



JAQUELINE FIDELIS DUARTE

**CONSERVAÇÃO GENÉTICA DE *Ficus*
bonijesulapensis R.M. Castro EM FLORESTAS
DECIDUAIS SOBRE AFLORAMENTOS
CALCÁRIOS**

LAVRAS – MG

2011

JAQUELINE FIDELIS DUARTE

**CONSERVAÇÃO GENÉTICA DE *Ficus bonijesulapensis* R.M. Castro EM
FLORESTAS DECIDUAIS SOBRE AFLORAMENTOS CALCÁRIOS**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ecologia Aplicada, área de concentração em Ecologia e Conservação de Recursos Naturais em Ecossistemas Fragmentados e Agrossistemas, para obtenção do título de Mestre.

Orientadora

Dra. Dulcinéia de Carvalho

Co-orientadora

Dra. Rosângela Alves Tristão Borém

LAVRAS – MG

2011

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

Duarte, Jaqueline Fidelis.

Conservação genética de *Ficus bonijesulapensis* R.M. Castro em florestas decíduais sobre afloramentos calcários / Jaqueline Fidelis Duarte. – Lavras : UFLA, 2011.

87 p. : il.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Lavras, 2011.

Orientador: Dulcinéia de Carvalho.

Bibliografia.

1. Genética da paisagem. 2. Diversidade genética. 3. Unidades operacionais. 4. Triangulação de Delaunay. 5. Marcadores ISSR. I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.

CDD – 574.52642

JAQUELINE FIDELIS DUARTE

**CONSERVAÇÃO GENÉTICA DE *Ficus bonijesulapensis* R.M. Castro EM
FLORESTAS DECIDUAIS SOBRE AFLORAMENTOS CALCÁRIOS**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ecologia Aplicada, área de concentração em Ecologia e Conservação de Recursos Naturais em Ecossistemas Fragmentados e Agrossistemas, para obtenção do título de Mestre.

APROVADA em 24 de fevereiro de 2011.

Dr. Fábio de Almeida Vieira UFRN

Dra. Flávia de Freitas Coelho UFLA

Dra. Dulcinéia de Carvalho
Orientadora

Dra. Rosângela Alves Tristão Borém
Co-orientadora

**LAVRAS – MG
2011**

A Sebastião e Cleusa, meus pais, que foram os primeiros responsáveis pelo meu aprendizado, exemplos de dedicação à busca de conhecimento.

Às minhas irmãs Josiane e Joice pelo incentivo e apoio.

Aos meus avós Mário e Maria exemplos de vida, sabedoria e fé.

Porque vocês acreditaram que eu seria capaz,

Dedico

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela tranquilidade nos momentos mais difíceis e à Natureza, minha fonte de trabalho.

A toda minha família que entendeu sempre os momentos de ausência e pelo apoio com suas orações e pensamentos positivos.

À Universidade Federal de Lavras, o Programa de Pós-Graduação em Ecologia Aplicada e a Fundação de Amparo à Pesquisa em Minas Gerais (FAPEMIG) pela oportunidade e concessão da bolsa de mestrado.

À Profa. Dra. Dulcinéia de Carvalho, pela disponibilidade em me orientar, por todo ensinamento, pela paciência, amizade e carinho.

À Profa. Dra. Rosângela A. Tristão Borém pela co-orientação e amizade.

Ao Prof. Dr. Fábio de Almeida Vieira e à Profa. Flávia de Freitas Coelho pela participação na banca de defesa e pelas dicas e correções que contribuíram grandemente para o aperfeiçoamento deste trabalho.

Aos professores: Dr. Fábio de Almeida Vieira e Dr. Rubens Manoel dos Santos pela expedição, coleta, disponibilização e informação do material e das áreas de coleta.

Aos professores do PPG-Eco e aos amigos do mestrado e doutorado em Ecologia, pelos momentos memoráveis que compartilhamos e à Nelzy pela ajuda.

Aos professores e funcionários do Departamento de Ciências Florestais, em especial à Chica que com todo seu carinho me acolheu como a ‘filha do pé de couve’.

Aos amigos de laboratório presentes: Anna, Edu, Rute, Sidney, Renata, Thayana, Sheila, Janu, Allan, Isaías, Murilo, Jô e Nanda, e aos que passaram por lá, obrigada pela convivência. Com certeza com vocês o trabalho é mais divertido!

Ao Murilo, pela paciência, ajuda, correção e dicas durante todo este trabalho e de muitos outros.

À Joelma e Maria Fernanda que me acolheram, pela ajuda no laboratório, nos estudos, pela amizade e carinho que foram essenciais nos momentos de tristeza e desânimo. Nanda agradeço também por me ajudar com os programas estatísticos!

À Ligiane, irmã do coração, a quem admiro pela garra, agradeço pela paciência durante todos estes anos e pelo carinho.

À Gabi, Nara, Cíntia, Tito, Gabriel, Gauxa e Dê que sempre estiveram presentes e a toda a galera do mestrado em Ecologia, nós nos divertimos muito! Desculpe não citar o nome de todos, mas com certeza sempre terão um lugar especial no meu coração!

Enfim, a todos (que não citei o nome) que durante estes anos pude conviver e que de alguma maneira me ajudaram a ver o mundo de outra forma!

RESUMO

Ficus bonijesulapensis é endêmico em florestas estacionais decíduais sobre afloramentos calcários que estão distribuídos em disjunções nos domínios Cerrado e Caatinga. Espécies deste gênero são consideradas recursos-chave em florestas tropicais, pois fornecem alimento durante o período de escassez de outros recursos e, adicionalmente, auxiliam na recomposição de comunidades vegetais. Portanto, a conservação destas espécies em sua área de ocorrência natural além de manter a estrutura das comunidades, proporciona a manutenção da viabilidade das populações em longo prazo e de sua diversidade genética. Assim, com o auxílio de nove *primers* ISSR foram analisadas a diversidade, a estrutura genética e os padrões espaciais de variabilidade e descontinuidade genética de 15 populações de *F. bonijesulapensis*. Foram obtidos 75 fragmentos polimórficos, a diversidade genética (H_e) foi de 0,37 e a porcentagem de locos polimórficos foi de 100%. A AMOVA demonstrou que a maior parte da diversidade se encontra dentro das populações (77%), valor relativamente baixo para espécies perenes e alógamas. Isto pode ser reflexo do baixo fluxo alélico (1,10), o qual provavelmente é limitado devido ao isolamento dos afloramentos onde a espécie ocorre. A estrutura genética bayesiana demonstrou que os genótipos dos indivíduos amostrados podem ser distribuídos em seis grupos. Porém, não há um padrão espacial de variabilidade genética como confirmado pelo Teste de Mantel ($r= 0.06$, $P=0.68$). Foram propostas seis unidades operacionais (UO's) visando à capacidade das UO's em manterem populações mínimas viáveis e maior variabilidade genética.

Palavras-chave: Diversidade genética. Genética da paisagem. Unidades operacionais. Triangulação de Delaunay.

ABSTRACT

Ficus bonijesulapensis is endemic to seasonally dry forests on limestone outcrops and are arranged in disjunction areas at the Cerrado and Caatinga. Species of this genus are considered key resources in tropical forests providing food during periods of scarcity of other resources and, additionally, help in restoration of plant communities. Therefore, conservation of these species in their natural range while maintaining the structure of communities, contributes to the maintenance of the long-term population viability and their genetic diversity. We used 9 ISSR primers to analyze the diversity, structure, spatial patterns of variability and genetic discontinuities of 15 populations of *F. bonijesulapensis*. 75 polymorphic bands were obtained, genetic diversity (H_e) was 0,37 and the percentage of polymorphic loci was 100%. AMOVA showed that most of the diversity is within populations (77,18%) as expected in long lived and outcrossing plants. This may reflect the low gene flow (1,10), which is probably limited due to the isolation of the outcrops where the species occurs. Bayesian genetic structure showed that all individuals genotypes sampled can be divided into six groups. However, there isn't a spatial pattern of genetic variability according to the multivariate correlogram and that was confirmed by Mantel's test ($r= 0.06$, $P=0.68$). Six management units (MU) were proposed aiming to the MU's ability to maintain minimum viable populations and greater genetic variability.

Keywords: Genetic diversity. Landscape genetics. Management units. Delaunay triangulation.

SUMÁRIO

PRIMEIRA PARTE	10
1 INTRODUÇÃO	11
2 REFERENCIAL TEÓRICO	14
2.1 Florestas Estacionais Deciduais	14
2.2 Florestas estacionais deciduais em afloramentos rochosos	17
2.3 <i>Ficus bonijesulapensis</i> (Moraceae)	18
2.4 Conservação Genética de Espécies Arbóreas	22
2.5 Marcadores ISSR (<i>Inter Simple Sequence Repeats</i>)	25
2.6 Genética da Paisagem	28
3 CONSIDERAÇÕES GERAIS	31
REFERÊNCIAS	32
SEGUNDA PARTE	43
ARTIGO: CONSERVAÇÃO GENÉTICA DE <i>Ficus bonijesulapensis</i> R.M. Castro EM FLORESTAS DECIDUAIS SOBRE AFLORAMENTOS CALCÁRIOS	44

PRIMEIRA PARTE

1 INTRODUÇÃO

As florestas tropicais representam uma fonte direta e indireta de recursos e, a sua exploração, vem alterando os ecossistemas de forma irreversível. Assim, o aumento do interesse em conservar estas áreas pode ser observado pelo número crescente de estudos disponíveis em literatura. Porém, a maioria das informações provém de estudos em florestas tropicais úmidas, ao passo que as florestas tropicais estacionais, mesmo sofrendo com os impactos da destruição e fragmentação, são menos estudadas (FUCHS; HAMRICK, 2010; PENNINGTON; PRADO; PENDRY, 2000).

As Florestas Estacionais ocorrem em áreas com distribuição sazonal de chuvas e isso influencia no grau de deciduidade da vegetação, dividindo estas florestas em semidecíduais e decíduais (MURPHY; LUGO, 1986). No Brasil, as Florestas Estacionais Decíduais (FED) são encontradas nos domínios Caatinga e Cerrado e, são consideradas como remanescentes de extensas vegetações de semiárido que ocorreram durante o período Quaternário (PRADO; GIBBS, 1993).

As FED se desenvolvem sobre diferentes tipos de solo como os afloramentos rochosos que, por comportarem espécies que são capazes de sobreviverem às condições climáticas extremas, além de condições edáficas particulares, são consideradas como ecossistemas peculiares e centros de diversidade. Estas características ressaltam a importância de mais estudos serem realizados nestes afloramentos, já que são áreas que vêm sofrendo intensa degradação devida, principalmente, à exploração por mineradoras.

A espécie *Ficus bonijesulapensis* R.M. Castro (Moraceae), endêmica de florestas decíduas sobre afloramentos, foi descrita por Castro e Rapini em 2006, e ainda são escassas as informações sobre a biologia desta espécie. Porém, o gênero *Ficus*, ao qual a espécie pertence, é bastante conhecido pela interação

mutualística entre as figueiras e suas vespas polinizadoras. Além disso, outro papel importante que as figueiras desempenham é ser um recurso-chave, pois ao florescerem assincronicamente durante o ano todo, fornecem alimento para frugívoros e, adicionalmente, sua dispersão auxilia no processo de recomposição de comunidades vegetais (SHANAHAN et al., 2001).

Mesmo assim, os estudos que levam em consideração a estrutura genética populacional, o sistema reprodutivo e a diversidade genética ainda são escassos. A conservação da diversidade genética é importante para manter a capacidade evolutiva de uma espécie em responder às mudanças ambientais e também manter a viabilidade de suas populações em longo prazo (TORO; CABALLERO, 2005).

Os parâmetros genéticos populacionais podem ser estimados a partir dos dados obtidos com o uso de marcadores moleculares baseados na amplificação da sequência de DNA, possibilitando a análise da diversidade e estrutura genéticas (dentro e entre populações) e compreender a dinâmica dos alelos nestas populações.

A estrutura genética de uma população é moldada pela interação dos fatores evolutivos como mutação, seleção, migração e deriva genética, e influenciada pelo tamanho populacional, ciclo de vida das espécies e o fluxo alélico. Este último fator é o resultado tanto da eficiência dos dispersores e polinizadores em alcançar outras populações como do isolamento entre elas (LOVELESS; HAMRICK, 1984; NYBOM; BARTISH, 2000).

Este isolamento entre as populações pode ocorrer devido às barreiras, que podem ser elementos da paisagem como estradas, corpos d'água e cordilheiras ou mesmo aspectos como umidade, temperatura ou tolerância química, e a identificação destas barreiras é feita com o auxílio da Genética da Paisagem (MANEL et al., 2003; STORFER et al., 2007).

Ao identificar o padrão espacial da estrutura genética, podem ser propostas as chamadas Unidades Operacionais (UO). Estas UO's seriam populações geograficamente distintas e geneticamente divergentes que, uma vez identificadas poderiam aperfeiçoar as estratégias de conservação *in situ* e até mesmo ser um auxílio na coleta de amostras para coleções de germoplasma (DINIZ-FILHO; TELLES, 2002; MANEL et al., 2003).

Como as FED sobre afloramentos rochosos apresentam um isolamento histórico, possivelmente *F. bonijesulapensis* apresenta elevada diversidade genética entre as populações e a existência de barreiras naturais entre as populações pode estar ocasionando a descontinuidade genética entre elas. Além disso, espera-se que as populações mais próximas geograficamente sejam geneticamente mais similares. Assim, o objetivo com este trabalho foi descrever os níveis de diversidade e estrutura genética intra e interpopulacional e estudar os padrões espaciais de variabilidade genética, com a finalidade de verificar a existência de autocorrelação espacial das populações de *Ficus bonijesulapensis*, delineando as possíveis unidades operacionais para sua conservação.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Florestas Estacionais Deciduais

O número de estudos ecológicos e conservacionistas realizados em florestas tropicais, em sua maioria, referem-se às informações sobre esta fitofisionomia principalmente em florestas tropicais úmidas, enquanto que, as florestas tropicais estacionais recebem atenção relativamente menor (PENNINGTON; PRADO; PENDRY, 2000), apesar de apresentarem um longo registro de exploração humana (RODAL; NASCIMENTO, 2006).

As Florestas Estacionais ocorrem em áreas onde a média de temperatura anual está acima de 17° C, com uma distribuição sazonal das chuvas, sendo que a pluviosidade média está entre 600-1800 mm, distribuída entre 4 a 9 meses (CARVALHO, 2009; MURPHY; LUGO, 1986). Estas florestas quando comparadas às florestas tropicais úmidas, geralmente apresentam dossel mais baixo e menor complexidade florística e estrutural. Além disso, as florestas úmidas apresentam três ou mais estratos de dossel enquanto que a maioria das florestas estacionais tem um ou dois (MURPHY; LUGO, 1986).

De modo geral, a deciduidade nas Florestas Estacionais Deciduais (FED) está relacionada ao aumento do período de seca (diminuição das chuvas anuais – pluviosidade menor que 1600 mm/ano), sendo que, a vegetação perde mais de 50% de sua cobertura arbórea durante esse período (MURPHY; LUGO, 1986; PENNINGTON et al., 2004).

A temperatura e precipitação sazonal que influenciam nos padrões florísticos são fatores determinantes na distribuição da vegetação ao redor do mundo. Assim, as mudanças destes dois fatores durante o Quaternário influenciaram a história da vegetação e clima ao longo da América do Sul e Central (OLIVEIRA-FILHO; FONTES, 2000). Estes padrões de distribuição da

vegetação que emergiram devido às flutuações climáticas favoreceram o desenvolvimento de hipóteses que pudessem explicar como estas diferenças úmido-secas no clima poderiam ter influenciado na conformação disjunta das florestas estacionais no continente (PRADO, 2000).

As FED são encontradas no continente sul-americano formando um ‘arco’ denominado por Prado e Gibbs (1993) como ‘Arco Pleistocênico’, com uma de suas extremidades posicionadas a partir do núcleo ‘Caatinga’ (nordeste brasileiro e norte do estado de Minas Gerais), estendendo-se à confluência dos rios Paraguai e Paraná com enclaves no Cerrado (Goiás, Mato Grosso e Mato Grosso do Sul) – núcleo ‘Misiones’ – até alcançar o núcleo florestal ‘Piedmont’, que compreende o sudoeste boliviano e noroeste argentino. Ainda podem ser encontradas algumas extensões de FED nos vales estacionais andinos do Peru e costa oeste do Equador (PENNINGTON et al, 2004; PRADO, 2000; PRADO; GIBBS, 1993) (Figura 1).

Prado e Gibbs (1993) e Pennington et al. (2004) propuseram que as FED atuais são remanescentes de extensas vegetações de semiárido que, em um período glacial mais seco e frio ocorrido no Pleistoceno, poderiam ter se expandido pelo Cerrado Central e alcançado partes da Amazônia, enquanto ocorria a contração das florestas tropicais a áreas mais úmidas. Assim, o padrão de distribuição atual das FED seria resultado do aumento da umidade e reexpansão de áreas florestais úmidas (PRADO, 2000; PRADO; GIBBS, 1993).

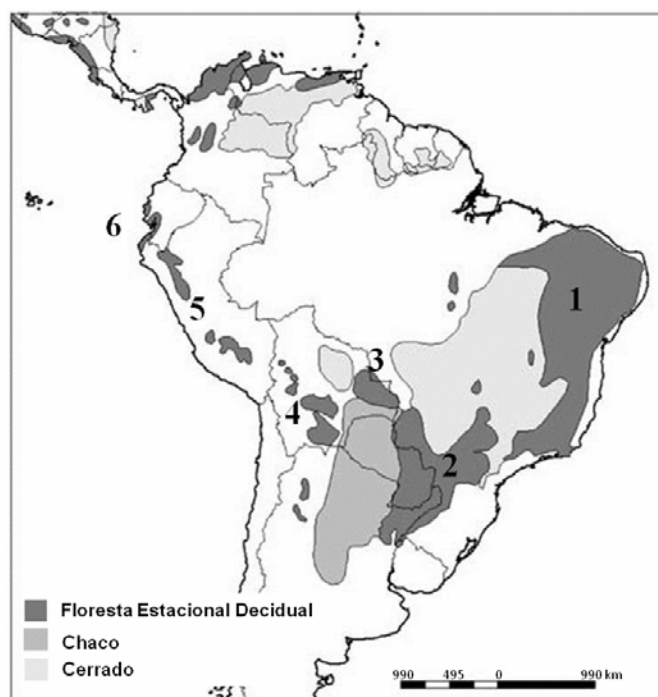


Figura 1 Distribuição das Florestas Estacionais Deciduais na América Latina. Os núcleos estão localizados em: (1) Caatinga, (2) Misiones, (3) Chiquitano, (4) Piedmont, (5) vales inter-andinos e (6) costa oeste do Equador (FONTE: modificado de PENNINGTON; PRADO; GIBBS, 2000)

As FED estão distribuídas em fragmentos no Brasil Central (Distrito Federal, Goiás, Mato Grosso), Nordeste brasileiro e Minas Gerais (FELFILI et al., 2007; PEDRALLI, 1997), em áreas que possuem solos férteis com níveis de nutriente e pH variando de moderados a altos e estão menos sujeitas a incêndios, ao contrário do Cerrado, que apesar de apresentar mesmo clima sazonal, possui solo de maior acidez e sua vegetação é adaptada às queimadas (PENNINGTON et al., 2004).

Estas florestas decíduas estão entre os ecossistemas tropicais mais ameaçados atualmente, pois além de ocorrerem em solos férteis altamente

favoráveis para agricultura, apresentam elevado número de espécies de importância econômica, que são exploradas para retirada de madeira e para conversão destas áreas em paisagens agrícolas. Apesar disso, ainda é reduzido o número de estudos que tem como foco a conservação das florestas decíduais (OLIVEIRA-FILHO; JARENKOW; RODAL, 2006; SILVA; SCARIOT, 2004; WERNECK; COLLI, 2006).

2.2 Florestas estacionais decíduais em afloramentos rochosos

As FED geralmente ocorrem em manchas separadas nos neotrópicos (PENNINGTON; PRADO; PENDRY, 2000), em diferentes tipos de solo como os depósitos aluviais ricos no Pantanal Mato-Grossense, solos originados do basalto e afloramentos rochosos. No Brasil, estes afloramentos são formados por rochas de granito, arenito, gnaise, quartzito e calcário, sendo que esse último é o mais encontrado no planeta (CARVALHO, 2009; FELFILI, et al., 2007; OLIVEIRA-FILHO et al. 1998; POREMBSKI, 2007).

A maior parte dos afloramentos calcários no continente sul-americano está situada em regiões que possuem clima sazonal e, estes afloramentos são capazes de comportarem o desenvolvimento de uma vegetação florestal, enquanto que em áreas de afloramentos com quartzitos e arenitos, geralmente serão encontradas vegetações herbáceo-arbustivas (CARVALHO, 2009; FELFILI et al., 2007; PEREIRA, 2008).

Assim, as florestas decíduas sobre afloramentos podem ser consideradas como ecossistemas peculiares, pois as espécies encontradas neles estão condicionadas ao estresse climático e são capazes de se desenvolver sobre relevos acidentados, íngremes e rochosos, com solos rasos e de baixa drenagem (CARVALHO; FAGG; FELFILI, 2010; FELFILI et al., 2007; POREMBSKI;

BARTHLOTT, 2000). Com isso, muitas destas florestas são consideradas como centros de diversidade (POREMBSKI, 2007).

Diversos autores enfatizam que apesar de crescente, os dados específicos sobre as FED em afloramentos calcários no Brasil ainda são considerados escassos. A necessidade de adoção de políticas conservacionistas para que esta vegetação não seja erradicada por estar localizada em áreas de exploração por mineradoras, fábricas de cimento, extrativismo madeireiro e expansão de áreas agrícolas, tem sido enfatizada por vários pesquisadores (LOMBARDI; SALINO; TEMONI, 2005; POREMBSKI, 2007; PORTO et al., 2008; SILVA; SCARIOT, 2004).

2.3 *Ficus bonijesulapensis* (Moraceae)

A família Moraceae compreende 53 gêneros e cerca de 1500 espécies com ocorrência tanto em regiões temperadas como em tropicais (JUDD et al., 2009). As plantas pertencentes a esta família geralmente possuem hábito arbóreo, são lactescentes e podem ser encontradas em florestas de estágio avançado. Existem registrados e descritos 27 gêneros e cerca de 250 espécies no Brasil (SOUZA; LORENZI, 2005). Um destes gêneros é o *Ficus* Linn. o qual constitui um dos maiores – com cerca de 800 espécies distribuídas nas regiões tropicais e subtropicais – e mais diverso gênero, com grande variação de habitats e hábitos: hemi-epífitas, arbustos até árvores de grande porte (HERRE; JANDÉR; MACHADO, 2008). As espécies deste gênero apresentam várias finalidades como: ornamentação, alimentação e até mesmo extração de látex. É importante ressaltar ainda que o fruto é muito nutritivo, rico em vitaminas, minerais, gorduras e água (ROUT; APARAJITA, 2009).

A principal característica deste gênero é a inflorescência em sicônio ou figo, que possui formato de urna. As centenas de flores estão inseridas dentro

deste figo cujo ápice possui um ostíolo que é fechado por brácteas (MILTON et al., 1982). Quanto ao sistema de reprodução, as espécies são geralmente alógamas e podem ser encontrados indivíduos monoicos e dioicos (SHANAHAN et al., 2001). A polinização ocorre por uma interação mutualística entre a espécie e as vespas do figo (Hymenoptera: Agaonidae) que é um dos exemplos mais extremos de mutualismo entre planta e inseto (NAZARENO; CARVALHO, 2009; PEREIRA, 2006). Quando as flores femininas estão receptivas, vespas fêmeas atraídas por substâncias voláteis penetram no figo por meio do ostíolo e, ao ovopositarem na base das flores, simultaneamente polinizam algumas. Isto é possível porque estas vespas provenientes de outro figo (acasaladas) estão carregadas de pólen. Geralmente, as fêmeas morrem no interior do sicônio após ovopositarem (JANZEN, 1979).

Posteriormente, há o desenvolvimento dos frutos e também das larvas (naquelas flores onde os ovos foram depositados) as quais formam galhas. Em seguida, os machos eclodem primeiro e copulam com as fêmeas, que ainda estão dentro das galhas, e abrem cavidades na parede do figo. Imediatamente, as fêmeas eclodem e – devido ao contato com as flores masculinas, agora amadurecidas – têm seu corpo recoberto por pólen e deixam o figo. As fêmeas acasaladas darão início ao ciclo em outro figo (MILTON et al., 1982; NAZARENO; SILVA; PEREIRA, 2007).

Deste modo, conclui-se que além da produção de sementes nas espécies de *Ficus* serem totalmente dependentes desta interação, as vespas também dependem dela para completarem seu ciclo de vida. Além disso, esta sincronia no desenvolvimento dos figos evita que ocorra a auto-fecundação nas espécies monóicas de *Ficus* (NAZARENO, 2009; ZAVODNA et al., 2005).

Zavodna et al. (2005) enfatizam que poucos estudos procuram observar a capacidade de dispersão do pólen por vespas do figo. Em um estudo realizado no Panamá, Nason, Herre e Hamrick (1998) ao investigar a estrutura genética de

sementes em espécies monóicas de *Ficus* encontradas na América Central, mostraram que em um figo, muitos dos aquênios foram fertilizados por pólen provenientes de diferentes árvores sendo que, a distância de dispersão de pólen foi estimada em distâncias de 5,8 a 14,2 km (NASON; HERRE; HAMRICK, 1998; ZAVODNA et al, 2005).

Harrison (2003) enfatiza que o transporte de grãos de pólen é facilitado pela dispersão das vespas polinizadoras mediada por correntes de vento. Secundariamente, as substâncias voláteis atraem as vespas a curtas distâncias da árvore com figos receptivos. Estes resultados indicam que as populações de figueiras, mesmo em paisagens fragmentadas, podem permanecer reprodutivamente viáveis devido à capacidade de vôo a longas distâncias por seus agentes polinizadores. Desta forma, conservar os fragmentos florestais se torna importante não só para a manutenção da diversidade genética das espécies de *Ficus*, mas também para a conservação de outras espécies ecologicamente relacionadas (NAZARENO, 2009).

Um importante papel que as plantas deste gênero desempenham é que devido ao fato de florescerem assincronicamente ao longo do ano, constituem um recurso-chave para o funcionamento de florestas tropicais, pois provêm alimento para comunidades de vertebrados e invertebrados frugívoros em períodos de escassez de frutos de outras espécies (HERRE; JANDÉR; MACHADO, 2008; NASON; HAMRICK, 1997; SHANAHAN et al., 2001).

O figo demonstra uma importância adicional da dieta alimentar destes animais porque ele é considerado uma fonte potencial de cálcio – os figos possuem nível elevado desta substância – e de proteína animal, fornecida pelas larvas dos insetos dentro do sicônio (SHANAHAN et al., 2001).

Shanahan et al. (2001) ao revisarem dados de literatura sobre frugivoria em espécies de *Ficus* identificaram quais animais eram especialistas em figo, ou seja, aqueles que realmente eram capazes de dispersar as sementes de figo do

qual se alimentavam. Eles encontraram em geral, uma sobreposição de guildas de pássaros, mamíferos arborícolas e morcegos frugívoros (SHANAHAN et al., 2001). Portanto, aqueles frugívoros que apresentam ampla área de vida serão capazes de dispersar as sementes por longas distâncias (ZAVODNA et al., 2005).

Esta dispersão torna as figueiras extremamente importantes no processo de regeneração e recomposição de comunidades vegetais. Além disso, atraem dispersores frugívoros de outras espécies vegetais e ainda são hospedeiras de uma diversa comunidade de epífitas (PEREIRA, 2006).

Pereira (2005) realizou um levantamento sobre os estudos que haviam sido desenvolvidos com o gênero *Ficus* no Brasil, e constatou que, apesar da grande diversidade que ele apresenta no país, existem poucos grupos de estudo quando comparados aos ocorrentes em países temperados. A maior parte das pesquisas foi desenvolvida nas regiões Sudeste e Sul, e abordaram temas como taxonomia, anatomia, morfologia, eventos fenológicos, questões ecológicas relacionadas à interação *Ficus* - vespas e *Ficus* e outros organismos, além de frugivoria, germinação e polinização (PEREIRA, 2005). Entretanto, os estudos que levam em consideração a estrutura populacional, o sistema reprodutivo e diversidade genética ainda são escassos (DICK; HARDY; JONES, 2008; NAZARENO et al., 2009).

A espécie alvo deste estudo é *Ficus bonijesulapensis* R.M. Castro, descrita por Castro e Rapini (2006), apresenta hábito arbóreo com tronco acinzentado e brilhante (CASTRO; RAPINI, 2006). É necessário enfatizar que, além de toda a importância já destacada que o gênero *Ficus* demonstra, *F. bonijesulapensis* é endêmica de florestas decíduas que ocorrem sobre afloramentos rochosos e, por isso, diferem da maioria das espécies da família Moraceae que é geralmente associada à habitats de floresta tropical úmida (CASTRO; RAPINI, 2006).

A espécie *F. bonijesulapensis*, também conhecida com gameleira, recebeu este epíteto devido à sua espécie-tipo ter sido coletada na cidade de Bom Jesus da Lapa, Bahia. A cidade é conhecida por receber a visita de muito peregrinos à Gruta do Bom Jesus da Lapa, a qual, propriedades milagrosas são atribuídas (CASTRO; RAPINI, 2006; VIEIRA et al., 2010).

Foi feito um levantamento dos trabalhos existentes em literatura que estivessem relacionados à *F. bonijesulapensis*, e foi encontrado somente o trabalho realizado por Vieira et al. (2010) sobre a seleção de *primers* de DNA cloroplastidial e que serão posteriormente utilizados em estudo filogeográfico com a espécie.

Portanto, ao considerar o endemismo de *F. bonijesulapensis* e a antropização crescente em sua área de ocorrência, demonstra-se a necessidade de serem realizados estudos que abordem aspectos ecológicos e genéticos para verificar a estruturação da diversidade genética dentro e entre as populações visando à conservação desta espécie.

2.4 Conservação Genética de Espécies Arbóreas

Atualmente, um dos assuntos mais discutidos é a conservação dos recursos genéticos em biomas tropicais, já que é urgente que medidas sejam tomadas para que o impacto causado pela destruição de hábitat seja reduzido (BARBOSA et al., 2010; SOUZA; LOVATO, 2010).

Os estudos em genética de populações podem ajudar os conservacionistas no delineamento de estratégias de conservação e manejo de florestas para o uso sustentável dos seus recursos. A redução do tamanho populacional das espécies encontradas nestas florestas pode resultar em perda de diversidade genética, endogamia e o aumento do risco de extinção local delas (AGUILAR et al., 2008; SOUZA; LOVATO, 2010).

Os parâmetros genéticos populacionais podem ser estimados a partir dos dados obtidos com o uso de marcadores moleculares. Assim, é possível detectar os níveis de distribuição da diversidade genética dentro e entre populações e compreender a dinâmica dos alelos nestas populações (GE et al., 2005; ZAGHLOUL et al., 2006).

A diversidade genética é um dos pilares da conservação genética, pois influencia diretamente a capacidade evolutiva de uma espécie em responder às mudanças ambientais e, a sua redução ou perda, poderia até mesmo acarretar em sua extinção (MARTINS et al., 2008; TORO; CABALLERO, 2005). Portanto, uma população terá mais chances de sobreviver por longos períodos se, aliada a fatores demográficos e ecológicos, apresentar uma variabilidade genética elevada (REIS et al., 2009).

A manutenção desta variabilidade é garantida por meio da conectividade genética entre as populações. Segundo Sork e Smouse (2006), esta conectividade dependerá do grau de isolamento entre as populações, ou seja, as possíveis barreiras físicas que as separam e de diversas fontes de propágulos, garantido não só uma taxa elevada, mas também maior diversidade de alelos. Portanto, o fluxo alélico (polinização e dispersão de sementes) dependerá da eficiência dos polinizadores e dispersores de sementes em alcançar outras populações (MARTINS et al., 2008).

Segundo Hamrick (2004), as espécies arbóreas geralmente apresentam mecanismos de dispersão gênica eficientes, sendo então capazes de manter uma diversidade genética elevada. Apesar dos efeitos da redução populacional geralmente não serem percebidos quanto à diversidade genética, Lowe et al. (2005), observaram que o nível de endogamia entre as progênies e o seu *fitness* foram afetados devido a esta redução.

Além do fluxo de alelos, o tamanho populacional e o ciclo de vida das espécies também influenciam diretamente na diversidade e estrutura genética

das populações (JEONG et al., 2010; NYBOM; BARTISH, 2000). Esta estrutura – distribuição da variabilidade genética (BROWN, 1978) – é moldada e mantida principalmente pela interação dos fatores evolutivos como mutação, seleção, migração e deriva genética (LOVELESS; HAMRICK, 1984).

Espécies que apresentam distribuição em áreas geográficas restritas como afloramentos calcários merecem atenção em estudos conservacionistas não somente por sofrerem forte pressão antrópica, mas por serem capazes de habitar em locais com condições ambientais mais severas.

Segundo Scarano (2007), ainda são poucos os estudos que investigam os padrões de diversidade genética e fluxo alélico em espécies que ocorrem em afloramentos rochosos principalmente porque estes estudos foram realizados com espécies não-arbóreas como o de Franceschinelli et al. (2006) que estudaram a estrutura genética de duas espécies de *Vellozia* (Velloziaceae) e encontraram baixa diversidade para a espécie restrita aos afloramentos e o de Barbará et al. (2007) que investigaram o fluxo gênico em espécies de *Alcantarea* (Bromeliaceae) ocorrentes em afloramentos graníticos. Os resultados demonstraram que o fluxo gênico foi menor que o encontrado em literatura, tanto para plantas no geral, como para bromeliáceas.

Portanto, investigar a estrutura genética de espécies que ocorrem nestes locais pode ajudar na elaboração de estratégias efetivas para conservação *in situ* e manejo nestas áreas. As populações com níveis de diversidade mais altos poderiam então ser usadas como fonte de propágulos para conservação *ex situ* (FUCHS; HAMRICK, 2010).

A variabilidade genética em populações de plantas é geralmente estimada pelo número médio de alelos por loco, da heterozigosidade média observada e esperada e, da porcentagem de locos polimórficos entre outros. Estes parâmetros podem ser obtidos por meio de marcadores moleculares que

estão sendo amplamente utilizados para monitorar esta variabilidade (FERREIRA; GRATTAPAGLIA, 1998).

2.5 Marcadores ISSR (*Inter Simple Sequence Repeats*)

Os métodos moleculares baseados na amplificação da sequência de DNA possibilitam a determinação e a análise da diversidade genética, a estrutura genética (dentro e entre populações) e têm auxiliado no entendimento dos padrões de fluxo gênico, dispersão e seleção (CAVERS et al., 2005; ROLDAN-RUIZ et al., 2000).

Durante as últimas duas décadas, estes métodos demonstraram um grande progresso e possibilitaram a geração de dados genéticos de um grande número amostral de indivíduos e também populações de várias espécies vegetais (HOLDEREGGER; KAMM; GUGERLI, 2006).

Geralmente, o tipo de marcador é escolhido de acordo com os principais aspectos que serão necessários para a realização do estudo. Segundo Agostini (2008), os marcadores moleculares existentes são diferenciados pela simplicidade de uso, custo, tipo de tecnologia aplicada, repetibilidade, capacidade de diferenciação entre os indivíduos, tipo de dado gerado (codominante ou dominante) e modo de herança.

Estes marcadores são considerados neutros sob a ótica evolutiva, ou seja, não é possível inferir sobre a capacidade adaptativa ou evolutiva da espécie em estudo. Esta neutralidade é um pressuposto básico para detectar a diferenciação e variabilidade entre as populações (HOLDEREGGER; KAMM; GUGERLI, 2006; SHAO et al., 2009; SUNNUCKS, 2000; VIEIRA, 2005).

Os principais tipos de marcadores moleculares são os marcadores codominantes e os dominantes. Os primeiros são capazes de identificar os dois tipos de alelos que um indivíduo diplóide pode apresentar (heterozigoto e

homozigoto), já os marcadores dominantes mostram somente um padrão de fragmento para o genótipo heterozigoto ou homozigoto, e quando há ausência do fragmento infere-se que o genótipo é homozigoto recessivo (WOLFE, 2005). Exemplos de marcadores codominantes são as isoenzimas e os microssatélites (SSR). Os tipos de dominante são RAPDs (*random amplified polymorphic DNAs*), AFLPs (*amplified fragment length polymorphisms*) e ISSRs (*inter simple sequence repeats*).

Vários autores relatam que entre os marcadores dominantes, o uso do ISSR tem recebido grande projeção em estudos de genética de populações de plantas, além de fungos, insetos e vertebrados (HU et al., 2010; NASCIMENTO et al., 2010; WOLFE, 2005).

A premissa desta técnica é que os *primers* ISSR alcançam as sequências simples repetidas (SSR ou microssatélites) que estão dispersas abundantemente ao longo de todo o genoma (ZIETKIEWICZ; RAFALSKI; LABUDA, 1994) e podem amplificar as regiões onde a enzima *Taq polimerase* atua, gerando uma grande quantidade fragmentos polimórficos (GE et al. 2005; NARZARY; RANA; RANADE, 2010)

Os perfis de ISSR são gerados a partir da reação de PCR (*Polymerase Chain Reaction*). Para isso, é utilizado um único *primer* composto de di-, tri-, tetra- ou penta-nucleotídeos SSR repetidos, ancorado ou não, por uma sequência 5' ou 3', de 1 a 3 nucleotídeos (GE et al. 2005; NARZARY; RANA; RANADE, 2010; ZIETKIEWICZ; RAFALSKI; LABUDA, 1994). Os fragmentos obtidos pela amplificação destas regiões de DNA são considerados locos dialélicos, geralmente apresentam 200 a 2000 pb (ZIETKIEWICZ; RAFALSKI; LABUDA, 1994) e podem ser detectados em géis de agarose ou acrilamida (REDDY; SARLA; SIDDIQ, 2002).

Esta técnica além de não necessitar de informação prévia do genoma, tem custo relativamente menor, é rápida, tecnicamente mais simples e capaz de

gerar grande número de marcadores polimórficos em um experimento e, ainda pode ser usada com uma grande aplicabilidade taxonômica (HU et al, 2010; SU; WANG; OUYANG, 2009; YE et al., 2005; ZIETKIEWICZ; RAFALSKI; LABUDA, 1994).

Os protocolos de amplificação e análise de dados são similares para RAPD e ISSR, porém o ISSR suporta temperaturas de anelamento mais altas, o que resulta em maior reprodutibilidade dos fragmentos amplificados. Outra característica importante é que por apresentarem maior superfície de ancoragem, pois possuem sequências mais longas (16-25pb), os resultados obtidos por marcadores ISSR serão mais robustos (BRANDÃO, 2008; CHEN et al., 2009; HU et al, 2010; QIAN et al., 2001; WOLFE, 2005).

Apesar dos marcadores ISSR receberem algumas críticas devido ao seu caráter dominante, Holsinger, Lewis e Dey (2002) desenvolveram a abordagem bayesiana que separa a variação genética com dados derivados de marcadores dominantes. Além disso, Dawson et al. (1995) relatou que os efeitos deste tipo de marcador, ou seja, os genótipos heterozigotos, não são detectados pelo Índice de Diversidade de Shannon (SU; WANG; OUYANG, 2009). Este índice baseia-se na frequência do fragmento amplificado (ausência ou presença) na população (BRANDÃO, 2008).

Alguns exemplos de estudos que utilizaram marcadores ISSR para acessar a diversidade genética em espécies arbóreas são os de Souza e Lovato (2010) que compararam as espécies *Dimorphandra mollis* (amplamente distribuída) e *Dimorphandra wilsonii* (incluída na categoria de espécie criticamente ameaçada) com o intuito de obter informações para o estabelecimento de estratégias de conservação mais adequadas para *D. wilsonii*; Jin e Li (2007) que caracterizaram a diversidade genética entre e dentro de populações da espécie ameaçada *Heptacodium miconioides* (endêmica da China); Zhang, Chen e Li (2005) encontraram baixa diversidade genética para a

espécie *Pinus squamata* com o uso de ISSR; Brandão (2008) caracterizou a variabilidade genética em populações de *Myrcia splendens* presentes em um sistema corredor-fragmento no sul de Minas Gerais.

2.6 Genética da Paisagem

Uma nova área de pesquisa que surgiu da junção da genética de populações, da ecologia da paisagem e da estatística espacial é a denominada Genética da Paisagem. A partir dela é possível inferir o papel que os processos ecológicos, em conjunto às características ambientais, desempenham na diversidade genética e estrutura das populações (MANEL et al., 2003; STORFER et al., 2007).

Segundo Manel et al. (2003), os dois pontos principais da genética da paisagem são a detecção da existência ou não de descontinuidade genética entre populações e a correlação desta descontinuidade com as características do ambiente. Esta abordagem possibilita, por exemplo, identificar quais barreiras, muitas vezes imperceptíveis, poderiam estar impedindo o fluxo gênico entre populações ou mesmo reatando este fluxo (MANEL et al., 2003). O principal foco da genética da paisagem é a identificação destas barreiras. Segundo Storfer et al. (2007), estradas, corpos d'água e cordilheiras são as barreiras mais intransponíveis. Porém, características como umidade, temperatura ou tolerância química também formam um micro hábitat que potencialmente servirá como barreira ao fluxo gênico.

Assim, entender como a paisagem influencia no movimento dos alelos propiciaria o delineamento de reservas e corredores naturais que sejam capazes de manter a conectividade entre as populações (SHIRK et al., 2010).

Sork e Waits (2010) identificaram que o rápido avanço da genética da paisagem é devido a três fatores principais: (1) com o aumento do impacto

antropogênico, os conservacionistas estão focando em planos de manejo que visem à conectividade de populações viáveis, no âmbito da paisagem e ecossistema; (2) com o avanço tecnológico, além de maior acessibilidade às técnicas moleculares, houve maior possibilidade de coletar dados genéticos em escalas maiores; (3) melhorias em ferramentas como o sistema de informações geográficas e sensoriamento remoto possibilitaram a quantificação das variáveis ambientais em escalas compatíveis aos dados genéticos.

Manel et al. (2003) descreveram alguns métodos estatísticos que podem ser utilizados para analisar as variáveis genéticas e ambientais e suas correlações:

- Teste de Mantel (MANTEL, 1967), utilizado para verificar a presença de um padrão de isolamento por distância, entre os indivíduos ou as populações e também utilizado para medir a associação entre a distância genética e as variáveis ambientais;

- análise de regressão, realizada entre os pares de indivíduos ou populações e suas distâncias geográficas, que possibilita estimar o tamanho de vizinhança;

- métodos de autocorrelação espacial (SOKAL; ODEN, 1978), relacionam a distância genética à distância geográfica entre pares de populações;

- método bayesiano;

- análise multivariada, como a análise de componente principal (PCA), cujo resultado é visualizado por meio de um mapa facilitando a interpretação dos dados;

- algoritmo de Monmonier (MONMONIER, 1973) e a abordagem Womble (WOMBLE, 1951), que são capazes de identificar barreiras genéticas existentes na paisagem;

- análise de correspondência canônica (CCA);

- sistema de informações geográficas.

Com base no padrão espacial da variabilidade genética, podem-se identificar as unidades evolutivas significativas (ESU – *evolutionary significant units* (MORITZ, 1994) e as unidades operacionais (*management units*) que servem para delinear estratégias a serem empregadas em programas de conservação *in situ* ou mesmo na amostragem de indivíduos para coleções de germoplasma.

Diniz-Filho e Telles (2002) defenderam que é possível aperfeiçoar estas estratégias por meio da identificação de Unidades Operacionais (UO's). De acordo com esta metodologia, as UO's seriam as populações geograficamente distintas que apresentariam divergência nas frequências alélicas assegurando o manejo e viabilidade das ESU's (DINIZ-FILHO; TELLES, 2002; MANEL et al., 2003).

3 CONSIDERAÇÕES GERAIS

O maior desenvolvimento das técnicas moleculares proporcionou um avanço nos estudos genéticos populacionais. É cada vez mais observado que o estabelecimento de programas para conservação genética necessita de propostas que realmente assegurem a manutenção de populações viáveis, ou seja, que apresentem maiores níveis de diversidade genética assegurando a capacidade evolutiva da espécie.

Para isso, é importante entender como os padrões de variabilidade genética são influenciados pelos elementos da paisagem. Este é o objetivo da genética da paisagem, uma abordagem recentemente difundida para o estudo da conservação genética. Com os dados obtidos é possível detectar onde existem descontinuidades genéticas e inferir quais as possíveis barreiras estariam limitando o fluxo alélico.

A espécie *Ficus bonijesulapensis* é endêmica de florestas estacionais sobre afloramentos calcários, os quais se encontram distribuídos em disjunções pelo Brasil Central e, atualmente, estão sendo degradados principalmente devido à exploração do calcário.

Assim, ao considerar a antropização destas áreas levando à diminuição do número de indivíduos e o tipo de sistema reprodutivo do gênero, o alógamo (apesar de não ter sido relatado o sistema reprodutivo para a espécie, é bem provável que seja o mesmo registrado para o gênero) é de grande importância o delineamento de uma rede de unidades operacionais que possam manter o fluxo alélico entre as populações e, conseqüentemente, a capacidade evolutiva da espécie.

REFERÊNCIAS

AGOSTINI, G. **Filogenia e diversidade genética do gênero *Cunila* D. Royen ex L., (Lamiaceae)**. 2008. 146 p. Tese (Doutorado em Botânica) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2008.

AGUILAR, R. et al. Genetic consequences of habitat fragmentation in plant populations: susceptible signals in plant traits and methodological approaches. **Molecular Ecology**, Vancouver, v. 17, n. 24, p. 5177-5188, 2008.

BARBARÁ, T. et al. Population differentiation and species cohesion in two closely related plants adapted to neotropical high-altitude 'inselbergs', *Alcantarea imperialis* and *Alcantarea geniculata* (Bromeliaceae). **Molecular Ecology**, Vancouver, v. 16, n. 10, p. 1981-1992, 2007.

BARBOSA, T. C. S. et al. Genetic characterization of natural populations of the medicinal plant *Palicourea coriacea* (Rubiaceae) with molecular markers. **Genetics and Molecular Research**, Ribeirão Preto, v. 9, n. 2, p. 695-704, 2010.

BRANDÃO, M. M. **Diversidade genética de *Myrcia splendens* (SW.) DC. (Myrtaceae) por marcadores ISSR em sistema corredor-fragmento semidecíduais no sul de Minas Gerais**. 2008. 80 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Florestal) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2008.

BROWN, A. H. D. Isozymes, plant population genetic structure and genetic conservation. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlim, v. 52, n. 4, p. 145-157, 1978.

CAETANO, S. et al. The history of Seasonally Dry Tropical Forests in eastern South America: inferences from the genetic structure of the tree *Astronium urundeuva* (Anacardiaceae). **Molecular Ecology**, Vancouver, v. 17, n. 13, p. 3147-3159, 2008.

CARVALHO, F.A. **Dinâmica da vegetação arbórea de uma floresta estacional decidual sobre afloramentos calcários no Brasil Central**. 2009. 134p. Tese (Doutorado em Ecologia) - Universidade de Brasília, Brasília, 2009.

CARVALHO, F. A.; FAGG, C. W.; FELFILI, J. M. Dinâmica populacional de *Acacia tenuifolia* (L.) Willd. em uma floresta decidual sobre afloramentos calcários no Brasil Central. **Scientia florestalis**, Piracicaba, v. 38, n. 86, p. 297-306, jun. 2010.

CASTRO, R. M.; RAPINI, A. Four new species of Moraceae from Bahia, Brazil. **Neodiversity**, Feira de Santana, v. 1, n.2, p. 13-20, 2006.

CAVERS, S. et al. Optimal sampling strategy for estimation of spatial genetic structure in tree populations. **Heredity**, Sheffield, v. 95, n. 4, p. 281-289, 2005.

CHEN, S. Y. et al. Genetic variation and geographical divergence in *Elymus nutans* Griseb. (Poaceae: Triticeae) from West China. **Biochemical Systematics and Ecology**, Oxford, v. 37, n. 6, p. 716-722, 2009.

DAWSON, I. K. et al. Diversity and genetic differentiation among subpopulations of *Gliricidia sepium* revealed by PCR-based assays. **Heredity**, Sheffield, v. 74, p. 10-18, 1995.

DICK, C. et al. Spatial scales of pollen and seed-mediated gene flow in tropical rain forest trees. **Tropical Plant Biology**, New York, v. 1, n. 1, p. 20-33, 2008.

DINIZ-FILHO, J. A. F.; TELLES, M. P. C. Spatial autocorrelation analysis and the identification of operational units for conservation in continuous populations. **Conservation Biology**, Malden, v. 16, n. 4, p. 924-935, 2002.

FELFILI, J. M. et al. Floristic composition and community structure of a seasonally deciduous forest on limestone outcrops in Central Brazil. **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v. 30, p. 611-621, 2007.

FERREIRA, M.E., GRATTAPAGLIA, D.. **Introdução ao uso de marcadores moleculares em análise genética**. 3. ed., Brasília: EMBRAPA/CENARGEN, 1998 , 220p.

FRANCESCHINELLI, E. V. et al. The genetic diversity of two Brazilian *Vellozia* (Velloziaceae) with different patterns of spatial distribution and pollination biology. **Annals of Botany**, London, v. 97, n. 4, p. 585-592, 2006.

FUCHS, E. J.; HAMRICK, J. L. Genetic diversity in the endangered tropical tree *Guaiacum sanctum* (Zygophyllaceae). **Journal of Heredity**, Washington, v. 101, n. 3, p. 284-291, 2010.

GE, X. J. et al. Low genetic diversity and significant population structuring in the relict *Amentotaxus argotaenia* complex (Taxaceae) based on ISSR fingerprinting. **Journal of Plant Research**, Tokyo, v. 118, n. 6, p. 415-422, 2005.

HAMRICK, J. L. Response of forest trees to global environmental changes. **Forest Ecology and Management**, v. 197, n. 1-3, p. 323-335, 2004.

HARRISON, R. D. Fig wasp dispersal and the stability of a keystone plant resource in Borneo. **Proceedings of the Royal Society of London Series B – Biological Sciences**, London, v. 270, p.76-79, 2003.

HERRE, E. A. et al. Evolutionary ecology of figs and their associates: recent progress and outstanding puzzles. **Annual Review of Ecology, Evolution and Systematics**, Palo Alto, v. 39, p. 439-458, 2008.

HOLDEREGGER, R. et al. Adaptive vs. neutral genetic diversity: implications for landscape genetics. **Landscape Ecology**, v. 21, n. 6, p. 797-807, Aug 2006.

HOLSINGER, K. E. et al. A Bayesian approach to inferring population structure from dominant markers. **Molecular Ecology**, Vancouver, v. 11, n. 7, p. 1157-1164, 2002.

HU, Y. P. et al. Genetic diversity of wild populations of *Rheum tanguticum* endemic to China as revealed by ISSR analysis. **Biochemical Systematics and Ecology**, Oxford, v. 38, n. 3, p. 264-274, 2010.

JANZEN, D. H. How to be a Fig. **Annual Review of Ecology and Systematics**, Palo Alto, v. 10, n. 1, p. 13-51, 1979.

JEONG, J. H. et al. Genetic diversity and structure of the endangered species *Megaleranthis saniculifolia* in Korea as revealed by allozyme and ISSR markers. **Plant Systematics and Evolution**, v. 289, n. 1-2, p. 67-76, 2010.

JUDD, Walter S. et al. **Sistemática vegetal: um enfoque filogenético**. 3. ed. Porto Alegre: Artmed, 2009. 612 p.

LOMBARDI, A. J.; SALINO, A.; TEMONI, L. G. Diversidade florística de plantas vasculares no município de Januária, Minas Gerais, Brasil. **Revista Lundiana**, Belo Horizonte, v. 6, n. 1, p. 3-20, 2005.

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. et al. Genetic resource impacts of habitat loss and degradation; reconciling empirical evidence and predicted theory for neotropical trees. **Heredity**, Sheffield, v. 95, n. 4, p. 255-273, 2005.

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

MANTEL, N. The detection of disease clustering and a generalized regression

approach. **Cancer Research**, Philadelphia, v. 27, n. 2 Part 1, p. 209-220, 1967.

MARTINS, K. et al. Conseqüências genéticas da regeneração natural de espécies arbóreas em área antrópica, AC, Brasil. **Acta Botanica Brasilica**, Porto Alegre, v. 22, p. 897-904, 2008.

MILTON, K. et al. Fruiting phenologies of two neotropical *Ficus* species. **Ecology**, Ithaca, v. 63, n. 3, p. 752-762, 1982.

MONMONIER, M. S. Maximum-difference barriers: an alternative numerical regionalization method. **Geographical Analysis**, v. 5, n. 3, p. 245-261, 1973.

MORITZ, C. Defining 'Evolutionarily Significant Units' for conservation. **Trends in Ecology & Evolution**, London, v. 9, n. 10, p. 373-375, 1994.

MURPHY, P. G.; LUGO, A. E. Ecology of tropical dry forest. **Annual Review of Ecology and Systematics**, Palo Alto, v. 17, p. 67-88, 1986.

NARZARY, D. et al. Genetic diversity in inter-simple sequence repeat profiles across natural populations of Indian pomegranate (*Punica granatum* L.). **Plant Biology**, v. 12, n. 5, p. 806-813, 2010.

NASCIMENTO, M. A. et al. Variation and genetic structure of *Melipona quadrifasciata* Lepeletier (Hymenoptera, Apidae) populations based on ISSR pattern. **Genetics and Molecular Biology**, São Paulo, v. 33, n. 2, p. 394-397, 2010.

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

NASON, J. D.; HERRE, E.A.; HAMRICK, J.L. The breeding structure of a tropical keystone plant resource. **Nature**, London, v. 391, n. 6668, p. 685-687, 1998.

NAZARENO, A.G. 2009. **Estrutura e diversidade genética de populações naturais de *Ficus* spp. (Moraceae) em fragmentos florestais no Estado de São Paulo**. 2009. 107 p. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2009.

NAZARENO, A. G.; CARVALHO, D. What the reasons for no inbreeding and high genetic diversity of the neotropical fig tree *Ficus arpausa*? **Conservation Genetics**, Dordrecht, v. 10, n. 6, p. 1789-1793, 2009.

NAZARENO, A. G. et al. Transferability and characterization of microsatellite markers in two Neotropical *Ficus* species. **Genetics and Molecular Biology**, São Paulo, v. 32, p. 568-571, 2009.

NAZARENO, A.G.; SILVA, R.B.Q.; PEREIRA, R.A.S. Fauna de Hymenoptera em *Ficus* spp. (Moraceae) na Amazônia Central, Brasil. **Iheringia, Série Zoologia**, Porto Alegre, v. 97, p. 441-446, 2007.

NYBOM, H.; BARTISH, I. V. Effects of life history traits and sampling strategies on genetic diversity estimates obtained with RAPD markers in plants. **Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics**, Zurich, v. 3, n. 2, p. 93-114, 2000.

OLIVEIRA-FILHO, A. T. et al. Effects of canopy gaps, topography, and soils on the distribution of woody species in a central Brazilian deciduous dry forest. **Biotropica**, Zurich, v. 30, n. 3, p. 362-375, 1998.

OLIVEIRA-FILHO, A. T.; FONTES, M. A. L. Patterns of floristic differentiation among Atlantic forests in southeastern Brazil and the influence of climate. **Biotropica**, Zurich, v. 32, n. 4b, p. 793-810, 2000.

OLIVEIRA-FILHO, A. T.; JARENKOW, J. A.; RODAL, M. J. N. Floristic relationships of seasonally dry forests of eastern South America based on tree species distribution patterns. In: Pennington, R. T.; Ratter, J. A. & Lewis, G. P. (Eds.) **Neotropical savannas and dry forests: Plant diversity, biogeography and conservation**. The Systematics Association Special volume Series 69, CRC

Press – Taylor and Francis Group, Boca Raton, Florida, USA, cap. 7, pp. 159-192. 2006

PEDRALLI, G. Florestas secas sobre afloramento de calcário em Minas Gerais: florística e fisionomias.

Revista BIOS, v. 5, n. 5, p. 81-88, 1997.

PENNINGTON, R. T. et al. Historical climate change and speciation: neotropical seasonally dry forest plants show patterns of both Tertiary and Quaternary diversification. **Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences**, London, v. 359, n. 1443, p. 515-538, March 29, 2004 2004.

PENNINGTON, R.T.; PRADO, D.E.; PENDRY, C.A. Neotropical seasonally dry forests and Quaternary vegetation changes. **Journal of Biogeography**, Oxford, v. 27, n. 2, p. 261-273, Mar. 2000.

PEREIRA, B. A. S. **Relações vegetação-variáveis ambientais em florestas estacionais decíduas em afloramentos calcários no bioma cerrado e em zonas de transição com a Caatinga e com Amazônia**. 2008. 79p. Tese (Doutorado em Ecologia) – Universidade de Brasília, Brasília, 2008.

PEREIRA, R. A. S.. Trabalhos sobre *Ficus* (Moraceae) desenvolvidos no Brasil. **Albertoa**, Rio de Janeiro, v. 2005, n. 22, p. 157-164, 2005.

PEREIRA, R. A. S.. Interações antagonísticas de figueiras e psitacídeos. **Natureza On Line**, Espírito Santo, v. 4, p. 25-29, 2006.

POREMBSKI, S. Tropical inselbergs: habitat types, adaptive strategies and diversity patterns. **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v. 30, p. 579-586, 2007.

POREMBSKI, S.; BARTHLOTT, W. Granitic and gneissic outcrops (inselbergs) as centers of diversity for desiccation-tolerant vascular plants. **Plant**

Ecology, Perth, v. 151, n. 1, p. 19-28, 2000.

PORTO, P. A. F. et al. Composição florística de um inselbergue no agreste paraibano, município de Esperança, nordeste do Brasil. **Revista Caatinga**, Mossoró, v.21, n.2, p.214-223, abril/junho, 2008.

PRADO, D. E. Seasonally dry forests of tropical South America: from forgotten ecosystems to a new phytogeographic unit. **Edinburgh Journal of Botany**, Edinburgh, v. 57, n. 03, p. 437-461, 2000.

PRADO, D. E.; GIBBS, P. E. Patterns of species distributions in the dry seasonal forests of South-America. **Annals of the Missouri Botanical Garden**, St. Louis, v. 80, n. 4, p. 902-927, 1993.

QIAN et al. Genetic variation within and among populations of a wild rice *Oryza granulata* from China detected by RAPD and ISSR markers. **Theoretical and applied genetics**, Heidelberg, v. 102, n.2-3, p. 440-449, 2001.

REDDY, M. P. et al. Inter simple sequence repeat (ISSR) polymorphism and its application in plant breeding. **Euphytica**, Wageningen, v. 128, n. 1, p. 9-17, 2002.

REIS, C. A. F. et al. Diversidade e estrutura genética espacial de *Calophyllum brasiliense* Camb. (Clusiaceae) em uma floresta paludosa. **Revista Árvore**, Viçosa, v. 33, p. 265-275, 2009.

RODAL, M. J. N.; NASCIMENTO, L. M. The arboreal component of a dry forest in Northeastern Brazil. **Brazilian Journal of Biology**, São Paulo, v. 66, p. 479-491, 2006.

ROLDAN-RUIZ, I. et al. AFLP markers reveal high polymorphic rates in ryegrasses (*Lolium* spp.). **Molecular Breeding**, v. 6, p. 125-134, 2000.

ROUT, G.; APARAJITA, S. Molecular assessment of *Ficus* species for identification and conservation. **International Journal of Genetics and Molecular Biology**, v. 1 (6), p. 94-99, September, 2009

SCARANO, F. R. Rock outcrop vegetation in Brazil: a brief overview. **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v. 30, p. 561-568, 2007.

SHANAHAN, M. et al. Fig-eating by vertebrate frugivores: a global review. **Biological Reviews**, London, v. 76, n. 4, p. 529-572, 2001.

SHAO, J. W. et al. Genetic diversity within and among populations of the endangered and endemic species *Primula merrilliana* in China. **Biochemical Systematics and Ecology**, Oxford, v. 37, n. 6, p. 699-706, 2009.

SHIRK, A. J. et al. Inferring landscape effects on gene flow: a new model selection framework. **Molecular Ecology**, Vancouver, v. 19, n. 17, p. 3603-3619, 2010.

SILVA, L. A. D.; SCARIOT, A. Comunidade arbórea de uma floresta estacional decídua sobre afloramento calcário na Bacia do rio Paraná. **Revista Árvore**, Viçosa, v. 28, p. 61-67, 2004.

SOKAL, R. R.; ODEN, N. L. Spatial autocorrelation in biology 2. Some biological implications and four applications of evolutionary and ecological interest. **Biological Journal of the Linnean Society**, London, v. 10, n. 2, p. 229-249, 1978.

SORK, V.; SMOUSE, P. Genetic analysis of landscape connectivity in tree populations. **Landscape Ecology**, v. 21, n. 6, p. 821-836, 2006.

SORK, V. L.; WAITS, L. Contributions of landscape genetics – approaches, insights, and future potential. **Molecular Ecology**, Oxford, v. 19, n. 17, p. 3489-3495, 2010.

SOUZA, H. A. V. E.; LOVATO, M. B. Genetic diversity and structure of the critically endangered tree *Dimorphandra wilsonii* and of the widespread in the Brazilian Cerrado *Dimorphandra mollis*: Implications for conservation. **Biochemical Systematics and Ecology**, Oxford, v. 38, n. 1, p. 49-56, 2010.

SOUZA, V. C.; LORENZI, H. **Botânica sistemática**: guia ilustrado para identificação das famílias de Angiospermas da flora brasileira, baseado em APG II. Nova Odessa, SP: Instituto Plantarum, 2005. 640 p.

STORFER, A. et al. Putting the 'landscape' in landscape genetics. **Heredity**, Sheffield, v. 98, n. 3, p. 128-142, 2007.

SU, Y. J. et al. High genetic differentiation and variation as revealed by ISSR marker in *Pseudotsaxus chienii* (Taxaceae), an old rare conifer endemic to China. **Biochemical Systematics and Ecology**, Oxford, v. 37, n. 5, p. 579-588, 2009.

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

TORO, M. A.; CABALLERO, A. Characterization and conservation of genetic diversity in subdivided populations. **Philosophical Transactions of the Royal Society B-Biological Sciences**, London, v. 360, n. 1459, p. 1367-1378, Jul 2005.

VIEIRA, F. de A. **Diversidade e estrutura genética de *Protium spruceanum* (Benth.) Engler em remanescentes e corredores de vegetação na região do Alto Rio Grande-MG**. 2005. 100 p. Dissertação (Mestrado Ciências Florestais) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2005.

VIEIRA, F. de A. et al. DNA extraction protocols and cpDNA *primers* to *Ficus bonijesulapensis* (MORACEAE). **Revista Caatinga**, Mossoró, v. 23, n. 4, p. 69-74, 2010.

WERNECK, F. P.; COLLI, G. R. The lizard assemblage from seasonally dry tropical forest enclaves in the Cerrado biome, Brazil, and its association with the

Pleistocenic Arc. **Journal of Biogeography**, Oxford, v. 33, n. 11, p. 1983-1992, Nov 2006.

WOLFE, A. D. ISSR techniques for evolutionary biology. **Molecular Evolution: Producing the Biochemical Data, Part B**, v. 395, p. 134-144, 2005.

WOMBLE, W. H. Differential Systematics. **Science**, Washington, v. 114, n. 2961, p. 315-322, 1951.

YE, C. J. et al. R-ISSR as a new tool for genomic fingerprinting, mapping, and gene tagging. **Plant Molecular Biology Reporter**, Adelaide, v. 23, n. 2, p. 167-177, 2005.

ZAGHLOUL, M. S. et al. Genetic diversity within and among sinai populations of three *Ballota* species (Lamiaceae). **Journal of Heredity**, Washington, v. 97, n. 1, p. 45-54, 2006.

ZAVODNA, M. et al. Pollinating fig wasps: genetic consequences of island recolonization. **Journal of Evolutionary Biology**, Basel, v. 18, n. 5, p. 1234-1243, 2005.

ZIETKIEWICZ, E. et al. Genome fingerprinting by simple sequence repeat (SSR)-anchored polymerase chain-reaction amplification. **Genomics**, San Diego, v. 20, n. 2, p. 176-183, 1994.

SEGUNDA PARTE

ARTIGO PRELIMINAR: CONSERVAÇÃO GENÉTICA DE *Ficus bonijesulapensis* R.M. Castro EM FLORESTAS DECIDUAIS SOBRE AFLORAMENTOS CALCÁRIOS

RESUMO

Ficus bonijesulapensis é endêmico em florestas estacionais decíduais sobre afloramentos calcários que estão distribuídos em disjunções nos domínios Cerrado e Caatinga. Espécies deste gênero são consideradas recursos-chave em florestas tropicais, pois fornecem alimento durante o período de escassez de outros recursos e, adicionalmente, auxiliam na recomposição de comunidades vegetais. Portanto, a conservação destas espécies em sua área de ocorrência natural além de manter a estrutura das comunidades, proporciona a manutenção da viabilidade das populações em longo prazo e de sua diversidade genética. Assim, com o auxílio de nove *primers* ISSR foram analisadas a diversidade, a estrutura genética e os padrões espaciais de variabilidade e descontinuidade genética de 15 populações de *F. bonijesulapensis*. Foram obtidos 75 fragmentos polimórficos, a diversidade genética (H_e) foi de 0,37 e a porcentagem de locos polimórficos foi de 100%. A AMOVA demonstrou que a maior parte da diversidade se encontra dentro das populações (77%), valor relativamente baixo para espécies perenes e alógamas. Isto pode ser reflexo do baixo fluxo alélico (1,10), o qual provavelmente é limitado devido ao isolamento dos afloramentos onde a espécie ocorre. A estrutura genética bayesiana demonstrou que os genótipos dos indivíduos amostrados podem ser distribuídos em seis grupos. Porém, não há um padrão espacial de variabilidade genética como confirmado pelo Teste de Mantel ($r= 0.06$, $P=0.68$). Foram propostas seis unidades operacionais (UO's) visando à capacidade das UO's em manterem populações mínimas viáveis e maior variabilidade genética.

Palavras-chave: Diversidade genética. Genética da paisagem. Unidades operacionais. Triangulação de Delaunay.

ABSTRACT

Ficus bonijesulapensis is endemic to seasonally dry forests on limestone outcrops and are arranged in disjunction areas at the Cerrado and Caatinga. Species of this genus are considered key resources in tropical forests providing food during periods of scarcity of other resources and, additionally, help in restoration of plant communities. Therefore, conservation of these species in their natural range while maintaining the structure of communities, contributes to the maintenance of the long-term population viability and their genetic diversity. We used 9 ISSR primers to analyze the diversity, structure, spatial patterns of variability and genetic discontinuities of 15 populations of *F. bonijesulapensis*. 75 polymorphic bands were obtained, genetic diversity (H_e) was 0,37 and the percentage of polymorphic loci was 100%. AMOVA showed that most of the diversity is within populations (77,18%) as expected in long lived and outcrossing plants. This may reflect the low gene flow (1,10), which is probably limited due to the isolation of the outcrops where the species occurs. Bayesian genetic structure showed that all individuals genotypes sampled can be divided into six groups. However, there isn't a spatial pattern of genetic variability according to the multivariate correlogram and that was confirmed by Mantel's test ($r= 0.06$, $P=0.68$). Six management units (MU) were proposed aiming to the MU's ability to maintain minimum viable populations and greater genetic variability.

Keywords: Genetic diversity. Landscape genetics. Management units. Delaunay triangulation.

INTRODUÇÃO

As florestas tropicais representam uma fonte direta e indireta de recursos e, a sua exploração, vem alterando os ecossistemas de forma irreversível. Assim, o aumento de interesse em conservar estas áreas pode ser observado pelo número crescente de estudos disponíveis em literatura. Porém, a maioria das informações provém de estudos em florestas tropicais úmidas, ao passo que as florestas tropicais estacionais, mesmo sofrendo com os impactos da destruição e fragmentação, são menos estudadas (FUCHS; HAMRICK, 2010; PENNINGTON; PRADO; PENDRY, 2000; RODAL; NASCIMENTO, 2006). As Florestas Estacionais ocorrem em áreas com distribuição sazonal de chuvas e isso influencia no grau de decidualidade da vegetação, dividindo estas florestas em semidecíduais e decíduais (CARVALHO, 2009; MURPHY; LUGO, 1986).

As mudanças de temperatura e precipitação sazonal que ocorreram durante o período Quaternário, influenciaram a história da vegetação e clima ao longo da América do Sul e Central (OLIVEIRA-FILHO; FONTES, 2000). Assim, padrões de distribuição da vegetação que emergiram devido às flutuações climáticas favoreceram o desenvolvimento de hipóteses que pudessem explicar como estas diferenças úmido-secas no clima poderiam ter influenciado na conformação disjunta das florestas estacionais (PRADO, 2000).

No Brasil, as Florestas Estacionais Decíduais (FED) são encontradas nos domínios Caatinga e Cerrado, e são consideradas como remanescentes de extensas vegetações de semiárido que, segundo Prado e Gibbs (1993) e Pennington et al. (2004), teriam se expandido, durante um período glacial mais seco e frio ocorrido no Pleistoceno, pelo Brasil Central e alcançado partes da Amazônia, enquanto ocorria a contração das florestas tropicais a áreas mais úmidas. Assim, o padrão de distribuição que observamos hoje seria resultado do

aumento da umidade e reexpansão de áreas florestais úmidas (PRADO, 2000; PRADO; GIBBS, 1993).

As FED se desenvolvem sobre diferentes tipos de solo como os afloramentos rochosos que, por comportarem espécies que são capazes de sobreviverem às condições climáticas extremas, além de condições edáficas particulares, são consideradas como ecossistemas peculiares e centros de diversidade (FELFILI et al., 2007; POREMBSKI; BARTHLOT, 2000). Estas características ressaltam a importância de mais estudos serem realizados nestes afloramentos, já que são áreas que vêm sofrendo intensa degradação devida, principalmente, à exploração por mineradoras (PORTO et al., 2008; SILVA; SCARIOT, 2004).

A espécie *Ficus bonijesulapensis* R.M. Castro (Moraceae), endêmica de florestas decíduas sobre afloramentos, foi descrita por Castro e Rapini em 2006, e ainda são escassas as informações sobre a biologia desta espécie. Porém, o gênero *Ficus*, ao qual a espécie pertence, é bastante conhecido pela interação mutualística entre as figueiras e suas vespas polinizadoras. Além disso, outro papel importante que as figueiras desempenham é ser um recurso-chave, pois, por florescerem assincronicamente durante o ano todo, fornecem alimento para frugívoros e, adicionalmente, sua dispersão auxilia no processo de recomposição de comunidades vegetais (HERRE et al., 2008; NASON; HAMRICK, 1997; PEREIRA, 2006; SHANAHAN et al., 2001).

Mesmo assim, os estudos que levam em consideração a estrutura genética populacional, o sistema reprodutivo e diversidade genética ainda são escassos (DICK et al., 2008; NAZARENO et al., 2009). A conservação da diversidade genética é importante para manter a capacidade evolutiva de uma espécie em responder às mudanças ambientais e também manter a viabilidade de suas populações em longo prazo (TORO; CABALLERO, 2005).

Desta forma, os parâmetros genéticos populacionais podem ser estimados a partir dos dados obtidos com o uso de marcadores moleculares baseados na amplificação da sequência de DNA. Assim, é possível analisar a diversidade e estrutura genéticas (dentro e entre populações) e compreender a dinâmica dos alelos nestas populações (CAVERS et al., 2005; ROLDAN-RUIZ et al., 2000; ZAGHLOUL et al., 2006).

A estrutura genética de uma população é moldada pela interação dos fatores evolutivos como mutação, seleção, migração e deriva genética, e influenciada pelo tamanho populacional, ciclo de vida das espécies e o fluxo alélico. Este último fator é o resultado tanto da eficiência dos dispersores e polinizadores em alcançar outras populações como do isolamento entre elas (LOVELESS; HAMRICK, 1984; NYBOM; BARTISH, 2000). Este isolamento entre as populações pode ocorrer devido às barreiras, que podem ser elementos da paisagem como estradas, corpos d'água e cordilheiras ou mesmo aspectos como umidade, temperatura ou tolerância química, e a identificação destas barreiras é feita com o auxílio da Genética da Paisagem (MANEL et al., 2003; STORFER et al., 2007). Ao identificar o padrão espacial da estrutura genética, podem ser propostas as chamadas Unidades Operacionais (UO). Estas UO's seriam populações geograficamente distintas e geneticamente divergentes que, uma vez identificadas poderiam aperfeiçoar as estratégias de conservação *in situ* e até mesmo ser um auxílio na coleta de amostras para coleções de germoplasma (DINIZ-FILHO; TELLES, 2002; MANEL et al., 2003).

Como as FED sobre afloramentos rochosos apresentam um isolamento histórico, possivelmente *F. bonijesulapensis* apresenta elevada diversidade genética entre as populações e a existência de barreiras naturais entre as populações pode estar ocasionando a descontinuidade genética entre elas. Além disso, espera-se que as populações mais próximas geograficamente sejam geneticamente mais similares.

Assim, o objetivo deste trabalho foi descrever os níveis de diversidade e estrutura genética intra e interpopulacional e estudar os padrões espaciais de variabilidade genética, com a finalidade de verificar a existência de autocorrelação espacial das populações de *Ficus bonijesulapensis*, delineando as possíveis unidades operacionais para sua conservação.

MATERIAL E MÉTODOS

Locais de coleta e amostragem das populações

A amostragem foi realizada em áreas de Floresta Estacional Decidual sobre afloramento de calcário onde há a ocorrência da espécie *Ficus bonijesulapensis*. Estas áreas são encontradas distribuídas em manchas ao longo do território brasileiro e estão localizadas no mapa (Figura 2). As amostras foram coletadas durante uma expedição pelo Brasil Central, nos seguintes estados brasileiros: Bahia, Goiás, Minas Gerais e Piauí.

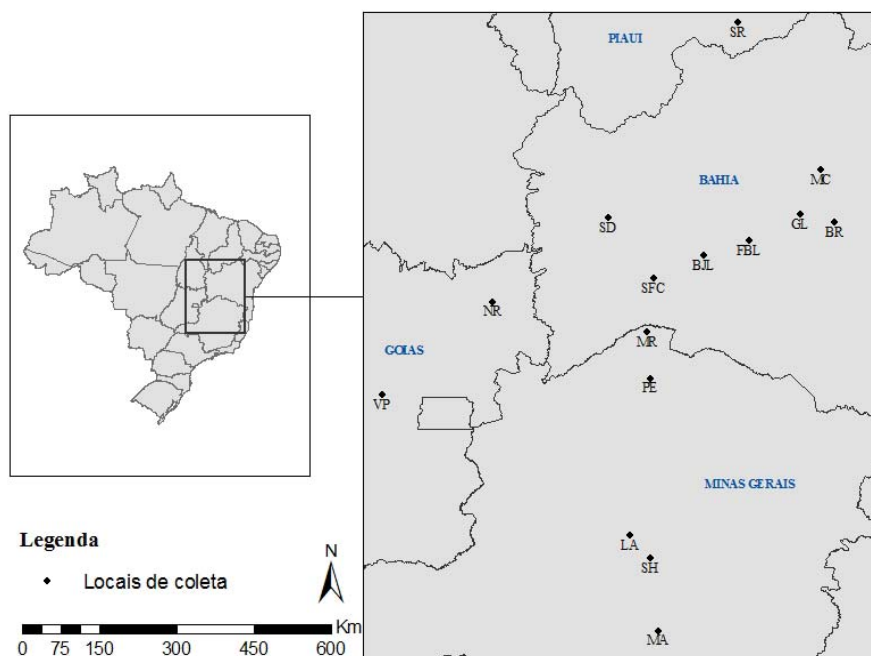


Figura 2 Localização geográfica das populações amostradas de *Ficus bonijesulapensis*

Foram amostradas árvores de 15 locais de ocorrência da espécie, totalizando 189 indivíduos. É importante ressaltar que cada local de ocorrência foi definido como uma população e, o número de indivíduos encontrados em cada local corresponde ao tamanho populacional da espécie em cada uma das áreas, ou seja, foram coletadas amostras de todos os indivíduos presentes em cada área. A Tabela 1 relaciona os municípios onde as populações de *F. bonijesulapensis* foram coletadas e suas respectivas identificações, as coordenadas geográficas e o tamanho amostral.

As amostras foliares coletadas de cada indivíduo foram acondicionadas em sacos plásticos contendo sílica gel, identificadas e conduzidas ao Laboratório de Conservação Genética de Espécies Arbóreas (DCF) da Universidade Federal

de Lavras (UFLA). Posteriormente, este material foi armazenado em freezer a -80° C até o momento da extração do DNA.

Tabela 1 Identificação, município, coordenadas geográficas e tamanho amostral das populações de *Ficus bonijesulapensis*

Identificação	Município	UF	Coordenadas geográficas (Lat./Long.)	Tamanho amostral (n)
SR	São Raimundo Nonato	PI	08°59'33"S/42°40'54"W	14
BJL	Bom Jesus da Lapa	BA	13°02'35"S/43°16'35"W	13
GL	Gruta Lapa Doce	BA	12°19'53"S/41°36'23"W	13
BR	BR-242	BA	12°27'38"S/40°59'52"W	5
FBL	Mocambo	BA	12°47'22"S/42°29'37"W	3
MC	Morro do Chapéu	BA	11°33'06"S/41°14'14"W	18
SD	São Desidério	BA	12°22'52"S/44°56'58"W	17
SFC	São Félix do Coribe	BA	13°26'42"S/44°09'41"W	2
NR	Nova Roma	GO	13°50'45"S/46°57'96"W	17
VP	Vila Propício	GO	15°27'59"S/48°53'42"W	10
PE	Januária	MG	15°10'24"S/44°13'30"W	12
MR	Juvenília	MG	14°22'49"S/44°16'51"W	14
LA	Lassance	MG	17°54'00"S/44°34'51"W	11
MA	Matozinhos	MG	19°33'09"S/44°04'14"W	20
SH	Santo Hipólito	MG	18°17'41"S/44°13'11"W	20
Total	Total			189

Caracterização das áreas

A Tabela 2 mostra a caracterização das áreas onde foram obtidas as amostras foliares dos indivíduos de *F. bonijesulapensis*.

Tabela 2 Caracterização das áreas de coleta de amostras foliares de *Ficus bonijesulapensis*

Localidades	Bioma	Características	Área*	Interferência antrópica
São Raimundo Nonato	Caatinga hiperxerófila do Cristalino	FED sobre afloramento	4 ha	Pastagem; ocorrência de fogo; criação de animais (caprinos, gado)
Bom Jesus da Lapa	Caatinga hiperxerófila e arbórea do Cristalino	FED preservada	20 ha	Pastagem; extração de calcário; criação de caprinos
Gruta Lapa Doce	Caatinga hiperxerófila	FED sobre solo calcário; floresta secundária no entorno	0,5 ha	
BR 242	Caatinga rupícola	FED sobre solo calcário	0,5 ha	
Mocambo	Caatinga do Cristalino	Área pequena e longe de outros afloramentos circundada por pastagem	0,5 ha	
Morro do Chapéu	Caatinga hiperxerófila	Caatinga preservada próximo à entrada da caverna; solo raso; a espécie se desenvolve próximo a parede de afloramentos	4 ha	
São Desidério	Caatinga arbórea	Limite entre Caatinga e Cerrado; contínuo de vegetação bem preservado; transição de FED com Cerrado no	200 ha	

sudeste da Bahia				
São Félix do Coribe	Caatinga arbórea	FED sobre afloramentos bem preservada e com elementos de caatinga	500 ha	
Januária	Caatinga	Afloramentos calcários; limite entre floresta decidual preservada, floresta semidecidual e veredas	2000 ha	
Juvenília	Caatinga arbórea	FED preservad; entorno com presença de floresta primária	500 ha	
Nova Roma	Cerrado	Floresta decídua; cerradão	70 ha	
Vila Propício	Cerrado	Localizada dentro da depressão do rio Paranã	5 ha	Pastagem e retirada de calcário
Lassance	Cerrado	FED devastada, envolta por floresta decidual e cerradão Localizada dentro da depressão do rio Paranã	5ha	Retirada de calcário
Santo Hipólito	Mata Atlântica	Floresta decídua desenvolvida sobre solo profundo; córregos; capoeira	100 ha	Pastagem no entorno
Matozinhos	Mata Atlântica	FED em afloramento dentro do domínio de floresta semidecidual	30 ha	Pastagens

*valores aproximados

Extração do DNA e amplificação por meio de marcadores ISSR

Para a extração do DNA foi utilizado o método descrito por Mogg e Bond (2003) de acordo com (VIEIRA et al., 2010). As amostras foliares foram maceradas utilizando-se areia lavada, PVP e 600 µL de tampão de extração, o qual constituiu de 100 mM de Tris pH 8,0; 50 mM de EDTA 0,5 M pH 8,0; 500 mM de NaCl 5 M; 0,7% de SDS 7%; 50 µg.mL⁻¹ de Proteinase K (10 mg.mL⁻¹) e 50 µg.mL⁻¹ de RNase (10 mg.mL⁻¹). O DNA precipitado, após ultima lavagem em etanol 100%, foi deixado em temperatura ambiente para secagem e posteriormente foi solubilizado em TE.

As reações para amplificação do DNA foram realizadas em termociclador GeneAmp PCR System 9700. Foram efetuados 37 ciclos de amplificação constituídos de uma etapa de iniciação de 2 minutos em 94 °C, seguido por uma etapa de desnaturação em 94 °C por 15 segundos, uma etapa de ligação do *primer* ISSR ao DNA molde (pareamento) em 42 °C por 30 segundos, e uma etapa de extensão em 72 °C, por 1 minuto. Ao final, ocorreu a etapa de extensão aos 72 °C, por 7 minutos.

O volume total de cada amostra amplificada foi 12 µl: 2 µl de DNA adicionados a 10µl de mix de reação [1,2 µl de tampão PCR 10X (constituído de 500 mM de Tris-HCl pH 8,0; 200 mM de KCl; 2,5 mg/mL de BSA; 200 mM de Tartazine e 1% de Ficol), 1,2 µl de dNTP + MgCl₂ (dNTP a 2,5 mM; MgCl₂ a 25 mM), 0,15 µl de Taq polimerase (5 u/µl) e 2 µl de *primer* (2 µM) e completado o volume final com água ultrapura].

Os produtos da amplificação foram submetidos à eletroforese em gel de agarose 1,5%, corado com brometo de etídeo (5 mg/mL). Posteriormente, os géis foram fotografados em luz UV e, em cada um deles foi utilizado marcador de DNA (*ladder*) de 1 kb para estimar o tamanho molecular dos fragmentos amplificados. Foram testados 37 *primers* para identificar quais deles

apresentaram o melhor perfil de fragmento, para isso foram escolhidas aleatoriamente quatro amostras de DNA do conjunto total de indivíduos.

Análise dos dados

A partir das fotografias dos géis, foram registradas a ausência (0) ou presença (1) dos fragmentos ISSR amplificados para a construção da matriz binária utilizada nas análises estatísticas.

- Análise do número ótimo de bandas polimórficas

O número ótimo de bandas polimórficas foi analisado no programa GENES (CRUZ, 2001) pelo método *bootstrap*, e para ser considerado ideal para estimar a diversidade genética, o valor de estresse, o qual indica o ajuste entre a matriz original e a matriz simulada, deve ser menor que 0,05.

- Diversidade e estrutura genética

Os parâmetros de diversidade genética: porcentagem de locos polimórficos (P), número de alelos efetivos (n_e), número de alelos observados (n_a), diversidade genética de Nei (H_e), índice de Shannon (I) e fluxo gênico (Nm), além da identidade e distância genética de Nei (1978), foram calculados usando o programa POPGENE (v. 1.32) (YEH et al, 1997).

Para estimar o conteúdo de informação polimórfica (PIC) foi utilizada a fórmula $PIC = 2P_i(1-P_i)$, onde P_i é a frequência de fragmentos polimórficos amplificados e $1-P_i$ é a frequência do alelo nulo. O PIC indicou a eficiência dos *primers* ISSR utilizados, em detectar polimorfismo entre dois indivíduos, ou seja, a capacidade de cada marcador ser encontrado em dois estados diferentes (ausência/presença) em duas plantas retiradas aleatoriamente da população. Assim, ele pode variar entre os valores 0, para marcadores considerados

monomórficos a 0,5, para aqueles presentes em 50% das plantas e ausentes nos outros 50% (ROLDAN-RUIZ et al., 2000).

A análise de variância molecular (AMOVA) foi estimada por meio do programa ARLEQUIN v.3.1 (EXCOFFIER; LAVAL; SCHNEIDER, 2005), para determinar a estruturação da variabilidade genética dentro e entre as populações.

A similaridade genética entre as populações foi calculada com base no coeficiente de Jaccard com o auxílio do programa NTSYS v. 2.11X (ROHLF, 2000). A matriz de similaridade obtida foi usada para a construção de um dendrograma pelo método UPGMA (método de agrupamento de média aritmética não ponderada). O NTSYS também foi utilizado para obter a correlação entre as distâncias geográficas e genéticas, entre as populações, e sua significância foi avaliada pelo teste de Mantel (10.000 permutações).

- Análise bayesiana de divergência genética

A divergência genética θ^B entre os pares de populações foi obtida por meio da estatística Bayesiana (HOLSINGER; LEWIS; DEY, 2002), com auxílio do programa HICKORY v. 1.1 (HOLSINGER; LEWIS, 2003). Neste programa, o valor θ^B é calculado por média de quatro modelos diferentes, *full model*, $\theta^B = 0$, *free f* e $f = 0$. As simulações são obtidas pelo método de Cadeias Markovianas pelo método de Monte Carlo (MCMC) que aproximam a distribuição *a posteriori* do f e do θ^B para qualquer tipo de dado genético (TELLES, 2005).

O modelo *full model* estima os valores de θ^B e f . Os modelos θ^B e f assumem que estes parâmetros sejam iguais a zero, respectivamente, e o modelo *free f*, escolhe valores aleatórios de f . Isto é devido aos marcadores dominantes apresentarem estimativas de f tendenciosas (especialmente quando o número amostral é pequeno). Para a escolha do melhor modelo que se ajusta aos dados, são comparados os valores de “*deviant information criterion (DIC)*” sendo escolhido o modelo com menor valor de DIC (BATISTINI et al, 2009).

- Descontinuidade genética e padrões espaciais

Para identificar a descontinuidade dos dados genéticos no espaço geográfico foi utilizado o programa BARRIER (MANNI; GUERARD; HEYER, 2004). As 15 populações amostradas foram conectadas pelo método de triangulação de *Delaunay* de acordo com suas coordenadas geográficas. As barreiras foram identificadas a partir do algoritmo de Monmonier (MANNI; GUERARD; HEYER, 2004).

Para avaliar o padrão de estrutura espacial entre as populações, com o auxílio do programa NTSYS, foram calculados coeficientes a partir da correlação entre as distâncias genéticas (θ^B) e matrizes de conectividade espacial. Para obter cada matriz, classes de distância geográfica foram definidas de maneira a manter o mesmo número de combinações entre populações em cada uma dessas classes e, quando a distância geográfica entre os pares de populações se encontra dentro destas classes é atribuído o valor 1,00. Foi utilizado o teste de Mantel para avaliar a significância destes coeficientes de correlação matricial, os quais foram relacionados com o aumento das distâncias geográficas, resultando em um correlograma multivariado (TELLES et al., 2007).

A partir do correlograma de Mantel foram propostas unidades operacionais (UO's) para conservação da variabilidade genética, de acordo com a metodologia proposta por Diniz-Filho e Telles (2002). Assim, as populações indicadas como UO's, são definidas conforme o padrão espacial encontrado e a distância mínima entre estas UO's é o valor do intercepto no eixo das abscissas.

- Estrutura genética bayesiana

Ainda foi realizada uma análise de estrutura genética populacional fundamentada no modelo de agrupamento bayesiano com o auxílio do programa STRUCTURE v. 2.3 (PRITCHARD; STEPHENS; DONNELLY, 2000; HUBISZ et al., 2009). Os indivíduos são probabilisticamente agrupados de

acordo com seus genótipos em k populações, assumindo que não existem locos ligados. Além da estruturação, o modelo é capaz de identificar a proporção de genoma proveniente de outros grupos. O conjunto de parâmetros assumiu o modelo ‘*admixture*’ com frequências de alelos correlacionadas, e as simulações foram executadas em *burn-in* de 50.000 e 100.000 repetições, com valores de k variando de 1 a 15 populações. O número de populações será identificado de acordo com o modelo k que apresentar o maior valor $\text{LnP}(D)$ resultante das simulações.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para a condução do estudo de diversidade e conservação genética de *Ficus bonijesulapensis*, foram testados 37 *primers*, dos quais nove foram selecionados por apresentarem melhor perfil de amplificação para serem codificados. Estes *primers* produziram 75 fragmentos, sendo que o número mínimo de fragmentos por *primer* foi 5 (JOHN e UBC 825) e, o máximo 18 (UBC 857), e a média foi de 8 fragmentos. A Figura 3 apresenta o perfil de amplificação do *primer* UBC 841 em indivíduos de *F. bonijesulapensis*. Os valores de PIC calculados para cada *primer* utilizado variaram de 0,33 a 0,49. O PIC define a eficiência que uma classe de marcadores possui para a detecção de polimorfismos entre dois indivíduos (REZENDE et al., 2009). Assim valores que sejam maiores que 0 (monomorfismo) já serão capazes de detectar o polimorfismo. Os marcadores utilizados no estudo apresentaram alta informatividade, pois o valor médio foi de 0,46 (Tabela 3).

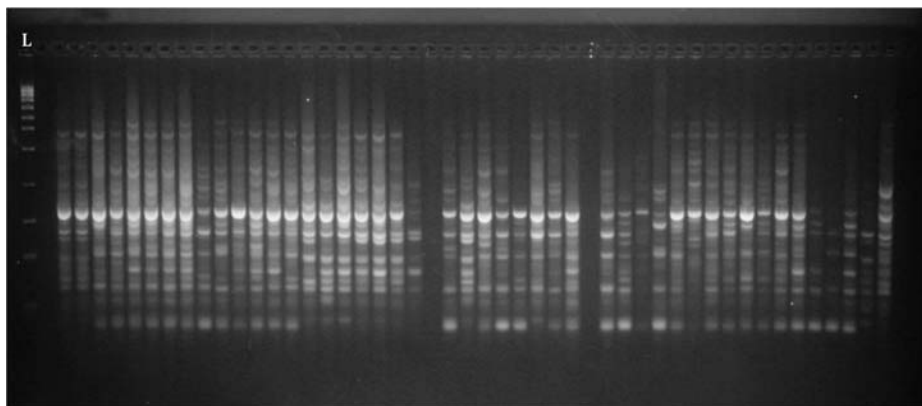


Figura 3 Produtos da amplificação de DNA de indivíduos de *F. bonijesulapensis* em gel de agarose a partir do primer UBC 841. Coluna L: ladder 1kb

Tabela 3 *Primers* ISSR selecionados para amplificação com suas sequências de bases, número de fragmentos amplificados (locos) e Conteúdo Informativo de Polimorfismo (PIC)

Nome do <i>primer</i>	Sequência (5' - 3')	Número de locos	PIC
JOHN (AG)7-YC	AGA GAG AGA GAG AGYC	5	0,48
UBC 811 (GA)8-T	GAG AGA GAG AGA GAG AC	6	0,49
UBC 825 (AC)8T	ACA CAC ACA CAC ACA CT	5	0,49
UBC 827 (AC)8G	ACA CAC ACA CAC ACA CG	7	0,49
UBC 835 (AG)8-YC	AGA GAG AGA GAG AGA GYC	8	0,48
UBC 841 (GA)8-YC	GAG AGA GAG AGA GAG AYC	11	0,49
UBC 842 (GA)8-YG	GAG AGA GAG AGA GAG AYG	7	0,33
UBC 844 (CT)8-RC	CTC TCT CTC TCT CTC TRC	8	0,46
UBC857 (AC)8YG	ACA CAC ACA CAC ACA CYG	18	0,47
Média		8	0,46

- Análise do número ótimo de bandas polimórficas

O número de locos polimórficos de 63 foi considerado ótimo para analisar seguramente a diversidade genética obtida pelos *primers* ISSR. O valor de estresse observado (0,049) foi menor que 0,05 e a correlação foi de 0,97 (Gráfico 1). Esta análise realizada por *bootstrap* é importante porque os trabalhos realizados para estimar a variabilidade genética variam quanto ao número de locos polimórficos. Tardin et al. (2003), ao estudarem a diversidade genética de *Lactuca sativa* L. por meio de marcadores RAPD que é um marcador dominante, assim como os ISSR, verificaram que o número ótimo de 50 fragmentos apresentou boa precisão para estimar a diversidade e recomendou este valor para futuros estudos com *L. sativa*. Brandão (2008) estimou que 55 fragmentos seriam suficientes para estudar a espécie *Myrcia splendens* por meio de marcadores ISSR.

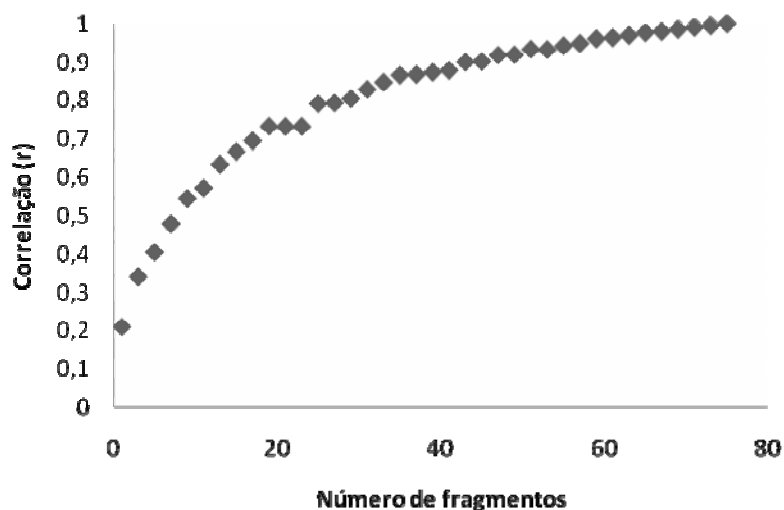


Gráfico 1 Correlação entre o número de fragmentos polimórficos e o valor de estresse (r) obtido por meio de *bootstrap*

- Diversidade e estrutura genética

Os nove *primers* selecionados geraram 75 fragmentos polimórficos (100%). A porcentagem de locos polimórficos observada em cada população variou entre 12% (São Félix do Coribe / BA) a 90% (Lassance / MG). A média de alelos observados foi de 2,0, sendo que a população SFC apresentou o menor valor (1,12) e a população LA apresentou o valor máximo de 1,91. O número de alelos efetivos mínimo foi de 1,08 (SFC) e o valor máximo foi de 1,63 na população MA (Matozinhos / MG) (Tabela 4).

Tabela 4 Estimativas de diversidade em quinze populações de *Ficus bonijesulapensis*. n: número de indivíduos; n_a : número de alelos observados; n_e : número de alelos efetivos; H_e : diversidade genética de Nei; P: porcentagem de locos polimórficos e Nm: fluxo alélico

Populações	n	n_a	n_e	H_e	I	P(%)
SR	14	1,68 (0,47)	1,47 (0,41)	0,26 (0,21)	0,38 (0,30)	68,00
MC	18	1,71 (0,46)	1,44 (0,37)	0,26 (0,20)	0,38 (0,28)	70,67
GL	13	1,68 (0,47)	1,44 (0,39)	0,25 (0,20)	0,37 (0,29)	68,00
BR	5	1,61 (0,49)	1,40 (0,40)	0,23 (0,21)	0,34 (0,29)	61,33
FBL	3	1,21 (0,41)	1,13 (0,27)	0,08 (0,15)	0,12 (0,23)	21,33
BJL	13	1,83 (0,38)	1,56 (0,37)	0,32 (0,19)	0,46 (0,26)	82,67
SFC	2	1,12 (0,33)	1,08 (0,23)	0,05 (0,14)	0,07 (0,20)	12,00
SD	17	1,73 (0,45)	1,51 (0,42)	0,28 (0,21)	0,41 (0,29)	73,33
MR	14	1,85 (0,36)	1,58 (0,35)	0,33 (0,18)	0,48 (0,24)	85,33
PE	12	1,64 (0,48)	1,45 (0,41)	0,25 (0,21)	0,36 (0,30)	64,00
NR	17	1,81 (0,39)	1,48 (0,34)	0,28 (0,18)	0,43 (0,25)	81,33
VP	10	1,84 (0,37)	1,55 (0,38)	0,31 (0,19)	0,46 (0,25)	84,00
LA	11	1,91 (0,29)	1,58 (0,34)	0,33 (0,16)	0,49 (0,21)	90,67
SH	20	1,79 (0,41)	1,49 (0,36)	0,28 (0,18)	0,42 (0,26)	78,67
MA	20	1,89 (0,31)	1,63 (0,34)	0,35 (0,16)	0,52 (0,22)	89,33
Total	189	2,00(0,0)	1,66(0,29)	0,37(0,12)	0,55(0,15)	100

(): desvio padrão

A diversidade genética de Nei (1978) (H_e), assumindo equilíbrio de Hardy-Weinberg, variou de 0,05 (SFC) a 0,35 (MA), com uma média de 0,37 e o Índice de Shannon (I), apresentou média de 0,55, variando de 0,07 (SFC) a 0,52 (MA). Barbosa et al. (2010), verificou por meio de marcadores RAPD, que o H_e da espécie *Palicourea coriacea* (Rubiaceae), uma espécie de ocorrência no Cerrado, foi de 0,296, $P = 100\%$ e um $I = 0,565$, e consideraram que a espécie apresentou um nível alto de diversidade genética. Batista et al. (2008), estudando a variabilidade genética por meio de marcadores ISSR, de *Tibouchina papyrus* (Melastomataceae) – espécie restrita a campos rupestres ocorrentes no Cerrado – encontraram um H_e de 0,23, P de 60% e I de 0,34.

A espécie criticamente ameaçada *Dimorphandra wilsonii* (Fabaceae), que ocorre em áreas restritas no estado de Minas Gerais, e sua congênere *D. mollis* de ampla distribuição foram estudadas por meio de marcadores ISSR, por Souza e Lovato (2010), onde obtiveram um $H_e = 0,124$, $P = 40\%$ $I = 0,190$ e $H_e = 0,190$, $P = 70,4\%$ e $I = 0,297$, respectivamente. Estes resultados demonstraram que a espécie *D. wilsonii* possui menor diversidade genética quando comparada à sua congênere, reforçando a necessidade de preservação das áreas de ocorrência natural da espécie. Quando comparados, os valores de P , H_e e I obtidos para *F. bonijesulapensis* foram altos nas populações amostradas.

A variabilidade genética dentro e entre as populações é um reflexo da interação de diferentes processos como distribuição geográfica, fragmentação e isolamento das populações, sistema reprodutivo, mutação, deriva genética, fluxo gênico entre outros (NYBOM; BARTISH, 2000). Espécies perenes e alógamas geralmente apresentam maiores valores de diversidade dentro das populações quando comparadas àquelas anuais e autógamas (HU et al., 2010; NYBOM; BARTISH, 2000; SHAO et al., 2009).

De acordo com a AMOVA, a maior parte da variabilidade genética ocorreu dentro das populações (77,18%), um valor considerado médio (Tabela

5). O fluxo gênico foi de 1,10, sugerindo que a troca de alelos entre as populações é baixa.

Tabela 5 Análise da variância molecular (AMOVA) em quinze populações de *Ficus bonijesulapensis*. GL = graus de liberdade e SQ = soma do quadrado dos desvios.

Fonte de Variação	GL	SQ	Componentes da variância	Varição Total (%)
Entre populações	14	530,782	2,39797	22,82
Dentro de populações	174	1411,091	8,10972	77,18
Total	188	846,109	4,50803	

Em estudo realizado com a espécie mediterrânea *Juniperus phoenicea*, que apresenta algumas populações dispersas em uma ampla área geográfica, foi encontrada maior variabilidade genética dentro das populações (76,5%) e o fluxo gênico foi estimado em 1,8. Os autores atribuíram este isolamento geográfico ser a principal barreira ao fluxo gênico entre as populações amostradas (MELONI et al., 2006).

Nason, Herre e Hamrick (1998), avaliaram os efeitos da fragmentação, pela análise de paternidade, em populações de espécies de figueiras que ocorrem em baixa densidade, no Panamá. Os resultados demonstraram que as flores são fertilizadas por pólen de um grande número de diferentes polinizadores (18 a 55) e, devido à baixa densidade em que estas espécies ocorrem, foi estimada uma distância de dispersão das vespas e pólen de 6 a 14 km nas populações. Shanahan et al. (2001), encontraram uma distância de dispersão de 55 km e

Zavodna et al. (2005) estimaram uma distância de 40 km de dispersão das vespas do figo.

As figueiras geralmente são alógamas e sua polinização é conhecida devido à relação mutualística com as vespas do figo (Agaonidae). Harrison (2003) sugere que estas vespas são carregadas pelo vento a longas distâncias, e, devido à sua capacidade olfativa, conseguem captar o odor exalado pelas inflorescências receptivas das figueiras.

É importante notar que o sucesso reprodutivo das figueiras depende diretamente da presença da vespa do figo, assim, a fragmentação pode resultar em efeitos negativos na reprodução e genética, tanto para as figueiras como para suas polinizadoras (NASON; HAMRICK, 1997).

O próprio isolamento dos afloramentos onde *F. bonijesulapensis* ocorre já limita a dispersão da espécie. Além disso, as áreas amostradas encontram-se circundadas por diferentes paisagens como vegetação de Cerrado e Caatinga, áreas agrícolas, cadeias de montanhas, bacias hidrográficas diferentes e aglomerados urbanos, o que pode dificultar o movimento de polinizadores e dispersores, contribuindo para a diferenciação entre as populações.

Como pode ser observada na Tabela 6, a distância genética entre as populações de *F. bonijesulapensis* variou entre 0,03 (entre SH e VP) a 0,47 (entre SFC e FBL). A distância genética foi classificada por Nei (1978) em três classes: baixa quando a distância for menor que $< 0,05$, média quando estiver entre 0,05 e 0,15, e alta, quando $> 0,15$. Assim, a média de distância genética entre as populações (0,17) foi alta.

Tabela 6 Estimativas de identidade (acima da diagonal) e distância genética (abaixo da diagonal) calculadas pelo método de Nei (1978), entre as populações de *Ficus bonijesulapensis* (os valores mínimos e máximos estão representados em negrito)

Populações	SR	MC	GL	BR	FBL	BJL	SFC	SD	MR	PE	NR	VP	LA	SH	MA
SR	**	0,95	0,93	0,88	0,67	0,79	0,77	0,83	0,80	0,85	0,86	0,90	0,81	0,88	0,90
MC	0,05	**	0,94	0,88	0,69	0,78	0,79	0,84	0,80	0,84	0,86	0,87	0,80	0,87	0,87
GL	0,07	0,06	**	0,93	0,71	0,85	0,77	0,84	0,83	0,86	0,87	0,88	0,82	0,89	0,89
BR	0,12	0,13	0,07	**	0,72	0,87	0,75	0,83	0,85	0,85	0,89	0,87	0,86	0,87	0,89
FBL	0,39	0,36	0,35	0,32	**	0,84	0,62	0,73	0,82	0,81	0,83	0,74	0,74	0,74	0,69
BJL	0,23	0,25	0,16	0,13	0,17	**	0,71	0,81	0,92	0,87	0,90	0,83	0,85	0,82	0,84
SFC	0,26	0,23	0,25	0,28	0,47	0,34	**	0,89	0,75	0,81	0,77	0,73	0,64	0,78	0,79
SD	0,18	0,16	0,17	0,18	0,31	0,20	0,11	**	0,88	0,91	0,90	0,89	0,85	0,93	0,91
MR	0,22	0,22	0,19	0,16	0,19	0,07	0,29	0,12	**	0,94	0,94	0,89	0,91	0,89	0,87
PE	0,16	0,16	0,14	0,15	0,20	0,13	0,20	0,09	0,06	**	0,96	0,89	0,86	0,90	0,88
NR	0,15	0,15	0,14	0,11	0,18	0,10	0,26	0,12	0,06	0,04	**	0,93	0,91	0,93	0,91
VP	0,11	0,14	0,12	0,13	0,29	0,18	0,32	0,11	0,11	0,11	0,07	**	0,94	0,97	0,94
LA	0,21	0,22	0,19	0,14	0,29	0,15	0,44	0,16	0,09	0,14	0,09	0,06	**	0,91	0,92
SH	0,12	0,13	0,11	0,13	0,30	0,19	0,24	0,07	0,11	0,10	0,07	0,03	0,09	**	0,96
MA	0,11	0,14	0,12	0,11	0,30	0,17	0,23	0,09	0,13	0,12	0,09	0,06	0,08	0,04	**

O Teste de Mantel revelou que a correlação entre a distância genética (NEI, 1978) e a distância geográfica não foi significativa ($r = -0,095$, $p = 0,27$), ou seja, pode-se dizer que a divergência genética entre as populações não pode ser explicada pelo modelo de isolamento por distância. Isto pode ser observado, por exemplo, quando comparamos os valores mínimos de distância genética entre as populações de Santo Hipólito (SH) e Vila Propício (VP) (0,03), e a distância geográfica entre elas de 588 km, com as populações de São Félix do Coribe (SFC) e Mocambo (FBL), que apresentaram a maior distância genética (0,47), porém com 194 km de distância entre elas. Souza, Kageyama e Sebbenn (2004) ao estudarem o efeito da fragmentação sobre a estrutura genética em populações de *Chorisia speciosa*, verificaram por meio do teste de Mantel, que a distância genética de Nei e a distância geográfica não estariam associadas, sendo que o coeficiente de correlação obtido foi negativo e não significativo ($r = -0,443$; $p = 0,736$), e sugeriram que a causa mais provável da diferença alélica entre as populações não seria explicada pela distância geográfica e sim por deriva genética.

A partir dos valores de identidade genética (NEI, 1978) obtidos, foi construído um dendrograma UPGMA onde podem ser observados os agrupamentos: (1) SR, MC, GL, BR; (2) SD, LA, VP, SH, MA; (3) BJL, MR, PE, NR, sendo que estes dois últimos agrupamentos estão mais próximos geneticamente (Figura 4). Já as populações SFC e FBL foram as mais distantes. Vale ressaltar que estas populações apresentaram os menores valores de H_e (Tabela 4) e possuem o menor número de amostras (2 e 3, respectivamente).

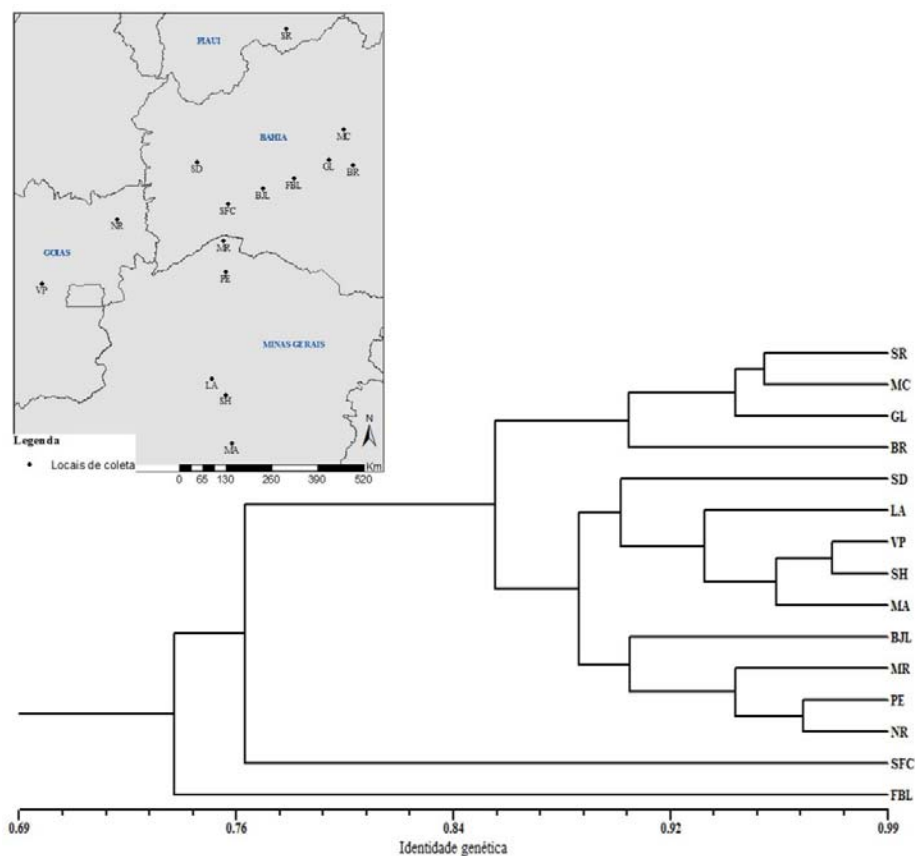


Figura 4 Dendrograma, obtido por método UPGMA, baseado na identidade genética de Nei entre as populações de *Ficus bonijesulapensis*

- Análise bayesiana de divergência genética

A análise bayesiana foi efetuada por quatro diferentes modelos e estimou-se o valor de θ^B em cada modelo (Tabela 7). Ao comparar os valores de DIC (*Deviance Information Criterion*) dos modelos, observou-se que o modelo *full model* se mostrou mais adequado para estimar a distância genética entre os pares de populações, devido ao menor valor de DIC (3772) obtido.

Tabela 7 Modelos testados por meio de análise Bayesiana entre 15 populações de *Ficus bonijesulapensis*: Estimativas de f , θ^B , SD (desvio padrão), IC (intervalo de confiança) e valores de DIC (*deviance information criterion*)

Modelo	θ^B			f			DIC
	média	SD	IC(95%)	média	SD	IC(95%)	
Full	0,18	0,02	(0,15;0,21)	0,21	0,12	(0,03; 0,49)	3772
$f = 0$	0,16	0,01	(0,14;0,18)	-	-	-	3793
$\theta^B = 0$	-	-	-	0,49	0,15	(0,21;0,79)	5753
Free f	0,22	0,22	(0,19;0,25)	0,5	0,29	(0,02;0,97)	3952

A Tabela 8 mostra as distâncias genéticas entre pares de populações obtidas a partir de θ^B . As populações SD e SFC apresentaram o menor valor (0,02) e FBL e SFC, o maior (0,48). Foram definidas 7 classes de distância geográfica e os limites superiores estão indicados na Tabela 9. De acordo com o teste de Mantel não houve correlação significativa entre as distâncias genéticas e as matrizes de distância geográfica ($r = 0,0614$; $p = 0,68$), ou seja, não existe um padrão espacial nas distâncias genéticas. Valores de correlação não significativos podem significar a existência de barreiras geográficas que levam a ausência de correlação entre distâncias genéticas e geográficas (HAOUARI; FERCHICHI, 2008).

Tabela 8 Matriz de distância genética baseada em valores θ^B (abaixo) e distância geográfica (Km) (acima) entre pares de populações de *Ficus bonijesulapensis*

Populações	SR	MC	GL	BR	FBL	BJL	SFC	SD	MR	PE	NR	VP	LA	SH	MA
SR	**	324	388	426	420	453	518	449	621	704	712	985	1007	1043	1178
MC	0,11	**	95	104	194	276	381	415	455	515	672	935	789	812	936
GL	0,14	0,12	**	68	109	198	303	364	368	423	605	861	694	717	842
BR	0,18	0,22	0,11	**	167	256	360	430	414	460	665	916	714	732	851
FBL	0,39	0,39	0,38	0,26	**	89	195	271	262	323	498	752	608	637	767
BJL	0,33	0,35	0,28	0,20	0,12	**	106	196	184	257	409	663	555	590	725
SFC	0,29	0,26	0,25	0,14	0,48	0,29	**	145	104	191	307	557	495	537	676
SD	0,34	0,30	0,28	0,27	0,39	0,30	0,02	**	233	319	272	546	612	659	799
MR	0,31	0,31	0,27	0,21	0,17	0,08	0,18	0,19	**	88	296	511	391	433	573
PE	0,28	0,28	0,25	0,24	0,28	0,20	0,16	0,15	0,08	**	330	503	304	345	485
NR	0,25	0,26	0,24	0,17	0,18	0,16	0,18	0,19	0,08	0,04	**	274	516	573	703
VP	0,21	0,24	0,21	0,14	0,26	0,24	0,18	0,18	0,16	0,14	0,09	**	533	588	683
LA	0,28	0,30	0,26	0,12	0,17	0,20	0,20	0,24	0,13	0,19	0,10	0,05	**	58	191
SH	0,26	0,26	0,20	0,22	0,36	0,31	0,18	0,13	0,19	0,17	0,13	0,04	0,13	**	140
MA	0,18	0,22	0,17	0,12	0,30	0,25	0,04	0,12	0,17	0,14	0,14	0,06	0,12	0,05	**

Tabela 9 Classes de distância geográfica utilizadas para o delineamento das matrizes de conectividade espacial. *distâncias em quilômetros

Classe	Limite superior*
1	192
2	304
3	419
4	515
5	621
6	749
7	1200

O perfil apresentado pelo correlograma multivariado (Gráfico 2) indicou que não existe padrão espacial, confirmando o resultado do teste de Mantel. Segundo Diniz-Filho e Telles (2002), quando é encontrado esse perfil, o intercepto pode ser ajustado em zero, já que, mesmo numa escala espacial mais fina, não é possível detectar autocorrelação. Este intercepto no eixo das abscissas indicaria a partir de qual distância geográfica seria possível delinear grupos geneticamente independentes, os quais seriam considerados como unidades operacionais. Assim, cada população estudada poderá ser utilizada como uma unidade operacional para conservação e acesso da diversidade genética para *F. bonijesulapensis*.

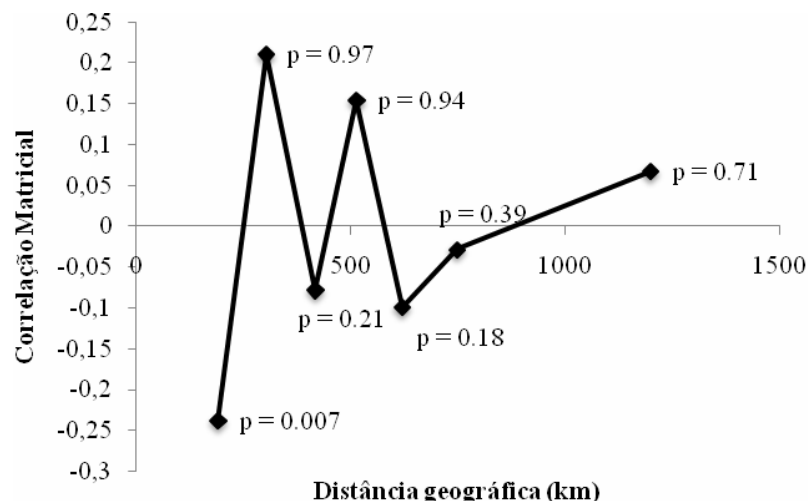


Gráfico 2 Correlograma de Mantel baseado na correlação entre distâncias θ^B para *Ficus bonijesulapensis* e as sete classes de distância geográfica. Valores significativos $p < 0,05$

- Descontinuidade genética e padrões espaciais

Porém, é necessário definir estratégias de conservação que possam realmente ser implantadas e, para isso, deve-se observar também o entorno das áreas e considerar que as características da paisagem influenciam nos diferentes padrões encontrados para cada espécie. Assim, foi feita a análise para verificar onde as barreiras físicas poderiam limitar a dispersão de alelos.

O mapeamento da distância genética θ^B , por meio da triangulação de *Delaunay*, mostrou uma série de descontinuidades genéticas (barreiras), separando até mesmo populações próximas geograficamente. Assim, formaram-se os seguintes agrupamentos: (1) SR e MC; (2) BR e GL; (3) FBL e BJL; (4) SD e SFC; (5) MR, PE e NR; (6) VP e LA e (7) SH e MA como pode ser observado na Figura 5.

As prováveis barreiras ao fluxo alélico identificadas são: (1) (2) serras pertencentes à Chapada Diamantina que dividem estas populações; (3) proximidade ao rio São Francisco; (4) rio Paranã e áreas agrícolas de grandes extensões; (5) Chapada dos Veadeiros; áreas antropizadas; (6) proximidade ao rio das Velhas e Serra do Cabral (Cadeia do Espinhaço).

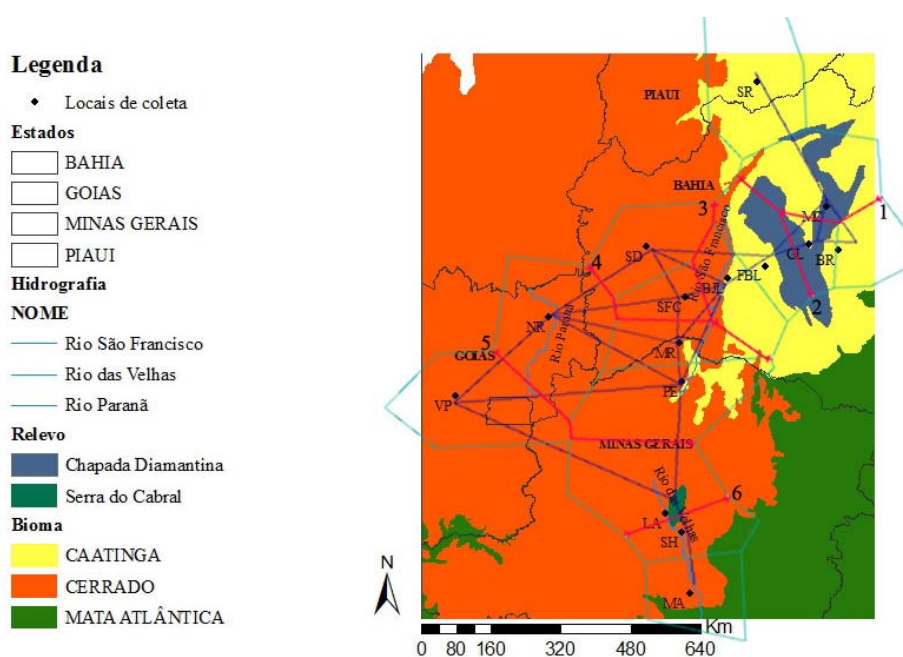


Figura 5 Mapa com a localização das populações de *Ficus bonijesulapensis* amostradas e redes de Delaunay. As discontinuidades genéticas entre as populações estão identificadas de acordo com a numeração e representadas pelas linhas em vermelho

- Estrutura genética bayesiana

Os resultados fornecidos por meio da triangulação também foram comparados aos obtidos pela análise Bayesiana da estrutura genética, onde, o

melhor modelo obtido para explicar esta foi o $k = 6$, ou seja, os genótipos mais próximos foram agrupados em 6 conjuntos. Este modelo foi escolhido porque apresentou o maior valor de probabilidade média, $\ln P(D)$, dentro dos valores simulados para cada k em 15 simulações (Gráfico 3). A distribuição dos genótipos formou seis agrupamentos, e pode ser visualizada a partir das cores representadas nas Figura 6 e 7. A Figura 7 está organizada de acordo com o valor de Q , ou seja, o coeficiente de participação de cada um dos 189 indivíduos em cada grupo.

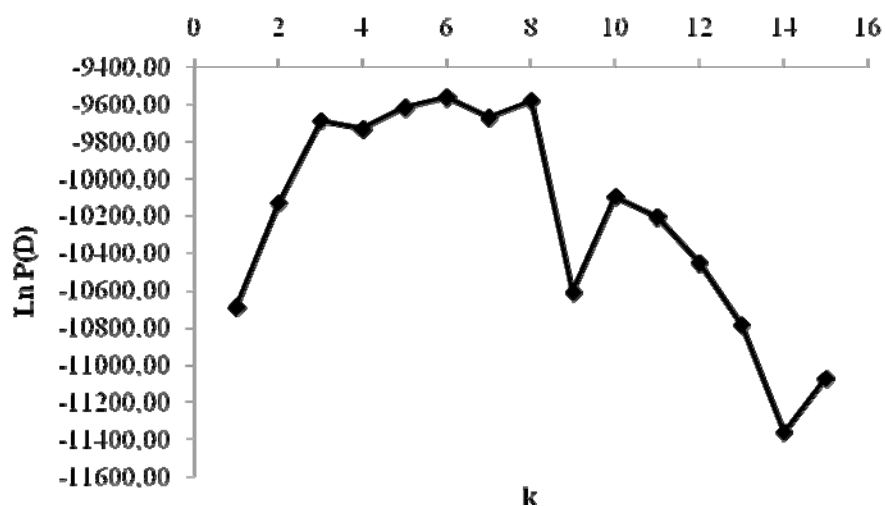


Gráfico 3 Valores de k e suas respectivas probabilidades médias, $\ln P(D)$, obtidos por meio da abordagem Bayesiana, demonstrando $k=6$ como o valor provável de agrupamentos do número total de indivíduos

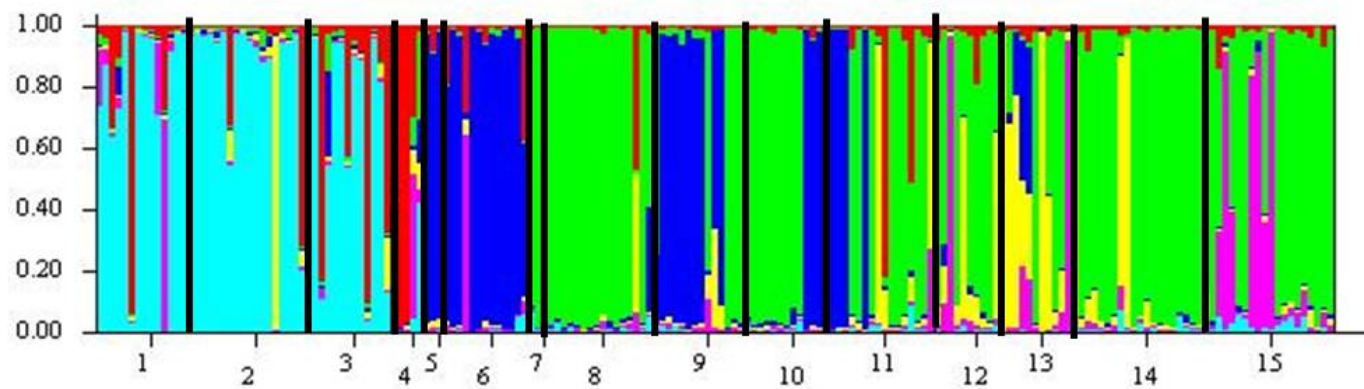


Figura 6 Proporção dos genótipos de *Ficus bonijesulapensis* em cada população amostrada. As linhas verticais representam os limites entre cada população e as cores representam o 6 agrupamentos. 1=SR, 2=MC, 3=GL, 4=BR, 5=FBL, 6=BJL, 7=SFC, 8=SD, 9=MR, 10=PE, 11=NR, 12=VP, 13=LA, 14=SH, 15=MA

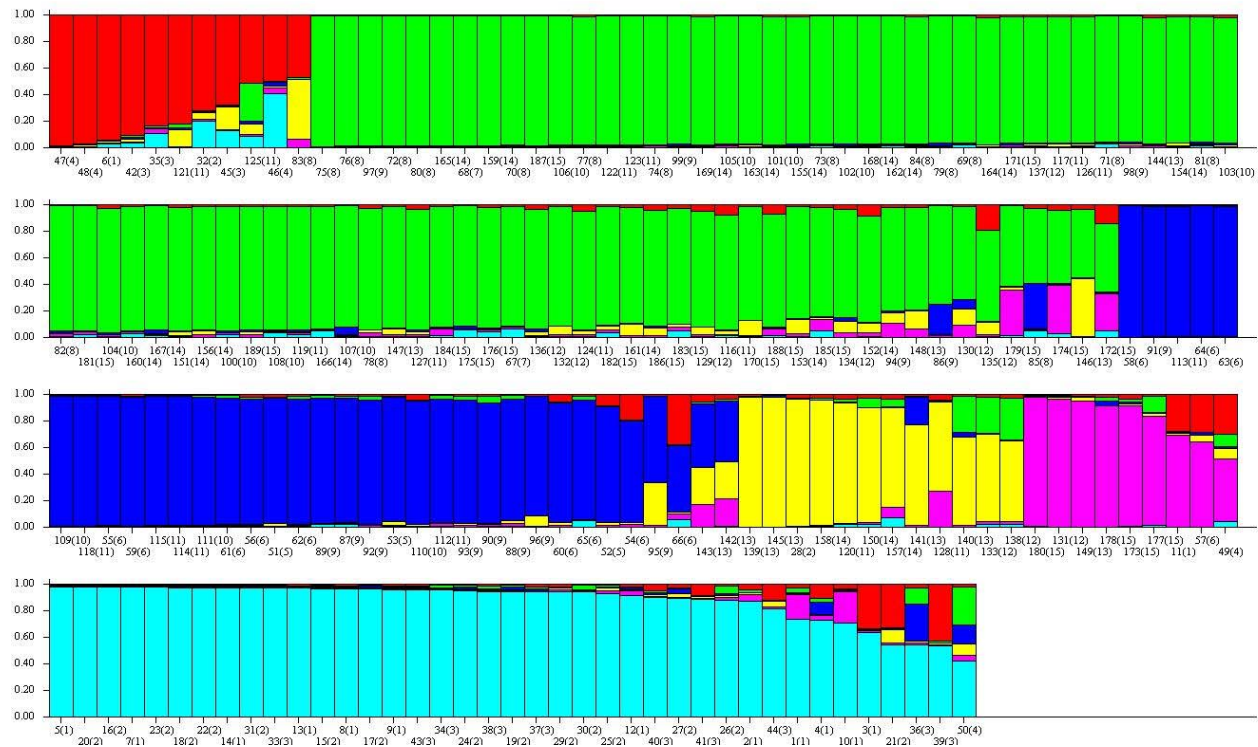


Figura 7 Estimativa da estrutura genética de *Ficus bonijesulapensis* a partir da análise Bayesiana (Programa Structure) determinou um k ótimo em 6 agrupamentos que estão representados por cores diferentes. Os indivíduos estão representados por linhas verticais e seus respectivos números. Cada (n) significa a população de origem. (1)=SR, (2)=MC, (3)=GL, (4)=BR, (5)=FBL, (6)=BJL, (7)=SFC, (8)=SD, (9)=MR, (10)=PE, (11)=NR, (12)=VP, (13)=LA, (14)=SH, (15)=MA

Para a conservação da diversidade genética foram propostas as unidades operacionais baseando-se nas discontinuidades e nos maiores valores de θ^B . Além disso, cada uma das UO's deve ser capaz de manter populações mínimas viáveis evitando a perda de variabilidade genética por deriva ou endogamia. Outro aspecto considerado foi que as UO's estivessem mais isoladas geograficamente, amostrando conjuntos genéticos mais diferenciados. Assim, as áreas escolhidas como unidades operacionais podem ser observadas na Figura 8. A primeira unidade seria a área localizada em São Raimundo Nonato – PI (SR), seguida pela área que compreende Gruta Lapa Doce – BA (GL) e BR-242 (BA) – (BR), a próxima unidade seria São Desidério – BA (SD), Juvenília – BA (MR), Vila Propício – GO (VP) e Matozinhos – MG (MA).

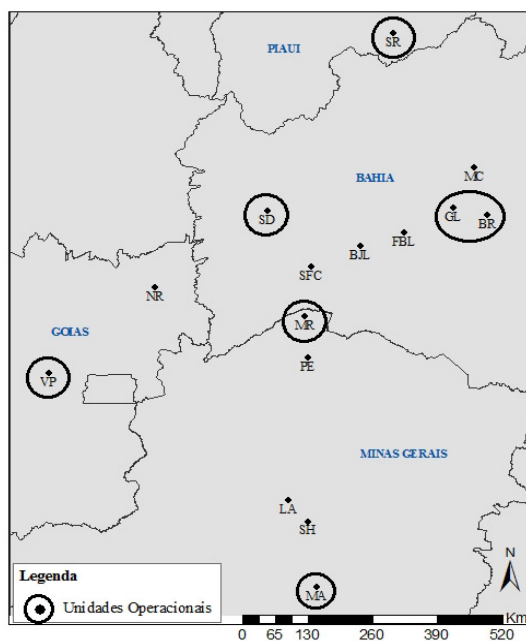


Figura 8 Delimitação das unidades operacionais para conservação da diversidade genética de *Ficus bonijesulapensis*

CONCLUSÃO

- As populações de *Ficus bonijesulapensis* apresentaram níveis altos de diversidade genética intrapopulacional, com exceção das populações São Félix do Coribe e Mocambo, o que pode ser resultado do pequeno número de indivíduos, 2 e 3 respectivamente.
- A variabilidade genética dentro das populações foi de 77% enquanto que entre as populações foi de 23%. Isto pode ser reflexo do baixo fluxo alélico (1,10), o qual provavelmente é limitado devido ao isolamento dos afloramentos onde *F. bonijesulapensis* ocorre, somado às diferentes paisagens de entorno (vegetação de cerrado e caatinga, áreas agrícolas, cadeias de montanhas, bacias hidrográficas diferentes e aglomerados urbanos).
- A estrutura genética inferida por meio de análise bayesiana, demonstrou que os genótipos de todos os indivíduos amostrados podem ser distribuídos em seis grupos distintos.
- Não foi encontrado um padrão espacial de variabilidade genética de acordo com o teste de Mantel o que foi confirmado pelo perfil do correlograma multivariado.
- As unidades operacionais foram definidas nas seguintes áreas: São Raimundo Nonato – PI, Gruta Lapa Doce e BR-242 – BA, São Desidério – BA, Juvenília – MG, Vila Propício – GO e Matozinhos – MG.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

É cada vez mais observado que o estabelecimento de programas para conservação genética necessita de propostas que realmente assegurem a manutenção de populações viáveis, ou seja, que estas populações apresentem maiores níveis de diversidade genética, o que pode assegurar a capacidade evolutiva da espécie. Para isso, é importante entender como os padrões de variabilidade genética são influenciados pelos elementos da paisagem detectando as potenciais barreiras que estariam limitando o fluxo alélico.

A identificação das discontinuidades genéticas entre as populações e sua relação com características ambientais é o objetivo da genética da paisagem, uma abordagem recentemente difundida para o estudo da conservação genética.

Aliada a isso, outra proposta para aperfeiçoar estratégias de conservação *in situ* e até mesmo de coleta de amostras para compor coleções de germoplasma, é através da identificação de padrões espaciais de estrutura genética. Com o auxílio da análise de autocorrelação espacial é possível identificar aquelas populações que sejam geneticamente divergentes a uma determinada distância geográfica que possam ser consideradas unidades operacionais para conservação.

Através dos resultados de diversidade e estrutura genética das populações de *Ficus bonijesulapensis* foram propostos locais que podem ser considerados como unidades operacionais para a espécie. Um fator importante a ser considerado é que *F. bonijesulapensis* é endêmico em florestas estacionais sobre afloramentos calcários que, atualmente, estão sendo degradados principalmente devido à exploração do calcário.

A espécie não apresentou uma associação entre a distância geográfica e a distância genética, ou seja, populações localizadas distantes não

necessariamente foram divergentes geneticamente, e ainda foi observado que existem descontinuidades genéticas entre populações próximas.

Considerando estes resultados, a definição das unidades operacionais visou à capacidade dessas em manter populações mínimas viáveis e com maiores níveis de variabilidade genética. Foram escolhidas as seguintes áreas: São Raimundo Nonato – PI, Gruta Lapa Doce e BR-242 – BA, São Desidério – BA, Juvenília – MG, Vila Propício – GO e Matozinhos – MG.

Os resultados obtidos podem ajudar a compreender como espécies que ocorrem em áreas naturalmente isoladas se comportam, e também podem ser extrapolados para entender como as espécies que se localizavam em áreas anteriormente contínuas e sofreram processo de fragmentação, estariam respondendo a este isolamento.

Além disso, a conservação *in situ* de *F. bonijesulapensis* assegura a permanência de muitas outras espécies, das interações ecológicas existentes e principalmente das áreas de afloramentos calcários cada vez mais ameaçadas.

REFERÊNCIAS

- BARBOSA, T. C. S. et al. Genetic characterization of natural populations of the medicinal plant *Palicourea coriacea* (Rubiaceae) with molecular markers. **Genetics and Molecular Research**, Ribeirão Preto, v. 9, n. 2, p. 695-704, 2010.
- BATISTA, E. C. et al. Variabilidade genética intrapopulacional utilizando marcadores ISSR em *Tibouchina papyrus*. In: IX SIMPÓSIO NACIONAL DO CERRADO e II SIMPÓSIO INTERNACIONAL SAVANAS TROPICAIS, 2008, Brasília. **Anais...**Brasília: EMBRAPA, 2008. Disponível em : http://www.cpac.embrapa.br/publicacoes/search_pbl/1?q=BATISTA,%20E.%20C.. Acesso em: 14 out. 2010.
- BATISTINI, A. P. et al. Genetic diversity of natural populations of *Anemopaegma arvense* (Bignoniaceae) in the Cerrado of São Paulo State, Brazil. **Genetics and Molecular Research**, Ribeirão Preto, v. 8, n. 1, p. 52-63. 2009.
- BRANDÃO, M. M. **Diversidade genética de *Myrcia splendens* (SW.) DC. (Myrtaceae) por marcadores ISSR em sistema corredor-fragmento semidecíduais no sul de Minas Gerais**. 2008. 80 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Florestal) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2008.
- CARVALHO, F.A. **Dinâmica da vegetação arbórea de uma floresta estacional decidual sobre afloramentos calcários no Brasil Central**. 2009. 134p. Tese (Doutorado em Ecologia) - Universidade de Brasília, Brasília, 2009.
- CAVERS, S. et al. Optimal sampling strategy for estimation of spatial genetic structure in tree populations. **Heredity**, Sheffield, v. 95, n. 4, p. 281-289, 2005.
- CRUZ, C. D. **Programa GENES: versão Windows**. Viçosa: UFV, 2001. 642 p.
- DICK, C. et al. Spatial scales of pollen and seed-mediated gene flow in tropical rain forest trees. **Tropical Plant Biology**, New York, v. 1, n. 1, p. 20-33, 2008.

DINIZ-FILHO, J. A. F.; TELLES, M. P. C. Spatial autocorrelation analysis and the identification of operational units for conservation in continuous populations. **Conservation Biology**, Malden, v. 16, n. 4, p. 924-935, 2002.

EXCOFFIER, L.; LAVAL, G.; SCHNEIDER, S. **ARLEQUIN: a software for population data analysis**. Version 3.1. Geneva: University of Geneva, 2007. Disponível em: <<http://cmpg.unibe.ch/software/arlequin3>>. Acesso em: 15 nov. 2010

FELFILI, J. M. et al. Floristic composition and community structure of a seasonally deciduous forest on limestone outcrops in Central Brazil. **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v. 30, p. 611-621, 2007.

FUCHS, E. J.; HAMRICK, J. L. Genetic diversity in the endangered tropical tree *Guaiacum sanctum* (Zygophyllaceae). **Journal of Heredity**, Washington, v. 101, n. 3, p. 284-291, 2010.

HAOUARI, M.; FERCHICHI, A. Study of genetic polymorphism of *Artemisia herba-alba* from Tunisia using ISSR markers. **African Journal of Biotechnology**, Nairobi, v.7, n.1, p.44-50, 2008.

HARRISON, R. D. Fig wasp dispersal and the stability of a keystone plant resource in Borneo. **Proceedings of the Royal Society of London Series B – Biological Sciences**, London, v. 270, p.76-79, 2003.

HERRE, E. A. et al. Evolutionary ecology of figs and their associates: recent progress and outstanding puzzles. **Annual Review of Ecology, Evolution and Systematics**, Palo Alto, v. 39, p. 439-458, 2008.

HOLDEREGGER, R. et al. Adaptive vs. neutral genetic diversity: implications for landscape genetics. **Landscape Ecology**, v. 21, n. 6, p. 797-807, Aug 2006.

HOLSINGER, K. E.; LEWIS, P. O.; DEY, D. K.. A Bayesian approach to inferring population structure from dominant markers. **Molecular Ecology**, Vancouver, v. 11, n. 7, p. 1157-1164, 2002.

HOLSINGER, K.E.; LEWIS, P.O. **HICKORY v. 1.1**. Department of Ecology & Evolutionary Biology, The University of Connecticut. 2003.

HU, Y. P. et al. Genetic diversity of wild populations of *Rheum tanguticum* endemic to China as revealed by ISSR analysis. **Biochemical Systematics and Ecology**, Oxford, v. 38, n. 3, p. 264-274, 2010.

HUBISZ, M. J. et al. Inferring weak population structure with the assistance of sample group information. **Molecular Ecology Resources**, Oxford, v. 9, n. 5, p. 1322-1332, 2009.

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.

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

MANNI, F. *et al.* Geographic patterns of (genetic, morphologic, linguistic) variation: How barriers can be detected by using Monmonier's algorithm. **Human Biology**, Detroit, v. 76, n. 2, p. 173-190, 2004.

MELONI, M. *et al.* Genetic variation in five Mediterranean populations of *Juniperus phoenicea* as revealed by inter-simple sequence repeat (ISSR) markers. **Annals of Botany**, London, v. 97, n. 2, p. 299-304, 2006.

MILLER, M. P. **Tools for population genetics analyses (TFPGA) 1.3**: A Windows program for the analysis of allozyme and molecular population genetic data. 1997.

MOGG, R. J.; BOND, J. M. A cheap, reliable and rapid method of extracting high-quality DNA from plants. **Molecular Ecology Notes**, Oxford, v. 3, n. 4, p. 666-668, 2003.

MURPHY, P. G.; LUGO, A. E. Ecology of tropical dry forest. **Annual Review of Ecology and Systematics**, Palo Alto, v. 17, p. 67-88, 1986.

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

NASON, J. D.; HERRE, E.A.; HAMRICK, J.L. The breeding structure of a tropical keystone plant resource. **Nature**, London, v. 391, n. 6668, p. 685-687, 1998.

NAZARENO, A.G. 2009. **Estrutura e diversidade genética de populações naturais de *Ficus* spp. (Moraceae) em fragmentos florestais no Estado de São Paulo**. 2009. 107 p. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2009.

NAZARENO, A. G.; CARVALHO, D. What the reasons for no inbreeding and high genetic diversity of the neotropical fig tree *Ficus arpazusa*? **Conservation Genetics**, Dordrecht, v. 10, n. 6, p. 1789-1793, 2009.

NAZARENO, A. G. et al. Transferability and characterization of microsatellite markers in two Neotropical *Ficus* species. **Genetics and Molecular Biology**, São Paulo, v. 32, p. 568-571, 2009.

NAZARENO, A.G.; SILVA, R.B.Q.; PEREIRA, R.A.S. Fauna de Hymenoptera em *Ficus* spp. (Moraceae) na Amazônia Central, Brasil. **Iheringia, Série Zoologia**, Porto Alegre, v. 97, p. 441-446, 2007.

NEI, M. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. **Genetics**, Austin, v. 89, n. 3, p. 583-590, July 20, 1978 1978.

NYBOM, H.; BARTISH, I. V. Effects of life history traits and sampling strategies on genetic diversity estimates obtained with RAPD markers in plants.

Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics, Zurich, v. 3, n. 2, p. 93-114, 2000.

OLIVEIRA-FILHO, A. T.; FONTES, M. A. L. Patterns of floristic differentiation among Atlantic forests in southeastern Brazil and the influence of climate. **Biotropica**, Zurich, v. 32, n. 4b, p. 793-810, 2000.

PENNINGTON, R. T. et al. Historical climate change and speciation: neotropical seasonally dry forest plants show patterns of both Tertiary and Quaternary diversification. **Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences**, London, v. 359, n. 1443, p. 515-538, March 29, 2004.

PENNINGTON, R.T.; PRADO, D.E.; PENDRY, C.A. Neotropical seasonally dry forests and Quaternary vegetation changes. **Journal of Biogeography**, Oxford, v. 27, n. 2, p. 261-273, Mar. 2000.

PEREIRA, R. A. S.. Interações antagonísticas de figueiras e psitacídeos. **Natureza On Line**, Espírito Santo, v. 4, p. 25-29, 2006.

POREMBSKI, S.; BARTHLOTT, W. Granitic and gneissic outcrops (inselbergs) as centers of diversity for desiccation-tolerant vascular plants. **Plant Ecology**, Perth, v. 151, n. 1, p. 19-28, 2000.

PORTO, P. A. F. et al. Composição florística de um inselbergue no agreste paraibano, município de Esperança, nordeste do Brasil. **Revista Caatinga**, Mossoró, v.21, n.2, p.214-223, abril/junho, 2008.

PRADO, D. E. Seasonally dry forests of tropical South America: from forgotten ecosystems to a new phytogeographic unit. **Edinburgh Journal of Botany**, Edinburgh, v. 57, n. 03, p. 437-461, 2000.

PRADO, D. E.; GIBBS, P. E. Patterns of species distributions in the dry seasonal forests of South-America. **Annals of the Missouri Botanical Garden**,

St. Louis, v. 80, n. 4, p. 902-927, 1993.

PRITCHARD, J. K.; STEPHENS, M.; DONNELLY, P. Inference of population structure using multilocus genotype data. **Genetics**, Austin, v. 155, n. 2, p. 945-959, 2000.

REZENDE, R. K. S. et al. Divergência genética entre cultivares de Gérbera utilizando marcadores RAPD. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 39, p. 2435-2440, 2009.

RODAL, M. J. N.; NASCIMENTO, L. M. The arboreal component of a dry forest in Northeastern Brazil. **Brazilian Journal of Biology**, São Paulo, v. 66, p. 479-491, 2006.

ROHLF, F.J. **Numerical taxonomy and multivariate analysis system version 2.11**. Applied Biostatistics, New York. 2000.

ROLDAN-RUIZ, I. et al. AFLP markers reveal high polymorphic rates in ryegrasses (*Lolium* spp.). **Molecular Breeding**, v. 6, p. 125-134, 2000.

SHANAHAN, M. et al. Fig-eating by vertebrate frugivores: a global review. **Biological Reviews**, London, v. 76, n. 4, p. 529-572, 2001.

SHAO, J. W. et al. Genetic diversity within and among populations of the endangered and endemic species *Primula merrilliana* in China. **Biochemical Systematics and Ecology**, Oxford, v. 37, n. 6, p. 699-706, 2009.

SILVA, L. A. D.; SCARIOT, A. Comunidade arbórea de uma floresta estacional decídua sobre afloramento calcário na Bacia do rio Paraná. **Revista Árvore**, Viçosa, v. 28, p. 61-67, 2004.

SOUZA, H. A. V. E.; LOVATO, M. B. Genetic diversity and structure of the critically endangered tree *Dimorphandra wilsonii* and of the widespread in the

Brazilian Cerrado *Dimorphandra mollis*: Implications for conservation. **Biochemical Systematics and Ecology**, Oxford, v. 38, n. 1, p. 49-56, 2010.

SOUZA, L.M.F.I.; KAGEYAMA, P.Y.; SEBBENN, A.M. Estrutura genética em populações fragmentadas de *Chorisia speciosa* St. Hil (Bombacaceae). **Scientia Forestalis**, Piracicaba, v. 65, p. 70-79, 2004

STORFER, A. et al. Putting the 'landscape' in landscape genetics. **Heredity**, Sheffield, v. 98, n. 3, p. 128-142, 2007

TARDIN, F. D. et al. Genetic diversity and determination of the optimum number of RAPD markers in lettuce (*Lactuca sativa* L.). **Acta Scientiarum: Agronomy**, Maringá, v. 25, n. 1, p. 1-5, 2003.

TELLES, M. P. C. **Estrutura genética populacional de *Physalaemus cuvieri* Fitzinger, 1826 (Anura: Leptodactylidae) e padrões de ocupação humana no estado de Goiás**. 2005. 135p. Tese (Doutorado em Ciências Ambientais) – Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2005.

TELLES, M. P. C. *et al.* Landscape genetics of *Physalaemus cuvieri* in Brazilian Cerrado: Correspondence between population structure and patterns of human occupation and habitat loss. **Biological Conservation**, Essex, v. 139, p. 37-46, 2007.

TORO, M. A.; CABALLERO, A. Characterization and conservation of genetic diversity in subdivided populations. **Philosophical Transactions of the Royal Society B-Biological Sciences**, London, v. 360, n. 1459, p. 1367-1378, Jul 2005.

VIEIRA, F. de A. et al. DNA extraction protocols and cpDNA *primers* to *Ficus bonijesulapensis* (MORACEAE). **Revista Caatinga**, Mossoró, v. 23, n. 4, p. 69-74, 2010.

YEH, F. C.; YANG, R. C.; BOYLE, T. B. J.; YE, Z. H.; MAO, J. X.
POPGENE, the user-friendly shareware for population genetic analysis
molecular biology and biotechnology centre. Edmonton. 1997.

ZAGHLOUL, M. S. et al. Genetic diversity within and among sinai populations of three *Ballota* species (Lamiaceae). **Journal of Heredity**, Washington, v. 97, n. 1, p. 45-54, 2006.

ZAVODNA, M. et al. Pollinating fig wasps: genetic consequences of island recolonization. **Journal of Evolutionary Biology**, Basel, v. 18, n. 5, p. 1234-1243, 2005.