

**DIVERSIDADE E ESTRUTURA GENÉTICA
DE *Protium spruceanum* (Benth.) Engler EM
REMANESCENTES E CORREDORES DE
VEGETAÇÃO NA REGIÃO DO
ALTO RIO GRANDE-MG**

FÁBIO DE ALMEIDA VIEIRA

2005

FÁBIO DE ALMEIDA VIEIRA

**DIVERSIDADE E ESTRUTURA GENÉTICA DE *Protium spruceanum*
(Benth.) Engler EM REMANESCENTES E CORREDORES DE
VEGETAÇÃO NA REGIÃO DO ALTO RIO GRANDE-MG**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras como parte das exigências do Curso de Mestrado em Engenharia Florestal, área de concentração em Manejo Ambiental, para a obtenção do título de “Mestre”.

Orientadora
Profa. Dra. Dulcinéia de Carvalho

LAVRAS
MINAS GERAIS – BRASIL
2005

Ficha Catalográfica Preparada pela Divisão de Processos Técnicos da
Biblioteca Central da UFLA

Vieira, Fábio de Almeida.

Diversidade e estrutura genética de *Protium spruceanum* (Benth.) Engler em remanescentes e corredores de vegetação na região do Alto Rio Grande-MG. / Fábio de Almeida Vieira. -- Lavras : UFLA, 2005.

100 p. : il.

Orientadora: Dulcinéia de Carvalho.

Dissertação (Mestrado) – UFLA.

Bibliografia.

1. Burseraceae. 2. Fragmentos florestais. 3. Corredor de vegetação. 4. Fluxo gênico. 5. Autocorrelação espacial. I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.

CDD-583.24

-634.97324

FÁBIO DE ALMEIDA VIEIRA

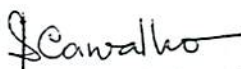
**DIVERSIDADE E ESTRUTURA GENÉTICA DE *Protium spruceanum*
(Benth.) Engler EM REMANESCENTES E CORREDORES DE
VEGETAÇÃO NA REGIÃO DO ALTO RIO GRANDE-MG**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras como parte das exigências do Curso de Mestrado em Engenharia Florestal, área de concentração em Manejo Ambiental, para a obtenção do título de “Mestre”.

APROVADA em 12 de dezembro de 2005.

Prof. Dr. Eduardo van den Berg - UFLA

Profa. Dra. Edivani Villaron Franceschinelli - UFG



Profa. Dra. Dulcinéia de Carvalho - UFLA
(Orientadora)

LAVRAS
MINAS GERAIS - BRASIL

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela conquista.

Aos meus pais, pela luta incansável na formação de seus filhos e apoio em todos os momentos.

Ao programa de pós-graduação em Engenharia Florestal/UFLA.

À professora Dra. Dulcinéia de Carvalho, pela orientação, amizade e atenção em todas as etapas do trabalho.

Aos professores Dr. Eduardo van den Berg e Dra. Edivani Villaron Franceschinelli, pela leitura da dissertação e sugestões.

Aos amigos e colegas do laboratório, Cristiane, Evânia, Maria Carolina, Mirian, Alison, Regiane, Leandra, Joema, Ana Cecília e Sílvia; ao Anderson Marcos, pela amizade e ajuda no campo e a Márcia Cristina, pela amizade e dicas de laboratório.

Aos amigos Rubens e Evandro e a todos os colegas de pós-graduação. A Vivette Appolinário, pela amizade e colaboração no estudo da biologia reprodutiva da espécie. A Gislene C. de Castro, pela amizade e informações demográficas da espécie.

À CAPES, pela concessão da bolsa de estudos.

SUMÁRIO

	Página
RESUMO.....	i
1 INTRODUÇÃO.....	1
2 REFERENCIAL TEÓRICO.....	3
2.1 Fragmentação.....	3
2.2 Corredores de vegetação.....	5
2.3 Caracterização da espécie.....	7
2.4 Diversidade e estrutura genética em espécies arbóreas.....	10
2.5 Fluxo gênico.....	12
2.6 Distribuição espacial dos genótipos.....	14
2.7 Tamanho efetivo populacional.....	17
2.8 Marcadores isoenzimáticos.....	19
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	21
3.1 Área de estudo.....	21
3.2 Amostragem.....	24
3.3 Extração das enzimas e eletroforese.....	25
3.4 Análise estatística.....	28
3.4.1 Diversidade genética intrapopulacional.....	28
3.4.2 Estrutura genética.....	29
3.4.3 Fluxo gênico.....	31
3.4.4 Distribuição espacial dos genótipos.....	32
3.4.5 Tamanho efetivo populacional.....	33
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	36
4.1 Sistemas enzimáticos.....	36
4.2 Freqüências alélicas.....	37
4.3 Índices de variabilidade genética.....	43
4.4 Estrutura genética.....	47
4.5 Fluxo gênico entre fragmentos e corredores.....	52
4.6 Distribuição espacial dos genótipos dentro dos fragmentos.....	61
4.7 Tamanho efetivo populacional.....	74
5 CONCLUSÕES.....	79
6 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	81
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	82

RESUMO

VIEIRA, Fábio de Almeida. **Diversidade e estrutura genética de *Protium spruceanum* (Benth.) Engler em remanescentes e corredores de vegetação na região do Alto Rio Grande-MG.** 2005. 100p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Florestal) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.¹

Os corredores, como estruturas lineares de vegetação, são uma alternativa importante na conexão dos remanescentes isolados, minimizando os efeitos negativos da fragmentação. Na paisagem regional são comuns os corredores de vegetação que interligam os pequenos remanescentes de vegetação primitiva. Eles são estreitos, aproximadamente 4 m, e são o resultado da colonização por espécies nativas de árvores nos valos, usados para a divisão de glebas de terras. A espécie arbórea *Protium spruceanum* (Benth.) Engler, Burseraceae, conhecida como breu, é abundante na área de estudo. Sendo assim, objetivou-se caracterizar a variabilidade genética das populações de *P. spruceanum* nos fragmentos e corredores de vegetação, na região de Lavras. Dez locos isoenzimáticos polimórficos foram utilizados para estimar as frequências alélicas referentes a 150 indivíduos distribuídos em cinco remanescentes e de 80 indivíduos no corredor de vegetação. Os resultados indicaram alta variabilidade genética para a espécie nos fragmentos ($\hat{H}_o = 0,510$ e $\hat{H}_e = 0,445$) e nos corredores ($\hat{H}_o = 0,418$ e $\hat{H}_e = 0,413$). Verificou-se a ausência de endogamia dentro ($\hat{j} = -0,098$) e para o conjunto das populações ($\hat{F} = -0,065$). A divergência genética para a espécie entre os fragmentos foi de 3,7%. O fluxo gênico estimado para o conjunto dos fragmentos foi alto, com $\hat{N}m = 4,2$. A correlação entre as matrizes de distância genética e geográfica não explicou o fluxo gênico dependente da distância ($r_m = -0,079$), corroborando a baixa diferenciação genética da espécie entre os fragmentos. Apenas o fragmento F4a apresentou baixo fluxo gênico com o fragmento F1, de maior densidade de indivíduos de *P. spruceanum*. O fragmento F4a apresentou maior fluxo gênico com fragmentos e corredores vizinhos. Em geral, todos os fragmentos apresentaram elevado fluxo gênico com os corredores vizinhos. Os genótipos de *P. spruceanum* nos fragmentos F1, F2, F4b e F5 e nos corredores de vegetação estão distribuídos de maneira aleatória. O fragmento F4a apresentou autocorrelação espacial positiva na menor classe de distância, indicando agrupamentos de indivíduos de *P. spruceanum* provavelmente aparentados. Evidências de gargalos populacionais recentes foram detectadas nos fragmentos, provavelmente decorrentes da fragmentação florestal.

¹ Comitê Orientador: Dulcinéia de Carvalho - UFLA (Orientador); Eduardo van den Berg - UFLA (Co-orientador).

ABSTRACT

VIEIRA, Fábio de Almeida. Diversity and genetic structure of *Protium spruceanum* (Benth.) Engler in forest remnants and vegetation corridors in Alto Rio Grande region, Minas Gerais State. Lavras: Federal University of Lavras, 2005. 100p. (Dissertation - Masters Degree in Forest Engineering).²

Corridors of vegetation are an important alternative in the connection of the isolated forest remnants, minimizing the negative effects of the fragmentation. In the regional landscape, it is common the presence of vegetation corridors that connect the small remnants of primitive vegetation. They are narrow (more or less 4 m) and resulted from the native tree species colonization of ditches, built for land division purposes. One of the most abundant tree species in the remnants and vegetation corridors is *Protium spruceanum* (Benth.) Engler, Burseraceae. Therefore, this study had as objectives to characterize the genetic variability of the populations of *P. spruceanum* in the fragments and vegetation corridors. Isozymes data of 10 polymorphic loci were collected from 150 trees sampled from five natural populations and 80 trees sampled from vegetation corridors. The results indicated high genetic variability for the species in the fragments ($\hat{H}_o = 0.510$ and $\hat{H}_e = 0.445$) and in the corridors ($\hat{H}_o = 0.418$ and $\hat{H}_e = 0.413$). It was verified the absence of endogamy within ($\hat{j} = -0.098$) and for the population group ($\hat{F} = -0.065$). The populations presented genetic divergence of 3.7%. The gene flow was high ($\hat{N}m = 4.2$). The model of isolation by distance was employed and showed to be inadequate for explaining the divergence found among populations ($r_m = -0.079$), corroborating the low populational differentiation. Only the fragment F4b presented low genetic flow with the fragment F1, of larger density of individuals of *P. spruceanum*. The fragment F4a presented high gene flow with the neighboring fragments and corridors. In general, all the fragments presented high gene flow with the neighboring corridors. The analysis of the spatial genetic structure showed that in populations F1, F2, F4b and F5, the genotypes were distributed randomly. Positive spatial autocorrelation was detected in the population F4a, suggesting that clusters of *P. spruceanum* trees, which were no more than 30 m apart, were constituted of individuals with greater genetic similarity and were probably related. Evidence of recent bottlenecks was detected in populations and can be interpreted in terms of population fragmentation as a result of anthropogenic disturbance.

² Advising Committee: Dulcinéia de Carvalho - UFLA (Advisor); Eduardo van den Berg - UFLA (Co-advisor).

1 INTRODUÇÃO

A utilização dos recursos naturais de forma indiscriminada vem prejudicando os ecossistemas brasileiros, devido, principalmente, à destruição de habitats e à conseqüente fragmentação das populações naturais. Tais danos podem acarretar uma limitação evolutiva para as espécies que os compõem, devido à perda de variabilidade genética e à redução na capacidade de adaptação a mudanças ambientais. A fragmentação florestal, além de isolar reprodutivamente indivíduos que contêm apenas uma pequena amostra do conjunto gênico da população original (gargalo genético), pode causar contínua perda de alelos devido à deriva genética, caso a população remanescente permaneça isolada por várias gerações.

No sentido de minimizar os efeitos da fragmentação de habitats em populações, tem sido proposta a criação ou preservação de estruturas de paisagens, tais como os corredores de vegetação, que revelam-se uma alternativa importante na conservação destes ambientes. Desta forma, a interligação dos fragmentos por meio dos corredores de vegetação pode contribuir para o aumento das taxas de migração e a manutenção das rotas de movimento das espécies entre os remanescentes isolados, a diminuição da endogamia e a redução da estocasticidade demográfica. Portanto, a importância dos corredores, em termos de ecologia e conservação de populações, aponta para a necessidade de sua preservação e restauração (Brooker et al., 1999; Castro, 2004).

Os corredores de vegetação que interligam fragmentos na região do Alto Rio Grande, Sul de Minas Gerais, são extremamente comuns na paisagem regional e, segundo Castro (2004), podem ser considerados essenciais para a conservação, no contexto regional, devido à sua diversidade florística considerável e a ocorrência de espécies exclusivas neste ambiente. Nesse sentido, o conhecimento da quantidade e distribuição da variabilidade genética

nas populações naturais fragmentadas e nos corredores de vegetação também é uma investigação importante e pré-requisito fundamental para o estabelecimento de estratégias eficazes de conservação genética. Nestes estudos, podem ser estimados vários parâmetros populacionais como as frequências genotípicas e alélicas, o grau de endogamia, o tamanho efetivo populacional e o fluxo gênico, entre outros, que são de grande importância quando se torna necessária a definição de estratégias de conservação dessa variabilidade genética.

A espécie *Protium spruceanum* (Benth.) Engler revelou-se adequada para os estudos genéticos do presente trabalho, por ser abundante (Castro, 2004) na área de estudo.

Sendo assim, este estudo teve por objetivo geral a caracterização da diversidade genética entre o ambiente de corredor e o ambiente de fragmento em populações de *P. spruceanum*, na região do Alto Rio Grande, município de Lavras, MG, visando à geração de subsídios para a adoção de estratégias de conservação genética. Mais especificamente, buscou-se:

- i) caracterizar a estrutura genética de *P. spruceanum*;
- ii) quantificar a variabilidade genética das populações nos ambientes de corredor e de fragmento;
- iii) estimar o fluxo gênico das populações entre os fragmentos e entre corredores e fragmentos;
- iv) estudar a distribuição espacial dos genótipos;
- v) estimar o tamanho efetivo das populações.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Fragmentação

A fragmentação das florestas é a transformação de uma grande extensão de habitats em numerosas manchas menores, incluindo fragmentos de diferentes tamanhos, formas, graus de isolamento, tipos de vizinhança e históricos de perturbações, o que compromete a conservação de sua diversidade biológica (Viana & Tabanez, 1996). A fragmentação afeta, de forma complexa, a biota nativa, o ciclo hidrológico local e regional e as condições econômica e social da população local (Bierregaard & Dale, 1996).

A avaliação das conseqüências da redução e isolamento de populações é fundamental para prever o destino de espécies em fragmentos florestais e para o planejamento efetivo de programas de manejo em pequenas áreas de floresta. Essa avaliação é uma tarefa complexa, porque o efeito da fragmentação pode se estender indiretamente por meio de uma rede de interações interespecíficas e a mais crítica dessas interações talvez seja aquela que afeta diretamente o sucesso reprodutivo (Bacles et al., 2004; Dick et al., 2003; Dutech et al., 2005; Ward et al., 2005). O processo de polinização, por exemplo, pode ser interrompido pela fragmentação florestal, mediante efeitos diretos e indiretos nas plantas e polinizadores, resultando em prejuízos para as espécies vegetais, tais como redução e isolamento de populações de plantas e perda da variabilidade (Murcia, 1996).

Dessa forma, a destruição de habitats e a conseqüente fragmentação de populações naturais podem acarretar uma limitação evolutiva para as espécies que os compõem, devido à perda de variabilidade genética e à redução na capacidade de adaptação às mudanças ambientais (Young et al., 1996). Têm-se observado muitas mudanças na composição de espécies de comunidades

florestais, resultantes da constante fragmentação dos contínuos florestais (Murcia, 1995). Percebe-se que, com a fragmentação, ocorre imediata redução no número de indivíduos de cada espécie e do tamanho médio de suas populações. Como os indivíduos podem se tornar restritos a pequenos fragmentos, pode ocorrer isolamento espacial entre as populações remanescentes (Young et al., 1996). Tais alterações refletem nos processos de deriva genética, fluxo gênico, seleção e no sistema de cruzamentos (Couvet, 2002). Sendo esses processos determinantes do grau de diversidade genética na espécie, bem como sua distribuição entre indivíduos e populações, os principais efeitos genéticos da fragmentação florestal são a diminuição da diversidade genética nas populações e espécies (Dayanandan et al., 1999; White et al., 1999), a mudança na estrutura genética populacional e o aumento da endogamia (Fuchs et al., 2003), que acarretam fortes prejuízos às populações de espécies florestais (Young et al., 1996).

Entretanto, as respostas das espécies vegetais ao processo de fragmentação são altamente variáveis, dependendo das características das mesmas e das alterações ambientais ocorridas (Lowe et al., 2005). Em algumas espécies de plantas, por exemplo, foi observado que a fragmentação não levou ao aumento da divergência entre as populações, nem à redução na variação genética e heterozigosidade dentro de populações e nem nos níveis de fluxo gênico entre os fragmentos (Dick et al., 2003; González-Astorga & Núñez-Farfán, 2001; Sun, 1996; White et al., 2002; Young et al., 1993). Foré et al. (1992) discutem que a diversidade genética e a estrutura podem ser alteradas se a fragmentação florestal modificar os padrões de dispersão de pólen e sementes.

Sendo assim, é preciso entender a dinâmica das populações nos fragmentos e sua interação com os elementos da paisagem para que as práticas de manejo e conservação sejam eficientes. Em programas de conservação e manejo de populações, é importante conhecer as variações de diversidade

genética e do fluxo gênico em populações, causadas por fatores ecológicos e antrópicos.

2.2 Corredores de vegetação

Os corredores de vegetação são instrumento constantemente mencionado em planos de manejo como importante fator para a conservação biológica em paisagens fragmentadas e têm sido o principal foco dos estudos em ecologia da paisagem, na América do Norte e Austrália. A manutenção e a criação dos mesmos são usadas para a conservação de ecossistemas fragmentados (Haddad, 2000). Debinski & Holt (2000) sugerem um incremento em estudos avaliando a importância de corredores, especialmente na região Neotropical.

Segundo Castro (2004), as definições de corredores de vegetação são várias e contraditórias, devido ao uso ambíguo do termo “corredor”, freqüentemente usado para descrever os componentes da paisagem com divergentes funções. A autora define os corredores da região do Sul de Minas Gerais como sendo estruturas lineares de vegetação, de várias origens, de largura reduzida (entre 3 e 6 m), podendo estar conectados a fragmentos de áreas variadas. Na área do presente estudo, os corredores de vegetação são o resultado da colonização por espécies nativas de árvores nos valos; usados para a divisão de glebas de terras. Informações sobre variações fisionômicas e funções dos corredores de vegetação e do histórico dos valos na região podem ser obtidas em Castro (2004).

Diversos trabalhos salientam a importância de corredores de vegetação natural interligando fragmentos florestais isolados, no entanto, a maioria aborda apenas a importância dos corredores para a conservação da fauna (Haas, 1995; Hill, 1995; Mech & Hallett, 2001).

São vários os fatores que podem influenciar nas funções dos corredores, como a biologia, a ecologia e a história de vida das espécies, a estrutura, a conectividade e a sua localização em relação ao fragmento, a sua largura e extensão, a pressão antrópica sobre eles e a necessidade do corredor para a espécie (Forman, 1997; Lindenmayer, 1994; Nohlgren & Gustafsson, 1995). Debinski & Holt (2000) fizeram uma intensa revisão em estudos sobre fragmentação florestal publicados entre 1984 e 1998, com o objetivo de verificar se corredores são realmente importantes para a conservação em paisagens fragmentadas. Apesar da enorme quantidade de trabalhos publicados, apenas 20 fornecem informações consistentes e conclusivas sobre os efeitos da fragmentação de habitats. Dentre os estudos selecionados, os autores verificaram que apenas seis deles demonstram que corredores são importantes elos de ligação entre remanescentes florestais e comentam, ainda, que nenhum estudo confirma, de maneira categórica, efeitos negativos dos corredores. Alguns estudos, no entanto, apontam os corredores como propagadores de pragas, fogo e de espécies exóticas, além de induzirem o aumento da caça predatória devido à maior visualização dos animais nestes ambientes (Simberloff & Cox, 1987; Simberloff et al., 1992).

O estudo de Castro (2004) foi a base fundamental no estudo de corredores de valos na região. A autora ressalta o sucesso da colonização dos valos escavados no passado, a alta diversidade florística destes ambientes, seu papel no estabelecimento de conexões entre fragmentos e sua conseqüente importância para a conservação biológica regional. Nesse sentido, alternativas de manejo de corredores, tais como a implantação de faixas de árvores às margens de estradas e cercas, o aumento da largura e o estabelecimento de matas ripárias, podem ser usadas como formas de promover os avanços na conservação da biodiversidade gênica e de espécies (Castro, 2004; Forman, 1997).

2.3 Caracterização da espécie

A família Burseraceae compreende 16 gêneros e mais de 800 espécies tropicais e subtropicais. Alguns gêneros desta família (*Elaphrium*, *Icica*, *Canarium* e *Protium*) são produtores de uma seiva oleosa e aromática rica em óleo essencial e triterpenos das séries oleano, ursano e eufano. A utilização desta resina é amplamente difundida, como a do gênero *Protium*, usada na medicina popular, como analgésico, cicatrizante e expectorante, na indústria de verniz, na calafetagem de embarcações e como perfume (Bandeira et al., 2002). A composição química dos óleos essenciais das folhas, caule, frutos e da resina de *Protium spruceanum* (Benth.) Engler é descrita por Machado et al. (2003) e Zoghbi et al. (2002).

A espécie *P. spruceanum*, conhecida popularmente como breu, almecegueira, almecegueira-do-brejo, amescla e almecega-de-casca-lisa, é uma espécie arbórea semidecídua de ampla distribuição, ocorrendo nas florestas úmidas Atlânticas *sensu lato* e Amazônicas, mas atravessa a região dos cerrados exclusivamente no interior das matas ciliares (Oliveira-Filho & Ratter, 1995) (Figura 1).

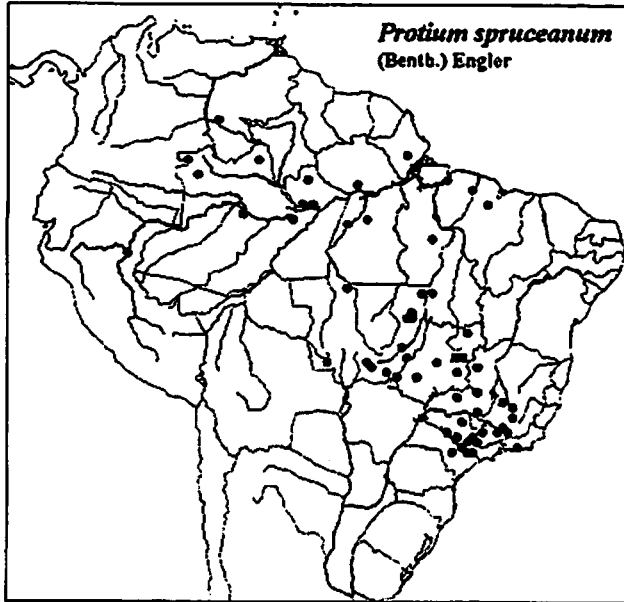


FIGURA 1 Distribuição geográfica de *Protium spruceanum* (Benth.) Engler (Oliveira-Filho, A. T. & Ratter, J. A. 1995).

Na região do Alto Rio Grande, MG, a espécie tem sido registrada entre aquelas com alto valor de importância (IVI), como às margens do Rio Grande, no município de Madre de Deus de Minas (Vilela et al., 2000), no Parque Florestal Quedas do Rio Bonito (Oliveira-Filho & Fluminhan-Filho, 1999), na floresta ripária em Itutinga (van den Berg & Oliveira-Filho, 2000) e no ambiente de fragmento na região de Lavras (Castro, 2004), onde apresenta preferência por ambientes úmidos.

Nunes et al. (2003) estudaram o estágio regenerativo e o efeito borda das espécies arbóreas da Reserva Florestal da UFLA, Lavras, MG e classificaram a espécie como sendo clímax tolerante à sombra, de estrato superior (> 17,5 m de altura) e dispersão zoocórica.

Marques et al. (2003) estudaram o componente arbustivo-arbóreo de uma floresta higrófila da bacia do rio Jacaré-Pepira, SP, verificando que a

espécie está incluída no estrato superior, em torno de 20 m e apresenta altos valores de frequência, densidade e dominância. Estes autores classificaram ainda, quanto ao grau de saturação hídrica do solo, a preferência da espécie pelo solo tipo encharcado. Experimentos demonstraram que plantas de *P. spruceanum* crescem normalmente em solo inundado (Lobo-Faria, 1998).

Na área do presente estudo, a floração de *P. spruceanum* ocorre com maior intensidade entre os meses de setembro e outubro (comunicação pessoal). As flores estão dispostas em inflorescências do tipo panículas ramosas axilares e, conforme estudo em andamento sobre a biologia reprodutiva de *P. spruceanum*, as flores são funcionalmente unissexuais, geralmente. As flores estaminadas fornecem grande quantidade de pólen viável (coloração por carmim acético), coincidindo com o período de receptividade do estigma das flores pistiladas (método de atividade peroxidásica), que se manifesta imediatamente após a antese e estende-se durante todo o dia. Os dois tipos florais produzem néctar relativamente abundante, aproximadamente 4 μ L, e com média superior a 30% de concentração em equivalentes de sacarose, para medidas feitas durante a manhã. Os visitantes mais frequentes são *Apis mellifera* e *Trigona sp.* (Hymenoptera, Apidae) e em menor frequência, são observadas vespas e moscas. A frutificação ocorre a partir do mês de setembro (comunicação pessoal).

O fruto é uma baga subglobosa, de superfície lisa e brilhante, de cor vermelha, contendo de 1 a 2 sementes envoltas por um arilo fino e adocicado, largamente apreciado pela avifauna (Lorenzi, 1998), no entanto, a dispersão de sementes em *P. spruceanum* ainda não foi detalhadamente estudada. Estudos dos vetores de dispersão de sementes em *P. heptaphyllum*, espécie que também ocorre na área do presente estudo, indicam que ela costuma ocorrer principalmente por sanhaço-cinza (*Thraupis sayaca*) e sabiá-de-cabeça-cinza (*Turdus leucomelas*), que foram os visitantes mais frequentes, em termos de

número e taxa de visitas, em uma paisagem agrícola altamente fragmentada na Mata Atlântica do sudeste do Brasil (Pizo, 2004).

2.4 Diversidade e estrutura genética em espécies arbóreas

As florestas tropicais possuem uma grande diversidade de espécies arbóreas com diferentes sistemas reprodutivos, associados às complexas interações com agentes polinizadores e dispersores de sementes (Gross, 2005; Machado & Lopes, 2004; Oliveira & Gibbs, 2000). A diversidade genética existente em populações naturais deve ser quantificada e avaliada quanto à sua distribuição entre e dentro de populações, pelo fato de sua distribuição apresentar grande variação por ser influenciada pelo tamanho efetivo populacional, ocorrência geográfica das espécies, modo de reprodução, sistema de cruzamento e pelos mecanismos de dispersão de sementes (Bawa, 1992).

De modo geral, as espécies arbóreas da floresta tropical apresentam alta proporção de locos polimórficos e maior nível de diversidade genética dentro de populações que entre populações e o sistema de cruzamento é misto (Berg & Hamrick, 1997), com predominância de alogamia (Ward et al., 2005). Espécies que apresentam sistema misto de reprodução, mecanismos eficientes de dispersão de sementes e pólen, deverão apresentar alta variação genética dentro das populações e baixa entre estas. Já espécies com populações pequenas, de autofecundação e ou reprodução vegetativa, com limitada dispersão de pólen e sementes, deverão mostrar baixa variabilidade dentro e alta entre as populações (Loveless & Hamrick, 1984).

A estrutura genética refere-se à distribuição dos alelos e genótipos no espaço e no tempo. O desenvolvimento e a manutenção da estrutura genética ocorrem devido às interações de um conjunto complexo de fatores evolutivos, com variação no conjunto gênico, organização desta variação dentro de

genótipos, distribuição espacial dos genótipos, sistema de reprodução que controla a união dos gametas para a formação das progênes, seleção, deriva, mutação, eventos casuais e processos de crescimento, mortalidade e reposição dos indivíduos que darão origem às populações futuras (Hamrick, 1982). Os estudos de estrutura genética são fundamentados no teorema de Hardy-Weinberg. De acordo com este princípio, em uma população de tamanho infinito, praticando cruzamentos ao acaso, as frequências gênicas e genotípicas permanecem constantes de geração para geração na ausência de migração, seleção e deriva. Este princípio permite o cálculo teórico da frequência de um determinado genótipo, independente do número de alelos existente (Futuyma, 1992).

Nesse sentido, o estudo da diversidade e da estrutura genética em populações arbóreas é importante para que se entenda como esta diversidade é distribuída e quais as características do ambiente ou da espécie que influenciam essa distribuição. A deriva genética e o restrito fluxo gênico, por exemplo, provocam um acréscimo na endogamia promovendo um aumento da divergência genética entre populações (Hall et al., 1996). A endogamia pode levar à fixação de alelos recessivos deletérios, colocando em risco de extinção determinadas populações presentes em certos habitats (Young et al., 1996). Assim, tais estudos permitem auxiliar no manejo dos recursos genéticos, pois a manutenção da variabilidade genética em populações é a base da conservação de espécies (Yeeh et al., 1996) e, portanto, a sua descrição e distribuição é fundamental para o estabelecimento de práticas conservacionistas realmente efetivas.

A caracterização da variabilidade genética dentro de populações é efetuada a partir de medições ou quantificações de diversidade intrapopulacionais, como porcentagem de locos polimórficos (\hat{P}), número médio de alelos por loco (\hat{A}), heterozigosidade média observada (\hat{H}_o), heterozigosidade média esperada (\hat{H}_e) e índice de fixação (\hat{f}) (Berg &

Hamrick, 1997). A caracterização da estrutura genética entre populações por marcadores codominantes pode ser abordada de três maneiras diferentes: a) estatísticas F de Wright (Wright, 1965), que permitem a caracterização da distribuição da variabilidade genética entre as populações (\hat{F}_{ST}), assim como dos níveis de endogamia ao nível populacional (\hat{F}_{IS}) e total (\hat{F}_{IT}) (Moraes et al., 1999; Yeeh et al., 1996), b) análise da diversidade gênica em populações subdivididas (Nei, 1977), que fornece a proporção de variabilidade genética contida dentro e entre as populações e os níveis de heterozigiosidade esperados para o total e média das populações (Gonzales & Hamrick, 2005; Lee et al., 2002) e c) coeficientes de coancestralidade de Cockerham (Cockerham, 1969; Weir, 1996), que possibilitam a avaliação da divergência em diferentes níveis de hierarquia, além de possibilitar a obtenção de estimativas de endogamia, a partir de uma base não viesada (Botrel & Carvalho, 2004; Pinto & Carvalho, 2004). Segundo Reis (1996), as três abordagens apresentam bases genéticas similares, porém, são complementares em relação ao significado biológico das estimativas obtidas.

2.5 Fluxo gênico

Fluxo gênico é definido como o movimento de genes em populações e, portanto, inclui todos os movimentos de gametas, propágulos e indivíduos que efetivamente trocam genes na distribuição espacial (Neigel, 1997). Diversos são os fatores que podem afetar o fluxo de genes nas populações naturais, como o sistema reprodutivo da espécie e as relações ecológicas entre as plantas e seus polinizadores e dispersores (Dick et al., 2003; Rocha & Aguilar, 2001).

O fluxo gênico tem sido amplamente discutido em relação à sua magnitude e influência na estrutura genética das populações. Kageyama & Lepsch-Cunha (2001) discutem que o fluxo gênico via pólen e sementes está

associado à estrutura genética das populações de espécies arbóreas tropicais, onde o alcance dos polinizadores e dispersores pode prever a variação genética dessas espécies. Assim, espécies com intenso movimento de pólen e sementes, em geral, têm menor diferenciação interpopulacional do que espécies com fluxo gênico restrito. Desse modo, a importância do fluxo gênico está justamente em contrapor os efeitos da deriva genética, permitindo a homogeneização das frequências alélicas (Hartl & Clark, 1997). Segundo Wright (1951), quando um ou mais indivíduos migram por geração, os efeitos da migração são suficientes para contrapor os efeitos da deriva e, portanto, o número de migrantes por geração impede a divergência entre populações.

Existem diversos modelos de fluxo gênico: a) modelo continente-ilha, no qual existe um movimento unidirecional de uma população grande continental para uma população menor isolada (Wright, 1940), b) modelo de ilha, no qual a migração ocorre ao acaso entre grupos de pequenas populações (Wright, 1951), c) modelo de alpondras (ou *stepping-stone*), no qual cada população recebe migrantes somente de populações vizinhas (Kimura & Weiss, 1964) e d) modelo de isolamento pela distância, no qual o fluxo gênico ocorre localmente entre vizinhos, em uma população de distribuição contínua (Wright, 1943).

Outras abordagens têm sido usadas também para estudar o fluxo gênico, como o modelo de metapopulação (Fenster et al., 2003; Harrison & Hastings, 1996) e o de paisagens (Sork et al., 1999). O modelo de metapopulação pode ser definido como um conjunto de populações (ou subpopulações locais) dinâmicas, interagindo mediante o fluxo gênico. Assume um conjunto de populações conectadas por fluxo gênico, porém, controlada por extinções e novas colonizações (Hanski, 1999). Manel et al. (2003) comentam que os estudos de genética de populações que abordam o modelo de metapopulação têm estimado

o fluxo gênico, comumente, pelo modelo de ilhas (Wright, 1951) ou pelo modelo de alpondras (*stepping-stone*) (Kimura & Weiss, 1964).

O modelo de ilhas proposto por Wright (1951) é o modelo convencional de genética de populações de troca de genes entre populações (Zucchi, 2002). Neste modelo, o número efetivo de migrantes é estimado a partir da estatística F para um conjunto n de populações, assumindo equilíbrio entre migração e deriva genética entre todas elas. Há igual troca de genes entre populações. De acordo com o modelo, todas as populações são iguais fontes de migrantes e ele produz estimativas que não refletem a variação contemporânea na troca de genes entre populações ou mudanças atuais no processo dispersivo.

O fluxo gênico pode ser quantificado a partir de medidas diretas e indiretas. As medidas diretas referem-se ao fluxo gênico contemporâneo e são baseadas em observações no movimento dos vetores de pólen e sementes (Latta et al., 1998) e na análise da paternidade (Jones & Ardren, 2003), enquanto que as indiretas referem-se ao fluxo gênico histórico (ou passado) e são baseadas na distribuição da estrutura e diversidade genética entre populações (Neigel, 1997; Sork et al., 1999; Smouse & Sork, 2004).

Outro método indireto baseia-se na autocorrelação espacial e tem sido utilizado para detectar o padrão espacial da variabilidade genética e inferir sobre os processos microevolutivos na diferenciação de populações (Dutech et al., 2005; van Rossum & Prentice, 2004).

2.6 Distribuição espacial dos genótipos

A distribuição espacial dos genótipos pode ser utilizada tanto para estimar o grau de isolamento de populações a partir das frequências gênicas ou fenotípicas em cada população (Gonzales & Hamrick, 2005; van Rossum & Prentice, 2004), como no âmbito intrapopulacional, para auxiliar na detecção de

agrupamentos de indivíduos aparentados (Doligez & Joly, 1997; Ng et al., 2004). Os estudos dos padrões espaciais de variabilidade genética dentro de populações têm mostrado, ainda, o poder da análise de autocorrelação espacial para descrever a estrutura genética e para detectar seleção natural (Shea & Furnier, 2002).

Enquanto os padrões espaciais frequentemente têm implicações genéticas, os padrões genéticos não aleatórios podem existir sem uma distribuição espacial agregada dos indivíduos (Loveless & Hamrick, 1984; Ng et al., 2004). De forma contrária, uma população pode ter uma distribuição espacial agregada sem qualquer acompanhamento de estrutura genética (Loveless & Hamrick, 1984). Isso porque os padrões espaciais e genéticos resultam, geralmente, da heterogeneidade ambiental e pressões seletivas diferenciais (Heywood, 1991). Como implicações genéticas, as alterações na estrutura espacial dos indivíduos de uma população podem afetar, por exemplo, a taxa de cruzamento (Epperson & Allard, 1989), mediante mudanças na densidade e no comportamento dos polinizadores, gerando alterações nos níveis de cruzamento, como o aumento da autofecundação e, conseqüentemente, da endogamia (Bawa & Krugman, 1990; Franceschinelli & Bawa, 2000; Murawski, 1995).

Assim, a distribuição espacial da variabilidade genética dentro de populações naturais de plantas pode influenciar significativamente os processos evolutivos e ecológicos das espécies, resultando em agregados de genótipos específicos (Shapcott, 1995). Tal estrutura pode ser determinada, ainda, pela dispersão de pólen e sementes (Loiselle et al., 1995; Ng et al., 2004), porque a frequência alélica na próxima geração será influenciada pelo número de indivíduos que efetivamente trocarão alelos entre si. Especialmente em populações de tamanho reduzido, a taxa de homozigotos tenderá a crescer com a autofecundação, assim como os cruzamentos de indivíduos aparentados que ficaram próximos em decorrência da dispersão de sementes a curta distância.

Estes cruzamentos, segundo Wright (1978), proporcionam a formação de demes panmíticos e reduzem a proporção de heterozigotos na população, a qual pode ser quantificada pelo índice de fixação, a partir do teorema de Hardy-Weinberg.

O conhecimento sobre a estrutura espacial genética é importante para populações de plantas que são selecionadas para conservação ou coletadas para uso em programas de melhoramento. Isto deve ser considerado a fim de estabelecerem-se estratégias de amostragem de populações naturais, conseguindo-se, assim, maximizar a diversidade populacional ou da espécie. A aplicação deste conhecimento também tem o efeito de minimizar o impacto de práticas de manejo sustentáveis dos recursos genéticos (Myamoto et al., 2002; Ng et al., 2004; Shapcott, 1995).

A autocorrelação espacial em caracteres genéticos tem sido usualmente mensurada com o uso do coeficiente I de Moran (Luna et al., 2005; Marquardt & Epperson et al., 2004; Ng et al., 2004; Setsuko et al., 2004). O valor desse coeficiente varia entre $-1,0$ e $+1,0$, os quais são o máximo para autocorrelações negativas e positivas, respectivamente. Assim, sua interpretação é análoga à de um coeficiente de correlação, como o r de Pearson (Legendre, 1993). Cabe ressaltar, então, que o coeficiente I não é um parâmetro populacional e, sim, uma estatística de amostragem (Heywood, 1991). Além do coeficiente I de Moran, a estrutura espacial dos genótipos também tem sido analisada a partir de estimativas de coeficientes de parentesco ou coeficientes de coancestralidade ($\hat{\theta}_{xy}$) (Erickson & Hamrick, 2003; Loiselle et al., 1995; Myamoto et al., 2002; Ng et al., 2004; Ruggiero et al., 2005), que mede a probabilidade de amostrarem-se aleatoriamente dois alelos em dois indivíduos e eles serem idênticos por descendência (Cockerham, 1969; Ritland, 1996).

2.7 Tamanho efetivo populacional

O tamanho efetivo populacional (\hat{N}_e) se refere ao tamanho genético de uma população reprodutiva e não ao número de indivíduos que a compõe. Assim, diz respeito à representatividade genética de amostras, que pode ser analisada a partir da estimativa do tamanho efetivo populacional, que é um parâmetro crucial para o julgamento do impacto da deriva sobre a estrutura genética de populações. Wright (1931) define o tamanho efetivo da população como sendo o número de indivíduos que participam na reprodução da próxima geração. Assim, no contexto de fragmentação de contínuos florestais, a redução do tamanho populacional em populações de árvores representa uma diminuição no número de indivíduos reprodutivos e na quantidade de pólen depositado, podendo também refletir na abundância de agentes polinizadores (Aizen & Feinsinger, 1994) e, com isso, reduzir, em determinada escala temporal, o tamanho efetivo populacional.

Nesse sentido, o tamanho efetivo populacional incorpora um fator histórico: uma população com um número grande de indivíduos originados há poucas gerações de um número pequeno de ancestrais, terá um tamanho efetivo populacional menor do que populações que permaneceram demograficamente estáveis há muito tempo. A diminuição do tamanho efetivo populacional é, portanto, um dos principais responsáveis pela perda de variabilidade em populações ameaçadas de extinção. O número mínimo de indivíduos que se reproduziram durante um período do estrangulamento demográfico define a probabilidade de perda de alelos por deriva genética. Os alelos perdidos só podem ser recuperados por mutação ou, a partir de outras populações, por imigração (Solé-Cava, 2001).

O conhecimento do tamanho efetivo populacional é fundamental para a conservação de longo termo de uma espécie, sendo o fator central para a

determinação de uma “população mínima viável” (PMV). Segundo Moraes et al. (1999), esse é um meio de avaliar e trabalhar a questão da conservação de populações e, por conseqüência, de espécies. Essa estimativa refere-se a um período específico e a uma probabilidade máxima tolerável de extinção, uma vez que uma população está sujeita à incerteza e a probabilidade de sua sobrevivência decresce com o tempo. Os valores adequados de tamanho efetivo populacional a serem adotados para conservação genética são determinados em função, principalmente, de dois critérios: prevenção de depressão endogâmica e manutenção do potencial evolutivo. Entretanto, ainda vem sendo bastante discutido um número ideal para a conservação de uma espécie. Nunney & Campbell (1993) sugerem um tamanho efetivo de 100 a 150, para conservação em curto prazo e de 1.000 a 1.500, para conservação em longo prazo. Lande (1995) sugere que um tamanho efetivo populacional de 5.000 é necessário para reter o potencial evolutivo para o caráter adaptação reprodutiva após ajustar a taxa total de mutação, omitindo as mutações severamente deletérias.

A manutenção de um tamanho efetivo populacional adequado diminui a probabilidade de ocorrência das oscilações genéticas e da endogamia. Ainda, tendo em vista que a variabilidade e a endogamia estão diretamente relacionadas ao tamanho efetivo populacional, conhecê-lo torna-se também importante para espécies recomendadas e utilizadas na recuperação de áreas degradadas (Sebbenn et al., 2003). Esta estimativa é importante na determinação do número de árvores matrizes para a coleta de sementes, para que estas sejam colhidas de um número de árvores que mantenham níveis razoáveis de variabilidade genética e mínimo de endogamia.

2.8 Marcadores isoenzimáticos

Os marcadores genéticos são caracteres com mecanismo de herança simples que podem ser empregados para avaliar diferenças genéticas entre dois ou mais indivíduos. O termo isoenzima define um grupo de múltiplas formas moleculares da mesma enzima que ocorre em uma espécie, como resultado da presença de mais de um gene codificando cada uma das enzimas (Moss, 1992). O princípio básico da técnica reside no uso de eletroforese em gel de poliacrilamida e na visualização do produto enzimático por métodos histoquímicos. A premissa básica adotada ao se utilizar dados isoenzimáticos é a de que diferenças na mobilidade de isoenzimas em um campo elétrico são resultantes de diferenças em nível de seqüências de DNA de alelos que codificam tais enzimas (Ferreira & Grattapaglia, 1998). Assim, se os padrões de bandas de dois indivíduos diferem, assume-se que essas diferenças possuam base genética e sejam herdáveis (Murphy et al., 1990). O controle genético das isoenzimas ocorre mediante vários genes, que podem ser alelos de um mesmo loco ou estarem situados em diferentes locos (Ferreira & Grattapaglia, 1998).

Os marcadores isoenzimáticos permitem a obtenção de um grande número de informações com um esforço relativamente pequeno (Alfenas et al., 1998; Ferreira & Grattapaglia, 1998). Esta técnica apresenta as vantagens de permitir a análise de vários locos simultaneamente e identificar os heterozigotos, a um custo relativamente mais baixo e acessível que o dos marcadores de DNA. Uma característica importante destes estudos é o fato de que estes marcadores são considerados neutros, do ponto de vista evolutivo (Sunnucks, 2000), sendo este um pressuposto básico em algumas análises de divergência entre populações, apesar da controvérsia existente sobre a neutralidade de alguns sistemas enzimáticos (Gray, 1996).

Os marcadores isoenzimáticos complementam os métodos tradicionalmente empregados no melhoramento, no manejo e na conservação de espécies florestais (Alfenas et al., 1998). Inúmeras investigações têm utilizado esta técnica para estimar os níveis de variabilidade genética de populações naturais e estudar o fluxo gênico entre populações, o tamanho efetivo da população e as taxas de cruzamento. Atualmente, este tipo de marcador tem sido muito utilizado no estudo de genética de populações (Botrel & Carvalho, 2004; Gonzales & Hamrick, 2005; Gusson et al., 2005; Luna et al., 2005; Melo Júnior et al., 2004; Oliveira et al., 2002; Pinto & Carvalho, 2004; Pinto et al., 2004).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Área de estudo

O sistema corredor-fragmento estudado está localizado na cidade de Lavras, região do Alto Rio Grande, Sul de Minas Gerais (Figura 2), entre as coordenadas $21^{\circ}17'33,6''\text{S}$ e $44^{\circ}59'15,1''\text{W}$, $21^{\circ}18'11,9''\text{S}$ e $44^{\circ}59'18,8''\text{W}$.

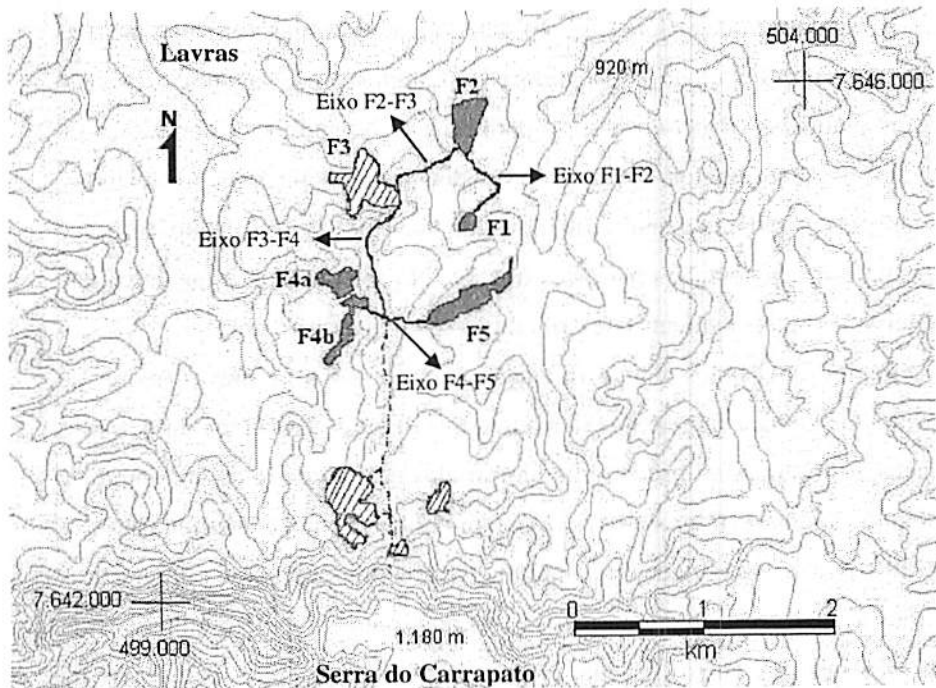


FIGURA 2. Sistema corredor-fragmento analisado, Lavras, Minas Gerais. As coordenadas estão em UTM e as cotas altimétricas em metros (m). F1 a F5 = (fragmentos florestais) e Eixo F1-F2 a F4-F5 (corredores de vegetação). ▨ = Fragmentos amostrados. — = Corredor de vegetação amostrado (adaptado de Castro, 2004).

A área de estudo encontra-se a aproximadamente 6 km do município de Lavras, na encosta da Serra do Carrapato. A vegetação ocorrente pode ser definida como uma disjunção do bioma cerrado inserida dentro da área de

distribuição das florestas estacionais semidecíduais do Sudeste brasileiro (Castro, 2004; IBGE, 1993). Os solos dominantes são Latossolos Vermelho-Amarelos e Vermelhos distróficos e Cambissolo Háplicos Tb distróficos (Castro, 2004). O clima da região, segundo a classificação de Köppen, é do tipo Cwa, com precipitação média anual de 1.529,7 mm e temperatura média anual de 19,4°C (Brasil, 1992, citado por Castro, 2004).

Na paisagem atual da área percebem-se: a) um número reduzido de pequenos remanescentes florestais, b) uma área matricial (circundante das manchas de vegetação), de baixa biomassa, composta por lavoura de café e pastagens plantadas (*Brachiaria* spp.) para criação de gado e c) corredores de vegetação. Os fragmentos apresentam evidências de impactos localizados, causados pela constante penetração do gado na floresta, formando trilhas e prejudicando a regeneração em vários trechos. No interior dos fragmentos não são observados sinais evidentes de exploração seletiva de madeira.

Foram analisados cinco fragmentos interligados a um corredor de vegetação. Os demais fragmentos (hachurados na Figura 2) e eixos do corredor de vegetação (linha pontilhada) serão amostrados e farão parte da continuidade do trabalho. Todos os fragmentos apresentam curso d'água em seu interior e os fragmentos F4a e F4b pertencem a uma microbacia diferente da dos fragmentos F1, F2 e F5. A ocorrência de *P. spruceanum* nos fragmentos F2 e F4b coincide com a presença dos cursos d'água. Nos fragmentos F1 e F5, a ocorrência da espécie abrange grande parte do fragmento, podendo ser determinada pelo solo encharcado observado quase em caráter permanente. Diferentemente do fragmento F4b, onde os indivíduos de *P. spruceanum* ocorrem principalmente ao longo do curso d'água, no fragmento F4a eles ocorrem com maior frequência próximos à borda, em local menos úmido e similar ao dos corredores de valo. A vegetação entre os fragmentos F4a e F4b está, atualmente, interrompida por uma

estrada. A área total dos fragmentos amostrados é de 23,4 ha, variando de 1,0 ha a 7,8 ha (Tabela 1).

TABELA 1. Área dos fragmentos analisados e densidade absoluta (DA) de indivíduos de *Protium spruceanum* (Benth.) Engler amostrados em Lavras, Minas Gerais.

Fragmentos	F1	F2	F4a	F4b	F5
Área (ha)	1,0	7,2	3,1	4,3	7,8
DA (ind.ha ⁻¹)*	850,0	50,0	175,0	175,0	175,0

* Castro (2004)

Os fragmentos estudados encontram-se em altitudes variando entre 969,8 m e 986,0 m. A distância geográfica entre os cinco fragmentos varia entre 333,0 m e 1.833,0 m (Tabela 2).

TABELA 2. Altitude e distância geográfica em metros entre os cinco fragmentos analisados, Lavras, Minas Gerais.

Fragmentos	Altitude (m)	F1	F2	F4a	F4b	F5
F1	973,0	-	722,0	1.055,5	1.222,0	611,0
F2	969,8		-	1.500,0	1.833,0	1.333,0
F4a	984,3			-	333,0	944,0
F4b	985,0				-	1.000,0
F5	986,0					-

Os corredores de vegetação entre os fragmentos são estreitos (aproximadamente 4 m) e são o resultado da colonização por espécies nativas de árvores nos valos, usados para a divisão de glebas de terras (Castro, 2004). A densidade absoluta de *P. spruceanum* nos corredores de vegetação é de 135,19 ind.ha⁻¹ (Castro, 2004).

A espécie *P. spruceanum* é a mais abundante nos fragmentos (Castro, 2004). Ela apresenta preferência pelo ambiente de fragmento, em relação ao ambiente de corredor, devido, provavelmente, às melhores condições de umidade dos fragmentos, já que é encontrada em ambientes ripário (Castro, 2004). No corredor de vegetação, a espécie está entre as mais abundantes. Castro (2004) verificou que, entre os setores borda, parede e fundo do valo do corredor de vegetação, ela tem preferência pelo setor fundo do valo do corredor o que, segundo a autora, deve-se a maior umidade e teores de fósforo encontrado neste setor. Nos fragmentos, a espécie *P. spruceanum* se comporta como sendo clímax tolerante à sombra, com regeneração abundante em ambiente sombreado e de estrato superior, em torno de 18 m de altura.

3.2 Amostragem

A amostragem das árvores adultas de *P. spruceanum* nos fragmentos foi aleatória, abrangendo indivíduos tanto agrupados como isolados, ao longo da área de ocorrência da espécie em cada fragmento. Consideraram-se adultas as árvores incluídas no estrato superior, em torno de 12 a 18 m. A amostragem dos indivíduos no corredor de vegetação foi realizada ao longo de cada eixo do corredor que interliga os fragmentos. O georeferenciamento espacial dos indivíduos nos fragmentos foi obtido com o auxílio de trena e bússola, obtendo-se as coordenadas x e y , e dos indivíduos do corredor de vegetação utilizando-se o sistema de posicionamento global (GPS). A estrutura genética de *P. spruceanum* foi estudada com amostras de 150 indivíduos nos fragmentos e de 80 no corredor de vegetação (Tabela 3).

TABELA 3. Tamanho amostral (*n*) para as populações de *Protium spruceanum* (Benth.) Engler em cada fragmento e nos eixos do corredor que interligam os fragmentos.

Códigos	Fragmentos					Eixos do corredor			
	F1	F2	F4a	F4b	F5	F1-F2	F2-F3	F3-F4	F4-F5
<i>n</i>	30	30	30	30	30	20	20	20	20

Amostras constituídas de 30 indivíduos por população podem ser consideradas suficientes para a estimativa das freqüências alélicas dentro das populações, a partir de marcadores que apresentam locos com padrão de herança codominante (Berg & Hamrick, 1997). Entretanto, a amostragem em cada corredor de vegetação interligando os fragmentos foi determinada em função da ocorrência dos indivíduos, conseguindo-se amostrar no máximo 20 indivíduos em cada eixo, totalizando os 80 indivíduos amostrados no sistema de corredor de vegetação. Bacles et al. (2004) estudaram as freqüências alélicas de *Sorbus aucuparia* (Rosaceae) por meio de isoenzimas e amostraram entre dois e 27 indivíduos em oito remanescentes. Segundo os autores, a estratégia de amostragem, além de refletir a situação fragmentada da paisagem, variou em função do tamanho e isolamento das populações, altitude e acessibilidade aos indivíduos.

As amostras foliares de cada indivíduo foram acondicionadas em sacos plásticos identificados, colocadas em caixa de isopor com gelo, transportadas para o Laboratório de Melhoramento Florestal e Recursos Genéticos (DCF-UFLA) e armazenadas em freezer a -80°C, até o momento de extração.

3.3 Extração das enzimas e eletroforese

Para a extração das enzimas utilizaram-se 200 mg de tecido foliar para 1 mL da solução tampão de extração (tampão nº1 de Alfenas et al., 1991). A

extração de enzimas foi realizada manualmente mediante o uso de almofariz e pistilos de porcelana mantidos resfriados durante o processo. Após a maceração, as amostras foram transferidas para “eppendorfs” de 1 mL e armazenadas a -80°C , até o momento das análises eletroforéticas.

Foi utilizada eletroforese de isoenzimas vertical, conduzida em meio suporte de gel de poliacrilamida (concentração - 4%, separação - 10,0%). Os extratos obtidos foram centrifugados a 12.000 rpm a 4°C por 10 minutos. Após a centrifugação, 20 μL do sobrenadante foram aplicados nas canaletas dos géis para proceder às corridas eletroforéticas. Para a eletroforese foi utilizada amperagem de 10 mA por gel, 300 Volts, tendo a corrida eletroforética duração aproximada de três horas, sendo realizada à temperatura de 4°C . Os procedimentos de preparo do gel, a aplicação das amostras e a eletroforese seguiram a metodologia descrita por Alfenas et al. (1998).

As revelações dos géis foram baseadas na metodologia descrita por Alfenas et al. (1998). Foram testados 14 sistemas enzimáticos e selecionados aqueles que apresentaram melhores padrões isoenzimáticos para interpretação (Tabela 4). Detalhes sobre cada uma das enzimas, bem como as soluções e metodologia para revelação podem ser obtidos em Brune et al. (1998).

TABELA 4. Sistemas enzimáticos testados em *Protium spruceanum* (Benth.) Engler.

Sistema enzimático	Sigla	EC*
Álcool desidrogenase	ADH	1.01.01.01
α -esterase	α -EST	3.01.01.01
β -esterase	β -EST	3.01.01.01
Fosfatase ácida	ACP	3.01.03.02
Fosfatase alcalina	AKP	3.01.03.01
β -galactose desidrogenase	GLDH	1.01.01.48
Glucose desidrogenase	GDH	1.01.01.47
Glutamato desidrogenase	GTDH	1.04.01.03
Glutamato oxaloacetato trasaminase	GOT	2.06.01.01
Leucina aminopeptidase	LAP	3.04.11.01
Malato desidrogenase	MDH	1.01.01.37
Peroxidase	PO	1.11.01.07
Sorbitol desidrogenase	SDH	1.01.01.14
Xiquimato desidrogenase	SKDH	1.01.01.25

* *Enzyme Comission*

Após o surgimento das bandas, os géis foram retirados da solução de revelação, lavados em água corrente e interpretados. Posteriormente, os géis eram fixados em solução aquosa de glicerol a 10%, por cerca de 24 horas, a 4°C. Após este período, a glicerina foi substituída por uma solução a 65% de álcool etílico, 30% de água e 5% de glicerina, durante 5 minutos. A secagem dos géis foi efetuada no secador de gel (modelo 583, BioRad). A leitura das bandas nos géis foi feita sobre a superfície de um diafanoscópio.

A identificação das zonas codificadoras dos locos e dos alelos foi feita a partir da região mais anódica para a mais catódica. Assim, em um sistema enzimático em que duas zonas de atividade eram claramente identificadas, a de maior migração no gel recebeu a denominação de loco-1 e a outra, loco-2. Da mesma forma, procedeu-se em relação aos alelos de cada loco.

A identificação e a interpretação dos zimogramas foram realizadas seguindo a mesma definição dos padrões de enzimas disponíveis na literatura (Alfnas et al., 1991).

3.4 Análise estatística

3.4.1 Diversidade genética intrapopulacional

A magnitude da variabilidade genética foi avaliada pela porcentagem de locos polimórficos (\hat{P}), número médio de alelos por loco (\hat{A}), heterozigosidade média observada (\hat{H}_o) e heterozigosidade média esperada (\hat{H}_e) (Berg & Hamrick, 1997). Estas estimativas foram obtidas a partir das frequências alélicas, que descrevem a variação para cada loco: $\hat{p}_{ij} = n_{ij}/n_j$, sendo \hat{p}_{ij} a frequência do alelo i na população j , n_{ij} o número de ocorrência do alelo i na população j e n_j o número total de alelos amostrados na população j .

A partir das frequências alélicas foram obtidos os seguintes índices de diversidade genética:

a) porcentagem de locos polimórficos (\hat{P}): foi obtida pela média aritmética do número de locos polimórficos pelo número total de locos. Os locos foram considerados polimórficos quando a frequência do alelo mais comum não excedesse a 0,95, conforme sugerido por Nei (1987), para amostras inferiores a 50 indivíduos;

b) número médio de alelos por loco (\hat{A}): obtido pela divisão do número total de alelos pelo número total de locos. Esta estimativa fornece uma idéia da distribuição dos alelos nas diferentes populações estudadas;

c) heterozigosidade média observada (\hat{H}_o): foi obtida pela razão entre o número total de heterozigotos e o número de indivíduos. Para se obter \hat{H}_o , as proporções obtidas para cada loco foram somadas e divididas pelo número total de locos polimórficos: $\hat{H}_o = 1 - \sum P_{ii}$, em que P_{ii} é a frequência dos genótipos homozigotos;

d) heterozigosidade média esperada (\hat{H}_e): foi obtida segundo as frequências genotípicas esperadas, conforme equilíbrio de Hardy-Weinberg (EHW), pela média aritmética entre todos os locos polimórficos analisados (Nei, 1987): $\hat{H}_e = 2n(\sum \hat{P}_i^2)/(2n - 1)$, em que n é o número de indivíduos amostrados na população em questão e \hat{P}_i^2 a frequência alélica estimada do i -ésimo alelo.

O coeficiente F de Wright (1931), que mede a correlação entre os alelos nos gametas que formam um zigoto, foi obtido por loco e pela média dos locos, a partir das seguintes relações: $\hat{f} = 1 - \hat{H}_o/\hat{H}_e$ (locos) e $\hat{f} = 1 - \sum \hat{H}_o/\sum \hat{H}_e$ (média entre locos), sendo \hat{f} a estimativa do índice de fixação de Wright; \hat{H}_o a estimativa da heterozigosidade observada e \hat{H}_e a estimativa da heterozigosidade esperada.

Esses índices foram obtidos utilizando-se o programa BIOSYS 2 (Swofford & Selander, 1997), com exceção do índice de fixação de Wright, obtido com o auxílio do programa GENETIX 4.05.2 (Belkhir et al., 2004). Para as estimativas obtidas dos índices de fixação médios considerando cada população, foram estabelecidos intervalos de confiança a 95% de probabilidade, utilizando-se o procedimento de *bootstrap* com 10.000 repetições (Weir, 1996).

3.4.2 Estrutura genética

A estrutura genética foi abordada a partir dos coeficientes de coancestralidade de Cockerham (Cockerham, 1969; Vencovsky, 1992), obtidos a partir da decomposição dos componentes de variação da análise de variância das frequências alélicas inter e intrapopulacionais, conforme Cockerham (1969). O coeficiente de coancestralidade permite a avaliação da divergência em diferentes níveis de hierarquia, além de calcular as estimativas com correção do tamanho populacional finito.

Os parâmetros estimados foram: $\hat{\theta}_p$, que é a divergência genética entre populações; \hat{F} , o índice de fixação para o conjunto das populações e \hat{f} , o índice de fixação para a média das populações. Para verificar se estas estimativas médias eram diferentes de zero, estimou-se o intervalo de confiança com 95% de probabilidade, pelo método de reamostragem *bootstrap*, utilizando-se 10.000 repetições sobre locos. As análises de variâncias e os *bootstraps* foram efetuados com o auxílio dos programas GDA (*Genetic data analysis*) (Lewis & Zaykin, 2000) e FSTAT 2.9.3.2 (Goudet, 2002).

Como medida de identidade genética entre os pares de populações, foi utilizada a identidade genética de Nei (1978). A partir das estimativas de identidade genética foram, então, construídos dendrogramas, utilizando-se o método UPGMA (*Unweighted pair group method arithmetic average* ou Agrupamento não-ponderado aos pares utilizando médias aritméticas), conforme metodologia descrita em Sneath & Sokal (1973). A existência dos agrupamentos obtidos foi avaliada pelo coeficiente de correlação cofenética, originado pela comparação da matriz de similaridade de identidade com a da similaridade cofenética. A análise de identidade genética multivariada (UPGMA) e a correlação cofenética foram realizadas utilizando o pacote NTSYS 1.5 (*Numerical taxonomy and multivariate analysis system*) (Rohlf, 1993).

Os desvios das freqüências genotípicas obtidas em relação às freqüências esperadas pelas proporções de equilíbrio de Hardy-Weinberg foram estimados e testados utilizando-se o teste exato de Fisher, com o auxílio do programa BIOSYS 2 (Swofford & Selander, 1997). Os testes exatos são geralmente usados para tamanhos amostrais pequenos, quando há uma maior chance de ter números esperados pequenos no teste qui-quadrado (Weir, 1996). Mesmo em amostras grandes, a existência de três alelos raros no loco resulta em números esperados pequenos e, nesses casos, os testes exatos são preferíveis.

3.4.3 Fluxo gênico

Um dos métodos mais robustos e confiáveis para a estimativa indireta de fluxo gênico é a partir da obtenção do número de migrantes ($\hat{N}m$) por geração utilizando \hat{F}_{ST} , que é a medida de diferenciação populacional usando frequências alélicas (Wright, 1951) e que tem sido comumente utilizado em genética de populações (Manel et al., 2003). Utilizou-se a equação proposta por Crow & Aoki (1984), para um modelo de ilhas: $\hat{N}m = 1/4\alpha (1/\hat{F}_{ST} - 1)$, sendo $\alpha = (n/(n-1))^2$ e n o número de populações. No entanto, Cockerham & Weir (1993) consideram que o emprego do $\hat{\theta}_p$ como estimador da divergência genética entre populações é mais adequado por ser menos viesado e, por isso, ele foi utilizado, em vez do \hat{F}_{ST} .

O tamanho efetivo de vizinhança, \hat{N}_b , foi utilizado para estimar o número médio de indivíduos numa área vizinha ou área onde ocorre panmixia. A partir da estimativa de $\hat{N}m$, calculou-se o valor de \hat{N}_b , conforme fórmula proposta por Slatkin & Barton (1989), a saber: $\hat{N}_b = 2\pi \cdot \hat{N}m$. O \hat{N}_b pode ser da mesma ordem de magnitude que $\hat{N}m$, dependendo das características da população (Eguiarte et al., 1993; Slatkin & Barton, 1989).

Adicionalmente, a matriz de distância genética ($\hat{\theta}_p$) foi comparada com a matriz de distância geográfica pelo teste de Mantel (Manly, 1997). O valor Z de Mantel é dado por: $Z = n \sum_{i,j=1} X_{ij} Y_{ij}$, sendo X_{ij} e Y_{ij} elementos das matrizes X e Y a serem comparadas (no caso, as matrizes de distância geográfica e genética, respectivamente). O teste de Mantel foi realizado com o auxílio do programa TFGA 1.3 (*Tools for population genetic analysis*) (Miller, 1997), utilizando-se

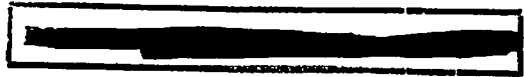
1.000 permutações aleatórias para testar a significância das correlações matriciais.

3.4.4 Distribuição espacial dos genótipos

A estrutura espacial da variação isoenzimática dentro das populações foi quantificada pelo coeficiente I de Moran (Moran, 1950). Este coeficiente quantifica a similaridade genética de pares de indivíduos adjacentes em relação à amostra da população como um todo. O coeficiente pode assumir valores entre -1 e +1, sendo que -1 significa que os indivíduos pareados são completamente diferentes e o valor +1 significa que os indivíduos pareados são idênticos. O coeficiente I é calculado pela fórmula: $I = [n \sum_{i \neq j} w_{ij} (a_i - \bar{a})(a_j - \bar{a})] / [W \sum_i (a_i - \bar{a})^2]$, para dados categorizados e para um determinado alelo, sendo n o número de indivíduos utilizados na análise, w_{ij} os pesos utilizados na comparação dos pontos, a_i o valor dado ao indivíduo i ($a_i = 1; 0,5$ ou 0), a_j o valor dado ao indivíduo j ($a_j = 1; 0,5$ ou 0), \bar{a} o valor médio obtido dos indivíduos analisados e $w = \sum_{ij} w_{ij}$ a soma das entradas da matriz dos pesos.

Os valores estimados do coeficiente I de Moran foram usados para testar a significância dos desvios esperados, $E(I) = -1/(n-1)$, sobre a hipótese de nulidade de distribuição aleatória (Cliff & Ord, 1981). As análises de autocorrelação espacial, a partir dos coeficientes I de Moran, foram feitas utilizando-se o programa SGS (*Spatial genetic software*) (Degen, 2003). O intervalo de confiança de 95% para os coeficientes I de Moran de cada classe foi gerado por 1.000 *bootstraps*.

As classes de distância foram especificadas, a fim de que cada uma apresentasse um número mínimo de conexões, quando possível, não inferior a 30, tornando assim os coeficientes I de Moran que compõem o correlograma comparáveis e com erros de estimativa semelhantes (Doligez & Joly, 1997).



Adicionalmente, estimou-se o coeficiente de coancestria ($\hat{\theta}_{xy}$) com base em Ritland (1996) entre plantas para cada uma das classes de distância preestabelecidas, utilizando-se o programa SPAGeDi (Hardy & Vekemans, 2002). O erro padrão da média das estimativas foi obtido por reamostragem *jackknife* entre locos e, a partir dele, foram construídos intervalos de confiança a 95% de probabilidade do coeficiente de coancestria médio estimado para cada classe de distância. A ausência de estrutura genética espacial foi testada dentro de cada classe de distância, utilizando-se 1.000 permutações.

3.4.5 Tamanho efetivo populacional

O tamanho efetivo populacional, \hat{N}_e , foi obtido utilizando os componentes da variância, por ser o mais comumente utilizado para fins conservacionistas, de acordo com a metodologia apresentada por Vencovsky (1997). Para o caso de uma única população, com ausência de estruturação genética, o tamanho efetivo de população foi calculado por: $\hat{N}_e = n/1 + \hat{f}$, sendo n o número de plantas adultas e \hat{f} o coeficiente de endogamia intrapopulacional.

Para o caso de indivíduos de várias populações, em um modelo de infinitas populações (sem correção para tamanho finito de populações), tem-se que: $\hat{N}_e = 0,5/\hat{\theta}_p(1+C_p/p - 1/n) + 1+\hat{F}/2n$, sendo $\hat{\theta}_p$ o coeficiente de coancestralidade relativo a populações, p o número de populações avaliadas, n o número total de indivíduos avaliados nas populações, C_p o quadrado do coeficiente de variação do número de indivíduos (n_i) entre as populações e \hat{F} o índice de fixação para o conjunto das populações.

A população mínima viável (PMV) calculada corresponde ao número de indivíduos necessários para a manutenção da integridade genética da população. A diferença (\hat{D}) entre o tamanho populacional estimado para cada fragmento (\hat{N}) e a PMV foi calculada por: $\hat{D} = DA \cdot A - (\hat{N}_{e(\text{referência})} / (\hat{N}_e / n))$, sendo DA a densidade absoluta (ind. ha^{-1}) (Castro, 2004), A é área do fragmento (ha), $\hat{N}_{e(\text{referência})}$ é o tamanho efetivo de referência, 150 ou 1.500, para a conservação a curto e longo prazo, respectivamente (Nunney & Campbell, 1993), \hat{N}_e é tamanho efetivo populacional e n é o tamanho amostral de cada fragmento.

Adicionalmente, desvios significativos do equilíbrio de mutação e deriva (efeitos de gargalo, por exemplo) são importantes de serem detectados e têm sido analisados no estudo de genética de populações (Bacles et al., 2004; van Rossum & Prentice, 2004; Ramakrishnan et al., 2005). Para isso, utilizou-se o programa BOTTLENECK 1.2.02 (Cornuet & Luikart, 1996) para testar se as populações encontram-se em equilíbrio entre mutação e deriva genética, conforme metodologia descrita em Cornuet & Luikart (1996). Estes testes baseiam-se no princípio de que populações que experimentaram uma recente redução de seu tamanho efetivo populacional (entre 12 gerações, segundo van Rossum & Prentice, 2004) exibem uma redução mais rápida do número de alelos do que da heterozigosidade esperada (\hat{H}_e) pelas proporções de EHW nos locos polimórficos. Assim, segundo Luikart et al. (1998), populações que passaram por um recente processo de *bottleneck* apresentam um excesso temporário de heterozigosidade. Isso faz com que \hat{H}_e se torne maior do que a heterozigosidade esperada sob equilíbrio entre mutação e deriva (\hat{H}_{eq}), pois esta é calculada a partir do número de alelos (Cornuet & Luikart, 1996; Piry et al., 1999).

Conseqüentemente, em uma população que sofreu um recente processo de *bottleneck*, \hat{H}_e será mais alta que \hat{H}_{eq} ($\hat{H}_e > \hat{H}_{eq}$).

A análise foi realizada apenas com os locos em EHW, conforme sugerido por Lee et al. (2002), assumindo que todos os locos isoenzimáticos analisados se ajustam ao modelo de mutação de infinitos alelos (Kimura & Crow, 1964). A significância foi avaliada com o uso do teste *signed rank* de Wilcoxon, por ser o mais robusto quando utilizado para menos de 20 locos (Piry et al., 1999), baseando-se em 5.000 replicações.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Sistemas enzimáticos

Dos 14 sistemas enzimáticos testados para *P. spruceanum*, oito foram selecionados em função da resolução do padrão de bandas dos locos: álcool desidrogenase (ADH), glucose desidrogenase (GDH), β -galactose desidrogenase (GLDH), glutamato desidrogenase (GTDH), malato desidrogenase (MDH), peroxidase (PO), sorbitol desidrogenase (SDH) e xiquimato desidrogenase (SKDH). Alguns padrões isoenzimáticos obtidos para *P. spruceanum* estão representados na Figura 3.

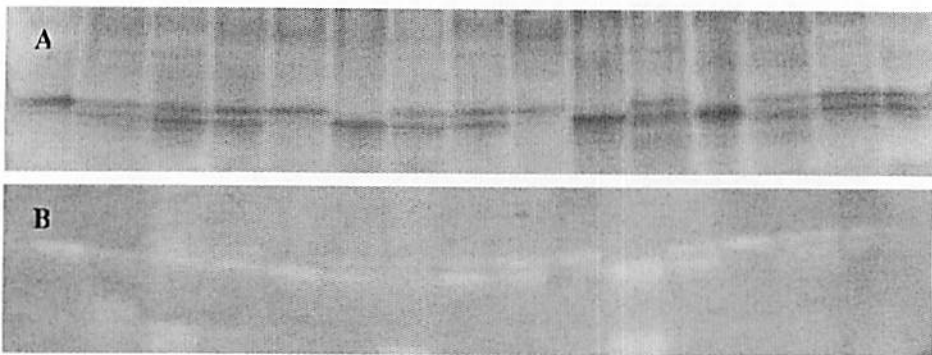


FIGURA 3. Padrões isoenzimáticos utilizados para a análise genética de *Protium spruceanum* (Benth.) Engler. A: revelação para enzima peroxidase. B: revelação para enzima glutamato desidrogenase.

Os oito sistemas isoenzimáticos utilizados revelaram 24 zonas de atividade (locos), sendo 10 passíveis de interpretação e 20 alelos. Alguns estudos com espécies florestais, utilizando dados de marcadores isoenzimáticos, têm usado a partir de quatro locos polimórficos (veja Telles, 2003; Ng et al., 2004). Entretanto, Berg & Hamrick (1997) sugerem um mínimo de 10 locos polimórficos nas análises. Portanto, o presente estudo apresenta suficiência na

amostragem das freqüências alélicas a partir dos 10 locos polimórficos analisados.

Todas as enzimas apresentaram três zonas de atividade, tendo as enzimas ADH, GDH, GLDH, GTDH, SDH e SKDH apresentado uma zona interpretável, na região mais catódica. As enzimas MDH e PO apresentaram duas zonas interpretáveis, uma na região mais catódica e a outra na mais anódica. Apenas a enzima PO apresentou bandas cromáticas. Todas as enzimas apresentaram locos de expressão compatíveis com o das enzimas monoméricas e segregando dois alelos nos locos.

4.2 Freqüências alélicas

As estimativas das freqüências alélicas das populações de *P. spruceanum* nos cinco fragmentos e no corredor de vegetação são apresentadas nas Tabelas 5 e 6, respectivamente. Pela análise das freqüências alélicas dos 10 locos polimórficos nos cinco fragmentos estudados e no corredor de vegetação, verifica-se que não ocorreram alelos exclusivos, já que todos segregaram dois alelos (Figuras 4 e 5).

Nota-se que, para os fragmentos F1, F2 e F5, não houve grande diferença nas freqüências dos dois alelos (Figura 4). Considerando que os locos que estão em equidade gênica (baixa amplitude de variação) apresentam freqüências alélicas entre 0,350 e 0,650 (Frankel et al., 1995), observa-se que, para o conjunto da população, 50% dos locos apresentam equidade gênica ou freqüências alélicas similares (Tabela 5). Essa proporção é de 90% no fragmento F1, 80% no fragmento F2, 10% no fragmento F4a, 30% no fragmento F4b e 100% no fragmento F5. Já no corredor de vegetação, 20% dos locos apresentam equidade gênica, enquanto que, nos eixos F1-F2, F2-F3, F3-F4 e F4-F5, a equidade gênica foi de, respectivamente, 60%, 30%, 20% e 70% (Tabela 6).

TABELA 5. Frequências alélicas e tamanho da amostra (N) em 10 locos isoenzimáticos analisados em *Protium spruceanum* (Benth.) Engler para o conjunto da população e para os cinco fragmentos.

Loco	Alelo	Fragmentos					
		Conjunto	F1	F2	F4a	F4b	F5
ADH	1	0,640	0,617	0,667	0,733	0,700	0,482
	2	0,360	0,383	0,333	0,267	0,300	0,518
	N	148	30	30	30	30	28
GDH	1	0,671	0,603	0,650	0,850	0,717	0,533
	2	0,329	0,397	0,350	0,150	0,283	0,467
	N	149	29	30	30	30	30
GLDH	1	0,656	0,603	0,643	0,852	0,683	0,500
	2	0,344	0,397	0,357	0,148	0,317	0,500
	N	143	29	28	27	30	29
GTDH	1	0,657	0,617	0,650	0,850	0,650	0,517
	2	0,343	0,383	0,350	0,150	0,350	0,483
	N	150	30	30	30	30	30
SDH	1	0,653	0,600	0,667	0,800	0,733	0,466
	2	0,347	0,400	0,333	0,200	0,267	0,534
	N	149	30	30	30	30	29
SKDH	1	0,645	0,583	0,621	0,828	0,655	0,536
	2	0,355	0,417	0,379	0,172	0,345	0,464
	N	145	30	29	29	29	28
MDH-1	1	0,613	0,650	0,567	0,717	0,600	0,533
	2	0,387	0,350	0,433	0,283	0,400	0,467
	N	150	30	30	30	30	30
MDH-2	1	0,643	0,586	0,650	0,796	0,717	0,467
	2	0,357	0,414	0,350	0,204	0,283	0,533
	N	146	29	30	27	30	30
PO-1	1	0,610	0,683	0,600	0,533	0,683	0,550
	2	0,390	0,317	0,400	0,467	0,317	0,450
	N	150	30	30	30	30	30
PO-2	1	0,657	0,617	0,650	0,833	0,650	0,533
	2	0,343	0,383	0,350	0,167	0,350	0,467
	N	150	30	30	30	30	30

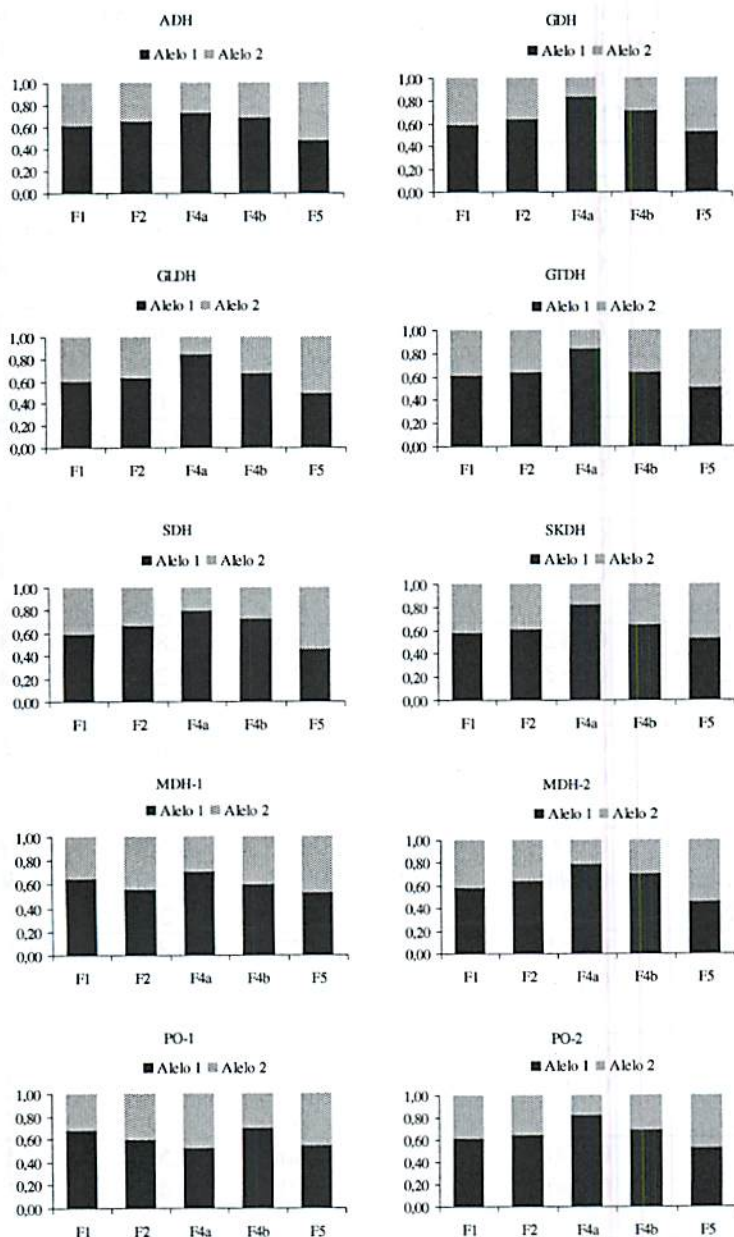


FIGURA 4. Demonstrativo gráfico das frequências alélicas em 10 locos isoenzimáticos analisados em *Protium spruceanum* (Benth.) Engler nos cinco fragmentos (eixo x: fragmentos F1, F2, F4a, F4b e F5; eixo y: frequências alélicas).

TABELA 6. Frequências alélicas e tamanho da amostra (N) em 10 locos isoenzimáticos do conjunto de indivíduos de *Protium spruceanum* (Benth.) Engler ocorrentes no corredor de vegetação e em cada eixo separado.

Loco	Alelo	Eixos				
		Corredor	F1-F2	F2-F3	F3-F4	F4-F5
ADH	1	0,744	0,725	0,825	0,825	0,600
	2	0,256	0,275	0,175	0,175	0,400
	N	80	20	20	20	20
GDH	1	0,714	0,684	0,775	0,816	0,579
	2	0,286	0,316	0,225	0,184	0,421
	N	77	19	20	19	19
GLDH	1	0,706	0,650	0,775	0,825	0,575
	2	0,294	0,350	0,225	0,175	0,425
	N	80	20	20	20	20
GTDH	1	0,744	0,725	0,800	0,850	0,600
	2	0,256	0,275	0,200	0,150	0,400
	N	80	20	20	20	20
SDH	1	0,712	0,650	0,800	0,800	0,600
	2	0,287	0,350	0,200	0,200	0,400
	N	80	20	20	20	20
SKDH	1	0,714	0,625	0,789	0,861	0,600
	2	0,286	0,375	0,211	0,139	0,400
	N	77	20	19	18	20
MDH-1	1	0,606	0,500	0,625	0,550	0,750
	2	0,394	0,500	0,375	0,450	0,250
	N	80	20	20	20	20
MDH-2	1	0,744	0,778	0,750	0,825	0,625
	2	0,256	0,222	0,250	0,175	0,375
	N	78	18	20	20	20
PO-1	1	0,690	0,625	0,650	0,816	0,675
	2	0,310	0,375	0,350	0,184	0,325
	N	79	20	20	19	20
PO-2	1	0,600	0,525	0,600	0,550	0,725
	2	0,400	0,475	0,400	0,450	0,275
	N	80	20	20	20	20

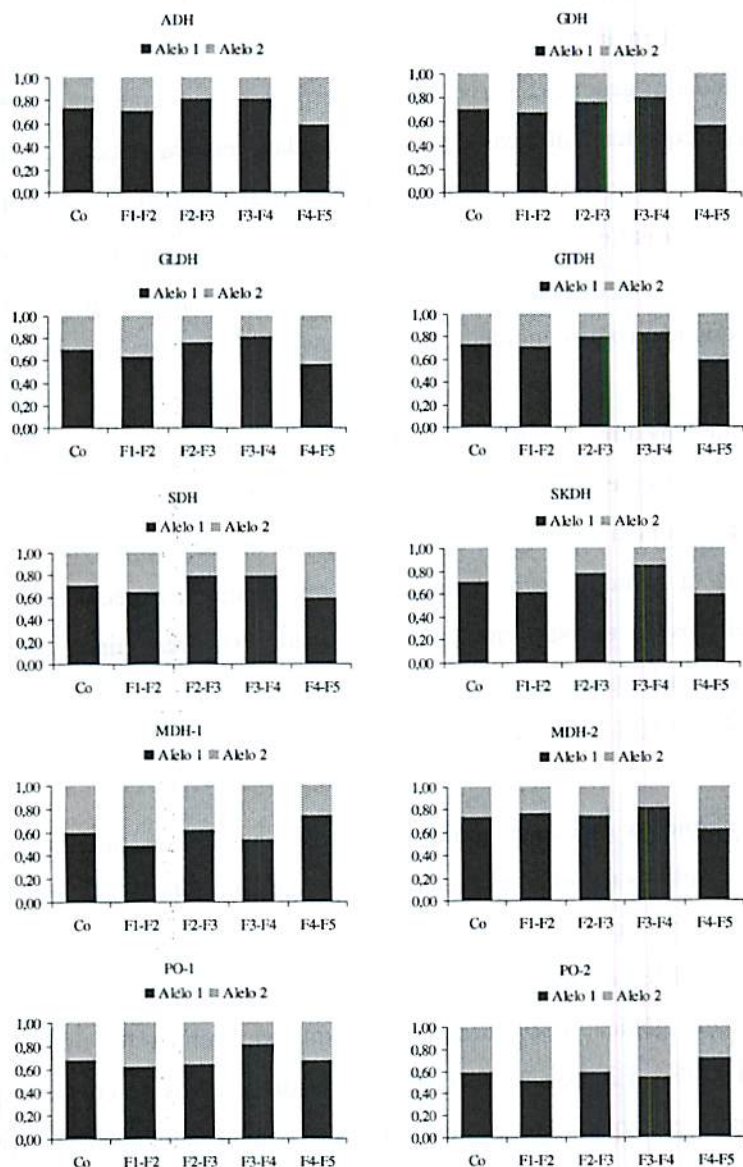


FIGURA 5. Demonstrativo gráfico das frequências alélicas em 10 locos isoenzimáticos de indivíduos de *Protium spruceanum* (Benth.) Engler ocorrentes no corredor de vegetação e em cada eixo separado (eixo x: Corredor-Co e eixos do corredor: F1-F2, F2-F3, F3-F4 e F4-F5; eixo y: frequências alélicas).

Frankel et al. (1995) conceituam equidade gênica como sendo a menor variação das frequências alélicas numa espécie, sendo, então, um indicativo de maior diversidade genética. Dessa forma, espécies que apresentam menor variação das frequências alélicas ou maior equidade gênica podem manter as populações menos susceptíveis à fixação e perda de alelos quando submetidas a perturbações e gargalos genéticos. Assim, populações com maior diversidade genética estariam mais protegidas dos efeitos de deriva do que as que têm alelos em baixa frequência (baixa equidade gênica), estando estes mais susceptíveis de serem perdidos.

A semelhança nas frequências alélicas de *P. spruceanum* nos fragmentos F1, F2 e F5, juntamente com as proporções similares de equidade gênica, sugere uma baixa divergência entre estes fragmentos. Já os fragmentos F4a e F4b apresentam baixa equidade gênica, indicando que nestes a espécie está mais sujeita aos efeitos de deriva genética. Os resultados sugerem ainda que, em geral, a diversidade genética de *P. spruceanum* é maior nos fragmentos (equidade gênica = 50%) quando comparada ao corredor de vegetação (equidade gênica = 20%).

A princípio, a equidade gênica encontrada parece ser distribuída no espaço, com os valores menores encontrados no fragmento F4a (10%) e no eixo do corredor de vegetação F3-F4 (20%), ambos localizados entre o eixo do corredor F2-F3 (30%) e o fragmento F4b (30%), que também apresentaram reduzida equidade gênica. Por outro lado, a equidade gênica foi maior nos fragmentos F1 (90%), F2 (80%) e F5 (100%), estando os eixos do corredor que apresentam maiores equidades gênicas (F1-F2 = 60% e F4-F5 = 70%) conectados a um dos três fragmentos que também apresentaram elevada equidade gênica.

Os eixos de corredor conectados em fragmentos com maior densidade de indivíduos apresentam maior equidade gênica (r de Pearson = 0,422, $R^2 = 0,178$).

Observou-se, ainda, que os eixos de corredor que possuem maior equidade gênica estão conectados a fragmentos que também apresentam maior equidade gênica (r de Pearson = 0,608, $R^2 = 0,370$). Contudo, tais suposições devem ser analisadas com cautela, já que a equidade gênica não é uma estimativa de estruturação espacial dos genótipos e nem de fluxo gênico. Entretanto, tal estimativa gera indícios da diversidade genética intrapopulacional e da divergência entre elas e da baixa amplitude de variação das frequências alélicas entre locais (corredores e fragmentos) vizinhos. Finalmente, foi observada correlação positiva entre tamanho dos fragmentos e heterozigosidade (r de Pearson = 0,462, $R^2 = 0,213$).

4.3 Índices de variabilidade genética

A partir da análise das frequências alélicas dos 10 locos isoenzimáticos foram estimados os índices de diversidade genética dos indivíduos de *P. spruceanum* ocorrentes nos fragmentos e no corredor de vegetação (Tabelas 7 e 8).

Todos os locos detectados em *P. spruceanum* apresentaram polimorfismo (\hat{P}) de 100%. O número de alelos por loco (\hat{A}) foi de 2,0 para os fragmentos e corredores de vegetação, próximos aos encontrados para várias espécies arbóreas em estudos utilizando marcadores isoenzimáticos (Bacles et al., 2004; Botrel & Carvalho, 2004; Casiva et al., 2004; Gusson et al., 2005).

A relação entre as heterozigosidades médias observadas (\hat{H}_o) e as esperadas (\hat{H}_e) forneceu índices de fixação (\hat{f}) negativos em todos os fragmentos analisados, evidenciando maior proporção de heterozigotos (Tabela 7). Entretanto, os valores obtidos não se diferenciaram estatisticamente de zero, estando, portanto, em equilíbrio de Hardy-Weinberg e indicam, *a priori*, ausência de endogamia para estes fragmentos. No corredor de vegetação, apenas

o eixo F1-F2 apresentou \hat{f} positivo, entretanto, esta menor proporção de indivíduos heterozigotos não é estatisticamente diferente de zero, a julgar pelo intervalo de confiança a 95% de probabilidade (Tabela 8).

TABELA 7. Diversidade genética em *Protium spruceanum* (Benth.) Engler nos cinco fragmentos estudados. \hat{A} : número médio de alelos por loco, \hat{P} : porcentagem de locos polimórficos, \hat{H}_o : heterozigosidade média observada, \hat{H}_e : heterozigosidade média esperada e \hat{f} : índice de fixação.

	\hat{A}	\hat{P}	\hat{H}_o	\hat{H}_e	\hat{f}
F1	2,0	100,0	0,559 (0,070)	0,480 (0,016)	-0,170 [-0,414 a 0,068]
F2	2,0	100,0	0,552 (0,069)	0,469 (0,015)	-0,182 [-0,427 a 0,057]
F4a	2,0	100,0	0,333 (0,122)	0,332 (0,083)	-0,003 [-0,200 a 0,213]
F4b	2,0	100,0	0,477 (0,038)	0,437 (0,027)	-0,093 [-0,329 a 0,143]
F5	2,0	100,0	0,630 (0,072)	0,507 (0,002)	-0,248* [-0,501 a -0,017]

() = desvio padrão; [] = intervalo de confiança; * = significativo a 5% de probabilidade

TABELA 8. Diversidade genética dos indivíduos de *Protium spruceanum* (Benth.) Engler ocorrentes em cada eixo corredor de vegetação. \hat{A} : número médio de alelos por loco, \hat{P} : porcentagem de locos polimórficos, \hat{H}_o : heterozigosidade média observada, \hat{H}_e : heterozigosidade média esperada e \hat{f} : índice de fixação.

	\hat{A}	\hat{P}	\hat{H}_o	\hat{H}_e	\hat{f}
F1-F2	2,0	100,0	0,419 (0,106)	0,454 (0,050)	0,078 [-0,254 a 0,342]
F2-F3	2,0	100,0	0,392 (0,100)	0,383 (0,071)	-0,023 [-0,328 a 0,250]
F3-F4	2,0	100,0	0,376 (0,103)	0,336 (0,094)	-0,123 [-0,274 a 0,012]
F4-F5	2,0	100,0	0,483 (0,044)	0,470 (0,041)	-0,029 [-0,383 a 0,253]

() = desvio padrão; [] = intervalo de confiança

Os valores médios estimados de \hat{H}_o sobre os locos de *P. spruceanum* para os fragmentos F1 e F2 e para os fragmentos F1 e F5 não foram diferentes, de acordo com seus desvios padrões. Por outro lado, todas as outras

comparações entre os fragmentos apresentaram diferenças. Os valores de \hat{H}_o para os fragmentos F1 (0,559), F2 (0,552) e F5 (0,630) são condizentes com os valores observados de equidade gênica (F1 = 90%, F2 = 80% e F5 = 100%) (r de Pearson = 0,947, $R^2 = 0,897$), corroborando a maior diversidade genética encontrada nestes fragmentos. Por outro lado, os fragmentos F4a e F4b, que apresentaram freqüências alélicas equitariamente menos distribuídas, também apresentaram menor heteroziguidade para a espécie.

A correlação entre equidade gênica e heteroziguidade é também observada no sistema de corredor, onde os eixos que apresentaram maior equidade das freqüências alélicas (F1-F2 = 60% e F4-F5 = 70%) também apresentaram maior heteroziguidade (F1-F2 = 0,419 e F4-F5 = 0,483) (r de Pearson = 0,915, $R^2 = 0,837$). A menor heteroziguidade encontrada nos eixos F2-F3 e F3-F4, apesar de não diferente estatisticamente das demais, se deve à menor equidade gênica ou diversidade genética observada nestes eixos, em função da maior variação das freqüências alélicas. Apenas o eixo do corredor F4-F5 diferiu estatisticamente dos outros, apresentando valor significativamente maior de \hat{H}_o .

A heteroziguidade esperada (\hat{H}_e) detectada para *P. spruceanum* nos fragmentos e corredores de vegetação é bem superior ao valor estimado por Hamrick & Godt (1989) para espécies arbóreas (0,177). A alta diversidade genética encontrada pode ser explicada pela ausência de alelos raros, freqüências alélicas em equidade, flores funcionalmente unissexuais e alta densidade populacional apresentada pela espécie nos fragmentos. Alguns estudos têm mostrado a tendência de espécies de plantas comuns apresentarem maiores níveis de diversidade relativamente às espécies raras (Hamrick & Murawski, 1991; Gitzendanner & Soltis, 2000; Cole, 2003).

O sistema de reprodução interfere na estrutura genética, podendo as taxas de cruzamento nas espécies arbóreas tropicais variar entre populações,

entre indivíduos dentro das populações e em diferentes eventos reprodutivos (Murawski & Hamrick, 1991; Nason & Hamrick, 1997). Estas variações podem ser o resultado, entre outros fatores ecológicos, do tamanho e da densidade da população (Franceschinelli & Bawa, 2000; Murawski & Hamrick, 1991). Estudos têm mostrado que a variação na densidade de flores (*plant's floral neighborhood*, senso Feinsinger et al., 1986) em um local tem um grande efeito no sucesso reprodutivo de plantas (Agren, 1996), já que indivíduos em agregações maiores poderiam atrair mais polinizadores ou polinizadores de melhor qualidade (Burd, 1994; Calvo & Horvitz, 1990; Corbet, 1998). Em contraste, é observada, com frequência, baixa produção de frutos e sementes em locais com menor quantidade de indivíduos reprodutivos, pois atraem poucas visitas (Feinsinger et al., 1986; Jennersten & Nilsson, 1993; Kunin, 1997). Neste contexto, os fragmentos estudados apresentam alta densidade demográfica ($> 50 \text{ ind.ha}^{-1}$) de *P. spruceanum* e apresentam altos níveis de diversidade genética. Assim, considerando que estes fragmentos possuem também maior número de indivíduos reprodutivos, tal condição, provavelmente, permite maior número de recombinações e múltiplas paternidades nas progênies. Este fato favorece o aumento dos níveis de diversidade genética em função do aumento das taxas de cruzamento, conforme discutido por van Treuren et al. (1993) e Franceschinelli & Bawa (2000).

O índice de fixação (\hat{f}) foi significativamente diferente de zero apenas no fragmento F5, a julgar pelo intervalo de confiança a 95% de probabilidade, demonstrando excesso de heterozigotos em relação ao esperado pelas proporções de EHW (Tabela 7). Este resultado sugere a existência de mecanismos seletivos atuando em favor dos heterozigotos que, segundo Reis (1996), se fundamenta na diferença da quantidade de heterozigotos entre progênies e adultos. Portanto, apenas o estudo com as próximas gerações

permitirão averiguar se ocorre ou não a manutenção dos heterozigotos em *P. spruceanum* no fragmento F5.

4.4 Estrutura genética

Os coeficientes de coancestralidade de Cockerham (Cockerham, 1969; Vencovsky, 1992) para os indivíduos de *P. spruceanum* nos fragmentos e corredores de vegetação encontram-se na Tabela 9. As estimativas médias obtidas mostraram a ausência de endogamia para o conjunto das populações ($\hat{F} = -0,065$) e tendência a apresentar maior número de heterozigotos nas populações ($\hat{f} = -0,098$), sugerindo que, em média, as populações nos fragmentos não são endogâmicas. Os coeficientes médios de endogamia foram significativamente diferentes de zero, de acordo com o intervalo de confiança a 95% de probabilidade, demonstrando excesso de heterozigotos em relação ao esperado pelas proporções de EHW.

TABELA 9. Estimativas dos coeficientes médios de endogamia dentro das populações (\hat{f}), do conjunto das populações (\hat{F}) e da divergência genética entre populações ($\hat{\theta}_p$) no sistema fragmento-corredor de vegetação estudado para *Protium spruceanum* (Benth.) Engler.

Loco	\hat{f}	\hat{F}	$\hat{\theta}_p$
ADH	-0,139	-0,105	0,030
GDH	-0,075	-0,038	0,034
GLDH	-0,090	-0,048	0,038
GTDH	-0,065	-0,020	0,042
SDH	-0,119	-0,073	0,041
SKDH	-0,092	-0,059	0,030
MDH-1	-0,181	-0,177	0,003
MDH-2	-0,110	-0,056	0,048
PO-1	-0,001	0,009	0,010
PO-2	-0,105	-0,075	0,028
Média	-0,098*	-0,065*	0,030*
	[-0,125 a -0,069]	[-0,095 a -0,037]	[0,022 a 0,038]

[] = intervalo de confiança (nível de probabilidade de 5%)

* = significativo a 5% de probabilidade

A divergência genética entre fragmentos foi baixa ($\hat{\theta}_p = 0,030$). Isso significa que aproximadamente 3% da variabilidade genética encontra-se entre as populações e que 97% desta variabilidade ocorre dentro das populações. A divergência encontrada neste trabalho (3%) está de acordo com o observado em outras espécies arbóreas tropicais, ou seja, a maior proporção da variabilidade genética encontra-se dentro das populações (Botrel & Carvalho, 2004; Dayanandan et al., 1999; Melo Júnior et al., 2004; Moraes et al., 1999; Pinto & Carvalho, 2004; Pinto et al., 2004; White et al., 1999).

Segundo Loveless & Hamrick (1984), as espécies tipicamente alógamas apresentam variabilidade genética alta dentro de populações. A divergência entre populações é reduzida com o aumento do fluxo gênico (pólen e ou sementes). Considerando que *P. spruceanum* é alógama, com síndromes de entomofilia e

ornitocoria e os fragmentos estudados são próximos, a baixa divergência genética observada entre os fragmentos era esperada e ela pode ser também efeito do corredor de vegetação, permitindo maior troca de alelos entre as populações dos fragmentos, o que poderia ser testado examinando-se fragmentos semelhantes não conectados por corredores. Adicionalmente, as frequências alélicas, em geral, equitariamente distribuídas nos fragmentos, são um indício de fluxo gênico atuando como homogeneizador destas frequências, contribuindo para a menor variabilidade genética observada entre os fragmentos.

Os resultados do teste exato de Fischer para verificar se as proporções genotípicas se ajustam ao modelo de EHW para cada loco encontram-se na Tabela 10. O modelo de equilíbrio tem como pressupostos cruzamentos aleatórios, ausência de mutação, migração, seleção, deriva genética e tamanho infinito das populações (Futuyma, 1992). Em geral, a espécie apresenta locos aderidos ao EHW em todos os fragmentos. Foram detectados desvios significativos do modelo de equilíbrio apenas no loco MDH-1 do fragmento F2 e nos locos ADH e MDH-2 do fragmento F5. Tais desvios significativos foram resultantes do excesso de heterozigotos verificado nestes locos. Segundo Futuyma (1992), a frequência relativa dos alelos em locos aderidos ao EHW deve permanecer a mesma de uma geração para outra e apenas a redistribuição dos alelos dentro dos genótipos da nova geração poderá alterar a composição genética da população.

TABELA 10 Probabilidades do teste exato de Fisher para a hipótese do Equilíbrio de Hardy-Weinberg, para os indivíduos de *Protium spruceanum* (Benth.) Engler nos fragmentos e corredor de vegetação.

Loco	P (Fisher)					
	Fragmentos					
	F1	F2	F4a	F4b	F5	Co
ADH	0,444	0,423	0,638	0,687	0,021*	0,768
GDH	0,435	0,708	0,504	1,000	0,461	1,000
GLDH	0,435	0,407	0,454	0,674	0,472	1,000
GTDH	0,444	0,708	0,504	0,708	0,714	1,000
SDH	0,264	0,423	0,307	0,075	0,144	0,790
SKDH	0,147	0,457	1,000	1,000	0,703	1,000
MDH-1	1,000	0,012*	0,065	1,000	0,139	0,350
MDH-2	0,250	0,708	1,000	0,378	0,025*	0,248
PO-1	1,000	0,711	0,724	1,000	0,265	0,440
PO-2	0,444	0,255	1,000	0,679	1,000	0,489

* = significativo a 5% de probabilidade

As estimativas de distância e identidade genética são mostradas na Tabela 11. As análises de identidade entre os fragmentos foram baseadas na identidade genética de Nei (1978).

TABELA 11 Distância (abaixo da diagonal) e identidade genética (acima da diagonal) de *Protium spruceanum* (Benth.) Engler entre os fragmentos analisados.

Fragmentos	F1	F2	F4a	F4b	F5
F1	-	0,994	0,939*	0,987	0,978
F2	0,007	-	0,961	0,995	0,965
F4a	0,079*	0,050	-	0,973	0,868*
F4b	0,002	0,008	0,032	-	0,940
F5	0,010	0,024	0,155*	0,053	-

* = significativo a 5% de probabilidade

A menor identidade genética observada está entre os indivíduos de *P. spruceanum* amostrados no fragmento F4a e aqueles dos fragmentos F1 e F5, com valores significativos. Dessa forma, há coerência entre as estimativas de

heterozigiosidade e eqüidade gênica detectadas nos fragmentos, que se mostraram maiores justamente nos fragmentos que apresentam maior identidade genética para a espécie. Assim, a maior semelhança nas freqüências alélicas entre os fragmentos F1, F2, e F5, juntamente com as proporções similares de eqüidade gênica, conduziu a uma menor divergência entre estes fragmentos.

A matriz de identidade genética de Nei (1978) foi utilizada como base para a construção de um dendrograma pelo método UPGMA, que sugere a existência de um padrão hierárquico de semelhança genética da forma [(2,4b,1),5],[[4a)] (Figura 6). O coeficiente de correlação cofenética, que avalia a existência dos agrupamentos obtidos, foi de $r_c = 0,65$. O padrão encontrado de identidade genética entre os fragmentos é, possivelmente, associado ao fluxo gênico entre estes.

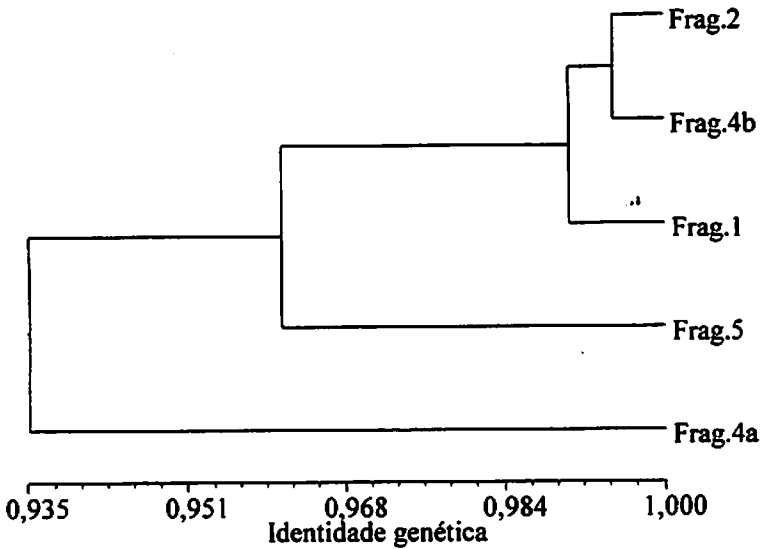


FIGURA 6. Análise de agrupamento das identidades genéticas de Nei (UPGMA) entre os cinco fragmentos para *Protium spruceanum* (Benth.) Engler.

4.5 Fluxo gênico entre fragmentos e corredores

O fluxo gênico estimado para o conjunto dos fragmentos foi de 4,2 migrantes por geração, indicando considerável fluxo gênico aparente. A estimativa do número de genitores que trocam alelos ao acaso ou vizinhança (\hat{N}_b) foi de 26 indivíduos (Tabela 12). Segundo Slatkin & Barton (1989), os valores de \hat{N}_m e \hat{N}_b determinam se a deriva genética, por si só, pode produzir variabilidade genética substancial entre locais. Se estes valores forem superiores a 1,0, então o fluxo gênico será alto o suficiente para prevenir diferenciação devido à deriva genética. Apenas o fluxo entre os fragmentos F1 x F4a e F4a x F5 encontra-se baixo e pode antecipar os efeitos de deriva.

Em geral, os altos valores de \hat{N}_m e \hat{N}_b estimados podem decorrer, entre outros fatores, do grande tamanho populacional da espécie na área estudada e dos mecanismos eficientes de dispersão de sementes (aves) e pólen (abelhas), resultando na alta variação genética dentro dos fragmentos e baixa entre eles (Hamrick & Loveless, 1986; Loveless & Hamrick, 1984).

TABELA 12. Fluxo gênico ($\hat{N}m$) e tamanho da vizinhança (\hat{N}_b) obtidos a partir das estimativas de divergência genética ($\hat{\theta}_p$) dos cinco fragmentos para *Protium spruceanum* (Benth.) Engler. N: número de indivíduos analisados; nf: número de fragmentos analisados.

Fragmentos	N	nf	$\hat{\theta}_p$	$\hat{N}m$	\hat{N}_b
F1 e F2	60	2	0,010	8,9	56
F1 e F4a	60	2	0,077*	0,7	5
F1 e F4b	60	2	0,001	31,2	196
F1 e F5	60	2	0,007	6,2	39
F2 e F4a	60	2	0,048	1,2	7
F2 e F4b	60	2	0,010	7,8	49
F2 e F5	60	2	0,020	2,5	16
F4a e F4b	60	2	0,031	1,9	12
F4a e F5	60	2	0,153*	0,3	2
F4b e F5	60	2	0,051	1,1	7
Todos os fragmentos	150	5	0,037	4,2	26

* = significativo a 5% de probabilidade

Cabe ressaltar que o valor do fluxo gênico calculado a partir da divergência genética reflete o fluxo que ocorreu durante um longo período. A estimativa não indica se está havendo fluxo gênico em determinado evento reprodutivo, mas calcula os níveis que devem ter ocorrido para produzir os padrões observados de estrutura genética (Smouse & Sork, 2004). Adicionalmente, os resultados obtidos não refletem uma estrutura genética de *P. spruceanum* em função da fragmentação florestal, pois apenas o fragmento F4a apresentou baixo fluxo gênico (Tabela 12). Entretanto, considerando a situação praticamente irreversível da fragmentação das populações de *P. spruceanum*, o menor fluxo gênico estimado entre F4a e os outros fragmentos ($\hat{N}m_{F4a \times Fj} < 1,9$) pode acarretar, no futuro, aumento nos níveis de diferenciação genética, por deriva (Wright, 1951), entre o fragmento F4a e os demais, de acordo com os valores estimados, entre 0,3 e 1,9 migrante. A amostragem de progênies dos

fragmentos pode auxiliar o entendimento do comportamento das heterozigosidades e do fluxo gênico em função do processo de fragmentação.

Com exceção do fragmento F4a, todos estão fortemente relacionados ao fragmento F1, seja pela baixa divergência genética ou pelo alto fluxo gênico observado para *P. spruceanum* entre tais fragmentos (Tabela 12). Desse modo, há, possivelmente, movimento de pólen e sementes suficientemente atuando na menor diferenciação da espécie entre os fragmentos F1, F2, F4b e F5 e permitindo a homogeneização das frequências alélicas. Segundo Hartl & Clark (1997), quando o fluxo gênico entre populações excede a quatro migrantes por geração, ocorre a homogeneização dos alelos entre estas, que funcionam como populações panmíticas. Conforme os resultados, o número de migrantes dos fragmentos F2, F4b e F5 com o fragmento F1 é, respectivamente, de 8,9, 31,2 e 6,2. Portanto, o número de migrantes por geração (> 4) entre estes fragmentos é suficiente para contrapor os efeitos da deriva genética (Hartl & Clark, 1997; Wright, 1951).

Na área de estudo, são observados como visitantes mais freqüentes *Apis mellifera* e *Trigona sp.* (Apidae), sendo o comportamento oportunista desta família relatado em diversos habitats (Carvalho & Marchini, 1999; Ramalho, 1990). Lorenzon et al. (2003) observaram essa estratégia pela dominância das operárias na exploração de algumas espécies de plantas, que se encontravam agrupadas e em alta densidade nos locais estudados. Segundo Agren (1996), o sucesso reprodutivo das plantas pode estar associado com a agregação dos indivíduos reprodutivos, sendo que indivíduos em agregações maiores poderiam atrair mais e eficientes polinizadores e, assim, resultar em maior produção de frutos (Corbet, 1998).

Nesse contexto, considerando que é alta a densidade de indivíduos de *P. spruceanum* no fragmento F1 (850,0 ind.ha⁻¹) e que os frutos da espécie são dispersos por aves, é provável que tais dispersores estejam definindo sua rota

visitando o fragmento F1, em busca de recursos. Esse argumento pode ser sustentado, principalmente, pelo fato de o fragmento F1 (1 ha) estar localizado entre os fragmentos F2, F4b e F5 e, provavelmente, atua como um *stepping-stone* (Kimura & Weiss, 1964), facilitando a troca de alelos entre eles. Pequenos remanescentes florestais têm sido relatados na literatura como habitats ou *stepping-stone* para aves, contribuindo para a conexão entre remanescentes florestais (Estrada et al., 2000; Fischer & Lindenmayer, 2002).

Altos níveis de fluxo gênico diminuem a perda de diversidade genética e mantêm a viabilidade das populações a longo prazo (White et al., 1999, 2002). Com isso, pequenos fragmentos florestais (fragmento F1) podem atuar como *stepping-stone* importantes para o fluxo gênico entre fragmentos, promovendo a conectividade e aumentando a variabilidade genética das populações (Chase et al., 1996; White et al., 1999, 2002). O fragmento F1 é importante também para a espécie *P. spruceanum* devido à maior densidade de indivíduos da espécie (850,0 ind.ha⁻¹) e alta diversidade genética ($\hat{H}_e = 0,480$).

A hipótese de homogeneização das frequências alélicas decorrente do maior fluxo gênico estimado dos fragmentos F2, F4b e F5 com o fragmento F1 é reforçada, ainda, pela baixa divergência genética e alto fluxo gênico observado para *P. spruceanum* entre os fragmentos F2 e F4b ($\hat{N}m = 7,8$) e entre os fragmentos F2 e F5 ($\hat{N}m = 2,5$), mesmo sendo, entre os fragmentos estudados, os mais distantes (> 1.300 m).

Supondo ainda a homogeneização dos alelos entre os fragmentos F1, F2, F4b e F5, apenas os indivíduos de *P. spruceanum* nos fragmentos F4b e F5 foram menos similares geneticamente ($\hat{\theta}_p = 5,1\%$). Entretanto esta divergência não foi estatisticamente significativa, a 95% de probabilidade. Além de o fragmento F4b se localizar em microbacia diferente do fragmento F5, possivelmente, os padrões genéticos destas populações nos fragmentos resultam

da heterogeneidade ambiental e de pressões seletivas diferenciais (Heywood, 1991; Loveless & Hamrick, 1984). Segundo Dutech et al. (2005) e van Rossum & Prentice (2004), processos microevolutivos podem atuar no padrão espacial da variabilidade genética e conduzir à diferenciação das populações.

A análise da divergência genética ($\hat{\theta}_p$) de *P. spruceanum* em cada par de fragmento se mostrou, em geral, baixa (Tabela 12). Valores significativos foram encontrados nas comparações F1 x F4a ($\hat{\theta}_p = 7,7\%$) e F4a x F5 ($\hat{\theta}_p = 15,3\%$), quando comparados aos demais pares ($\hat{\theta}_p < 5,1\%$), mostrando que a divergência não ocorreu por acaso. Provavelmente, a divergência genética significativa dos indivíduos de *P. spruceanum* do fragmento F4a com os dos fragmentos F1 e F5 pode ser em função de seleção local para micro-habitat. Enquanto os indivíduos de *P. spruceanum*, no fragmento F4a, ocorrem com maior frequência, próximo à borda, em local menos úmido e similar ao dos corredores de valo, os indivíduos da espécie nos fragmentos F1 e F5 ocorrem abrangendo grande parte do fragmento, que pode ser determinada pelo solo encharcado quase que em caráter permanente. Entretanto, para verificar se a divergência genética encontrada entre esses fragmentos ocorre devido ao efeito de seleção local, devido às diferenças de umidade no solo, estudos complementares deverão ser realizados. A divergência genética detectada pode estar associada, ainda, ao fato de que os fragmentos F1 e F5 estão em uma microbacia diferente da do fragmento F4a.

Os resultados indicam que os indivíduos de *P. spruceanum* que ocorrem no fragmento F4a apresentam menor divergência genética com aqueles do fragmento F4b ($\hat{\theta}_p = 3,1\%$). Provavelmente, este resultado se deve à proximidade destes fragmentos (333 m) e à localização das duas populações na mesma microbacia, facilitando o fluxo de alelos ($\hat{N}m_{F4a \times F4b} = 1,9$) e

contribuindo para a menor divergência genética da espécie detectada entre eles. Os indivíduos de *P. spruceanum* do fragmento F4a apresentam menor divergência genética também com aqueles do fragmento F2 ($\hat{\theta}_p = 4,8\%$). Provavelmente, o corredor de vegetação atua como fonte de fluxo gênico para o fragmento F4a e pode ser corroborada pelo fluxo deste com o fragmento F2 ($\hat{N}m_{F2 \times F4a} = 1,2$), ambos localizados entre os corredores F2-F3 e F3-F4. Assim, o corredor de vegetação (eixos F2-F3 e F3-F4) pode ser responsável pelas trocas de alelos de *P. spruceanum* entre os fragmentos F2 e F4a, implicando numa contribuição imprescindível para a manutenção da dinâmica demográfica e do fluxo gênico da espécie entre estes fragmentos. Dessa forma, observa-se que os indivíduos da espécie no fragmento F4a apresentam maior fluxo gênico com aqueles do fragmento vizinho F4b e a menor divergência entre os fragmentos F2 e F4a pode ser efeito do corredor de vegetação (eixos F2-F3 e F3-F4).

A hipótese de que o corredor de vegetação (eixo F2-F3 e eixo F3-F4) contribui para as trocas de alelos entre os fragmentos F2 e F4a é corroborada pelos resultados de divergência genética e de fluxo gênico de *P. spruceanum* entre os fragmentos e corredores (Tabela 13). Observa-se que o fragmento F4a apresenta maior fluxo gênico justamente com os eixos F2-F3 e F3-F4.

TABELA 13. Fluxo gênico (\hat{N}_m) e tamanho da vizinhança (\hat{N}_b) obtidos a partir das estimativas de divergência genética ($\hat{\theta}_p$) entre os fragmentos e corredores de vegetação para indivíduos de *Protium spruceanum* (Benth.) Engler. N: número de indivíduos analisados; np: número de populações analisadas.

Fragmentos/corredores	N	Np	$\hat{\theta}_p$	\hat{N}_m	\hat{N}_b
F1 e F1-F2	50	2	0,003	18,3	115
F1 e F2-F3	50	2	0,036	1,7	10
F1 e F3-F4	50	2	0,071	0,8	5
F1 e F4-F5	50	2	0,013	4,6	29
F2 e F1-F2	50	2	0,009	6,7	42
F2 e F2-F3	50	2	0,015	4,1	26
F2 e F3-F4	50	2	0,049	1,2	8
F2 e F4-F5	50	2	0,004	14,8	93
F4a e F1-F2	50	2	0,053	1,1	7
F4a e F2-F3	50	2	0,008	7,7	48
F4a e F3-F4	50	2	0,038	1,6	10
F4a e F4-F5	50	2	0,073	0,8	5
F4b e F1-F2	50	2	0,007	9,6	60
F4b e F2-F3	50	2	0,001	78,1	490
F4b e F3-F4	50	2	0,026	2,4	15
F4b e F4-F5	50	2	0,002	34,7	218
F5 e F1-F2	50	2	0,040	1,5	9
F5 e F2-F3	50	2	0,105*	0,5	3
F5 e F3-F4	50	2	0,148*	0,4	2
F5 e F4-F5	50	2	0,018	3,4	22
Todas as populações	230	9	0,030	6,4	40

* = significativo a 5% de probabilidade

Em geral, todos os fragmentos apresentaram maior fluxo gênico com os corredores aos quais se conectam. Mais uma vez, a hipótese de homogeneização das frequências alélicas, decorrente do maior fluxo gênico entre os fragmentos F1, F2, F4b e F5, é corroborada, pois estes fragmentos apresentaram menor divergência genética e maior fluxo gênico com os corredores F1-F2 e F4-F5, espacialmente localizados entre estes fragmentos.

Os indivíduos de *P. spruceanum* do fragmento F4b foram os que apresentaram maior fluxo gênico com os corredores de vegetação, com média de 31 migrantes. O alto fluxo gênico estimado de 78,1 migrantes da espécie entre o fragmento F4b e o eixo de corredor F2-F3 se deve, provavelmente, pela maior similaridade genética, talvez ao acaso.

Considerando ainda que a hipótese de homogeneização das frequências alélicas decorre do maior fluxo gênico da espécie entre os fragmentos F1, F2, F4b e F5 e com os corredores F1-F2 e F4-F5, especialmente localizados entre estes fragmentos, acredita-se que, entre os eixos F2-F3 e F3-F4, o eixo F2-F3 é o que mais retém a diversidade genética oriunda do fluxo gênico homogeneizador. Esta evidência pode ser comprovada pelo fato de que a espécie, independente do fragmento, apresentou maior fluxo gênico com o eixo F2-F3, em comparação com o F3-F4 e, finalmente, explica a maior divergência genética observada para a espécie, entre o fragmento F5 e o eixo F3-F4 ($\hat{\theta}_p = 14,8\%$), significativa a 95% de probabilidade.

A unidade panmítica ou vizinhança (\hat{N}_b) estimada para o conjunto dos fragmentos estudados e entre os fragmentos com o corredor de vegetação é, respectivamente, de 26 e 40 indivíduos de *P. spruceanum*, ou seja, estes compõem, em média, os grupos parentais que trocam alelos ao acaso (Slatkin & Barton, 1989) (Tabelas 12 e 13). As estimativas indiretas da vizinhança também foram da mesma ordem de magnitude do \hat{N}_m , conforme relatado por Eguiarte et al. (1993). Menores valores de \hat{N}_b foram observados nas comparações do fragmento F4a com os demais, entre 2 e 12 indivíduos (Tabela 12). Estes valores indicam que a variabilidade genética da espécie neste fragmento está distribuída entre poucos grupos. Um número menor de indivíduos em uma mesma unidade de área, segundo Reis (1996), implica em aumento da divergência entre as vizinhanças, em decorrência do aumento interno dos níveis de endogamia,

alterando a estrutura genética da população a médio prazo. Assim, para o fragmento F4a, uma redução da vizinhança poderá conduzir ao aumento da endogamia (Wright, 1969), inviabilizando o remanescente populacional (Ellstrand & Ellan, 1993; Hall et al., 1996). Dessa forma, a manutenção e a conservação dos corredores F2-F3 e F3-F4 seriam medidas plausíveis para assegurar a maior vizinhança ($\hat{N}_b = 48$ e $\hat{N}_b = 10$, respectivamente) que a espécie possui neste fragmento, minimizando os efeitos da baixa vizinhança reprodutiva (Feinsinger et al., 1986; Jennersten & Nilsson, 1993; Kunin, 1997) com os outros fragmentos.

O teste de Mantel (Manly, 1997) mostrou que não existe uma relação entre as distâncias geográficas e as distâncias genéticas estimadas ($r_m = -0,079$) (Figura 7), evidenciando a baixa divergência genética e o considerável fluxo gênico de *P. spruceanum* entre os fragmentos. Em futuros estudos, a fim de proceder a investigações mais refinadas de análise espacial da variabilidade genética interpopulacional de *P. spruceanum*, seria interessante que se amostrassem maior número de populações e em mais localidades (Gonzales & Hamrick, 2005; Slatkin & Barton, 1989; van Rossum & Prentice, 2004; Wright, 1943). Essas informações iriam contribuir, ainda, para a elaboração de um programa efetivo de conservação *in situ* e de coleta, conservação e exploração do germoplasma.

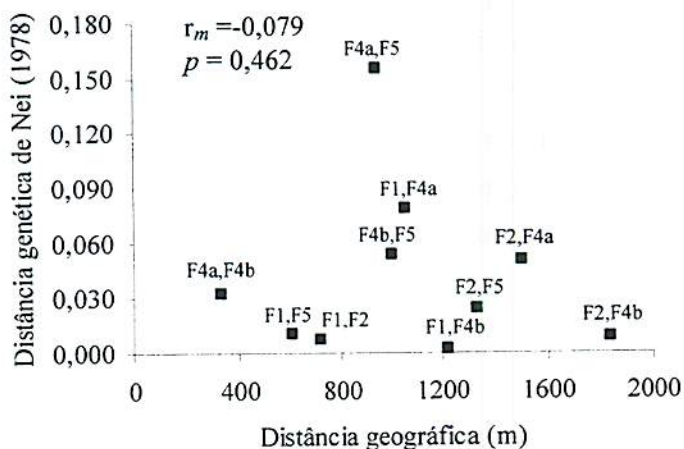


FIGURA 7. Comparação entre a matriz de distância genética ($\hat{\theta}_p$) e de distância geográfica (metros) entre fragmentos para *Protium spruceanum* (Benth.) Engler utilizando o teste de Mantel.

4.6 Distribuição espacial dos genótipos dentro dos fragmentos

Para a maioria das espécies arbóreas, a maior parte da diversidade genética é constituída pela variação genética dentro das populações (Hamrick & Godt, 1989), ocorrendo o mesmo para *P. spruceanum*, conforme resultados de estrutura genética. Adicionalmente, observou-se ausência de correlação entre a posição geográfica e a distância genética das populações. Dessa forma, torna-se necessário investigar como se organiza espacialmente a variabilidade genética intrapopulacional nos fragmentos.

As coordenadas x e y , obtidas no campo, de cada indivíduo amostrado, foram utilizadas para obter os gráficos (Figura 8) de posição espacial dos indivíduos com o uso do programa SGS (Degen, 2003), assim como as distâncias mínimas, máximas e médias entre os indivíduos amostrados de *P. spruceanum* nos fragmentos e no corredor de vegetação (Tabela 14). A

ocorrência de *P. spruceanum* nos fragmentos coincide com a presença dos cursos d'água, apesar deste não estar indicado na Figura 8. Especialmente nos fragmentos F1 e F5, a ocorrência da espécie abrange grande parte do fragmento, podendo ser determinada pelo solo encharcado quase em caráter permanente. Castro (2004) observou a presença de Gleissolo Háplico Tb distrófico no fragmento F1, caracterizando um local de maior umidade.

FIGURA 8. Posição das árvores de *Protium spruceanum* (Benth.) Engler amostradas nos cinco fragmentos.

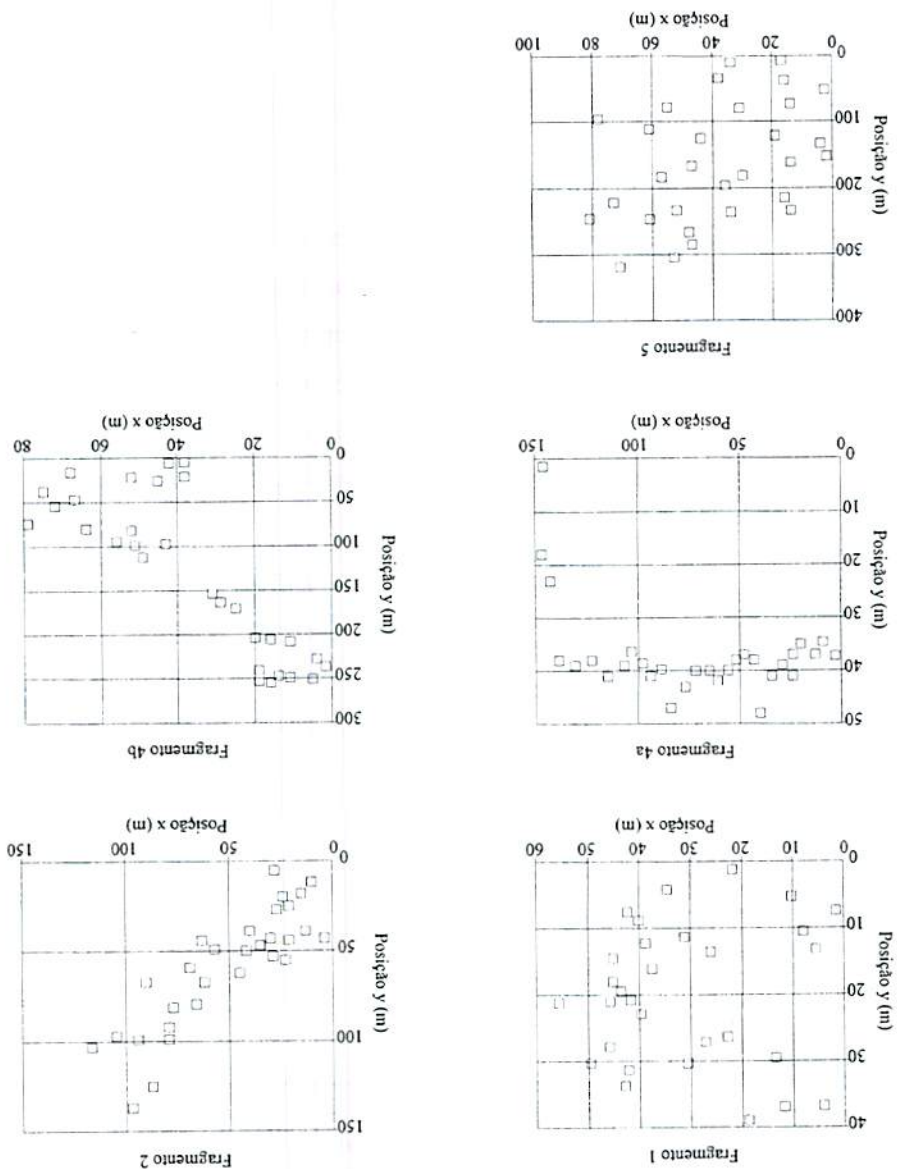


TABELA 14. Distâncias mínimas, máximas e médias, em metros, do próximo indivíduo amostrado de *Protium spruceanum* (Benth.) Engler em cada fragmento, no corredor de vegetação (Co) e nos eixos do Co que interligam os fragmentos. *n*: tamanho amostral.

	Códigos	<i>n</i>	Mínima	Máxima	Média
Fragmentos	F1	30	1,24	57,37	4,83
	F2	30	2,83	153,39	9,61
	F4a	30	1,41	154,50	5,79
	F4b	30	3,61	255,95	8,42
	F5	30	15,81	323,54	19,67
Corredor	Co	80	6,40	1.926,18	19,46
Eixos do Co					
Frag1 - Frag2	F1-F2	20	8,00	374,35	16,51
Frag2 - Frag3	F2-F3	20	8,06	448,48	16,21
Frag3 - Frag4	F3-F4	20	7,28	506,50	23,08
Frag4 - Frag5	F4-F5	20	6,40	590,27	24,90

A distribuição espacial dos genótipos de *P. spruceanum*, dentro de cada fragmento e nos corredores de vegetação, foi obtida por meio do coeficiente *I* de Moran e pelo coeficiente de coancestria de Ritland (1996) entre plantas, para cada classe de distância. Os valores para a autocorrelação espacial por meio da estatística *I* de Moran, para os fragmentos e para o corredor de vegetação, respectivamente, encontram-se nas Tabelas 15 e 16.

Tabela 15. Coeficientes de autocorrelação espacial dos genótipos (*I* de Moran) de *Protium spruceanum* (Benth.) Engler nos cinco fragmentos. Lc = Limite das classes de distâncias (m) e Nc = número de pares de comparações por classe.

Fragmento F1			Fragmento F2			Fragmento F4a			Fragmento F4b			Fragmento F5		
Lc	Nc	<i>I</i>	Lc	Nc	<i>I</i>	Lc	Nc	<i>I</i>	Lc	Nc	<i>I</i>	Lc	Nc	<i>I</i>
7	29	0,15	13	29	0,03	10	37	0,04	16	80	-0,07	28	32	-0,16
14	83	-0,14	26	69	0,02	20	50	0,17*	32	74	-0,18	56	71	0,02
21	87	0,03	39	75	-0,05	30	50	0,07	48	65	0,02	84	79	-0,07
28	74	-0,08	52	60	-0,12	40	45	-0,11	64	34	-0,04	112	63	-0,04
35	68	0,02	65	48	-0,02	50	42	-0,05	80	54	0,04	140	52	0,02
42	60	-0,09	78	37	0,05	60	39	-0,17	96	48	-0,15	168	45	-0,05
			91	35	-0,01	70	33	-0,12				196	32	-0,03
			104	31	-0,13	80	31	-0,22*				224	27	-0,12

* significativo a 5% de probabilidade

Tabela 16. Coeficientes de autocorrelação espacial dos genótipos (*I* de Moran) de *Protium spruceanum* (Benth.) Engler nos corredores de vegetação. Lc = Limite das classes de distâncias (m) e Nc = n° de pares de comparações por classe.

Corredor			F1-F2			F2-F3			F3-F4			F4-F5		
Lc	Nc	<i>I</i>	Lc	Nc	<i>I</i>	Lc	Nc	<i>I</i>	Lc	Nc	<i>I</i>	Lc	Nc	<i>I</i>
128	365	0,00	80	70	-0,06	112	74	-0,03	127	88	-0,02	145	58	-0,11
256	363	-0,01	160	43	-0,08	224	61	-0,17*	254	51	-0,16	290	39	-0,08
384	288	-0,02	240	42	-0,07	336	38	0,10*	381	38	0,01	435	30	-0,03
512	246	-0,03	320	29	0,03	448	16	-0,08	508	13	-0,03	580	61	0,00
640	206	-0,02												
768	69	0,01												
896	73	-0,01												
1.024	93	-0,02												

* significativo a 5% de probabilidade



A Figura 9 é o demonstrativo gráfico dos coeficientes I de Moran e de coancestria dos indivíduos de *P. spruceanum* nos fragmentos e no corredor de vegetação. Observa-se que a estimativa do coeficiente de coancestria apresentou comportamento, em geral, semelhante ao obtido pelo coeficiente I de Moran, em todos os fragmentos e corredores.

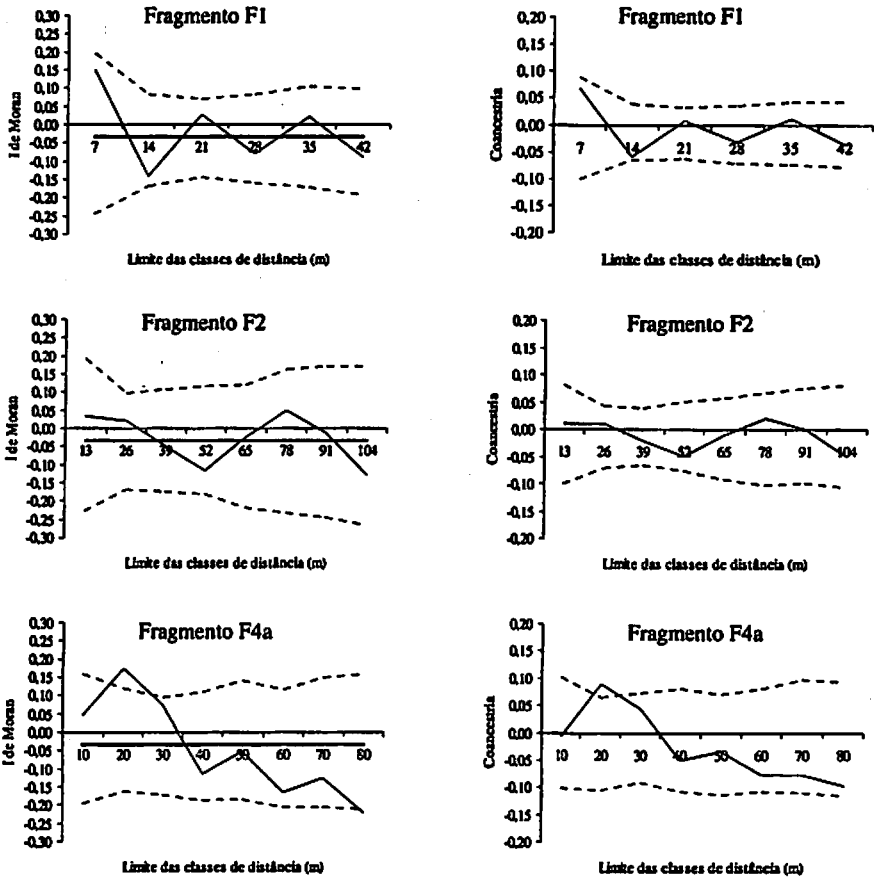
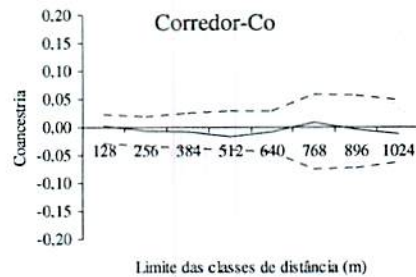
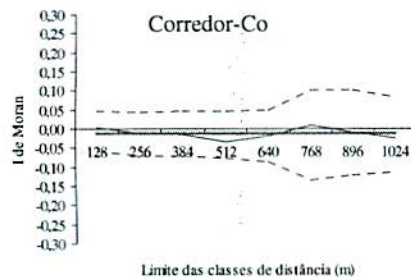
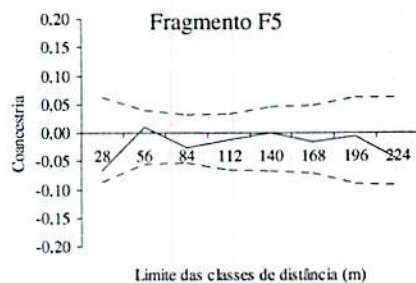
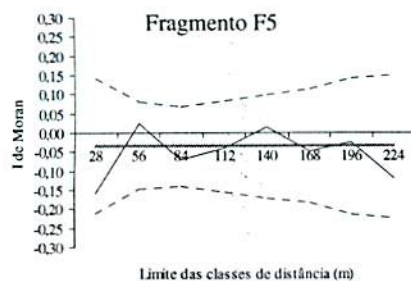
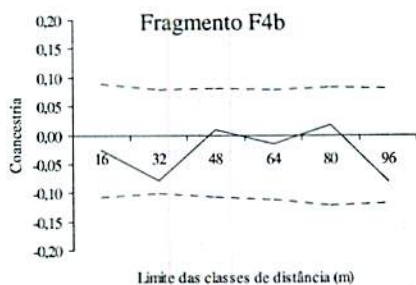
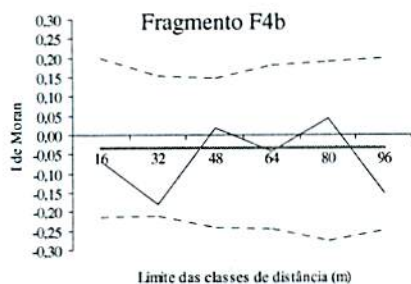
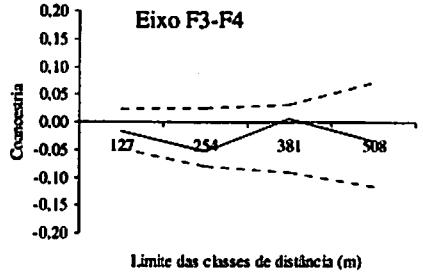
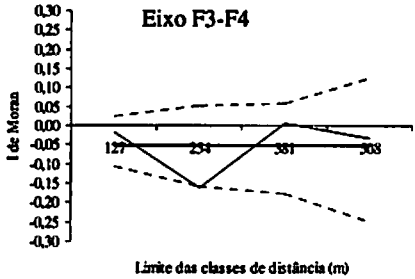
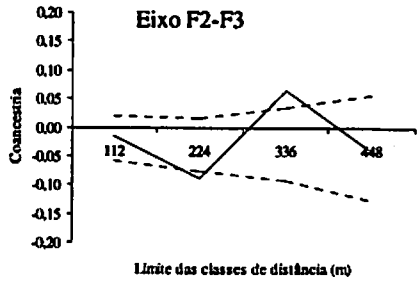
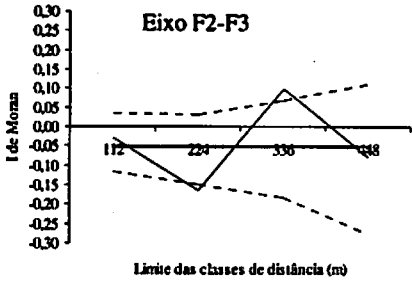
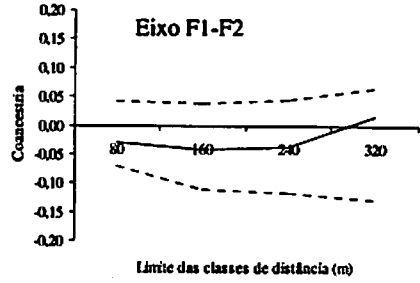
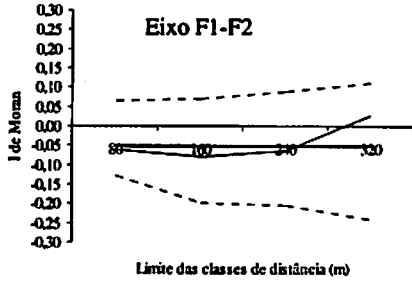


FIGURA 9. Correlogramas para o coeficiente I de Moran e coeficiente de coancestria por classes de distância para indivíduos de *Protium spruceanum* (Benth.) Engler; — intervalo de confiança a 95% de probabilidade) (continua)

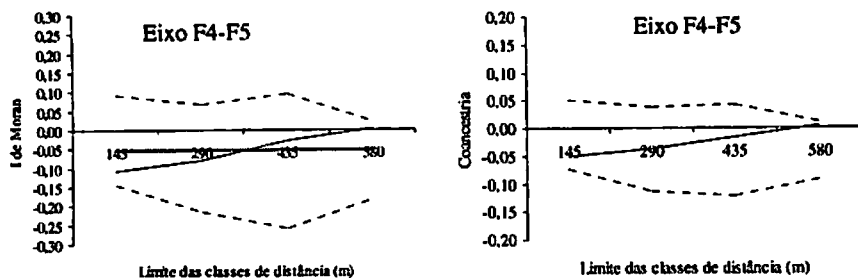
(FIGURA 9, continuação)



(FIGURA 9, continuação)



(FIGURA 9, continuação)



A média do coeficiente I de Moran, representada pela reta paralela ao eixo x nos gráficos (Figura 9), significa ausência de estrutura genética espacial dos indivíduos nos fragmentos e corredores, pois apresenta valores negativos e não significativos. A ausência de estruturação genética não significativa nos fragmentos e corredores é observada em todas as classes, exceto para o fragmento F4a e para o eixo do corredor F2-F3. Especialmente no fragmento F4a, em que o coeficiente I de Moran é positivo e significativo na classe de distância até 20 m, nota-se que os valores I de Moran em um correlograma não são independentes entre si. Segundo Diniz-Filho (1998), é possível encontrar um ou mais valores significativos, o que não significa que o correlograma como um todo também o seja. Entretanto, a estimativa do coeficiente de coancestria ($\hat{\theta}_{xy} = 0,09$; $P = 0,01$) até 20 m de distância, no fragmento F4a, significa que existe 9% de probabilidade, aproximadamente, de amostrarem-se dois alelos em dois indivíduos e eles serem idênticos por descendência. Assim, as estimativas de coancestria obtidas confirmam os resultados obtidos pelo coeficiente I de Moran, ou seja, as árvores de *P. spruceanum* especialmente próximas, no fragmento F4a, são significativamente mais aparentadas entre si do que árvores localizadas espacialmente mais distantes.

No eixo de corredor F2-F3, o coeficiente I de Moran (Tabela 16) e coancestria ($\hat{\theta}_{xy} = -0,09$; $P = 0,01$) apresentaram valores negativos e

significativos na classe de distância até 224 m e positivos e significativos na classe de distância de 336 m ($\hat{\theta}_{xy} = 0,07$; $P = 0,01$). Entretanto, estes resultados não confirmam se há tendência de estruturação espacial dos genótipos em indivíduos mais distantes. Este resultado pode ser efeito da amostragem, menos que 30 pares de comparações nas últimas classes (Tabela 16), tomando os coeficientes que compõem o correlograma menos comparáveis (Doligez & Joly, 1997). Adicionalmente, foi observada distribuição aleatória dos genótipos ao analisar os coeficientes I de Moran e de coancestria para o conjunto dos indivíduos do corredor de vegetação (Co), em que o número de pares de comparações (> 69) permite confirmar tal distribuição.

Nos fragmentos F1, F2, F4b e F5 e no corredor de vegetação, os valores estimados para o coeficiente I de Moran e de coancestria foram bem próximos a zero ou negativos, não significativos a 95% de probabilidade. Estes resultados sugerem a ocorrência de distribuição aleatória dos genótipos de *P. spruceanum* nestes fragmentos e no corredor de vegetação que se deve, possivelmente, ao fato de o fluxo gênico estar ocorrendo em quantidade suficiente para evitar a divergência aleatória das frequências gênicas locais (Dewey & Heywood, 1988; Doligez & Joly, 1997).

A taxa de cruzamento dentro das populações é influenciada por vários fatores ecológicos, como densidade de plantas (Burd, 1994; Calvo & Horvitz, 1990; Corbet, 1998; Hall et al., 1994; Obayashi, et al., 2002; van Treuren, 1993), número de flores por planta (Feinsinger et al., 1986; Franceschinelli & Bawa, 2005), comportamento do polinizador (Ghazoul et al., 1998), sincronia no florescimento e padrões fenológicos (Hall et al., 1994; Hall et al., 1996), além de fatores genéticos, como a variação na auto-incompatibilidade. A taxa de cruzamento é aumentada com a densidade de plantas (Burd, 1994; Calvo & Horvitz, 1990; Corbet, 1998; Hall et al., 1994; Murawski & Hamrick, 1991; Murawski et al., 1994; Obayashi, et al., 2002; van Treuren, 1993).

Na área do presente trabalho, um estudo em andamento sobre a biologia reprodutiva de *P. spruceanum* tem revelado que a floração da espécie apresenta picos ou pulsos de floração rápidos e altamente sincrônicos. Indivíduos florescendo sincronicamente em uma população atraem maior número de visitantes florais, aumentam as taxas de visitas às flores e o transporte de pólen entre plantas (Primack, 1980) e, conseqüentemente, elevam os níveis de polinização (Augspurger, 1981). Adicionalmente, as densas inflorescências de *P. spruceanum* podem funcionar como unidades de atração para os visitantes florais. Sendo assim, a alta densidade de indivíduos de *P. spruceanum* ($> 50,0 \text{ ind. ha}^{-1}$), associada ao sistema reprodutivo da espécie (flores funcionalmente unissexuais) deve favorecer o aumento dos níveis de diversidade genética ($\hat{H}_o > 0,477$) em função do aumento das taxas de cruzamento, evitando a divergência aleatória das frequências gênicas nos fragmentos F1, F2, F4b e F5 e no corredor de vegetação. A avaliação do sistema de reprodução nas populações de *P. spruceanum* pode melhor esclarecer esta hipótese. Ward et al. (2005), em uma revisão, não encontraram nenhum estudo do sistema reprodutivo de espécies arbóreas neotropicais pertencentes à família Burseraceae.

Segundo Hamrick et al. (1993), em áreas com alta densidade de indivíduos, as sementes provenientes de diferentes árvores se sobrepõem, originando uma mistura de diferentes progênies e, nesses casos, é esperada uma fraca estruturação genética espacial.

Por outro lado, a estrutura genética espacial de *P. spruceanum* observada no fragmento F4a pode ser decorrente da dispersão limitada de pólen e sementes, que tem sido reportada como a maior causa da estrutura genética espacial dentro das populações (Wright, 1943; Latta et al., 1998). Possivelmente, ocorrem cruzamentos restritos aos indivíduos deste fragmento, já que é baixo o fluxo gênico observado com os demais fragmentos ($\hat{N}_m < 1,9$). Ainda, a existência de estrutura genética espacial, na presença de fluxo de pólen

homogeneizador dentro das populações, pode ser consequência de dispersão restrita de sementes (Smouse & Peakall, 1999), o que se aplicaria a *P. spruceanum* no fragmento F4a, de acordo com a estruturação genética espacial significativa detectada na classe de distância até 20 m. Provavelmente, os vetores de dispersão de sementes, neste fragmento, não são suficientemente eficientes e, com isso, muitas das sementes podem ser dispersas nas vizinhanças das árvores maternas, dando origem à estrutura genética espacial, na qual indivíduos próximos tendem a serem mais semelhantes entre si do que indivíduos espacialmente distantes. Para confirmar, seria necessário inferir sobre o sucesso de estabelecimento das plântulas no local e avaliar a estrutura genética destes regenerantes.

Segundo Franceschinelli & Kesseli (1999), os polinizadores podem ser induzidos a visitarem maior número de flores por planta em algumas populações, o que pode restringir o fluxo de pólen. Assim, considerando que os vetores de polinização favorecessem a reprodução entre os indivíduos aparentados espacialmente próximos, tal situação poderia causar endogamia na descendência, conforme relatado para diversas espécies arbóreas tropicais que apresentaram estrutura genética espacial (Murawski & Hamrick, 1991; Hall et al., 1996; Boshier et al., 1995; Sebbenn et al., 2000; Souza et al., 2003). Isso pode conduzir ao aumento da endogamia para níveis superiores aos esperados em populações em EHW. A curto prazo, a perda de variabilidade genética pode reduzir a aptidão individual da espécie, inviabilizando o remanescente populacional (Ellstrand & Ellan, 1993).

A distribuição não aleatória dos genótipos de *P. spruceanum* no fragmento F4a pode ser em função ainda de seleção local para micro-habitat (Loveless & Hamrick, 1984). Entretanto, para verificar se a estrutura genética espacial encontrada no fragmento F4a ocorre devido ao efeito de seleção local, várias gerações deveriam ser estudadas, conforme sugerem Tokunaga & Ohnishi

(1992). Assim, com a possível variação do padrão nas gerações seguintes, a hipótese de seleção para micro-habitats específicos, como geradora da agregação de alelos, poderia ser rejeitada.

Com base nos correlogramas dos coeficientes de coancestria para *P. spruceanum* nos fragmentos F1, F2 e F4a, foram observados valores positivos nas primeiras classes de distâncias, indicando algum grau de parentesco entre os indivíduos. As distâncias representadas por estas classes, além de informação importante para o manejo, seriam uma indicação do distanciamento mínimo entre os indivíduos a serem amostrados, visando a coleta de sementes para programas de melhoramento genético e recuperação de áreas degradadas, maximizando a amostragem para obtenção de variabilidade genética.

Especialmente no fragmento F4a, observa-se que, a partir de 40 m, houve uma acentuada queda na curva do correlograma, culminando na maior autocorrelação negativa e significativa ($I = -0,22$; $P = 0,02$) na classe de 80 m (Figura 9). Isso sugere que árvores de *P. spruceanum*, localizadas até 40 m distantes entre si, possam apresentar algum grau de parentesco e, a partir dessa distância, as árvores passam a apresentar um padrão aleatório e divergente em termos de frequências alélicas. Com isso, para o fragmento em questão, uma amostragem de indivíduos distanciados a partir de 40 m entre si promoveria uma maior probabilidade de aquisição de sementes com maior variabilidade genética.

4.7 Tamanho efetivo populacional

Os valores de tamanho efetivo (\hat{N}_e) observados tratam da representatividade genética das amostras e indicam o quanto os indivíduos amostrados nos fragmentos corresponderiam em uma população panmítica ideal. Nos fragmentos F4a e F4b, o \hat{N}_e foi próximo ao número de indivíduos amostrados (Tabela 17). O maior número de indivíduos heterozigotos, indicado pelos índices de fixação negativos observado nos demais fragmentos, gerou valores maiores de \hat{N}_e , visto que os heterozigotos, por carregarem sempre dois alelos distintos, representam um maior número de indivíduos na população. Assim, a representatividade genética dos indivíduos em uma população está associada com as condições de heterozigose (Sebbenn et al., 2003). Nesse sentido, os valores de \hat{N}_e observados reafirmam a existência de baixa endogamia para a espécie nos fragmentos estudados, já que os tamanhos efetivos calculados para cada um dos fragmentos, com exceção do fragmento F4a, foi superior ao número de indivíduos amostrados.

As estimativas dos tamanhos efetivos populacionais são indicadores instantâneos da representatividade genética das amostras obtidas. Com isso, vários fatores dinâmicos da distribuição de frequências alélicas não estão sendo levados em consideração, tais como flutuações do tamanho populacional entre gerações, variação de fertilidade entre os indivíduos, estrutura de idades e sobreposição de gerações e tamanho de vizinhança, como apontado por Frankel et al. (1995).

Contudo, o \hat{N}_e é um parâmetro muito importante nas atividades de preservação de germoplasma, coleta de sementes e conservação genética *in situ*, auxiliando projetos de manejo e conservação genética das espécies. Segundo Vencovsky (1987), informações a respeito da representatividade genética das

matrizes da população (\hat{N}_e) são importantes para a maximização das atividades de coleta de sementes, permitindo, então, calcular o número de matrizes a serem amostradas. Conforme o \hat{N}_e obtido para o conjunto das populações dos fragmentos, recomenda-se, para a coleta de sementes de *P. spruceanum*, uma amostragem em pelo menos 35 árvores matrizes, garantindo, assim, a manutenção da variabilidade genética nas sementes.

Vencovsky (1987) sugere, ainda, que, para a coleta de sementes e conservação de germoplasma, a amostragem deve ser aleatória, não nas sementes e sim nas matrizes, tomando-se o cuidado de amostrar igual número de sementes do maior número possível de plantas genitoras. Com essa prática, reduz-se a variância do número de gametas contribuídos pelas plantas genitoras e aumenta-se o tamanho efetivo. No enriquecimento da vegetação ou recuperação de áreas, a coleta de sementes a partir deste princípio proporcionará infinitas novas recombinações genotípicas na população, elevando o potencial evolutivo.

TABELA 17. Tamanho efetivo (\hat{N}_e), número de indivíduos amostrados (n) e a diferença (\hat{D}) entre o tamanho populacional estimado e a população mínima viável (PMV) requerida para as populações de *Protium spruceanum* (Benth.) Engler.

Fragmentos	\hat{N}_e	n	\hat{N}_e/n	150*		1.500*	
				PMV	\hat{D}	PMV	\hat{D}
F1	36	30	1,20	125	726	1.245	-395
F2	37	30	1,22	123	237	1.227	-867
F4a	30	30	1,00	150	393	1.496	-953
F4b	33	30	1,10	136	616	1.361	-608
F5	40	30	1,33	113	1.252	1.128	237
Conjunto	35	-	-	-	-	-	-

* Tamanho efetivo de referência ($\hat{N}_{e(\text{referência})}$): 150 (conservação a curto prazo), 1.500 (conservação a longo prazo) (Nunney & Campbell, 1993).

Visando o planejamento da conservação *in situ* de *P. spruceanum*, a relação $\hat{N}_{e(\text{referência})} / (\hat{N}_e / n)$ permite a estimativa da população mínima viável (PMV), correspondendo ao número mínimo de árvores necessárias que deverão ser mantidas ou que seriam necessárias para assegurar a manutenção dos níveis de variabilidade genética nos fragmentos. Geralmente, este cálculo é realizado sem prévia definição de quando a conservação da população em estudo será realmente utilizada. Por isso, o tamanho efetivo de referência de 150 e 1.500, proposto por Nunney & Campbell (1993), para a conservação a curto e longo prazo, respectivamente, foi utilizado como referencial (Tabela 17).

Conforme os resultados, em todos os fragmentos, a espécie apresenta possibilidades de manutenção de sua integridade genética a curto prazo, já que a diferença (\hat{D}) entre o tamanho populacional estimado e a população mínima viável (PMV) é positiva. Por exemplo, considerando a PMV calculada para o fragmento F4a de 150 indivíduos para a conservação a curto prazo e a estimativa de 543 indivíduos no fragmento [(3,1 ha)(175,0 ind.ha⁻¹)], a diferença $\hat{D} = 237$ indivíduos. Apenas no fragmento F5, devido à maior heterozigosidade da espécie, não apresenta déficit de indivíduos tanto para a PMV para conservação a curto quanto para a longo prazo.

Pelos testes de adequação ao modelo de mutação de infinitos alelos (Tabela 18) (Cornuet & Luikart, 1996; Luikart & Cornuet, 1998; Piry et al., 1999), nenhuma população nos fragmentos mostrou-se em equilíbrio, indicando ocorrência de gargalos populacionais (*bottlenecks*) recentes (entre 12 gerações, segundo van Rossum & Prentice, 2004). Em todos os fragmentos, as populações exibem número significativo de locos com excesso de heterozigosidade, ou seja, a heterozigosidade esperada (\hat{H}_e) pelas proporções de EHW nos locos polimórficos é maior do que a heterozigosidade esperada sob equilíbrio entre mutação e deriva (\hat{H}_{eq}). Segundo Luikart et al. (1998), populações que passaram

por um recente processo de *bottleneck* apresentam um excesso temporário de heteroziguidade ($\hat{H}_e > \hat{H}_{eq}$).

TABELA 18. Testes de equilíbrio entre mutação e deriva genética para as populações de *Protium spruceanum* (Benth.) Engler nos cinco fragmentos, sob o modelo de mutação de infinitos alelos.

Fragmentos	N*	Déficit ¹	Excesso ²	P	Teste de Wilcoxon
F1	4,1	0	10	0,0001	0,0005
F2	3,8	0	9	0,0004	0,0010
F4a	4,3	0	10	0,0002	0,0005
F4b	4,4	0	10	0,0003	0,0005
F5	3,5	0	8	0,0013	0,0020
Conjunto	3,9	0	10	0,0001	0,0005

* número esperado de locos com excesso de heteroziguidade sob o modelo, seguido por: ¹ locos com déficit de heteroziguidade e ² locos com excesso de heteroziguidade. P = probabilidade

Populações em equilíbrio de mutação e deriva apresentam igual probabilidade de que um loco apresente um excesso ou um déficit de heteroziguidade, considerando um tamanho efetivo populacional que se manteve constante em um passado recente. Já em populações que sofreram deriva recentemente, a maioria dos locos exibirá um excesso de heteroziguidade (Luikart & Cornuet, 1998), situação que se apresentou para as populações de *P. spruceanum* nos fragmentos aqui analisados. Assim, em uma população recentemente reduzida no tamanho populacional, a diversidade genética observada será maior do que a diversidade genética de equilíbrio. Conforme Luikart et al. (1998) e Lee et al. (2002), a inclusão de locos com desvios do EHW podem causar violações, por isso a análise para as populações de *P. spruceanum* foi realizada apenas com os locos em EHW.

Lee et al. (2002) discutem que a detecção de populações que experimentaram gargalos populacionais recentes é importante, principalmente por permitir inferir sobre os riscos de extinção local, em consequência do

tamanho populacional reduzido. Luikart et al. (1998) sugerem que, após detectar um gargalo, a probabilidade de que efeitos deletérios do evento possam ser evitados ou minimizados é maior, já que procedimentos mitigadores de manejo ou introdução de imigrantes podem ser realizados. Adicionalmente, tais práticas podem ser efetivas se associadas ao conhecimento de fatores ecológicos e demográficos das espécies.

Assim, considerando o gargalo genético recente detectado, o baixo fluxo gênico da espécie entre o fragmento F4a e os demais e a situação praticamente irreversível da fragmentação das populações de *P. spruceanum*, a conservação dos corredores de vegetação, principalmente dos eixos F2-F3 e F3-F4, é uma opção plausível, visando à manutenção do número de migrantes.

Bacles et al. (2004) analisaram 15 alelos de seis locos polimórficos isoenzimáticos em populações fragmentadas de *Sorbus aucuparia* (Rosaceae) no sul da Escócia e não observaram gargalos genéticos recentes. Os autores discutem que há evidências de que a fragmentação de hábitat na área de estudo é antiga, por volta de 6.000 anos. van Rossum & Prentice (2004) avaliaram um total de quatro a 13 locos polimórficos e 59 alelos pertencentes às populações de *Silene nutans* (Caryophyllaceae) na Suécia e norte da Finlândia e encontraram gargalos genéticos recentes em várias populações, sendo interpretados como consequência da fragmentação das populações como resultado de perturbação de humana.

5 CONCLUSÕES

A espécie *P. spruceanum* apresenta altos níveis de diversidade genética dentro e baixos entre as populações estudadas. Os níveis de diversidade genética dentro das populações são superiores aos relatados para a média das espécies arbóreas tropicais.

As populações nos fragmentos e corredores de vegetação apresentam, em geral, alta quantidade de heterozigotos em relação ao equilíbrio de Hardy-Weinberg, indicando ausência de endogamia. Sendo assim, os fragmentos e corredores estudados mostraram-se potenciais para a conservação genética *in situ* e para a coleta de sementes de *P. spruceanum* destinadas à restauração de áreas degradadas.

A ausência de correlação entre as matrizes de distância genética e geográfica confirmou a baixa diferenciação genética entre os fragmentos, devido aos altos valores de fluxo gênico de *P. spruceanum* entre os fragmentos.

Com exceção do fragmento F4a, todos os outros apresentaram elevado fluxo gênico com o fragmento F1, de maior densidade de indivíduos de *P. spruceanum* e de menor área. Dessa forma, fragmentos pequenos podem ser importantes na paisagem fragmentada, podendo desempenhar papel fundamental na conexão entre fragmentos maiores, contribuindo para o fluxo gênico entre populações.

O fragmento F4a apresentou maior fluxo gênico com o fragmento vizinho F4b e corredores vizinhos. Além disso, todos os fragmentos apresentaram, em geral, elevado fluxo gênico com os corredores ligados na vizinhança. Com isso, a conservação dos corredores de vegetação pode ser uma opção plausível visando à manutenção do número de migrantes.

A análise da estrutura genética espacial mostrou que, nos fragmentos F1, F2, F4b e F5 e nos corredores de vegetação, os genótipos de *P. spruceanum*

estavam distribuídos de maneira aleatória. O fragmento F4b apresentou autocorrelação espacial positiva na classe de distância até 30 m, indicando que os agrupamentos de árvores de *P. spruceanum* que se encontram separadas a distâncias menores que 30 m são constituídos por indivíduos semelhantes geneticamente e provavelmente aparentados.

Os níveis de diversidade genética e a distribuição espacial dos genótipos observados devem decorrer, entre outros fatores, em função da densidade de indivíduos e alterações nos padrões de fluxo de pólen e sementes dentro e entre os fragmentos.

Pelos testes de adequação ao modelo de mutação de infinitos alelos, nenhuma população mostrou-se em equilíbrio entre mutação e deriva genética, indicando ocorrência de gargalos populacionais recentes, provavelmente decorrentes da fragmentação florestal.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A importância da estrutura genética na promoção e direcionamento de modificações evolutivas é claramente evidenciada mediante os esforços, nas últimas décadas, destinados à conservação genética (Gonzales & Hamrick, 2005; Newton et al., 1999; White et al., 1999). Conforme sugerem Kageyama et al. (1998), torna-se importante uma visão de paisagem, no sentido de minimizar os efeitos genéticos e aumentar a probabilidade de manutenção das populações das espécies nos fragmentos. Dessa forma, o mosaico de fragmentos, o corredor de fluxo gênico e a distância mínima entre fragmentos pequenos, assim como os efeitos estocásticos de muitas gerações em várias populações, são conceitos importantes.

Nesse contexto, a noção de conectividade é de suma importância, quando se considera que os corredores, como estruturas lineares de vegetação, são capazes de conectar os remanescentes isolados e diminuir os efeitos negativos da fragmentação, aumentando a capacidade de uma paisagem de facilitar os fluxos de organismos, sementes e grãos de pólen. Adicionalmente, o aspecto funcional dessa abordagem refere-se à resposta biológica específica de cada espécie à estrutura da paisagem e, por isso, novas abordagens e a investigação em outras espécies constituem parte de um projeto já em andamento na área. Assim, as relações de conectividade entre fragmentos e corredores e as implicações na estrutura genética das populações arbóreas farão parte da continuidade do trabalho. Somente o acúmulo de informações sobre diferentes grupos de espécies pode apontar direções mais sustentáveis para o manejo dos fragmentos, em que as escalas de espaço e de tempo são fatores bastante relevantes que nunca devem ser desconsiderados.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGREN, J. Population size, pollinator limitation, and seed set in the self-incompatible herb *Lythrum salicaria*. *Ecology*, Washington, v. 77, n. 6, p. 1779-1790, Sept. 1996.

AIZEN, M. A.; FEINSINGER, P. Forest fragmentation, pollination, and plant reproduction in a chaco dry forest, Argentina. *Ecology*, Washington, v. 75, n. 2, p. 330-351, Mar. 1994.

ALFENAS, A. C.; PETERS, I.; BRUNE, W.; PASSADOR, G. C. **Eletroforese de proteínas e isoenzimas de fungos e essências florestais**. Universidade Federal de Viçosa, Viçosa. 1991.

ALFENAS, C. A. et al. **Eletroforese de proteínas e isoenzimas afins: fundamentos e aplicações em plantas e microorganismos**. Viçosa: UFV, 1998. 574 p.

AUGSPURGER, C. K. Reproductive synchrony of a tropical plant: experimental effects of pollinators and seed predators on *Hybanthus prunifolius* (Violaceae). *Ecology*, Washington, v. 62, n. 3, p. 755-788, 1981.

BACLES, C. F. E.; LOWE, A. J.; ENNOS, R. A. Genetic effects of chronic habitat fragmentation on tree species: the case of *Sorbus aucuparia* in a deforested Scottish landscape. *Molecular Ecology*, Oxford, v. 13, p. 573-584, 2004.

BANDEIRA, P. N. , LEMOS, T. L. G, PESSOA, O. D. L, TREVISAN, M. S. Metabólitos secundários de *Protium heptaphyllum* March. *Química Nova*, São Paulo, v. 25, n. 6, p. 1078-1080, nov./dez. 2002.

BAWA, K. S. Mating systems, genetic differentiation and speciation in tropical rain forest plants. *Biotropica*, St. Louis, v. 24, n. 2, p. 250-255, June 1992.

BAWA, K. S.; KRUGMAN, S. L. Reproductive biology and genetics of tropical trees in relation to conservation and management. In: GOMES-POMPA, A.; WHITMORE, T. C.; HADLEY, M. **Rain forest regeneration and management**. Paris: UNESCO, 1990. p. 119-136.

- BELKHIR, K.; BORSA, P.; GOUDET, J.; CHIKHI, L.; BONHOMME, F. **GENETIX**, logiciel sous Windows™ pour la génétique des populations. Laboratoire Génome et Populations, CNRS UMR 5000, Université de Montpellier II, Montpellier, France. Last update: 05/05/2004.
- BERG, E. E.; HAMRICK, J. L. Quantification of genetic diversity at allozyme loci. **Canadian Journal Forest Research**, Ottawa, v. 27, n. 3, p. 415-424, Mar. 1997.
- BIERREGAARD, R. O. Jr.; DALE, V. H. Islands in an ever-changing sea: the ecological and socioeconomic dynamics of Amazonian rainforest. In: SCHELLAS, J.; GREENBERG, R. (Ed.). **Forest patches in tropical landscapes**. Washington: Island Press, 1996. p. 187-204.
- BOSHIER, D. H.; CHASE, M. R.; BAWA, K. S. Population genetic of *Cordia alliodora* (Boraginaceae), a neotropical tree: 3- gene flow, neighborhood and population substructure. **American Journal of Botany**, Columbus, v. 82, n. 4, p. 484-490, Apr. 1995.
- BOTREL, M. C. G.; CARVALHO, D. Variabilidade isoenzimática em populações naturais de jacarandá paulista (*Machaerium villosum* Vog.). **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v. 27, n. 4, p. 621-627, out./dez. 2004.
- BROOKER, L.; BROOKER, M.; CALE, P. Animal dispersal in fragmented habitat: measuring habitat connectivity, corridor use, and dispersal mortality. **Conservation Ecology**, Malden, v. 14, n. 1, p. 4, 1999.
- BRUNE, W.; ALFENAS, A. C.; JUNGHANS, T. G. Identificações específicas de enzimas em géis. In: ALFENAS, A. C. (Ed.). **Eletroforese de isoenzimas e proteínas afins; fundamentos e aplicações em plantas e microrganismos**. Viçosa: UFV, 1998. p. 200-328.
- BURD, M. Bateman's principle and plant reproduction: The role of pollen limitation in fruit and seed set. **Botanical Review**, New York, v. 60, n. 3, p. 83-139, Jan./Mar. 1994.
- CALVO, R. N.; HORVITZ, C. C. Pollinator limitation, cost of reproduction, and fitness in plants: A transition-matrix demographic approach. **The American Naturalist**, Chicago, v. 136, n. 3, p. 499-516, jul./set. 1990.

CARVALHO, C. A. L.; MARCHINI, L. C. Plantas visitadas por *Apis mellifera* L. no vale do rio Paraguaçu, município de Castro Alves, Bahia. *Revista Brasileira de Botânica*, São Paulo, v. 22, p. 333-338, 1999.

CASIVA, P. V.; VILARDI, J. C.; CIALDELLA, A. M.; SAIDMAN, B. O. Mating system and population structure of *Acacia aroma* and *A. macracantha* (Fabaceae). *American Journal of Botany*, Columbus, v. 91, n. 1, p. 58-64, jan. 2004.

CASTRO, G. C. **Análise da estrutura, diversidade florística e variações espaciais do componente arbóreo de corredores de vegetação na região do Alto Rio Grande, MG.** 2004. 83 p. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

CHASE, M. R.; MOLLER, C.; KESSELI, R.; BAWA, K. Distant gene flow in tropical trees. *Nature*, London, v. 383, n. 6599, p. 398-399, Oct. 1996.

CLIFF, A. D.; ORD, J. K. **Spatial processes methods and applications.** London: Pion, 1981. 389 p.

COCKERHAM, C. C. Variance of gene frequencies. *Evolution*. Washington, v. 23, n. 1, p. 72-84, Feb. 1969.

COCKERHAM, C. C.; WEIR, B. S. Estimation of Gene Flow From F-Statistics. *Evolution*, Washington, v. 47, n. 3, p. 855-863, June 1993.

COLE, C. T. Genetic variation in rare and common plants. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, Palo Alto, v. 34, p. 213-237, 2003.

CORBET, S. A. Fruit and seed production in relation to pollination and resources in bluebell, *Hyacinthoides nonscripta*. *Oecologia*, New York, v. 114, n. 3, p. 349-360, Apr. 1998.

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

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

CROW, J. F.; AOKI, K. Group selection for polygenic behavioral trait: estimating the degree of population subdivision. **Proceedings of the Natural Academy of Sciences of the United States of America**, Washington, v. 81, n. 19, p. 6. 073-6. 077, 1984.

CROW, J. F.; KIMURA, M. A. **An introduction to population genetics theory**. New York: Harper and Row, 1970. 591 p.

DAYANANDAN, S.; DOLE, J.; BAWA, K.; KESSELI, R. Population structure delineated with microsatellite markers in fragmented populations of a tropical tree, *Carapa guianensis* (Meliaceae). **Molecular Ecology**, Oxford, v. 8, n. 10, p. 1585-1592, Oct. 1999.

DEBINSKI, D. E. R.; HOLT, D. A survey and overview of habitat fragmentation experiments. **Conservation Biology**, Malden, v. 14, n. 2, p. 342-355, Apr. 2000.

DEGEN, B. **Spatial genetic software (SGS): version 1.0d**. Silvolab Guyane. Cedex: INRA Station de Researches Forestières, 2003. Disponível em: <<http://korov.cirad.fr/genetique>>. Acesso em: 2005.

DEWEY, S. E.; HEYWOOD, J. S. Spatial genetic structure in a population of *Psychotria nervosa*. I. Distribution of genotypes. **Evolution**, Washington, v. 42, n. 4, p. 834-838, July 1988.

DICK, C. W.; ETCHELECU, G. , AUSTERLITZ, F. Pollen dispersal of tropical trees (*Dinizia excelsa*: Fabaceae) by native insects and African honeybees in pristine and fragmented Amazonian rainforest. **Molecular Ecology**, Oxford, v. 12, n. 3, p. 753-764, Mar. 2003.

DINIZ-FILHO, J. A. F. **Análise de autocorrelação espacial: inferências microevolutivas e aplicações em genética de populações**. Ribeirão Preto: Sociedade Brasileira de Genética, 1998. p. 83-145. (Série Monografias, 6).

DOLIGEZ, A.; JOLY, H. I. Genetic diversity and spatial structure within a natural stand of a tropical forest tree species, *Carapa procera* (Meliaceae), in French Guiana. **Heredity**, London, v. 79, n. 2, p. 72-82, Feb. 1997.

DUTECH, C.; SORK, V. L.; IRWIN, A. J.; SMOUSE, P. E.; DAVIS, F. W. Gene flow and fine-scale genetic structure in a wind-pollinated tree species, *Quercus lobata* (Fagaceae). **American Journal of Botany**, Columbus, v. 92, n. 2, p. 252-261, Feb. 2005.

EGUIARTE, L. E.; BURQUEZ, A.; RODRÍGUEZ, J.; MARTÍNEZ-RAMOS, M.; SARUKHÁN, J.; PIÑERO, D. Direct and indirect estimates of neighborhood and effective population size in a tropical palm, *Astrocaryum mexicanum*. *Evolution*, Washington, v. 47, n. 1, p. 75-87, Feb. 1993

ELLSTRAND, N.; ELAM, E. Population genetic consequences of small population size: implications for plant conservation. *Annual Review of Ecology and Systematics*, Palo Alto, v. 24, p. 217-241, 1993.

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

ERICKSON, D. L.; HAMRICK, J. L. Genetic and clonal diversity for *Myrica cerifera* along a spatiotemporal island chronosequence. *Heredity*, London, v. 90, n. 1, p. 25-32, Jan. 2003.

ESTRADA, A.; CAMMARANO, P.; COATES-ESTRADA, R. Bird species richness in vegetation fences and in strips of residual rain forest vegetation at Los Tuxtlas, Mexico. *Biodiversity Conservation*, Dordrecht, v. 9, n. 10, p. 1399-1416, Oct. 2000.

FEINSINGER, P.; MURRAY, K. G.; KINSMAN, S.; BUSBY, W. H. Floral neighborhood and pollination success in four hummingbird pollinated cloud forest plant species. *Ecology*, Washington, v. 67, n. 2, p. 449-464, Apr. 1986.

FENSTER, C. B.; VEKEMANS, X.; HARDY, O. J. Quantifying gene flow from spatial genetic structure data in a metapopulation of *Chamaecrista fasciculata* (Leguminosae). *Evolution*, Washington, v. 57, n. 5, p. 995-1007, May 2003.

FERREIRA, M. E.; GRATTAPAGLIA, D. *Introdução ao uso de marcadores moleculares em análises genéticas*. 3. ed. Brasília: EMBRAPA-CENARGEM, 1998. 220 p.

FISCHER, J.; LINDENMAYER, D. B. The conservation value of paddock trees for birds in a variegated landscape in southern New South Wales 2. Paddock trees as stepping stones. *Biodiversity Conservation*, Dordrecht, v. 11, n. 5, p. 833-849, May 2002.

FORÉ, S. A.; HICKEY, R. J.; VANKAT, J. L.; GUTTMAN, S. J.; SCHAEFER, R. L. Genetic structure after forest fragmentation: an landscape ecology perspective on *Acer saccharum*. **Canadian Journal of Botany**, Ottawa, v. 70, n. 8, p. 1659-1668, Aug. 1992.

FORMAN, R. T. T. **Land mosaics: the ecology of landscapes and regions**. Cambridge: University Press, 1997. 605 p.

FRANCESCHINELLI, E. V.; KESSELI, R. Population structure and gene flow of the Brazilian shrub *Helicteres brevispira*. **Heredity**, London, v. 82, n. 4, p. 355-363, Apr. 1999.

FRANCESCHINELLI, E. V., BAWA, K. S. The effect of ecological factors on the mating system of a South American shrub species (*Helicteres brevispira*). **Heredity**, London, v. 84, n. 1, p. 116-123, Jan. 2000.

FRANCESCHINELLI, E. V.; BAWA, K. S. The post-fire effects on the outcrossing rate of a Brazilian savannah shrub, *Helicteres sacarolha* A. St. -Hil. **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v. 28, n. 1, p. 163-170, jan./mar. 2005.

FRANKEL, O. H.; BROWN, A. H. D.; BURDON, J. J. **The conservation of plant biodiversity**. Cambridge: Cambridge University Press, 1995. p 299.

FUCHS, E. J.; LOBO, J. A.; QUESADA, M. Effects of forest fragmentation and flowering phenology on the reproductive success and mating patterns of the tropical dry forest tree *Pachira quinata*. **Conservation Biology**, Malden, v. 17, n. 1, p. 149-157, Feb. 2003.

FUTUYMA, D. J. **Biologia reprodutiva**. Ribeirão Preto: Sociedade Brasileira de Genética, 1992. 631 p.

GHAZOUL, J.; LISTON, K. A.; BOYLE, T. J. B. Disturbance-induced density-dependent seed set in *Shorea siamensis* (Dipterocarpaceae), a tropical forest tree. **Journal of Ecology**, Cambridge, v. 86, n. 3, p. 462-473, June 1998.

GITZENDANNER, M. A.; SOLTIS, P. S. Patterns of variation in rare and widespread plant congeners. **American Journal of Botany**, Columbus, v. 87, n. 6, p. 783-792, June 2000.

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

GONZÁLEZ-ASTORGA, J.; NÚÑES-FARFÁN, J. Effect of habitat fragmentation on the genetic structure of the narrow endemic *Brongniartia vazquezii*. **Evolution Ecology Research**, Tucson, v. 3, n. 7, p. 961-872, Nov. 2001.

GOUDET, J. **FSTAT**, a Program to Estimate and Test Gene Diversities and Fixation Indices, Version 2. 9. 3. 2, 2002. Disponível em: <<http://www.unil.ch/izea/software/fstat.html>>. Acesso em: 2005.

GRAY, A. Genetic diversity and its conservation in natural populations of plants. **Biodiversity Letters**, Oxford, v. 3, n. 1, p. 71-80, 1996.

GROSS, C. L. A comparison of the sexual systems in the trees from the Australian tropics with other tropical biomes-more monoecy but why? **American Journal of Botany**, Columbus, v. 92, n. 6, p. 907-919, June 2005.

GUSSON, E.; SEBBENN, A. M.; KAGEYAMA, P. Y. Diversidade e estrutura genética espacial em duas populações de *Eschweilera ovata*. **Scientia Forestalis**, Piracicaba, v. 67, p. 123-135, dez. 2005.

HAAS, C. A. Dispersal and use of corridors by birds in wooded patches on an agricultural landscape. **Conservation Biology**, Malden, v. 9, p. 845-854, 1995.

HADDAD, N. Corridor length and patch colonization by a butterfly, *Junonia coenia*. **Conservation Biology**, Malden, v. 14, p. 738-745, 2000.

HALL, P.; ORRELL, L. C.; BAWA, K. S. Genetic diversity and mating system in a tropical tree, *Carapa guianensis* (Meliaceae). **American Journal of Botany**, Columbus, v. 81, n. 9, p. 1104-1111, Sept. 1994.

HALL, P.; WALKER, S.; BAWA, K. S. Effect of forest fragmentation on genetic diversity and mating system in a tropical tree, *Pithecellobium elegans*. **Conservation Biology**, Malden, v. 10, n. 3, p. 757-768, June 1996.

HAMRICK, J. L.; MURAWSKI, D. A. Levels of allozyme diversity in populations of uncommon Neotropical tree species. **Journal of Tropical Ecology**, Cambridge, v. 7, n. 3, p. 395-399, Aug. 1991.

- HAMRICK, J. L.; MURAWSKI, D. A.; NASON, J. D. The influence of seed dispersal mechanisms on the genetic structure of tropical tree populations. **Vegetatio**, The Hague, v. 108, n. 6, p. 281-297, June 1993.
- HAMRICK, J. L. Plant population genetics and evolution. **American Journal of Botany**, Columbus, v. 69, n. 10, p. 1685-1693, Oct. 1982.
- HAMRICK, J. L.; GODT, M. T. Allozyme diversity in plant species. In: BROW, A. H. D. et. al. (Ed.). **Plant population genetics, breeding and genetic resources**. Sunderland, MA, Sinauer Associates, 1989, p. 43-63.
- HAMRICK, J. L.; LOVELESS, M. D. Isozyme variation in tropical trees. Procedures and preliminary results. **Biotropica**, St. Louis, v. 18, n. 3, p. 201-207, Sept. 1986.
- HANSKI, I. **Metapopulation Ecology**. Oxford University Press, New York, 1999.
- HARDY, O.; VEKEMANS, X. SPAGeDi 1.2: a versatile computer program to analyse spatial genetic structure at the individual or population levels. **Molecular Ecology Notes**, v. 2, p. 618-620, 2002. Disponível em: <<http://www.ulb.ac.be/sciences/lagev/software.html>>. Acesso em: 24 mar. 2005.
- HARRISON, S.; HASTINGS, A. Genetic and evolutionary consequences of metapopulation structure. **Trends in Ecology and Evolution**, Oxford, v. 11, n. 4, p. 180-183, Apr. 1996.
- HARTL, D. L.; CLARK, A. G. **Principles of population genetics**. Sunderland, MA: Sinauer Associates, 1997.
- HEYWOOD, J. S. Spatial analysis of genetic variation in plant populations. **Annual Review of Ecology and Systematics**, Palo Alto, v. 22, p. 335-355, 1991.
- HILL, C. J. Linear strips of rain forest vegetation as potential dispersal corridors for rain forest insects. **Conservation Biology**, Malden, v. 9, n. 6, p. 1559-1566, Dec. 1995.
- INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA ESTATÍSTICA-IBGE. **Mapa de vegetação do Brasil**. Rio de Janeiro, 1993.

JENNERSTEN, O.; NILSSON, S. G. Insect flower visitation frequency and seed production in relation to patch size of *Viscaria vulgaris* (Caryophyllaceae). *Oikos*, Copenhagen, v. 68, n. 2, p. 283-292, Nov. 1993.

JONES, A. G.; ARDREN, W. R. Methods of parentage analysis in natural populations. *Molecular Ecology*, Oxford, v. 12, n. 10, p. 2511-2523, Oct. 2003.

KAGEYAMA, P. K.; LEPSCH-CUNHA, N. M. Singularidade da biodiversidade nos trópicos. In: GARAY, I.; DIAS, B. F. S. (Ed.). *Conservação da biodiversidade em ecossistemas tropicais*, Petrópolis: Editora Vozes, 2001. p. 199-214.

KAGEYAMA, P. Y.; GANDARA, F. B.; SOUZA, L. M. I. Conseqüências genéticas da fragmentação sobre populações de espécies arbóreas. *IPEF*, Piracicaba, v. 12, n. 32, p. 65-70, dez. 1998.

KIMURA, M.; CROW, J. F. The number of alleles that can be maintained in a finite population. *Genetics*, Baltimore, v. 49, n. 4, p. 725-738, 1964.

KIMURA, M.; WEISS, G. The stepping-stone model of population structure and the decrease of genetic correlation with distance. *Genetics*, Baltimore, v. 49, n. 2, p. 561-576, Apr. 1964.

KUNIN, W. E. Population size and density effects in pollination: pollinator foraging and plant reproductive success in experimental arrays of *Brassica kaber*. *Journal of Ecology*, Cambridge, v. 85, n. 2, p. 225-234, Apr. 1997.

LANDE, R. Mutation and conservation. *Conservation Biology*, Malden, v. 9, n. 4, p. 782-791, Apr. 1995.

LATTA, R. G.; LINHART, Y. B.; FLECK, D.; ELLIOT, M. Direct and indirect estimates of seed versus pollen movement within a population of ponderosa pine. *Evolution*, Washington, v. 52, n. 1, p. 61-67, Feb. 1998.

LEE, S. -L.; NG, K. K. -S.; SAW, L. -G.; NORWATI, A.; SALWANA, M. H. S.; LEE, C. -T.; NORWATI, M. Population genetics of *Intsia palembanica* (Leguminosae) and genetic conservation of Virgin Jungle Reserves in Peninsular Malaysia. *American Journal of Botany*, Columbus, v. 89, n. 3, p. 447-459, Mar. 2002.

LEGENDRE, P. Spatial autocorrelation: trouble or new paradigm? *Ecology*, Washington, v. 74, n. 6, p. 1659-1673, Sept. 1993.

LEWIS, P. O.; ZAYKIN, D. **Genetic Data Analysis**: Computer program for the analysis of allelic data. Version 1. 0 (d15). Free program distributed by the authors over the internet from the GDA. 2000. Home Page at <http://alley.n.eeb.uconn.edu/gda/2000>.

LINDENMAYER, D. B. Wildlife corridors and the mitigation of logging impacts on fauna in wood-production forests in south-eastern Australia: a review. **Wildlife-Research**, Collingwood, v. 21, n. 3, p. 323-340, July 1994.

LOBO-FARIA, P. C. **Estratégias adaptativas de espécies arbóreas típicas de ambiente com solo hidricamente saturado: uma abordagem morfológica, bioquímica e ecofisiológica**. 1998. Tese (Doutorado) - Universidade Estadual de Campinas, Campinas.

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

LORENZI, H. **Árvores brasileiras: manual para identificação e cultivo de plantas arbóreas do Brasil**. Nova Odessa : Editora Plantarum. São Paulo, 1998.

LORENZON, M. C. A.; MATRANGOLO, C. A. R.; SCHOEREDER, J. H. Flora visited by the eusocial bees (Hymenoptera, Apidae) in a savanna of the South of Piauí, Brazil. **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 32, n. 1, p. 027-036, Mar. 2003.

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

LOWE, A. J.; BOSHIER, D.; WARD, M.; BACLES, C. F. E.; NAVARRO, C. Genetic resource impacts of habitat loss and degradation; reconciling empirical evidence and predicted theory for neotropical trees. **Heredity**, London, v. 95, n. 4, p. 255-273, Oct. 2005.

LUIKART, G.; ALLENDORF, F. W.; CORNUET, J. M.; SHERWIN, W. B. Distortion of allele frequency distributions provides a test for recent population bottlenecks. **Journal of Heredity**, Cary, v. 89, n. 3, p. 238-247, May/June 1998.

LUIKART, G.; CORNUET, J. -M. Empirical evaluation of a test for identifying recently bottlenecked populations from allele frequency data. **Conservation Biology**, Malden, v. 12, n. 1, p. 228- 237, Feb. 1998.

LUNA, R.; EPPERSON, B. K.; OYAMA, K. Spatial genetic structure of two sympatric neotropical palms with contrasting life histories. **Heredity**, London, v. 95, n. 4, p. 298-305, Oct. 2005.

MACHADO, I. C.; LOPES, A. V. Floral Traits and Pollination Systems in the Caatinga, a Brazilian Tropical Dry Forest. **Annals of Botany**, London, v. 94, n. 3, p. 365-376, Sept. 2004.

MACHADO, L. B.; ZOGHBI, M. G. B.; ANDRADE, E. H. A. Seasonal variation in the composition of the essential oils from leaves, thin branches and resin of *Protium spruceanum* (Benth.) Engl. **Flavour and Fragrance Journal**, Sussex, v. 18, n. 4, p. 338-341, July/Aug. 2003.

MANEL, S.; SCHWARTZ, M. K.; LUIKART, G.; TABERLET, P. Landscape genetics: Combining landscape ecology and population genetics. **Trends in Ecology and Evolution**, London, v. 18, n. 4, p. 189-197, Apr. 2003.

MANLY, B. F. J. **Randomization, bootstrap and Monte Carlo methods in Biology**. London: Chapman & Hall, 1997.

MARQUARDT, P. E.; EPPERSON, B. K. Spatial and population genetic structure of microsatellites in white pine. **Molecular Ecology**, Oxford, v. 13, n. 11, p. 3305-3315, Nov. 2004.

MARQUES, M. C. M.; SILVA, S. M.; SALINO, A. Florística e estrutura do componente arbustivo-arbóreo de uma floresta higrófila da bacia do Rio Jacaré-Pepira, SP, Brasil. **Acta Botanica Brasilica**, São Carlos, v. 17, n. 4, p. 495-506, out./dez. 2003.

MECH, S. G.; HALLETT, J. G. Evaluating the effectiveness of corridors: a genetic approach. **Conservation Biology**, Malden, v. 15, n. 2, p. 467-474, Apr. 2001.

MELO JÚNIOR, A. F.; CARVALHO, D.; PÓVOA, J. S. R.; BEAZORTI, E. Estrutura genética de populações naturais de pequiheiro (*Caryocar brasiliense* Camb.). **Scientia Forestalis**, Piracicaba, n. 66, p. 56-65, dez. 2004.

- MILLER, M. **Tools for populations genetic analyses (TFPGA) 1. 3:** a windows program for analyses of allozyme and molecular population genetic data. Distribuído pelo autor, 1997.
- MORAES, P. L. R.; MONTEIRO, R.; VENCOVSKY, R. Conservação genética de populações de *Cryptocarya moschata* Nees (Lauraceae) na Mata Atlântica do estado de São Paulo. **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v. 22, n. 2, p. 237-248, abr./jun. 1999.
- MORAN, P. A. P. Notes on continuous stochastic phenomena. **Biometrika**, London, v. 37, n. 1/2, p. 17-23, 1950.
- MOSS, D. W. **Isoenzymes**. London: Capman & Hall, 1992.
- MURAWSKI, D. A. Reproductive biology and genetics of tropical trees from canopy perspective. In: LOWMAN, M. D.; NADKARNI, N. M. (Ed.). **Forest canopies**. New York: Academic Press, 1995. p. 457-493.
- MURAWSKI, D. A.; GUNATILLEKE, I. A. U. N.; BAWA, K. S. The effects of selective logging on inbreeding in *Shorea megistophylla* (Dipterocarpaceae) from Sri Lanka. **Conservation Biology**, Cambridge, v. 8, n. 4, p. 997-1002, Dec. 1994.
- MURAWSKI, D. A.; HAMRICK, J. L. The effect of the density of flowering individuals on the mating systems of nine tropical tree species. **Heredity**, Essex, v. 67, n. 2, p. 167-174, Oct. 1991.
- MURCIA C. Edge effects in fragmented forests: implication for preservation. **Tree**, Victoria, v. 10, n. 1, p. 58-62, 1995.
- MURCIA, C. Forest fragmentation and the pollination of neotropical plants. p. 19-36 In: SCHELLAS, J.; GREENBERG, R. (Ed.). **Forest patches in tropical landscapes**. 1996. Washington: Island Press.
- MURPHY, R. W.; SITES, J. W. Jr.; BUTH, D. G.; HAUFLE, C. H. **Proteins I: isozyme electrophoresis**. In: D. M. & MORITZ, C. **Molecular systematics hillis**, (Ed.). Sunderland, MA: Sinauer Associates, 1990. p. 45-126.
- MYAMOTO, M.; KURAMOTO, N.; YAMADA, H. Differences in spatial autocorrelation between four sub-populations of *Alnus trabeculosa* Hand. - Mazz. (Betulaceae). **Heredity**, Essex, v. 89, n. 4, p. 273-279, Oct. 2002.

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

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

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

NEI, M. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. **Genetics**, Austin, v. 87, n. 3, p. 583-590, 1978.

NEIGEL, J. E. A comparison of alternative strategies for estimating gene flow from genetic markers. **Annual Review Ecology Systematics**, Palo Alto, v. 28, p. 105-128, 1997.

NEWTON, A. C.; ALLNUT, T. R.; GILLIES, A. C. M.; LOWE, A. J.; ENNOS, R. A. Molecular phylogeography, intraspecific variation and the conservation of tree species. **Trends in Ecology and Evolution**, London, v. 14, n. 4, p. 140-145, Apr. 1999.

NG, K. K. S.; LEE, S. L.; KOH, C. L. Spatial structure and genetic diversity of two tropical tree species with contrasting breeding systems and different ploidy levels. **Molecular Ecology**, Oxford, v. 13, n. 3, p. 657-669, Mar. 2004.

NOHLGREN, E.; GUSTAFSSON, L. **Vegetation corridors: a literature review with comments from a Swedish forest perspective**. Skog Forsk: Report, 1995. n. 1.

NUNES, Y. R. F.; MENDONÇA, A. V. R.; BOTEZELLI, L.; MACHADO, E. L. M.; OLIVEIRA-FILHO, A. T. Variação da fisionomia, diversidade e composição de guildas da comunidade arbórea em um fragmento de floresta semidecidual em Lavras, MG. **Acta Botanica Brasílica**, São Carlos, v. 17, n. 2, p. 215-231, abr./jun. 2003.

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

- OBAYASHI, K.; TSUMURA, Y.; IHARA-UJINO, T.; NIIYAMA, K. ET AL. Genetic diversity and outcrossing rate between undisturbed and selectively logged forests of *Shorea curtisii* (Dipterocarpaceae) using microsatellite DNA analysis. **International Journal Plant Science**, Chicago, v. 163, n. 1, p. 151-158, Jan. 2002.
- OLIVEIRA, A. F.; CARVALHO, D.; ROSADO, S. C. S. Taxa de cruzamento e sistema reprodutivo de uma população natural de *Copaifera langsdorffii* Desf. na região de lavras (MG) por meio de isoenzimas. **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v. 25, n. 3, p. 331-338, abr./jun. 2002.
- OLIVEIRA, P. E.; GIBBS, P. E. Reproductive biology of woody plants in a cerrado community of Central Brazil. **Flora**, Jena, v. 195, n. 4, p. 311-329, Dec. 2000.
- OLIVEIRA-FILHO, A. T.; FLUMINHAN FILHO, M. Ecologia da vegetação do Parque Florestal Quedas do Rio Bonito. **Cerne**, Lavras, v. 5, n. 2, p. 51-64, 1999.
- OLIVEIRA-FILHO, A. T.; RATTER, J. A. A study of the origin of central Brazilian forests by the analysis of the plant species distributions. **Edinburgh Journal of Botany**, Edinburgh, v. 52, p. 141-194, 1995.
- PIRY, S.; LUIKART, G.; CORNUET, J. M. BOTTLENECK: a computer program for detecting recent reductions in the effective population size using allele frequency data. **Journal of Heredity**, Cary, v. 90, p. 502-503, 1999.
- PINTO, S. I. C.; CARVALHO, D. Estrutura genética de populações de pindaíba (*Xylopia brasiliensis* Sprengel) por isoenzimas. **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v. 27, n. 3, p. 597-605, jul./set. 2004.
- PINTO, S. I. C.; SOUZA, A. M.; CARVALHO, D. Variabilidade genética por isoenzimas em populações de *Copaifera langsdorffii* Desf. em dois fragmentos de mata ciliar. **Scientia forestalis**, Piracicaba, n. 65, p. 40-48, jun. 2004.
- PIZO, M. A. Frugivory and habitat use by fruit-eating birds in a fragmented landscape of Southeast Brazil. **Ornitologia Neotropical**, Athens, v. 15 p. 117-126, 2004. Supplement.
- PRIMACK, R. B. Phenological variation within natural populations: flowering in New Zealand montane shrubs. **Journal of Ecology**, Oxford, v. 68, n. 3, p. 849-862, Sept. 1980.

- RAMAKRISHNAN, U.; HADLY, E. A.; MOUNTAIN, J. L. Detecting past population bottlenecks using temporal genetic data. **Molecular Ecology**, Oxford, v. 14, n. 10, p. 2915-2922, Sept. 2005.
- RAMALHO, M. Foraging by stingless bees of the genus *Scaptotrigona* (Apidae, Meliponinae). **Journal Apicultural Research**, Cardiff, v. 29, n. 2, p. 61-67, 1990.
- REIS, M. S. Dinâmica da movimentação dos alelos: subsídios para conservação e manejo de populações naturais em plantas. **Revista Brasileira de Genética**, Ribeirão Preto, v. 19, n. 4, p. 37-47, dez. 1996.
- RITLAND, K. Estimators for pairwise relatedness and individual inbreeding coefficients. **Genetics Research**, New York, v. 67, n. 2, p. 175-185, Apr. 1996.
- ROCHA, O. J.; AGUILAR, G. Reproductive biology of the dry forest tree *Enterolobium cyclocarpum* (Guanacaste) in Costa Rica: a comparison between trees left in pastures and trees in continuous forest. **American Journal of Botany**, Columbus, v. 88, n. 9, p. 1607-1614, Sept. 2001.
- ROHLF, J. F. **Numerical taxonomy and multivariate analysis system**. New York: Exeter Software. Version 1. 70, 1993.
- RUGGIERO, M. V.; REUSCH, B. H.; PROCACCINI, G. Local genetic structure in a clonal dioecious angiosperm. **Molecular Ecology**, Oxford, v. 14, n. 4, p. 957-967, Apr. 2005.
- SEBBENN, A. M.; KAGEYAMA, P. Y.; VENCOVSKY, R. Conservação genética *in situ* e número de matrizes para a coleta de sementes em população de *Genipa americana* L. **Scientia Forestalis**, Piracicaba, n. 63, p. 13-22, jun. 2003.
- SEBBENN, A. M.; KAGEYAMA, P. Y.; SIQUEIRA, A. C. M. F.; ZANATTO, A. C. E. Taxa de cruzamento em populações de *Cariniana legalis* (Mart.) O. Ktze. : implicações para a conservação e melhoramento genético. **Scientia Forestalis**, Piracicaba, n. 58, p. 25-40, dez. 2000.
- SETSUKO, S.; ISHIDA, K.; TOMARU, N. Size distribution and genetic structure in relation to clonal growth within a population of *Magnolia tomentosa* Thunb. (Magnoliaceae). **Molecular Ecology**, Oxford, v. 13, n. 9, p. 2645-2653, Sept. 2004.

- SHAPCOTT, A. The spatial genetics structure in natural populations of the Australian temperate rainforest tree *Atherosperma moschatum* (Labill.) (Monimiaceae). **Heredity**, Oxford, v. 74, n. 1, p. 28-38, Jan. 1995.
- SHEA, K. L.; FURNIER, G. R. Genetic variation and population structure in central and isolated populations of Balsam Fir, *Abies balsamea* (Pinaceae). **American Journal of Botany**, Columbus, v. 89, n. 5, p. 783-791, May 2002.
- SIMBERLOFF, D.; COX, J. Consequences and costs of conservation corridors. **Conservation Biology**, Malden, v. 1, n. 1, p. 63-71, 1987.
- SIMBERLOFF, D.; FARR, J. A.; COX, J.; MEHLMAN, D. W. Movement corridors: conservation bargains or poor investments? **Conservation Biology**, Cambridge, v. 6, n. 4, p. 493-504, Dec. 1992.
- SLATKIN, M.; BARTON, N. H. A comparison of three methods for estimating average levels of gene flow. **Evolution**, Lawrence, v. 43, n. 7, p. 1349-1368, Dec. 1989.
- SMOUSE, P. E.; PEAKALL, R. . Spatial autocorrelation analysis of individual multiallele and multilocus genetic structure. **Heredity**, London, v. 82, n. 5, p. 561-573, May 1999.
- SMOUSE, P. E.; SORK, V. L. Measuring pollen flow in forest trees: an exposition of alternative approaches. **Forest Ecology and Management**, Amsderdam, v. 197, n. 1/3, p. 21-38, Aug. 2004.
- SNEATH, P. H.; SOKAL, R. R. **Numerical Taxonomy: the principles and practice of numerical classification**. W. H. Freeman, San Francisco, 1973.
- SOLÉ-CAVA, A. M. Biodiversidade molecular e genética da conservação. In : MATIOLI, S. R. (Ed.). **Biologia molecular e evolução**. Ribeirão Preto: Holos Editora, 2001.
- SORK, V. L.; NANSON, J.; CAMPBELL, D. R.; FERNANDEZ, J. F. Landscape approaches to historical and contemporary gene flow in plants. **Trends in Ecology and Evolution**, London, v. 14, n. 6, p. 219-224, June 1999.
- SOUZA, L. M. F. I.; KAGEYAMA, P. Y.; SEBBENN, A. M. Sistema de reprodução em população natural de *Chorisia speciosa* A. St. -Hil. (Bombacaceae). **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v. 26, n. 1, p. 113-121, jan./mar. 2003.

SUN, M. Effects of population size, mating system, and evolutionary origin on genetic diversity in *Spiranthes sinensis* and *S. hongkongensis*. **Conservation Biology**, Cambridge, v. 10, n. 3, p. 785-795, June 1996.

SUNNUCKS, P. Efficient genetic markers for population biology. **Trends in Ecology and Evolution**, London, v. 15, n. 5, p. 199-203, May 2000.

SWOFFORD, D. L.; SELANDER, R. B. **Biosys-2**. a computer program for the analysis of allelic variation in population genetics and biochemical systematics. Urbana: University of Illinois, 1997.

TELLES, M. P. C.; VALVA, F. D.; BANDEIRA, L. F.; COELHO, A. S. G. Caracterização genética de populações naturais de araticunzeiro (*Annona crassiflora* Mart. – Annonaceae) no Estado de Goiás. **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v. 26, n. 1, p. 123-129, jan./mar. 2003.


TOKUNAGA, T.; OHNISHI, O. Spatial autocorrelation analysis of allozyme variants within local sites of wild radish population. **Japanese Journal of Genetics**, Mishima, v. 67, n. 3, p. 209-216, June 1992.

VAN DEN BERG, E.; OLIVEIRA-FILHO, A. T. Composição florística e estrutura fitossociológica de uma floresta ripária em Itutinga, MG, e comparação com outras áreas. **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v. 22, n. 3, p. 231-253, jul./set. 2000.

VAN ROSSUM, F.; PRENTICE, H. C. Structure of allozyme variation in Nordic *Silene nutans* (Caryophyllaceae): population size, geographical position and immigration history. **Biological Journal of the Linnean Society**, Oxford, v. 81, n. 3, p. 357-371, Mar. 2004.

VAN TREUREN, R.; BIJLSMA, R.; OUBORG, N. J.; VAN DELDEN, W. The effects of population size and plant density on outcrossing rates in locally endangered *Salvia pratensis*. **Evolution**, Washington, v. 47, n. 6, p. 1094-1104, Dec. 1993.

VENCOVSKY, R. Análise de variância de frequências alélicas. **Revista Brasileira de Genética**. Ribeirão Preto, v. 15, p. 53-60, 1992. Suplemento, 1.



VENCOVSKY, R. Biometrical approaches for molecular markers: estimation of effective population size. In: INTERNATIONAL WORKSHOP ON AGRICULTURAL BIOTECHNOLOGY, 1997, Piracicaba. **Proceedings...** Piracicaba: ESALQ-USP ; Cook College: New Jersey Agricultural Experiment Station, The State University of New Jersey, 1997. 2 p.

VENCOVSKY, R. Tamanho efetivo populacional na coleta e preservação de germoplasma de espécies alógamas. **IPEF**, Piracicaba, v. 35, p. 79-84, 1987.

VIANA, V. M.; TABANEZ, A. J. A. Biology and conservation of forest fragments in Brazilian Atlantic moist forest. In: SCHELLAS, J.; GREENBERG, R. (Ed.). **Forest patches in tropical landscapes**. Washington: Island Press, 1996. p. 151-167.

VILELA, E. A.; OLIVEIRA-FILHO, A. T.; CARVALHO, D. A.; GUILHERME, F. A. G.; APPOLINÁRIO, V. Caracterização estrutural de floresta ripária do Alto Rio Grande, em Madre de Deus de Minas, MG. **Cerne**, Lavras, v. 6, n. 2, p. 041-054, 2000.

WARD, M.; DICK, C. W.; GRIBEL, R.; LEMES, M.; CARON, H. ; LOWE, A. J. To self, or not to selfy... A review of outcrossing and pollen-mediated gene flow in neotropical trees. **Heredity**, London, v. 95, n. 4, p. 246-254, Oct. 2005.

WEIR, B. S. **Genetic data analysis II: methods for discrete population genetic data**. Sunderland, Massachusetts: Sinauer Associates, 1996. 455 p.

WHITE, G. M.; BOSHIER, D. H.; POWELL, W. Genetic variation within a fragmented population of *Swietenia humilis* Zucc. **Molecular Ecology**, Oxford, v. 8, n. 11, p. 1899-1909, Nov. 1999.

WHITE, G. M.; BOSHIER, D. H.; POWELL, W. Increased pollen flow counteracts fragmentation in a tropical dry forest: an example from *Swietenia humilis* Zuccarini. **Proceedings of the National Academy Science of the United State of America**, Washington, v. 99, n. 4, p. 2038-2042, Feb. 2002.

WRIGHT, S. Breeding structure of populations in relation to speciation. **The American Naturalist**, Chicago, v. 74, p. 232-248, 1940.

WRIGHT, S. **Evolution and the genetics of population**. Chicago: University of Chicago, 1978. v. 4. (Variability within and among populations.)

WRIGHT, S. Evolution and the genetics of populations: the theory of gene frequencies. Chicago: The University of Chicago Press, 1969. v. 2.

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

WRIGHT, S. The genetical structure of populations. *Annals of Eugenics*, New York, v. 15, n. 4, p. 323-354, 1951.

WRIGHT, S. The interpretation of population structure by F-statistics with special regard to systems of mating. *Evolution*, Washington, v. 19, n. 3, p. 395-420, 1965.

WRIGHT, S. Isolation by distance. *Genetics*, Baltimore, v. 28, n. 2, p. 114-138, 1943.

YEEH, Y.; KANG, S. S.; CHUNG, M. G. Evaluation of the natural monement populations of *Camellia japonica* (Thearaceae) in Korea based on allozyme studies. *Botanical Bulletin of Academia Sinica*, Copenhagen, v. 37, p. 141-146, 1996.

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

YOUNG, A. G.; MERRIAN, H. G.; WARWICK, S. I. The effects of forest fragmentation on genetic variation in *Acer saccharum* Marsh. (sugar maple) populations. *Heredity*, London, v. 71, n. 4, p. 277-289, 1993.

ZOGHBI, M. G. B.; ANDRADE, E. H. A.; MAIA, J. G. S. Composition of the essential oils from leaves, wood, fruits and resin of *Protium spruceanum* (Benth.) Engl. *Journal of Essential Oil Research*, Crol Stream, v. 14, n. 5, p. 169-171, Sept./Oct. 2002.

ZUCCHI, M. I. Análise da estrutura genética de *Eugenia dysenterica* DC utilizando marcadores RAPD e SSR. Piracicaba, 2002. 130 p. Tese (Doutorado) - Escola superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", universidade de São Paulo.