Forest Ecology and Management**, v. 19, n. 1-4, p. 65-84, 1987.
- PIJUT, P. M. Eastern white pine flowering in response to spray application of gibberellin A4/7 or Procone™. **Northern Journal of Applied Forestry**, v. 19, n. 2, p. 68-72, 2002.
- PINTO, S. A. A. Influência da dioécia no diâmetro e na altura de *Araucaria angustifolia* (BERT.) O.KTZE. e suas implicações na formação de áreas de produção de áreas de produção de sementes na região de Quedas do Iguacu - Estado do Paraná. **Silvicultura**, v. 7, n. 23, p. 44, 1982.
- PIRES, C. L. S. Teste de progênie de *Araucaria angustifolia* (Bert) O. K. em Campos do Jordão. **Boletim Técnico do Instituto Florestal**, v. 36, n. 1, p. 29-35, 1982.
- PIRES, P. P.; WENDLING, I.; AUER, C. G.; KRATZ, D. Diferentes métodos de enxertia em *Araucaria angustifolia*. In: EVENTO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA EMBRAPA FLORESTAS, 9., 2010, Colombo. **Anais [...]**. Colombo: Embrapa Florestas, 2010. 1 CD-Rom. (Embrapa Florestas. Documentos, 198).
- PIRES, P. P.; WENDLING, I.; BRONDANI, G. Ácido indolbutírico e ortotropismo na miniestaquia de *Araucaria angustifolia*. **Revista Árvore**, v. 37, n. 3, p. 393-397, 2013.
- PIRES, P. T. L.; ZENI J. R.; D. M.; GAULKE, D. As unidades de conservação e a Floresta Ombrófila Mista no estado do Paraná. **Ciência Florestal**, v. 22, n. 3, p. 589-603, 2012.
- POOVAIAH, C.; PHILLIPS, L.; GEDDES, B.; REEVES, C.; SORIEUL, M.; THORLBY, G. Genome Editing With CRISPR/Cas9 in *Pinus Radiata* (D. Don). (Preprints). Disponível em: <https://assets.researchsquare.com/files/rs-117877/v1/7ff37129-ca7f-429c-9d96-163c27b79f12.pdf>. Acesso em: 2 dez. 2020.



PUCHALSKI, A.; MANTOVANI, M.; REIS, M. S. dos. Variações em populações naturais de *Araucaria angustifolia* (Bert.) O. Kuntze associada a condições edafo-climáticas. **Scientia Florestalis**, v. 70, p. 137-148, 2006.

PYE, M. G.; GADEK, P. A. Genetic diversity, differentiation and conservation in *Araucaria bidwilli* (Araucariaceae), Australia's Bunya pine. **Conservation Genetics**, v. 5, p. 619-629, 2004.

REIS, M. S.; MONTAGNA, T.; MATTOS, A. G.; FILIPPON, S.; LADIO, A. H.; MARQUES, A. C.; ZECHINI, A. A.; PERONI, N.; MANTOVANI, A. Domesticated landscapes in Araucaria forests, Southern Brazil: A multispecies local conservation-by-use system. **Frontiers in Ecology and Evolution**, v. 6, p. 11, 2018.

REITZ, R.; KLEIN, R. M. **Araucariáceas**. Itajaí: Herbário Barbosa Rodrigues, 1966. 62 p. (Flora Ilustrada Catarinense).

REITZ, R.; KLEIN, R. M.; REIS, A. Projeto madeira de Santa Catarina. **Sellowia**, n. 28-30, p. 3-320, 1978.

RESENDE, L. V.; SOUSA, V. A. de; SILVA JUNIOR, O. B. da; GRATTAPAGLIA, D. Desenvolvimento de novos microssatélites em *Araucaria angustifolia* via redução de complexidade genômica e sequenciamento. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE RECURSOS GENÉTICOS, 3., 2014, Santos. **Anais [...]** Brasília, DF: Sociedade Brasileira de Recursos Genéticos, 2014. p. 392.

RESENDE, M. D. V.; LOPES, P. S.; SILVA, R. L. da; PIRES, I. E. Seleção genômica ampla (GWS) e maximização da eficiência do melhoramento genético. **Pesquisa Florestal Brasileira**, v. 56, p. 63-67, 2008.

RHOADS, A.; AU, K.F. PacBio Sequencing and its applications. **Genomics, Proteomics & Bioinformatics Mechanism and Performance**, v. 13, n. 5, p. 278-289, 2015.

ROGGE-RENNER, G. D.; STEINER, N.; SCHMIDT, É. C.; BOUZON, Z. L.; FARIAS, F. L.; GUERRA, M. P. Structural and component characterization of meristem cells in *Araucaria angustifolia* (Bert.) O. Kuntze zygotic embryo. **Protoplasma**, v. 250, p. 731-739, 2013.

ROGGE-RENNER, G. D.; STEINER, N.; SCHMIDT, É. C.; GUERRA, M. P.; BOUZON, Z. L.; FARIAS, F. L.; ORTIZ, J. Ontogenia de megaestróbilos de *Araucaria angustifolia* (Bert.) O. Kuntze (Araucariaceae). **Acta Biologica Catarina**, v. 2, p. 0-41, 2017.

ROQUE, R. H. **Effects of selective logging on genetic diversity of *Araucaria angustifolia* (Bertol.) Ktze**. 2019. 89 f. Dissertação (Mestrado) - Unicentro, Irati.

ROSS, S. D. Long term cone production and growth responses to crown management and gibberellin A 4/7 treatment in a young western hemlock seed orchard. **New Forests**, v. 3, n. 3, p. 235-245, 1989.

SALGUEIRO, F.; CARON, H.; SOUZA, M. I. F.; KREMER, A.; MARGIS, R. Characterization of nuclear microsatellite loci in South American Araucariaceae species. **Molecular Ecology Notes**, v. 5, n. 2, p. 256-258, 2005.

SALOIO, N. R.; VIEIRA, E. S. N.; FRIZZO, C. Criopreservação de embriões de *Araucaria angustifolia* (Bert.) O. Kuntze. In: EVENTO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA EMBRAPA FLORESTAS, 12., 2013, Colombo. **Anais [...]**. Colombo: Embrapa Florestas, 2013. (Embrapa Florestas. Documentos, 253).

SANT'ANNA, C. S. **Diversidade genética, estrutura genética espacial e dispersão realizada de pólen e sementes em uma população contínua de *Araucaria angustifolia* (Bertol.) Kuntze no planalto norte de Santa Catarina**. 2012. 89 f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis.

SANT'ANNA, C. S.; SEBBENN, A. M.; KLABUNDE, G. H.; BITTENCOURT, R.; NODARI, R. O.; MANTOVANI, A.; DOS REIS, M. S. Realized pollen and seed dispersal within a continuous population of the dioecious coniferous Brazilian pine [*Araucaria angustifolia* (Bertol.) Kuntze]. **Conservation Genetics**, v. 14, n. 3, p. 601-613, 2013.

SANTOS, A. L. W.; SILVEIRA, V.; STEINER, N.; VIDOR, M.; GUERRA, M. P. Somatic embryogenesis in Parana Pine *Araucaria angustifolia* (Bert.) O. Kuntze. **Brazilian Archives Biology Technology**, v. 45, p. 97-106, 2002.

SARMAST, M. K.; SALEHI, H.; KHOSH-KHUI, M. Micropropagation of *Araucaria excelsa* R. Br. var. *glauca* Carrière from orthotropic stem explants. **Physiology and Molecular Biology of Plants**, v. 18, p. 265-271, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1007/s12298-012-0115-9>.



- SCHADT, E. E.; TURNER, S.; KASARSKIS, A. A window into third-generation sequencing. **Human Molecular Genetics**, v. 19, n. R2, p. R227-R240, 2010.
- SCHMIDTLING, R. C. Influence of interstock on flowering and growth of loblolly pine grafts. **Forest Service, Tree Planter's Notes**, v. 34, n. 1, 1983.
- SEBBENN, A. M.; PONTINHA, A. A. S.; FREITAS, S. A.; FREITAS, J. A. Variação genética em cinco procedências de *Araucaria angustifolia* (Bert.) O. Ktze. no sul do estado de São Paulo. **Revista do Instituto Florestal**, v. 16, n. 2, p. 91-99, 2004.
- SEBBENN, A. M.; PONTINHA, A. A. S.; GIANOTTI, E.; KAGEYAMA, P. Y. Genetic variation in provenance-progeny test of *Araucaria angustifolia* (Bert.) O. Ktze. in São Paulo, Brasil. **Silvae Genetica**, v. 52, n. 5-6, p. 181-184, 2003a.
- SEBBENN, A. M.; PONTINHA, A. A. S.; GIANNOTTI, E.; KAGEYAMA, P. Y. Variação genética em cinco procedências de *Araucaria angustifolia* (Bert.) O. Ktze. no sul do estado de São Paulo. **Revista do Instituto Florestal**, v. 15, p. 109-12, 2003b.
- SEBBENN, A. M.; PONTINHA, A. A. S.; GIANOTTI, E.; KAGEYAMA, P. Y. Variação genética entre e dentro de procedências e progênies de *Araucaria angustifolia* no sul do estado de São Paulo. **Revista do Instituto Florestal**, v. 15, n. 2, p. 109-124, 2003c.
- SEHGAL, L.; SEHGAL, O. P.; KHOSLA, P. K. Micropropagation of *Araucaria columnaris* Hook. **Annales des Sciences Forestières**, v. 46, p. 158-160, 1989.
- SETOGUCHI, H.; ASAKAWA OSAWA, T.; PINTAUD, J. C.; JAFFRÉ, T.; VEILLON, J. M. Phylogenetic relationships within Araucariaceae based on rbcL gene sequences. **American Journal of Botany**, v. 85, n. 11, p. 1507-1516, 1998.
- SEXTON, J. P.; MCINTYRE, P. J.; ANGERT, A. L.; RICE, K. J. Evolution and ecology of species range limits. **Annual Review of Ecology, Evolution and Systematics**, v. 40, p. 415-436, 2009.
- SHIBATA, M.; COELHO, C. M. M.; STEINER, N. Physiological quality of *Araucaria angustifolia* seeds at different stages of development. **Seed Science Technology**, v. 41, n. 2, p. 214-224, 2013.
- SHIMIZU, J.; HIGA, A. R. Variação genética entre procedências de *Araucaria angustifolia* (Bert.) O. Ktze, na região de Itapeva, estimada até o sexto ano de idade. In: IUFRO MEETING ON FORESTRY PROBLEMS OF THE GENUS ARAUCARIA, 1., 1979, Curitiba. **Forestry problems of the genus Araucaria**. Curitiba: FUPEF, 1980. p. 78-82.
- SHIMIZU, J. Y. Estratégia complementar para conservação de espécies florestais nativas: resgate e conservação de ecótipos ameaçados. **Pesquisa Florestal Brasileira**, n. 54, p. 7-35, 2007.
- SHIMIZU, J. Y.; JAEGER, P.; SOPCHAKI, S. A. Variabilidade genética em uma população remanescente de Araucária no Parque Nacional do Iguaçu, Brasil. **Boletim de Pesquisa Florestal**, v. 41, p. 18-36, 2000.
- SHIMIZU, J. Y.; OLIVEIRA, Y. M. M. **Distribuição, variação e usos dos recursos genéticos da Araucaria no Sul do Brasil**. Curitiba: EMBRAPA-URPFCS, 1981. 9 p. (EMBRAPA-URPFCS. Documentos, 4).
- SHIMIZU, J. Y. Variação entre procedências de Araucária em Ribeirão Branco (SP) aos vinte e três anos de idade. **Boletim de Pesquisa Florestal**, n. 38, p. 89-102, 1999.
- SHIMOYA, C. Contribuição ao estudo do ciclo biológico de *Araucaria angustifolia* (Bertolini) O. Kte. **Experientiae**, v. 2, p. 520-540, 1962.
- SILVA, C. V. D.; REIS, M. S. D. Produção de pinhão na região de Caçador, SC: aspectos da obtenção e sua importância para comunidades locais. **Ciência Florestal**, v. 19, n. 4, p. 363-374, 2009.
- SILVA, E. C. B. D. **Estimativas de herdabilidades em populações naturais contínuas e fragmentadas de Araucaria angustifolia (Bertol.) Kuntze**. 2014. 64 f. Dissertação (Mestrado em sistema de produção) - Universidade Estadual Paulista de Ilha Solteira, Ilha Solteira.
- SILVA, E. C. B.; KUBOTA, T. Y. K.; DE MORAES, M. L. T.; SEBBENN, A. M. Coeficientes de herdabilidade e de parentesco em um fragmento florestal de *Araucaria angustifolia* (Bertol.) Kuntze utilizando marcadores genéticos **Scientia Forestalis**, v. 43, n. 105, p. 147-153, 2015.



- SILVA, J. R. **Caracterização genética de áreas de produção de sementes de *Araucaria angustifolia* (BERT.) O. Ktze para produção de pinhão e madeira.** 2016. 90 f. Dissertação (Mestrado em Sistema de Produção) - Universidade Estadual Paulista de Ilha Solteira, Ilha Solteira.
- SILVA, J. R.; SANTOS, W.; SOUSA, V. A.; SHIMIZU, J. Y.; MORAES, M. L. T.; AGUIAR, A. V. Seleção de procedências e progênies de *Araucaria angustifolia* (BERT.) O. Kuntze para produção de madeira e pinhão. **Scientia Forestalis**, v. 46, n. 120, p. 519-531, 2018.
- SILVA, P. I. T.; SILVA-JUNIOR, O. B.; RESENDE, L. V.; SOUSA, V. A.; AGUIAR, A. V.; GRATTAPAGLIA, D. A 3K Axiom SNP array from a transcriptome-wide SNP resource sheds new light on the genetic diversity and structure of the iconic subtropical conifer tree *Araucaria angustifolia* (Bert.) Kuntze. **Plos One**, v. 15, n. 8, p. 1-25, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0230404>.
- SILVEIRA, V.; SANTA-CATARINA, C.; TUN, N. N.; SCHERER, G. F. E.; HANDRO, W.; GUERRA, M. P.; FLOH, E. I. S. Polyamine effects on the endogenous polyamine contents, nitric oxide release, growth and differentiation of embryogenic suspension cultures of *Araucaria angustifolia* (Bert.) O. Ktze. **Plant Science**, v. 171, p. 91-98, 2006. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2006.02.015>.
- SILVEIRA, V.; SANTOS, A. L. W.; STEINER, N.; GUERRA, M. P. Fatores associados a indução da poliembriogênese somática em *Araucaria angustifolia* (Bert.) O. Ktze, **Brazilian Journal of Plant Physiology**, v. 11, supl., p. 66-67, 1999.
- SILVEIRA, V.; STEINER, N.; SANTOS, A. L. W.; NODARI, R. O.; GUERRA, M. P. Biotechnology tools in *Araucaria angustifolia* conservation and improvement: inductive factors affecting somatic embryogenesis. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v. 2, p. 463-470, 2002.
- SINCLAIR, J. P.; EMLÉN, J.; FREEMAN, D. C. Biased sex ratios in plants: theory and trends. **Botanical Review**, v. 78, n. 1, p. 66-86, 2012.
- SOLÓRZANO-FILHO, J. A. **Demografia e ecologia da dispersão de sementes de *Araucaria angustifolia* (Bert.) Ktze (Araucariaceae), numa população relictual em Campos do Jordão, SP.** 2001. Dissertação (Mestrado) - Universidade de São Paulo, São Paulo.
- SOUSA-LANG, V. A.; PINTO JUNIOR, J. E. Efeito da concentração de agar na germinação in vitro do pólen de *Araucaria angustifolia* (BERT.) O. KTZE. **Boletim de Pesquisa Florestal**, n. 34, p. 45-5, 1997.
- SOUSA-LANG, V. A.; PINTO JUNIOR, J. E. Efeitos de diferentes açúcares na germinação do pólen de *Araucaria angustifolia*. **Boletim de Pesquisa Florestal**, n. 7, p. 3-7, 1996.
- SOUSA, V. A. de; AGUIAR, A. V. de. **Programa de melhoramento genético de araucária da Embrapa Florestas: situação atual e perspectivas.** Colombo: Embrapa Florestas, 2012. 17 p. (Embrapa Florestas. Documentos, 237).
- SOUSA, V. A. de; CHAVES NETO, A.; SHIMIZU, J. Y.; VALGAS, R. A.; LAVORANTI, O. J. Genetic differentiation among *Araucaria* populations in Brazil. In: CONGRESSO FORESTAL MUNDIAL, 13., 2009, Buenos Aires. **Desarrollo forestal: equilibrio vital.** Argentina: FAO, 2009. Resumo.
- SOUSA, V. A. de; HATTEMER, H. H. Genetic variation in natural populations of *Araucaria angustifolia* (Berth.) O. Kuntze in Brazil. In: MULLER-STARCK, G.; SCHUBERT, R. (ed.). **Genetic response of forest systems to changing environmental conditions.** Dordrecht: Kluwer Academic Publ., 2001. p. 93-103 (Forestry sciences, 70).
- SOUSA, V. A. (ed.). **Cultivo da Araucária.** 2. ed. Brasília, DF: Embrapa, 2014. (Embrapa Florestas. Sistema de produção, 7). Disponível em: [https://www.spo.cnpntia.embrapa.br/conteudo?p\\_p\\_id=conteudoportlet\\_WAR\\_sistema\\_de\\_producao\\_lf6\\_1\\_gal1ceportlet&p\\_p\\_lifecycle=0&p\\_p\\_state=normal&p\\_p\\_mode=view&p\\_p\\_col\\_id=column-2&p\\_p\\_col\\_count=1&p\\_r\\_p\\_-76293187\\_sistemaProducaoId=3505&p\\_r\\_p\\_-996514994\\_topicoId=2851](https://www.spo.cnpntia.embrapa.br/conteudo?p_p_id=conteudoportlet_WAR_sistema_de_producao_lf6_1_gal1ceportlet&p_p_lifecycle=0&p_p_state=normal&p_p_mode=view&p_p_col_id=column-2&p_p_col_count=1&p_r_p_-76293187_sistemaProducaoId=3505&p_r_p_-996514994_topicoId=2851).
- SOUSA, V. A.; GUIMARÃES, G.; TOMIGIAN, D.; DE AGUIAR, A. V. *Araucaria angustifolia* pollen handling and germination. In: EVENTO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA EMBRAPA FLORESTAS, 2019, Colombo. **Anais [...]**. Colombo: Embrapa Florestas. v. 39, p. 51, 2019.
- SOUSA, V. A.; HATTEMER, H. H. Fenologia reprodutiva da *Araucaria angustifolia* no Brasil. **Pesquisa Florestal Brasileira**, n. 47, p. 19-32, 2003a.
- SOUSA, V. A.; HATTEMER, H. H. Pollen dispersal and gene flow by pollen in *Araucaria angustifolia*. **Australian Journal of Botany**, v. 5, n. 3, p. 309-317, 2003b.



SOUSA, V. A.; MIKICH, S. B.; LIEBSCH, D. **Estudo ecológico e genético de *Araucaria angustifolia* como base para um programa de controle dos danos causados pelo macaco-prego aos plantios comerciais de *Pinus* spp.** 2010c. 10 f. Relatório de Projeto, não publicado.

SOUSA, V. A. **Population genetic studies in *Araucaria angustifolia* (Bert.) O. Ktze.** 2001. 161 f. Thesis (PhD) - Faculty of Forest Sciences and Forest Ecology, Institute of Forest Genetics and Forest Tree Breeding, Georg-August University of Göttingen., Germany.

SOUSA, V. A.; REEVES, P. A.; REILLEY, A.; DE AGUIAR, A. V.; STEFENON, V. M.; RICHARDS, C. M. Genetic diversity and biogeographic determinants of population structure in *Araucaria angustifolia* (Bert.) O. Ktze. **Conservation Genetics**, p.1-13, 2020.

SOUSA, V. A.; ROBINSON, I. P.; HATTEMER, H. H. Variation and population structure at enzyme gene loci in *Araucaria angustifolia* (Bert.) O. Ktze. **Silvae Genetica**, v. 5, n. 1-6, p.12-19, 2004.

SOUSA, V. A.; SCHEMBERG, E. A.; AGUIAR, A. V. Germinação *in vitro* de pólen de jerivá (*Syagrus romanzoffii* ana (S.) Cham). **Scientia Forestalis**, v. 38, n. 86, p. 147-151, 2010a.

SOUSA, V. A.; SEBBENN, A. M.; HATTEMER, H. H.; ZIEHE, M. Correlated mating in populations of a dioecious Brazilian conifer, *Araucaria angustifolia* (Bert.) O. Ktze. **Forest Genetics**, v. 1, n. 2, p. 107, 2005.

SOUZA, M. I. F.; SALGUEIRO, F.; BOTTINO, M. C.; FÉLIX, D. B.; FERREIRA, M. A.; BITTENCOURT, J. V.; MARGIS, R. Patterns of genetic diversity in southern and southeastern *Araucaria angustifolia* (Bert.). O. Kuntze relict populations. **Genetics and Molecular Biology**, v. 32, n. 3, p. 546-556, 2009.

SPRAGUE, J. R.; JOHNSON, V.W. Extraction and storage of loblolly pine (*Pinus taeda*) pollen. In: SOUTHERN FOREST TREE IMPROVEMENT CONFERENCE, 14., 1977, Macon. [**Proceedings...**]. Macon: Eastern Tree Seed, 1977. p. 20-27.

STEFENON, V. M.; BEHLING, H.; GAILING, O.; FINKELDEY, R. Evidences of delayed size recovery in *Araucaria angustifolia* populations after post-glacial colonization of highlands in Southeastern Brazil. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 80, p. 433-443, 2008a.

STEFENON, V. M. Brazilian pine: Genetic studies for the management of the forests and the threats. In: FRISIRAS, C. H. **Pine forests: types, threats and management**, p 1-22. 2011.

STEFENON, V. M.; CAPRESTANO, C. A. Monoicy in *Araucaria angustifolia* (Bert.) O. Kuntze (Araucariaceae): I. Morphological aspects of the reproductive structures. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 81, n. 4, p. 701-705, 2009.

STEFENON, V. M.; GAILING, O.; FINKELDEY, R. Genetic structure of *Araucaria angustifolia* (Araucariaceae) populations in Brazil: Implications for the ex situ conservation of genetic resources. **Plant Biology**, v. 9, p. 516-525, 2008b.

STEFENON, V. M.; GAILING, O.; FINKELDEY, R. Genetic structure of plantations and the conservation of genetic resources of Brazilian pine (*Araucaria angustifolia*). **Forest Ecology and Management**, v. 255, p. 2718-2725, 2008c.

STEFENON, V. M.; KLABUNDE, G.; LEMOS, R. P. M.; ROGALSKI, M.; NODARI, R. O. Phylogeography of plastid DNA sequences suggests post-glacial southward demographic expansion and the existence of several glacial refugia for *Araucaria angustifolia*. **Scientific reports**, v. 9, n. 1, 2752, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-019-39308-w>.

STEFENON, V. M.; MARQUES-PINHEIRO, M.; GOETEN, D.; REE, J. F.; STEINER, N.; GUERRA, M. P. Advances and constraints in somatic embryogenesis of *Araucaria angustifolia*, *Acca sellowiana* and *Bactris gasipaes*. **Plant Cell Tissue And Organ Culture**, v. 143, p. 241-263, 2020.

STEFENON, V. M.; NODARI, R. O.; REIS, M. S. Padronização de protocolo AFLP e sua capacidade informativa para análise da diversidade genética em *Araucaria angustifolia*. **Scientia Forestalis**, v. 64, p. 63-171, 2003.

STEFENON, V. M.; STEINER, N.; GUERRA, M. P.; NODARI, R. O. Integrating approaches towards the conservation of forest genetic resources: a case study of *Araucaria angustifolia*. **Biodiversity Conservation**, v.18, p. 2433-2448, 2009.



STEINER, N.; FARIAS-SOARES, F. L.; SCHMIDT, É. C.; PEREIRA, M. L.; ROGGE-RENNER, G. D.; BOUZON, Z. L.; SCHMITZ, D.; MALDONADO, S.; GUERRA, M. P. Toward establishing a morphological and ultrastructural characterization of proembryogenic masses and early somatic embryos of *Araucaria angustifolia* (Bert.) O. Kuntze. **Protoplasma**, v. 253, p. 487-501, 2015.

STEINER, N.; HILL, L.; DORR, E.; WALTERS, C. Development of cryobiotechnologies to preserve zygotic embryo tissues of North American tree species. **Cryobiology**, v. 97, p. 281-282, 2020.

STEINER, N. **Parâmetros fisiológicos e bioquímicos durante a embriogênese zigótica e somática de *Araucaria angustifolia* Bert O. Kuntze**. 2005a. 136 f. Dissertação (Mestrado em Recursos Genéticos Florestais) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis.

STEINER, N.; SANTA-CATARINA, C.; ANDRADE, J. B. R.; BALBUENA, T. S.; GUERRA, M. P.; HANDRO, W.; FLOH, E. I. S.; SILVEIRA, V. *Araucaria angustifolia* biotechnology. **Functional Plant Science and Biotechnology**, v. 2, p. 20-28, 2008.

STEINER, N.; SANTA-CATARINA, C.; GUERRA, M.P.; CUTRI, L.; DORNELAS, M.C.; FLOH, E.I. S.; A gymnosperm homolog of SOMATIC EMBRYOGENESIS RECEPTOR-LIKE KINASE-1 (SERK1) is expressed during somatic embryogenesis. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v. 109, p. 41-50, 2012.

STEINER, N.; SANTA-CATARINA, C.; SILVEIRA, V.; FLOH, E. I. S.; GUERRA, M. P. Polyamine effects on growth and endogenous hormones levels in *Araucaria angustifolia* embryogenic cultures. **Plant Cell Tissue Organ Culture**, v. 89, p. 55-62, 2007.

STEINER, N.; VIEIRA, F. do N.; MALDONADO, S.; GUERRA, M. P. Carbon source affects morphogenesis and histodifferentiation of *A. angustifolia* embryogenic cultures. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 48, n. 6, p. 895-903, 2005.

TAGLIARI, M. S. M. **Etnoecologia e estrutura populacional de *Araucaria angustifolia* (bert.) o. ktze no sul do Brasil**: subsídios de uso e manejo sustentável de recursos. 2013. 112 f. Trabalho de curso (Graduação) - Universidade Federal de Santa Catarina em Ciências Biológicas, Florianópolis.

TELLA, J. L.; BLANCO, G.; DÉNES, F. V.; HIRALDO, F. Overlooked parrot seed dispersal in Australia and South America: insights on the evolution of dispersal syndromes and seed size in *Araucaria* trees. **Frontiers in Ecology and Evolution**, v. 7, p. 82, 2019.

TESDORFF, H. Kreuzungsversuche mit *Araucaria araucana* (Molina) K. Koch und *Araucaria angustifolia* (Bertoloni) O. Ktze. **Forstgenetik Forsplanzenzuchtung**, v. 5, p. 79-84, 1956.

THOMAS, P. *Araucaria angustifolia*. In: THE IUCN Red List of Threatened Species 2013: e.T32975A2829141. 2013. DOI: <https://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2013-1.RLTS.T32975A2829141.en>.

VALGAS, R. A.; CHAVES NETO, A.; LAVORANTI, O. J.; DE SOUSA, V. A. Cluster analysis applied in mapping the genetic divergence of populations of *Araucaria angustifolia* (Bert.) O. Ktze by isoenzymatic markers. In: WSEAS INTERNATIONAL CONFERENCE ON MATHEMATICS AND COMPUTERS IN BIOLOGY AND CHEMISTRY, 10., Prague, 2009. **Proceedings** [...]. Prague: World Scientific and Engineering Academy and Society (WSEAS Press), 2009. p. 87-91.

VALGAS, R. A.; CHAVES NETO, A.; LAVORANTI, O. J.; DE SOUSA, V. A. Técnicas de Agrupamento Aplicadas no Mapeamento da Divergência Genética de Subpopulações de *Araucaria Agustifolia* (bert.) O. Ktze em Irati, PR e caçador, SC por marcadores Isoenzimáticos. **Ciência e Natura**, v. 32, n. 2, p. 35-50, 2010.

VENCOVSKY, R.; CHAVES, L. J.; CROSSA, J. Variance effective population size for dioecious species. **Crop Science**, v. 52, n. 1, p. 79-90, 2012.

VIDAKOVIĆ, M. **Conifers: morphology and variation**. Croatia: Grafi čKo Zavod Hrlatskse; Oxon: CAB International, 1991. 755 p.

VIEIRA-DA-SILVA, C.; REIS, M. S. Produção de pinhão na região de Caçador, SC: aspectos da obtenção e sua importância para comunidades locais. **Ciência Floresta**, v. 19, p. 363-374, 2009. DOI: 10.5902/19805098892



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

VIEIRA, W. O reflexo da defaunação para uma espécie ameaçada: o caso da *Araucaria angustifolia* em paisagem de campo em Santa Catarina. 2017. 21 p. TCC de graduação (Graduação em Agronomia)- Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, SC.

VOIG, L., FRIZZO, C.; VIEIRA, E. S. N. Criopreservação de eixos embrionários de araucária por meio de encapsulamento/desidratação e V-crioplaca. In: EVENTO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA EMBRAPA FLORESTAS, 16., 2017, Colombo. **Anais [...]**. Colombo: Embrapa Florestas, 2017.

WENDLING, I.; DUTRA, L. F.; HOFFMANN, H. A.; BETTIO, G.; HANSEL, F. Indução de brotações epicórmicas ortotrópicas para a propagação vegetativa de árvores adultas de *Araucaria angustifolia*. **Agronomia Costaricense**, v. 33, n. 2, p. 309-319, 2009.

WENDLING, I. **Enxertia e florescimento precoce em *Araucaria angustifolia***. Colombo: Embrapa Florestas, 2011, 7 p. (Embrapa Florestas. Comunicado Técnico, 272).

WENDLING, I. **Tecnologia de enxertia de *Araucaria angustifolia* para produção precoce de pinhões, com plantas de porte reduzido**. Colombo: Embrapa Florestas, 2015, 7 p. (Embrapa Florestas, 2015, 7 p. (Comunicado Técnico, 351). Disponível em: <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/handle/doc/1017594>

WHEELER, N. C.; WAMPLE, R. L.; PHARIS, R. P. Promotion of flowering in the Pinaceae by gibberellins: IV. Seedlings and sexually mature grafts of lodgepole pine. **Physiologia Plantarum**, v. 50, n. 4, p. 340-346, 1980.

WREGE, M. S.; FRITZSONS, E.; SOARES, M. T. S.; BOGNOLA, I. A.; SOUSA, V. A.; SOUSA, L. P.; GOMES, J. B. V.; AGUIAR, A. V.; GOMES, J. C.; MATOS, M. F. S.; SCARANTE, A. G.; FERRER, R. S. Distribuição natural e habitat da araucária frente às mudanças climáticas globais. **Brazilian Journal of Forestry Research**, v. 7, p. 31-346, 2017.

WREGE, M. S.; HIGA, R. C. V.; BRITZ, R. M.; GARRASTAZU, M. C.; DE SOUSA, V. A.; CARAMORI, P.; RADIN, H. B.; BRAGA, H. J. Climate change and conservation of *Araucaria angustifolia* in Brazil. **Unasylya**, v. 60, p. 231-232, 2009.

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

ZANETTE, F.; OLIVEIRA, L. D. S.; BIASI, L. A. Grafting of *Araucaria angustifolia* (Bertol.) Kuntze through the four seasons of the year. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 33, n. 4, p. 1364-1370, 2011.

ZANON, M. L. B. **Crescimento da *Araucaria angustifolia* (Bertol.) Kuntze diferenciado por diócia**. 2007. 193 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Florestal) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS.

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

ZECHINI, A. A.; LAUTERJUNG, M. B.; CANDIDO-RIBEIRO, R.; MONTAGNA, T.; BERNARDI, A. P.; HOELTGEBAUM, M. P.; DOS REIS, M. S. Genetic conservation of brazilian pine (*Araucaria angustifolia*) through traditional land use. **Economic Botany**, v. 72, n. 2, 166-179, 2018.

ZECHINI, A. A. **Morfometria, produção, fenologia e diversidade genética: subsídios para conservação da *Araucaria angustifolia* (Bert.) O. Ktze e coleta sustentável do pinhão no planalto catarinense**. 2012. 193 f. Dissertação (Mestrado em Recursos Genéticos Vegetais) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis.

ZECHINI, A. A.; SCHUSSLER, G.; SILVA, J. Z.; MATTOS, A. G.; PERONI, N.; MONTOVANI, A.; REIS, M. S. Produção, comercialização e identificação de variedades de pinhão no entorno da Floresta Nacional de Três Barras – SC. **Biodiversidade Brasileira**, v. 2, n. 2, p. 74-82, 2012. DOI: <https://doi.org/10.37002/biobrasil.v%25vi%25i.275>.

ZIMIN, A.; STEVENS, K. A.; CREPEAU, M. W.; HOLTZ-MORRIS, A.; KORIBABINE, M.; MARÇAIS, G.; PUIU, M. R.; WEGRZYŃ, P. J.; PIETER, J. J.; NEALE, D. B.; SALZBERG, S. L.; YORKE, J. A.; LANGLEY, C. H. Sequencing and assembly of the 22-Gb loblolly pine genome. **Genetics**, v. 196, n. 3, p. 875-890, 2014.

ZHAO, P.; FAN, J. F.; ZHANG, S. X.; HUANG, Z. L.; YANG, P. H.; MA, Z. H.; WOESTE, K. E. Effects of gibberellin A 4/7, 6-benzylaminopurine and chlormequat chloride on the number of male and female strobili and immature cones in Chinese Pine (*Pinus tabulaeformis*) with foliar sprays. **Journal of forestry Research**, v. 22, n. 3, p. 353-359, 2011.

ZONNEVELD, B. J. M. Genome sizes of 172 species, covering 64 out of the 67 genera, range from 8 to 72 picogram. **Nordic Journal Botany**, v. 30, p. 490-502, 2012a.

ZONNEVELD, B. J. M. Genome sizes of all 19 Araucaria species are correlated with their geographical distribution. **Plant Systematics and Evolution**, v. 298, n. 7, p. 1249-1255, 2012b.