



AFRÂNIO FARIAS DE MELO JÚNIOR

**DIVERSIDADE, ESTRUTURA GENÉTICA E
FENOLOGIA DE POPULAÇÕES NATURAIS DE
Cavanillesia arborea K. SCHUM NO NORTE DO
ESTADO DE MINAS GERAIS**

**LAVRAS - MG
2010**

AFRÂNIO FARIAS DE MELO JÚNIOR

**DIVERSIDADE, ESTRUTURA GENÉTICA E FENOLOGIA DE
POPULAÇÕES NATURAIS DE *Cavanillesia arborea* K. SCHUM NO
NORTE DO ESTADO DE MINAS GERAIS**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Florestal, área de concentração em Manejo Ambiental, para a obtenção do título de Doutor.

Orientadora
PhD. Dulcinéia de Carvalho

LAVRAS - MG

2010

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

Melo Júnior, Afrânio Farias de.

Diversidade, estrutura genética e fenologia de populações naturais de *Cavanillesia arborea* K. Schum no norte do Estado de Minas Gerais / Afrânio Farias de Melo Júnior. – Lavras: UFLA, 2010.

100 p. : il.

Tese (doutorado) – Universidade Federal de Lavras, 2010.

Orientador: Dulcinéia de Carvalho.

Bibliografia.

1. Florestas estacionais decíduais. 2. Variabilidade genética. 3. Fluxo gênico. 4. Fenologia. 5. Marcadores ISSR. I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.

CDD – 634.97317

AFRÂNIO FARIAS DE MELO JÚNIOR

**DIVERSIDADE, ESTRUTURA GENÉTICA E FENOLOGIA DE
POPULAÇÕES NATURAIS DE *Cavanillesia arborea* K. SCHUM NO
NORTE DO ESTADO DE MINAS GERAIS**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Florestal, área de concentração em Manejo Ambiental, para a obtenção do título de Doutor.

APROVADA em 06 de agosto de 2010.

Dr. Dario Alves de Oliveira	UNIMONTES
Dr.. Fábio Vieira Almeida	UFRN
Dr.. Henrique Maia Valério	UNIMONTES
Dr.. Rodrigo Oliveira Pessoa	UNIMONTES

PhD. Dulcinéia de Carvalho
Orientadora

LAVRAS - MG

2010

AGRADECIMENTOS

A Deus, por tudo.

À Professora Dulcinéia de Carvalho, pela orientação, dedicação, amizade e o grande apoio nos momentos difíceis que serão inesquecíveis.

A minha mãe, minha Karina e toda minha família pelo apoio incondicional.

Aos amigos, Fábio, e Murilo, pelo apoio inestimável, amizade e grande colaboração para realização deste trabalho.

Aos colegas do laboratório: Flávio Rodrigues, Rogério Carvalho, Daniele, Daniel, Gabriela, Alisson (Janú), Hugo, Elias, Cristiane, Joelma, Maria Fernanda, Anderson e tantos outros.

Ao Professor e amigo Dario da Unimontes, pelo apoio constante, financiamento de parte do trabalho e sugestões que contribuíram para esta tese. E ainda minhas colegas Sandra e Alessandra do Ágora por toda ajuda durante esse período. E ainda, minhas alunas do laboratório, Leide, Gabriela, Maria Fernanda e Ligiany.

Ao Professor Mário Marcos e ao Zé Carlos do PEMS pela ajuda durante os trabalhos de campo.

Aos amigos de ouro: Daniel Fabrício, Rodrigo Cotonete, Gabriel, Antônio, Jodnes, Nelinho, Bodinho, Edmilson, e Rômulo meu grande apoiador, e tantos outros.

Ao Projeto Tropi-dry é a Fapemig pelo financiamento do trabalho.

A FAPEMIG e UNIMONTES pela concessão da Bolsa PCRH.

A todos os colegas e amigos que convivi nesses quatro anos de curso.

A todos aqueles que, direta ou indiretamente, contribuíram para realização desse trabalho.

RESUMO

Nos últimos anos, as matas secas (Florestas Estacionais Deciduais) estão sob forte impacto de degradação e fragmentação, com consequência de ameaça à várias espécies de fauna e flora. Dentre as espécies arbóreas que se encontram ameaçadas de extinção, destaca-se *Cavanillesia arborea* K. Shum., característica da mata seca. Portanto, o conhecimento ecológico e genético das populações naturais é fundamental para o estabelecimento de estratégias eficazes de conservação genética. Este trabalho objetivou caracterizar a fenologia e variabilidade genética de populações de *C. arborea*, espécie de ocorrência nas matas secas do Norte do Estado de Minas Gerais com utilização de marcadores ISSR. Sete *primers* ISSR foram utilizados em 175 indivíduos distribuídos em cinco populações no norte de Minas Gerais, e geraram um total de 81 locos polimórficos. Os resultados indicaram altos níveis de diversidade genética dentro das populações. A heterozigosidade esperada (H_e) e o índice de Shannon (I) foram de 0,43 e 0,61, respectivamente. A AMOVA mostrou que a maior parte da diversidade genética ocorre dentro das populações (91,28% para o conjunto das populações). O fluxo alélico estimado para o conjunto das populações estudadas foi eficiente ($Nm = 5,22$), para contrapor os efeitos da deriva genética. Com uso do teste de Mantel foi possível constatar correlação positiva ($r = 0,8929$; $P=0,0330$) entre as distâncias genética e geográfica. Os estudos de estrutura genética espacial mostram que as populações FU e MO apresentam distribuição aleatória dos genótipos. Nas populações JAN, PC e MV foi observada estruturação genética espacial, com valores de S_p , que variaram entre 0,0005 a 0,0189. Em relação aos estudos fenológicos, a espécie apresentou as fenofases reprodutivas e vegetativas sazonais e influenciadas diferencialmente pelas variáveis ambientais de precipitação e umidade relativa. Os eventos reprodutivos ocorreram na estação seca com dispersão de frutos na estação chuvosa. A fenologia vegetativa foi influenciada por fatores climáticos, e provavelmente fatores fisiológicos que atuaram nos eventos fenológicos vegetativos. Assim, tendo em vista o conjunto de informações geradas neste trabalho, tanto do ponto de vista da estrutura genética quanto dos estudos fenológicos é de fundamental importância a preservação de grandes áreas de ocorrência da espécie para sua conservação.

Palavras-chave: Florestas estacionais deciduais. *Cavanillesia arborea*. Marcadores ISSR. Variabilidade genética. Fluxo gênico. Fenologia.

ABSTRACT

In recent years, the dry forests (Deciduous Seasonal Forests) are under severe impact of degradation and fragmentation, with the consequence of a threat to several species of fauna and flora. Among the arboreal species that are threatened of extinction, stresses the *Cavanillesia arborea* K. Shum, characteristic of the dry forest. Therefore, the genetic and ecological knowledge of the natural populations is fundamental to the establishment of effective strategies for genetics conservation. This study aimed to characterize the phenology and genetic variability of populations of *C. arborea*, a species of occurrence in dry forests of northern Minas Gerais State using ISSR markers. Seven ISSR *primers* were used in 175 individuals distributed in five populations in northern Minas Gerais, and generated a total of 81 polymorphic loci. The results indicated high levels of genetic diversity within populations. The expected heterozygosity (H_e) and the Shannon index (I) were 0.43 and 0.61, respectively. The AMOVA showed that most of genetic diversity occurs within populations (91.28% for the joint of populations). The allelic flow estimated for the joint of populations studied was efficient ($Nm = 5.22$), to contrast the effects of genetic drift. Using the Mantel test was possible to determine a positive correlation ($r = 0.8929$, $P = 0.0330$) between genetic and geographic distances. The studies of spatial genetic structure show that FU and MO populations show random distribution of genotypes. In populations JAN, PC and MV was observed spatial genetic structuration, with values of S_p , which ranged from 0.0005 to 0.0189. Regarding the phenological studies, the species showed reproductive and vegetative phenophases seasonal and influenced differentially by variables environmental and relative humidity. Reproductive events occurred in the dry season with dispersion of fruit in the rainy season. The vegetative phenology was influenced by climatic factors, and probably physiological factors that acted in the vegetative phenological events. Thus, in view of the joint of information generated in this work, both in terms of genetic structure as the study of phenology is of fundamental importance the preservation of large areas of occurrence of the species for its conservation.

Keywords: Deciduous seasonal forests. *Cavanillesia arborea*. ISSR makers. genetic variability. Allelic flow. Phenology.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	8
2	REFERENCIAL TEÓRICO	12
2.1	Florestas estacionais decíduais - matas secas	12
2.2	Cavanillesia arborea K. Schum (Malvaceae)	16
2.3	Diversidade e estrutura genética de plantas	18
2.4	Análise da diversidade e estrutura genética com uso de marcadores dominantes	21
2.5	Estrutura genética espacial	23
2.6	Marcador ISSR para caracterização genética de espécies vegetais	25
2.7	Estudos fenológicos	27
3	MATERIAL E MÉTODOS	30
3.1	Locais de estudo e coleta do material vegetal	30
3.2	Extração e amplificação do DNA genômico	35
3.3	Teste e seleção de primers ISSR	37
3.4	Fenologia	37
3.5	Análises dos dados moleculares e fenológicos	39
3.5.1	Identificação do número ótimo de fragmentos de DNA	39
3.5.2	Diversidade e estrutura genética	40
3.5.3	Estrutura genética espacial	41
3.5.4	Análises fenológicas	42
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	44
4.1	Fragmentos de DNA amplificados	44
4.2	Diversidade genética das populações analisadas	45
4.3	Estrutura genética das populações	49
4.4	Estrutura genética espacial	57
4.5	Eventos fenológicos	65
4.5.1	Caracterização climática da área de estudo	65
4.5.2	Fenologia reprodutiva	67
4.5.3	Fenologia vegetativa	72
5	CONCLUSÕES	77
6	CONSIDERAÇÕES FINAIS	79
	REFERÊNCIAS	81

1 INTRODUÇÃO

Os ecossistemas tropicais estão sendo fragmentados e alterados na proporção em que se expandem as atividades humanas sobre os ambientes. Dessa forma, as ações antrópicas colocam em risco a preservação de várias populações de espécies nativas, o que pode resultar em diminuição ou perda de biodiversidade.

Percebe-se ainda que todo o processo de desmatamento tem resultado na formação de fragmentos florestais esparsos, que constituem os últimos refúgios para muitas espécies vegetais e animais (ESPÍRITO-SANTO et al., 2002). De fato, o processo de fragmentação afeta a organização das comunidades naturais, especialmente porque reduz o hábitat das espécies e altera as condições climáticas locais (BIERREGAARD JUNIOR; DALE, 1997). Como consequência da perda de hábitat e da fragmentação tem sido descrita a diminuição do número de indivíduos em algumas espécies vegetais, e isso poderá comprometer a viabilidade dessas, uma vez que a sobrevivência das espécies depende da variabilidade genética existente em suas populações. Assim, é importante que estudos genéticos, tais como, distribuição da diversidade genética, distribuição espacial dos genótipos, fluxo gênico, taxas de cruzamento, dentre outros, sejam considerados nos programas de conservação.

Outra ferramenta importante para a compreensão dos processos biológicos associados às populações naturais é a fenologia das espécies, que estuda a ocorrência de eventos biológicos repetitivos, as causas de sua ocorrência em relação aos fatores bióticos e abióticos, e as interrelações entre as fases caracterizadas por esses eventos (FERRAZ et al., 1999; LIETH, 1974). Essas informações são de fundamental importância para o manejo florestal, funcionam como ferramenta de suporte para o desenvolvimento de estratégias conservacionistas da flora e fauna regional (FOURNIER, 1974). Além disto,

trabalhos de fenologia também fornecem bases para o entendimento dos papéis que os fatores ambientais exercem nas plantas, pela regulação fitohormonal, uma vez que inibem ou desencadeiam fenofases específicas (DIAS, 1995; LARCHER, 2000).

Tendo em vista os processos de fragmentação em curso destacam-se as florestas tropicais secas que são definidas como as fitofisionomias arbóreas que ocorrem com duas estações definidas como secas e úmidas, ao longo do ano (MURPHY; LUGO, 1986; SÁNCHEZ-AZOFEIFA et al., 2005b; VIEIRA; SCARIOT, 2006). Estas florestas são distribuídas nas Américas, África, Ásia e Oceania (MURPHY; LUGO, 1986). No Brasil, as matas secas são encontradas principalmente nas regiões central e nordeste do Brasil estendendo-se até o Norte de Minas Gerais (PRADO; GIBBS, 1993), ocupando cerca de 3% do território nacional. Ocorrem também na Amazônia em áreas esparsas, cuja composição florística difere daquelas do Brasil Central.

As matas secas formações residuais de climas secos do período Pleistocênico (de 10 mil a 1 milhão de anos atrás), quando estavam ligadas ao Chaco e à Caatinga, formando uma floresta única (RIZZINI, 1963). São ecossistemas extremamente ameaçados e, ao mesmo tempo, muito pouco estudados no mundo e principalmente no Brasil. Dessa forma, estudos genéticos e ecológicos fornecem informações importantes e básicas para o manejo e conservação desses ecossistemas.

No caso específico do Estado de Minas Gerais, diversas espécies podem estar ameaçadas, pois recentemente foi sancionada pelo Governo do Estado a Lei N°. 17.353/2008, que aumenta a possibilidade de desmatamento para 70% da comunidade arbórea secundária das Florestas Estacionais Deciduais e para 60% a cobertura florestal em estado primário, o que coloca definitivamente em risco as espécies contidas nesse ecossistema (MINAS GERAIS, 2008).

Uma das espécies de grande importância nesse ecossistema é a *Cavanillesia arborea* K. Schum.(Malvaceae), considerada uma das árvores-símbolo das matas secas. Devido ao grau de ameaça no qual as matas secas do norte do Estado de Minas Gerais se encontram e à distribuição restrita da *C. arborea*, estudos que permitam sua conservação e manejo são importantes, para sua manutenção no seu ambiente natural. De acordo com Oliveira-Filho et al. (1998), essa espécie ocorre no Brasil Central, abrangendo os estados de Minas Gerais, Bahia, Goiás e Espírito Santo.

Algumas questões podem ser levantadas a respeito das populações de *C. arborea*. É esperado que essas populações apresentem elevada variabilidade genética, principalmente, dentro das mesmas, visto que Zimback et al. (2004) relataram que espécies arbóreas, geralmente, apresentam maior variabilidade dentro das populações. Além disso, a espécie se reproduz, preferencialmente, por alogamia, conforme sugeriram Telles et al. (2003). Acredita-se ainda que populações mais distantes geograficamente sejam mais diferentes geneticamente, em decorrência do menor fluxo alélico entre essas, pois, Hardy e Sonké (2004) propõem que o isolamento pela distância é esperado devido à dispersão ser limitada. Espera-se responder também se as populações naturais de *C. arborea* possuem padrão aleatório de distribuição espacial dos genótipos.

A presente pesquisa é parte de um amplo projeto da Rede de Pesquisa Colaborativa (Collaborative Research Network-CRN) chamada “TROPI-DRY” (Tropical Dry Forests – Florestas Tropicais Secas), que incorpora pesquisadores do Canadá, Estados Unidos, México, Costa Rica, Venezuela e Brasil. Este grupo trabalhará em ecossistemas florestais tropicais decíduais localizados nestes países durante cinco anos. Assim, será realizado um esforço contínuo e sistemático para entender, integrar e comparar informações sobre florestas tropicais secas nas Américas em três níveis básicos: (1) no contexto da ecologia e biologia da conservação; (2) no contexto do uso da terra e mudanças na

cobertura vegetal ocorrendo nesta rica fronteira agrícola e (3) no contexto do desenvolvimento de políticas locais e nacionais que contribuem para a conservação destes ecossistemas.

Diante dessas considerações, e da escassez de dados genéticos das espécies das florestas estacionais decíduais, este trabalho teve como objetivo caracterizar a diversidade, estrutura genética e fenologia de populações naturais de *C. arborea* na região norte do Estado de Minas Gerais. Os objetivos específicos foram:

- a) quantificar os níveis de diversidade genética de cinco populações naturais de *C. arborea*;
- b) verificar a distribuição da variabilidade genética em cinco populações de *C. arborea*;
- c) verificar se existe correlação entre distâncias geográficas e genéticas das populações de *C. arborea* e;
- d) estudar a distribuição genética espacial das árvores; e
- e) caracterizar os padrões fenológicos e reprodutivos de *C. arborea*.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Florestas estacionais decíduais - matas secas

A definição de Florestas Estacionais Decíduais (FEDs) nas regiões tropicais é relativamente ampla e refere-se a formações arbóreas que ocorrem em regiões com duas estações (seca e chuvosa) bem definidas (MURPHY; LUGO, 1986; NASCIMENTO; FELFILI; MEIRELLES, 2004; SÁNCHEZ-AZOFEIFA et al., 2005b; VIEIRA; SCARIOT, 2006). Essa formação vegetal ocorre em manchas disjuntas em toda a região Neotropical, desde o México e Caribe até o sudeste do Brasil e os Chacos na Argentina (PENNINGTON; PRADO; PENDRY, 2000), sendo que a maior parte dos remanescentes encontra-se hoje na América do Sul (PENNINGTON; LEWIS; RATTER, 2006).

No Brasil, as FEDs são denominadas como matas secas e ocorrem em áreas restritas nas proximidades da Caatinga e no Norte de Minas Gerais (RIZZINI, 1963), ocupando uma área de 27.367.815ha, o que representa 3,21% do território do nacional (SEVILHA; SCARIOT; NORONHA, 2004).

Existe ainda grande controvérsia relacionada à nomenclatura desses ambientes. O termo Florestas Tropicais Secas (*Tropical Dry Forests*) também é utilizado como sinônimo de Florestas Estacionais Decíduais. Entretanto, nessa denominação estão também incluídas as Florestas Estacionais Semi-Decíduais, onde a vegetação perde menos de 50% da folhas durante certa época do ano (SCARIOT; SEVILLA, 2005). No norte de Minas Gerais, as Florestas Estacionais Decíduais são conhecidas como “matas secas” ou então como Caatinga arbórea (SANTOS et al., 2007). Existem também as Florestas Estacionais Decíduais de Encosta, ocorrentes em áreas de afloramento calcário no bioma Cerrado, conhecidas com Matas Secas de Calcário (NASCIMENTO; FELFILI; MEIRELLES, 2004) e as florestas decíduais não tropicais, localizadas

principalmente no sul do Brasil, onde as baixas temperaturas são responsáveis pela queda das folhas.

No Brasil, as Florestas Estacionais Deciduais estão associadas à diferentes tipos fitofisionômicos e regimes de estacionalidade em volume de precipitação e temperatura, topografia e características físicas e químicas dos solos (SCARIOT; SEVILLA, 2005). Essas florestas não apresentam associação com cursos d'água, ocorrendo nos interflúvios em solos mais ricos em nutrientes (RIBEIRO; WALTER, 1998), principalmente naqueles em que são encontradas concentrações relativamente altas de cálcio e magnésio (SCARIOT; FELFILI; SOUZA-SILVA, 2005). Na maioria das vezes, essas florestas estacionais formam fragmentos naturais descontínuos, com bordas definidas especialmente pela variação na qualidade do solo (NASCIMENTO; FELFILI; MEIRELLES, 2004; SALIS et al., 2004).

Estão distribuídas entre 100 a 1.800 metros acima do nível do mar, em regiões com precipitação média de 625 a 2.875 mm e temperaturas que variam entre 15 e 27°C (SCARIOT; FELFILI; SOUZA-SILVA, 2005; SEVILHA; SCARIOT; NORONHA, 2004). A vegetação é tipicamente decídua e na estação seca cerca de 70% dos indivíduos estão desfolhados (SCOLFORO; CARVALHO, 2006).

Na América do Sul as matas secas estão distribuídas de forma altamente fragmentada (PENNINGTON; LEWIS; RATTER, 2006). Segundo Prado e Gibbs (1993), as matas secas atuais representam um remanescente de uma floresta mais contínua do período seco do Pleistoceno que formava o Arco-pleistocênico. Posteriormente, com o aumento da temperatura e umidade, a partir do final do último período glacial, estas florestas podem ter retraído e atingido a distribuição atual. Caetano et al. (2008) realizaram um estudo de filogeografia de *Astronium urundeuva* (Anacardiaceae) nas matas secas

brasileiras e os resultados encontrados reforçam a hipótese de que essas matas exibiam uma formação mais contínua.

As matas secas estão sob forte ameaça de degradação e fragmentação, pois propiciam condições ambientais e biológicas menos estressantes para o uso e colonização humanas do que outras regiões, que tendem a apresentar variações climáticas mais drásticas (EWEL, 1999).

Como a maioria das espécies arbóreas presentes nas FEDs ocorre em baixa densidade, são dependentes de animais para realizar a polinização e dispersão de suas sementes e apresentam altas taxas de fecundação cruzada e sistemas reprodutivos que envolvem complexos mecanismos de auto-incompatibilidade. Todas essas características tornam esse ecossistema particularmente vulneráveis aos efeitos da fragmentação florestal (BAWA, 1974; HAMRICK; GODT, 1990).

Assim, as espécies arbóreas tropicais presentes nesses fragmentos correm o risco de extinguir-se, já que a variabilidade genética é primordial para as populações se adaptarem às mudanças ambientais (FRANKHAM; BALLOU; BRISCOE, 2008). E ainda, a partir da redução e subdivisão das populações causadas pelos processos de fragmentação, são observadas mudanças na riqueza e composição das espécies (MURCIA, 1995), no comportamento de polinizadores e dispersores, no sistema reprodutivo e no fluxo gênico das espécies vegetais (GONÇALVES, 2006). Modificações nos padrões de dispersão de sementes e pólen podem promover alterações na estrutura e na diversidade genética (FORÉ et al., 1992) devido aos fatores associados com a endogamia e a deriva genética (ELLSTRAND; ELAN, 1993; MENGES, 1991). Além disso, os incêndios e as mudanças microclimáticas que atingem mais intensamente as bordas dos fragmentos também alteram as taxas de mortalidade das árvores (VIANA; PINHEIRO, 1998).

Os poucos exemplos existentes de quantificação da perda da diversidade genética pela fragmentação se referem a espécies arbóreas e herbáceas de clima temperado, com poucos casos estudados de espécies arbóreas tropicais (BRANDÃO, 2008; FERNANDES, 2008; KAGEYAMA; GANDARA, 1998; MELO JÚNIOR et al., 2004). No caso das FEDs brasileiras, há negligência em termos de pesquisa e conservação, principalmente quando comparadas às Florestas Tropicais Úmidas, como a Amazônia e a Mata Atlântica. Além disso, apenas 3,92% delas são protegidos por Unidades de Conservação. Por este motivo, as taxas de desmatamento e o real estado de perturbação dos fragmentos de FEDs remanescentes são praticamente desconhecidos (SEVILHA; SCARIOT; NORONHA, 2004).

Existe uma lacuna em termos de pesquisa científica em Florestas Tropicais Secas em comparação às florestas tropicais úmidas. Entre 1945 e 2004, apenas 14% dos estudos realizados em florestas tropicais foram realizadas em ambientes secos, enquanto 86% foram realizados em regiões úmidas (SÁNCHEZ-AZOFEIFA et al., 2005b). Esse número é alarmante, considerando que 42% das florestas tropicais se enquadram na definição de Florestas Tropicais Secas (MURPHY; LUGO, 1986). Além disso, a informação científica sobre Florestas Tropicais Secas é fragmentada e limitada a poucas áreas, localizadas principalmente no México e na Costa Rica (SÁNCHEZ-AZOFEIFA et al., 2005a), e no Brasil principalmente no norte de Minas Gerais (ESPÍRITO-SANTO et al., 2009; NUNES et al., 2008; SANTOS et al., 2007).

Especificamente no Norte do estado de Minas Gerais, a vegetação expressa uma condição de sobrevivência ligada à deficiência hídrica, adaptada a um clima severo e com baixa precipitação anual distribuída em um curto período do ano e altas temperaturas (FERNANDES, 1998; SEVILHA; SCARIOT; NORONHA, 2004). Fisionomicamente, a região está incluída na transição dos domínios do Cerrado, onde estão localizadas as matas secas (RIZZINI, 1997).

Essas estão presentes em 78 dos 89 municípios que compõem a região Norte-Mineira, representando 78,13% desta formação vegetal em Minas Gerais (ZHOURI et al., 2008). Por isso, a região possui extrema importância botânica, apresentando fisionomia e florística bastante particulares (SANTOS et al., 2007). Além disso, possui grande potencial biológico, complexidade estrutural de ambientes, endemismos e risco de distúrbios, como a ocupação agrícola e agroflorestal, o que a torna prioritária para a conservação (SILVA et al., 2004).

Madeira et al. (2008), em um estudo sobre mudanças sucessionais em uma comunidade arbórea em fragmentos no Parque Estadual da Mata Seca, observaram que a *C. arborea* ocorreu em fragmentos em estágio intermediário de regeneração, com histórico de abandono há cerca de 17-25 anos, após o uso para a criação de gado, e em fragmentos em estágio avançado de regeneração, sem histórico de desmatamento nos últimos 50 anos.

2.2 *Cavanillesia arborea* K. Schum (Malvaceae)

Uma das espécies de grande importância da mata seca é a *Cavanillesia arborea* K. Schum (Figura 1), pertencente a família Malvaceae, a qual possui cerca de 243 gêneros e aproximadamente 4225 espécies (STEVENS, 2003) distribuídas em todo o mundo, ocorrendo predominantemente nas regiões tropicais (CRONQUIST, 2001). No Brasil, Barroso et al. (1977) mencionaram a ocorrência de 31 gêneros e 200 espécies de Malvaceae (ANGIOSPERM PHYLOGENY GROUP - APG, 2003).

Cavanillesia arbórea, conhecida popularmente por imbaré, barriguda-branca, árvore-de-lã, barriguda-lisa, essa espécie ocorre no nordeste brasileiro desde o Piauí até o oeste da Bahia, norte de Minas Gerais e leste de Tocantins, encontrada também em menor frequência na Mata Atlântica do Espírito Santo e sul da Bahia (LORENZI, 1998; OLIVEIRA-FILHO et al., 1998).

A espécie possui de 15-20m de altura, podendo atingir até 30m de altura em solos de alta fertilidade, com tronco ventricoso na porção mediana, devido ao armazenamento de água nos tecidos parenquimáticos, que atinge até 150 cm de diâmetro. As folhas são alternas, simples, em número de 6 a 10 por ramo e apresenta folhagem decídua durante o período seco do ano, normalmente de abril a outubro. O florescimento ocorre entre os meses de agosto e setembro com as plantas sem folhas, e os frutos amadurecem no período entre setembro e outubro. A madeira é leve e de pouca resistência, não sendo utilizada comumente para fins comerciais (LORENZI, 1998).

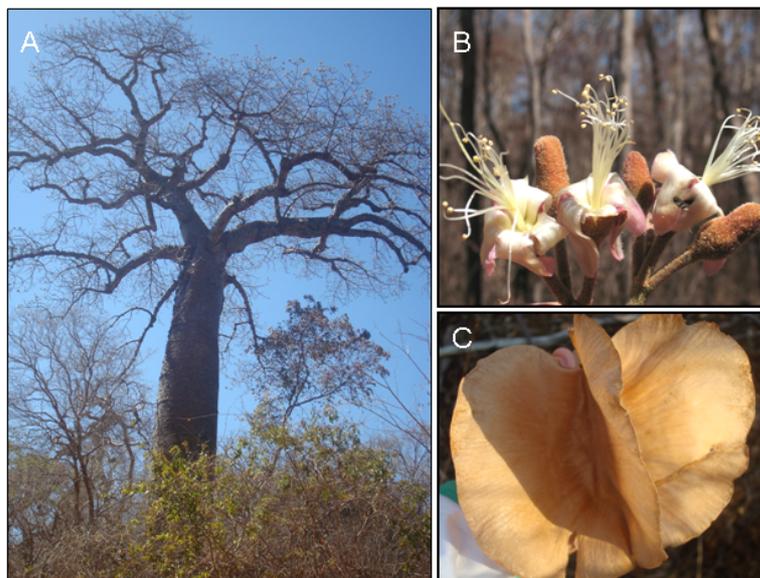


Figura 1 *Cavanillesia arborea* K. Shum (Malvaceae): A: Árvore; B: Flor; C: Fruto. Foto tirada por Maria Fernanda Maia Ferreira, em 2008

Seus frutos são dispersos por anemocoria (PEZZINI, 2008). Quanto à polinização, o tipo mais relatado para a família é a quiropterofilia (polinização por morcegos), o qual está associado às flores em forma de pincel, posicionadas

no ápice dos ramos, com odor fétido, grande produção de pólen e antese noturna (EGUIARTE; RIO, 1987; FISCHER; JIMENEZ; SAZIMA, 1992).

Devido aos altos índices de fragmentação nas áreas de mata seca, a *C. arborea* encontra-se figurando na lista das espécies ameaçadas de extinção (MENDONÇA; LINS, 2000). Diante disso, o conhecimento da quantidade e distribuição da variabilidade genética das suas populações naturais é importante para o estabelecimento de estratégias eficazes de conservação genética. A implementação de estratégias eficazes de conservação *in situ* depende da disponibilidade de conhecimentos fundamentais genéticos e ecológicos a respeito das áreas candidatas a funcionar como reservas genéticas. Sem estes conhecimentos, o trabalho de conservação genética tende a não ser eficiente.

Para *Cavanillesia arborea*, é de fundamental importância que as estratégias de conservação sejam implementadas uma vez que a espécie corre sério risco de extinção nas áreas de matas secas, pois as populações tendem a desaparecer num período curto de tempo. As observações no campo demonstram que os moradores das regiões de mata seca derrubam esta espécie, pois acreditam que ela não tem importância econômica, e por isso fazem a retirada dessas plantas.

2.3 Diversidade e estrutura genética de plantas

A estrutura genética é definida, de acordo com Brown (1978), como sendo a forma pela qual a variabilidade genética é distribuída entre e dentro dos níveis hierárquicos de subdivisão de uma população. Forças evolutivas tais como a mutação, migração, seleção e deriva genética atuam dentro do contexto de cada espécie influenciando a estrutura genética da população, interferindo na distribuição heterogênea (não aleatória) dos alelos e genótipos no espaço e tempo (HAMRICK, 1982). Dessa forma, a estrutura genética de populações

refere-se à heterogeneidade na distribuição dos genótipos e do grau de endogamia dentro de populações e entre estas. Loveless e Hamrick (1984) consideram que a estrutura pode ser manifestada entre distintas populações geográficas, dentro de um grupo local e até mesmo em grupos de progênies, podendo ainda ser definida como a distribuição não aleatória dos alelos e genótipos (HAMRICK; GODT, 1990).

Ecologicamente, a estrutura genética populacional é afetada pela densidade populacional, natureza das relações entre indivíduos e o ambiente, e ainda, interações entre indivíduos e populações locais. Geneticamente, é caracterizada pela variabilidade morfológica e quantitativa existente entre os indivíduos, pelo sistema reprodutivo, pelos padrões de fluxo gênico e por estratégias adaptativas aos ambientes locais (MARTINS, 1987).

Segundo Loveless e Hamrick (1984), fatores ecológicos podem afetar a estrutura genética entre e dentro de populações de plantas, como por exemplo, o sistema de reprodução (fecundação cruzada e autogamia), o mecanismo de polinização, a dispersão de sementes, a dormência de sementes, a fenologia, o ciclo de vida, o estágio sucessional, o tamanho populacional e a distribuição espacial das populações. Cavallari (2004) sugere que os padrões de distribuição da variabilidade genética e a estruturação das populações são definidos por interações entre fatores ecológicos, evolutivos e outros ainda não compreendidos. Isso torna possível a adaptação das espécies a um meio ambiente em mudança (PRIMACK; RODRIGUES, 2001).

Os estudos de estrutura genética estão fundamentados no teorema de Hardy-Weinberg. De acordo com este princípio, em uma população de tamanho infinito, realizando cruzamentos ao acaso, as frequências gênicas e genotípicas permanecem constantes de geração para geração na ausência de migração, seleção e deriva. Este princípio permite o cálculo teórico da frequência de um

determinado genótipo, independente do número de alelos existente (FUTUYMA, 1992).

A diversidade genética existente em populações naturais deve ser quantificada e avaliada quanto à sua distribuição entre e dentro de populações, pelo fato de sua distribuição apresentar variação e por ser influenciada pelo tamanho efetivo populacional. Além disso, a ocorrência geográfica das espécies, modo de reprodução, sistema de cruzamento e por mecanismos de dispersão de sementes (BAWA, 1992).

As florestas tropicais possuem uma grande diversidade de espécies arbóreas com diferentes sistemas reprodutivos, associados às complexas interações com agentes polinizadores e dispersores de sementes (GROSS, 2005; MACHADO; LOPES, 2004; OLIVEIRA; GIBBS, 2000). Devido a essas características, espécies arbóreas geralmente possuem um grau relativamente alto de variações genéticas, quando comparadas com outras plantas e espécies animais (SOULÉ, 1986; TANKSLEY; ORTON, 1983).

Independentemente do padrão de diversidade genética de cada espécie, a sua manutenção promove a matéria prima para a adaptação, a evolução e a sobrevivência das espécies e indivíduos, especialmente sobre mudanças ambientais e condições de doenças. A variabilidade genética é também a base para o melhoramento genético. Como as espécies arbóreas são normalmente espécies chaves dos ecossistemas florestais, devido à sua vida longa, sua variabilidade genética tem um significado especial. A redução na diversidade genética pode predispor as espécies a doenças, reduzir a produtividade e limitar o melhoramento genético. Assim, a variabilidade genética pode ser vista como fundamental para a sustentabilidade e estabilidade do ecossistema (BARREIRA, 2005).

Por essas razões, muitos programas de conservação de plantas raras ou ameaçadas visam manter os níveis existentes de variabilidade genética,

evidenciando a importância de pesquisas em genética de populações para a conservação das espécies (JAMES; ASHBURNER, 1997).

2.4 Análise da diversidade e estrutura genética com uso de marcadores dominantes

Os estudos sobre genética de populações naturais a partir de marcadores dominantes, iniciaram com Excoffier, Smouse e Quattro (1992) pela introdução da estatística Φ , que proporcionou uma nova alternativa para esses tipos de marcadores, sendo utilizada pela primeira vez por Huff, Peakall e Smouse (1993).

De acordo com Zucchi (2002), informações sobre a divergência de DNA de dados provenientes de haplótipos foram incorporadas na forma de análise de variância, derivada da matriz de distâncias quadradas entre todos os pares de haplótipos. Esta análise de variância, denominada AMOVA, produz estimativas dos componentes de variância, que refletem a correlação da diversidade dos haplótipos em diferentes níveis de subdivisão hierárquica. O método acomoda diversos tipos de matrizes de entrada fornecidas pelos vários tipos de marcadores moleculares e diferentes tipos de pressuposições evolutivas, sem modificar a estrutura básica da análise. A significância dos componentes de variância e das estatísticas F , é testada pelo uso de permutações. Excoffier, Smouse e Quattro (1992), ao aplicarem esta análise a dados de haplótipos de DNA mitocondrial humano, verificaram que as subdivisões de populações são melhor resolvidas se alguma medida de diferenças moleculares entre haplótipos for introduzida na análise. Segundo os autores, a AMOVA é facilmente aplicável em diferentes situações e constitui uma estrutura coerente e flexível para análise de dados moleculares (ZUCCHI, 2002).

A análise baseada no método das somas dos quadrados tem como premissa, segundo Excoffier, Smouse e Quattro (1992) que as somas de quadrados convencionais (SQ) podem ser escritas na forma de somas de quadrados de diferenças entre pares de observações. Desta forma, eles construíram uma análise de variância molecular hierárquica, partindo diretamente da matriz das distâncias quadradas de todos os pares de haplótipos.

Os níveis hierárquicos são mostrados na Tabela 1, sendo:

P = número total de populações

N = número total de dados para dado haplótipo.

Tabela 1 Esquema da análise de variância molecular (AMOVA)

Fonte de variação	GL	SQ	QM	E(QM)
Entre populações	P – 1	SQa	QMa	$\sigma_b^2 + 2\sigma_a^2$
Dentro de populações	N – P	SQb	QMb	σ_b^2
Total	N – 1			
$\sigma^2 = \sigma_b^2 + \sigma_a^2$				

Os componentes de variância de cada nível de hierarquia são obtidos das esperanças dos quadrados médios. De acordo com Cockerham (1969), tem-se:

$$\Phi_{ST} = \frac{\sigma_a^2}{\sigma^2}$$

em que: Φ_{ST} = a proporção da variabilidade molecular de haplótipos entre populações. Este índice também é denominado F_{ST} .

Outro tipo de análise em genética de populações é a utilização do índice de Shannon (LEWONTIN, 1972), comumente usado em estudos ecológicos para indicar a diversidade de espécies por área. Este índice é bastante interessante

como medida de diversidade populacional, quando se utiliza dados dominantes, ou seja, não é possível detectar os genótipos heterozigotos. O índice de diversidade de Shannon é dado pela expressão: $H = - \sum P_i \cdot \log_2 P_i$, em que P_i é a frequência da presença ou ausência de um dado fragmento de DNA.

O índice de Shannon, inicialmente utilizado em estudos ecológicos para indicar a diversidade de espécies por área, foi introduzido por Lewontin (1972) nos estudos de genética de populações. A utilização desse índice como medida de diversidade populacional é interessante, especialmente quando se trabalha com dados de marcadores dominantes, pois seu uso possibilita contornar o problema da não detecção dos genótipos heterozigotos, já que o índice de Shannon não se baseia na heterozigosidade da população e, sim, na frequência fenotípica do fragmento amplificado na população (MOURA, 2003). Por isso, esse índice tem sido utilizado em diversos trabalhos para estudo da variabilidade genética com marcadores dominantes (GOULART; RIBEIRO; LOVATO, 2005; YEH; CHONG; YANG, 1995).

A estrutura genética é estimada por meio do G_{st} ou pela análise de variância molecular (AMOVA), sendo que ambos geram resultados semelhantes (NYBOM; BARTISH, 2000). Outros parâmetros genéticos analisados são o número de alelos observados (n_a), o número efetivo de alelos (n_e) e a porcentagem de locos polimórficos.

2.5 Estrutura genética espacial

Em estudos genéticos, a autocorrelação espacial pode ser utilizada em nível intrapopulacional para auxiliar a detecção de agrupamentos de indivíduos aparentados, a partir das frequências gênicas ou genotípicas (GANDARA, 1996). A estrutura genética espacial dentro de populações de plantas é primariamente determinada pelos efeitos da limitada dispersão de pólen e

sementes, pelo isolamento em pequenas manchas, pela mortalidade diferencial e pela seleção para micro-habitats. Portanto, a estrutura genética espacial nas populações afeta a estimativa de muitos parâmetros genéticos populacionais, como por exemplo, a taxa de cruzamento (EPPERSON; ALLARD, 1989).

De acordo com Sokal e Menozzi (1982), a estruturação genética espacial pode servir como indicativo de processos como migração, fluxo gênico, deriva genética e seleção e, ainda, influenciar a dinâmica da endogamia biparental e depressão endogâmica (SETSUKO; ISHIDA; TOMARU, 2004). A existência de estrutura genética espacial positiva, ou seja, de indivíduos aparentados localizados próximos dentro das populações, pode indicar ainda a ocorrência de cruzamentos endogâmicos (SEBBENN, 1997).

Intuitivamente, em espécies arbóreas pode-se associar a distribuição espacial, parentesco e probabilidade de cruzamento, principalmente em espécies polinizadas por animais, em que existe uma maior tendência de cruzamentos entre indivíduos próximos do que entre indivíduos mais distantes. Se estes forem aparentados, devido à dispersão de sementes próximas às árvores maternas, a endogamia na população pode aumentar (COLES; FOWLER, 1976). O parentesco de uma geração, quando medido em termos de coancestria, corresponde à endogamia que pode ser gerada na descendência, se os indivíduos forem cruzados. Cruzamentos entre indivíduos aparentados têm sido relatados em estudos do sistema de reprodução em populações naturais de diversas espécies arbóreas tropicais (MURAWSKI et al., 1991).

A estrutura genética espacial além de ser estimada pela autocorrelação espacial pode também ser analisada a partir de estimativas de coeficientes de parentesco ou coeficientes de coancestria. A coancestria é baseada na probabilidade de identidade dos alelos em dois genes homólogos amostrados da mesma maneira. As estimativas de coancestria são definidas como probabilidade de identidade por descendência entre alelos (RITLAND, 1996). A partir de

dados de marcadores genéticos estima-se uma “coancestria relativa” que pode ser definida como a razão de diferenças de probabilidades de identidade por estado (ROUSSET, 2002). O índice I de Moran tem sido utilizado amplamente no estudo da distribuição espacial dos genótipos, mas, recentemente, vários autores têm empregado os coeficientes de coancestria para analisar a estrutura genética espacial de espécies arbóreas (LOISELLE et al., 1995; MYAMOTO; KURAMOTO; YAMADA, 2002). Tais coeficientes, além de informarem sobre a presença ou não de estruturação de família, indicam o grau de parentesco entre os indivíduos.

Assim, esta abordagem é importante quando populações de plantas são selecionadas para conservação ou coletadas para uso em programas de melhoramento (SHAPCOTT, 1995). Isto deve ser considerado a fim de se estabelecer estratégias de amostragem de populações naturais, conseguindo-se assim, maximizar a diversidade populacional ou da espécie (EPPERSON; ALLARD, 1989). Por outro lado, há trabalhos envolvendo espécies arbóreas tropicais que constataram a ausência de estruturação genética espacial, dos quais é possível citar estudos com *Platypodium elegans* (HAMRICK et al., 1993), *Chorisia speciosa* (SOUZA, 1997), *Caryocar brasiliense* (FERNANDES, 2008; MELO JÚNIOR et al., 2004) e *Myrcia splendens* (BRANDÃO, 2008).

2.6 Marcador ISSR para caracterização genética de espécies vegetais

Uma das técnicas que vem sendo amplamente utilizada para estudos de variabilidade genética é o ISSR (*Inter Simple Sequence Repeats*), proposta pela primeira vez por Zietkiewicz, Rafalski e Labuda (1994). O ISSR é um método baseado na amplificação de DNA por PCR, que envolve a amplificação de fragmentos de DNA presentes em uma distância amplificável entre dois

microsatélites idênticos repetidos, orientados em direções opostas (REDDY; SARLA; SIDDIQ, 2002).

Essas sequências simples são bastante frequentes e distribuídas ao acaso no genoma dos eucariotas. Os locos de microsatélites se tornaram uma nova geração de marcadores moleculares, porém, o uso deste marcador requer o conhecimento prévio da sequência que flanqueia o microstélite para que se construam os *primers* que serão usados na reação da PCR (LIU; WENDEL, 2001). Descobrir e caracterizar um número grande de microsatélites é um trabalho demorado, além de ser um processo oneroso.

Uma alternativa para a técnica de microsatélites, é a ISSR-PCR, onde são utilizadas regiões entre os microsatélites como *primers* para amplificação do DNA (REDDY; SARLA; SIDDIQ, 2002). A técnica do ISSR-PCR permite, portanto, a detecção de polimorfismos em locos localizados entre os microsatélites, utilizando sequências simples repetidas como *primers* (ZIETKIEWICZ; RAFALSKI; LABUDA, 1994).

A mudança da taxa evolutiva dentro dos microsatélites é considerada maior que em outras regiões do DNA, aumentando, a probabilidade de polimorfismo. O polimorfismo é evidenciado quando há presença e ausência de um fragmento de DNA após a amplificação e eletroforese em gel. No caso do ISSR, a fonte de variabilidade pode ser atribuída à amostra do DNA, à natureza do *primer* utilizado ou ao método de detecção (REDDY; SARLA; SIDDIQ, 2002). Os produtos resultantes da amplificação do tipo ISSR segregam como marcadores mendelianos dominantes simples (GUPTA et al., 1994; RATNAPARKHE et al., 1998; WANG; MAHALINGAM; KARP, 1998). Entretanto, eles também têm se mostrado como marcadores codominantes em alguns casos, permitindo assim distinção entre homozigotos e heterozigotos (AKAGI et al., 1996; WANG; MAHALINGAM; KARP, 1998).

Os ISSR têm sido utilizados em análises genéticas, para verificar a variabilidade intra e intertaxonômicas, associados a outros marcadores como RAPD (Random Amplification of Polymorphic DNA) e RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism). Esses marcadores vêm sendo utilizados igualmente para reconstruções filogenéticas em níveis de espécies ou em outras categorias taxonômicas. Além disso, são igualmente aplicados em estudos de “fingerprinting” (CHARTERS et al., 1996), mapeamento genômico (BECKER; HEUN, 1995), seleção assistida por marcadores (RATNAPARKHE et al., 1998), determinação da frequência de motivos SSR e estudos de populações naturais e especiação (BLAIR et al., 1999).

Além disso, marcadores ISSR têm sido usados em diversos estudos para análise de variabilidade entre linhas híbridas de cultivares, complexos híbridos naturais, e genética de populações (BRANDÃO, 2008; SLOTTA; PORTER, 2006; SOUZA et al., 2005; WOLFE; LISTON, 1998; WOLFE; RANDLE, 2001; WOLFE; XIANG; KEPHART, 1998; WOODS et al., 2005; XIAO et al., 2006).

2.7 Estudos fenológicos

Fenologia é definida como sendo um estudo de ciclos de germinação, produção de folhas, floração, frutificação e senescência, em relação ao período de cada um destes eventos (LARCHER, 2000), e ainda das causas de sua ocorrência, em relação às forças seletivas bióticas e abióticas, assim como a interrelação entre as fases caracterizadas por estes eventos numa mesma ou em diferentes espécies (LIETH, 1974).

Na maioria das vezes, esses fenômenos estão diretamente relacionados com a precipitação (MACHADO; BARROS; SAMPAIO, 1997), fotoperíodo (BORCHERT et al., 2005) e temperatura (NUNES et al., 2008), e bióticos, como as interações animal-planta (AIDE, 1993; FREEMAN; BRODY; NEEFUS,

2003; JANZEN, 1967; LIEBERMAN; LIEBERMAN, 1984; PEDRONI; SANCHEZ; SANTOS, 2002).

Nos trópicos, fatores climáticos e interações entre espécies estão frequentemente associados com a sazonalidade dos eventos vegetativos e reprodutivos das plantas em nível de comunidade (BATALHA; ARAGAKI; MANTOVANI, 1997; BATALHA; MANTOVANI, 2001; FRANKIE; BAKER; OPLER, 1974; MACHADO; BARROS; SAMPAIO, 1997; MIRANDA, 1995; MORELLATO et al., 1989).

Do ponto de vista evolutivo, tem sido argumentado, ainda, que a periodicidade em espécies arbóreas de florestas tropicais sazonais constitui uma estratégia adaptativa, selecionada tanto por pressões abióticas quanto bióticas (LIEBERMAN; LIEBERMAN, 1984; REICH, 1995; SCHAİK; TERBORGH; WRIGHT, 1993). Assim, uma menor pressão de herbivoria, por exemplo, selecionaria para rebrota sincronizada na estação seca (AIDE, 1993), enquanto condições mais favoráveis para a transferência de pólen e maior disponibilidade de polinizadores podem selecionar para floração sazonal e sincronizada nesta estação (JANZEN, 1967).

No caso específico das florestas secas, os padrões fenológicos são particularmente importantes para a compreensão de seu funcionamento, pois a duração da estação seca é muito mais pronunciada que em outras florestas sazonais (JUSTINIANO; FREDERICKSEN, 2000). As principais causas dos padrões fenológicos vegetativos em florestas tropicais secas são a duração da estação seca (SANCHEZ-AZOFEIFA et al., 2005a), as condições hidrológicas do solo (BULLOCK; SOLIS-MAGALLANES, 1990) e a disponibilidade de chuva (MACHADO; BARROS; SAMPAIO, 1997). Em particular, a quantidade de chuva pode ser a principal responsável pelas diferenças nas características estruturais da floresta, como a altura do dossel ou biomassa (SANCHEZ-AZOFEIFA et al., 2005a), e como fator limitante no crescimento e reprodução

das plantas (MORELLATO; LEITÃO FILHO, 1992; REICH; BORCHERT, 1984).

O conhecimento da fenologia de espécies arbóreas em comunidades naturais de Florestas Estacionais Deciduais é uma ferramenta importante para a conservação das espécies, além de subsidiar ações de restauração ecológica como o planejamento da coletas de sementes. Além disso, os estudos fenológicos produzem informações não só sobre a época mais propícia para colheita de sementes, mas também indicam que espécies devem ser introduzidas em plantios como fonte de alimento para a fauna, em diferentes períodos do ano, como forma de atrair mais diversidade para os sistemas manejados. Nesse sentido alguns trabalhos já foram desenvolvidos no Parque Estadual da Mata Seca com diversas espécies, tais como, *Astronium fraxinifolium* Schott, *Myracrodruon urundeuva*, *Schinopsis brasiliensis* Engl, *Spondias tuberosa* (PEZZINI, 2008) e ainda *Guazuma ulmifolia* (NUNES et al., 2005) e *Myracrodruon urundeuva* (NUNES et al., 2008), em região de Matas Secas no norte de Minas Gerais.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Locais de estudo e coleta do material vegetal

As populações amostradas localizam-se na região norte do Estado de Minas Gerais, na área de ocorrência das Matas Secas, estando inseridas na Grande Bacia do Rio São Francisco, e complexo da Serra do Espinhaço. Para a realização do estudo, foram amostrados indivíduos de cinco populações naturais de *Cavanillesia arborea* K. Schum (Tabela 2).

Tabela 2 Populações amostradas de *Cavanillesia arborea*. Localidade, número de indivíduos amostrados (N), altitude (m) e coordenadas geográficas das áreas estudadas

<i>População</i>	<i>Localidade</i>	<i>Nº. de Indivíduos Amostrados (N)</i>	<i>Altitude (m)</i>	<i>Coordenadas Geográficas</i>
FU	Parque Estadual da Mata Seca, MG	37	488	14°50'39.0" S 49°59'59.0" W
PC	Parque Estadual da Mata Seca, MG	44	478	14°49'23.0" S 47°53'26.0" W
JAN	Município de Januária	41	461	15°13'12.0" S 50°12'24.0" W
MO	Município de Mocambinho	39	667	15°12'32.0" S 49°51'01.0" W
MV	Comunidade Barriguda Mato Verde, MG	14	550	15°29'42.5" S 42°53'47.9" W

Foram extraídas amostras de caule dos indivíduos de duas populações presentes no Parque Estadual da Mata Seca, localizado no município de Manga-MG, em uma população localizada na Comunidade Barriguda, no município de Mato Verde, em uma população no município Januária, e em uma população na região de Mocambinho na área do Projeto Jaíba (Figura 2). Nas cinco populações coletou-se um total de 175 indivíduos.



Figura 2 Localização das populações amostradas de *Cavanillesia arborea arborea*

O material coletado foi mantido em tubos de 2 μ L com CTAB 5% e levado ao Laboratório de Bioprospeção e Recursos Genéticos da Universidade Estadual de Montes Claros, onde foi armazenado em freezer a -20°C até o início dos procedimentos de extração e amplificação do DNA. A possibilidade de extração de DNA a partir do caule é útil no caso da *C. arborea*, uma vez que suas folhas se encontram a vários metros de altura, o que dificulta a coleta de amostras foliares.

Em todas as populações os indivíduos foram georreferenciados com aparelho GPS Map 76CSX - Garmin. As distâncias médias entre as populações variaram de 7,87Km a 143,66Km (Tabela 3).

Tabela 3 Distâncias geográficas (Km) entre as cinco populações naturais de *Cavanillesia arborea*

	<i>JAN</i>	<i>FU</i>	<i>PC</i>	<i>MO</i>	<i>MV</i>
JAN	-	50,55	45,0	42,86	143,66
FU	-	-	7,87	75,94	140,74
PC	-	-	-	50,86	135,52
MO	-	-	-	-	100,56
MV	-	-	-	-	-

JAN-Januária; FU-Furado; PC-Parcela Carlos; MO-Mocambinho; MV-Mato Verde

Duas populações foram coletadas no Parque Estadual da Mata Seca (PEMS), distantes 7,87 km uma da outra. A primeira denominada Furado (FU) - nome dado em função do seu local dentro do parque, é constituída de 37 indivíduos adultos, que se encontram numa região de afloramento calcáreo. A segunda população também foi coletada dentro do PEMS, denominada de Parcela Carlos (PC) – Recebe este nome em função dos antigos moradores de uma das fazendas que constituiu o parque. Constituída de 44 indivíduos. Nessa população, 15 árvores foram escolhidas para estudo dos eventos fenológicos.

O Parque Estadual da Mata Seca foi criado pelo decreto nº 41.479 de 20 de dezembro de 2000, como uma condicionante ambiental do projeto de irrigação Jaíba/Morro Solto e sob a responsabilidade do Instituto Estadual de Florestas (IEF). Com área de 10.281,44 hectares, o parque está localizado no Vale do Médio São Francisco, no Município de Manga, Minas Gerais, e está separado do município de Matias Cardoso pelo Rio São Francisco. Além desses municípios, faz fronteira com Itacarambi e São João das Missões (Figura. 3).

O clima predominante na região é caracterizado pela existência de uma estação seca acentuada no inverno. Os dados climáticos de Manga indicam que a temperatura média anual na área do PEMS é de 24,4°C e o índice pluviométrico é de 871 mm (ANTUNES, 1994), com sete meses de precipitação inferior a 60 mm. Como a grande maioria das áreas naturais, o PEMS é um mosaico de formações vegetais distintas, que incluem predominantemente as matas secas

(Florestas Estacionais Deciduais), mata ciliar ainda preservada nas margens do Rio São Francisco, e ainda a cobertura vegetal da área é composta por formações distintas, predominantemente caducifólias, inserindo-se na ampla faixa transicional entre os domínios do cerrado e da caatinga.

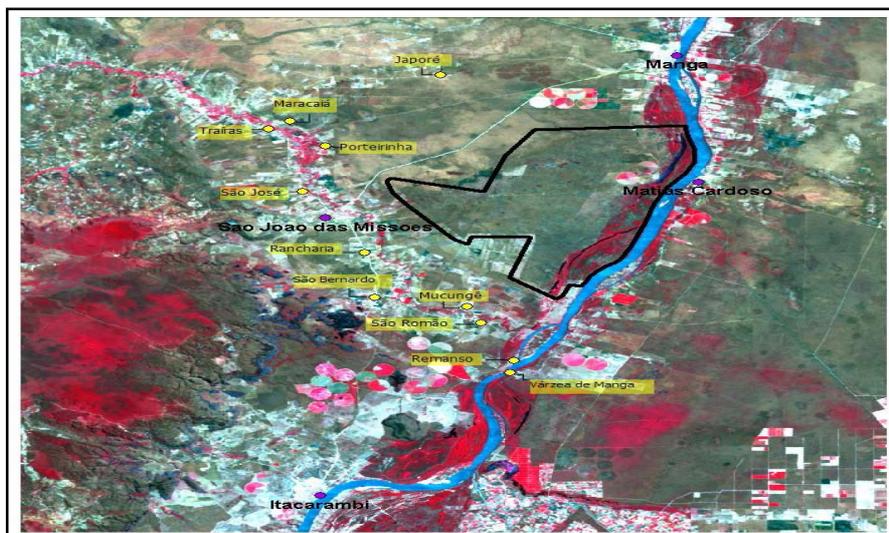


Figura 3 Localização do Parque Estadual da Mata Seca, no norte de Minas Gerais

Fonte: Madeira et al. (2008)

Entre as formações decíduas e semi-decíduas, são encontradas florestas subcaducifólias em terrenos mais altos ao longo dos rios; florestas caducifólias em solos litólicos, que se assemelham a formações de Mata Atlântica empobrecidas em número de espécies; e florestas caducifólias em solos podzólicos, latossolos e cambissolos, que possuem espécies arbóreas da caatinga com grande porte. Ao longo dos rios, geralmente em partes mais baixas, destacam-se florestas perenifólias que recobrem porções significativas da várzea do rio São Francisco e normalmente fazem fronteira com as florestas subcaducifólias (INSTITUTO ESTADUAL DE FLORESTAS - IEF, 2000).

A importância do PEMS é atribuída ao fato de ser a única unidade de conservação na margem esquerda do Rio São Francisco, que possui matas secas em solos não-carsticos e mata ciliar ainda preservada em suas margens (IEF, 2000). Entretanto, existem grandes extensões de pastagens nas vizinhanças do PEMS, o que pode ocasionar problemas, como a invasão de gado e passagem de fogo.

Os indivíduos da população de Januária (JAN) foram coletados na zona rural do município, que se localiza numa região de transição entre Cerrado e Mata Seca, sendo comum a presença de afloramento calcáreo. Os locais de coleta de todos os indivíduos dessa população se caracterizam por serem áreas de agricultura e pecuária, assim possuem parte da mata nativa derrubada.. Os indivíduos amostrados estão localizados nas Áreas de Preservação Permanente (APP) das propriedades rurais. Entretanto, percebe-se a presença da *C. arborea* em meio a pastagens, com indivíduos esparsos remanescentes da vegetação original. Nessa população foram coletados todos os indivíduos adultos presentes (41).

Os indivíduos da população denominada Mocambinho (MO), foram coletados no município Mocambinho, localizado na região do projeto Jaíba. Todos os indivíduos adultos presentes no local foram coletados, num total de 39. Esse fragmento de Floresta Estacional Decidual cercado por projetos irrigados de fruticultura. Foi possível perceber durante a coleta, a de animais, principalmente gado, e ainda a retirada de madeira principalmente *Myracrodruon urundeuva*, *Tabebuia ochracea*, *Caesalpinia pyramidalis*, provavelmente para produção de lenha e ou mourões.

Na população Mato Verde (MV), que é um fragmento localizado em meio a pastagens, também foram coletados todos os indivíduos presentes no local. Esse fragmento está localizado no município de Mato Verde no norte de Minas Gerais, no Polígono das Secas (região Semi-Árida mineira).

Essa área tem sido afetada pelo processo erosivo acelerado, provocado pelo desmatamento, pela exploração de terras situadas às margens dos cursos d'água, pela má conservação das estradas, e pelo turismo predatório em ambientes frágeis. Tais práticas expõem o solo à ação das chuvas, favorecendo a erosão, tornando-o menos permeável, impedindo que este exerça o seu papel de estoque e filtro de água, numa região onde há deficiência de recursos hídricos, reduzindo ou eliminando as populações de plantas que dependem desse habitat (OLIVEIRA, 2007).

3.2 Extração e amplificação do DNA genômico

A extração do DNA genômico do caule de *C. arborea* foi feita a partir do protocolo proposto por Mogg e Bond (2003). Amostras de caule foram maceradas em cadinho de porcelana contendo areia autoclavada e 500 µL de tampão de extração. Este tampão foi composto por Tris 1M pH 8,0, EDTA (*Ethylenediaminetetraacetic Acid*) 0,25M pH 8,0; NaCl 5M, SDS (*Sodiumdodecylsulfate*) 7%, água ultrapura autoclavada, Proteinase-K (10mg/mL) e RNase (10mg/mL). O macerado foi transferido para tubos de 2mL e incubados *overnight* em banho-maria a 37°C. Após a incubação, foram adicionados 320µL de NaCl 5M e os tubos foram levados a um agitador e centrifugados por 5 minutos a 12.000 rpm. Posteriormente, 600µL da fase superior (aquosa) foram transferidos para um novo tubo de 1,5mL. Ao sobrenadante retirado foram adicionados 800µL de isopropanol gelado e os tubos foram colocados no freezer por 3 horas. Após esse tempo, os tubos foram centrifugados novamente por 10 minutos a 12.000 rpm. O sobrenadante foi retirado e deixado no tubo apenas o DNA precipitado (*pellet*). Este foi lavado com 500µL de etanol 70% (v/v), desprendido do tubo e deixado a temperatura ambiente por 5 minutos. O álcool foi descartado e a lavagem com etanol 70%

(v/v) foi repetida. Posteriormente, foi feita uma última lavagem com etanol 100% (v/v) e, após o descarte do álcool, os tubos foram deixados abertos sobre a bancada para a secagem do DNA precipitado por 4 horas. Após a secagem, o DNA precipitado foi ressuspensão em 100µL de água ultrapura autoclavada e os tubos foram guardados em freezer a -20°C. A integridade do DNA extraído foi determinada em eletroforese horizontal em gel de agarose 1,2% (p/v), fotografado sobre luz ultravioleta.

Para a realização das reações de amplificação, as amostras de DNA foram previamente diluídas na concentração de 1:100 (1µL do DNA concentrado em 100µL de água ultrapura autoclavada). As PCR foram desenvolvidas em volume final de 6,32µL, compostas por Tris – HCl 10 mM, KCl 50 mM, MgCl₂ 2 mM, 100 µM de cada desoxinucleotídeo (dATP, dTTP, dGTP, e dCTP), 0,4 µM *primer*, 1 unidade de Taq *DNA polimerase* e 2µL de DNA. As reações de amplificação foram conduzidas em termociclador Eppendorf, Applied Biosystems, modelo Veriti 96 Well Thermal cycler, sendo realizados 40 ciclos de 15 segundos a 94°C, 30 segundos a 35°C e 1 minuto a 72°C, seguidos de mais sete minutos a 72°C, para a completa extensão dos produtos amplificados e, finalmente, a redução da temperatura para 4°C.

O método utilizado para a separação dos produtos amplificados foi a eletroforese horizontal em gel de agarose 1,2% (p/v) em tampão TBE (Tris – base 0,1M, Ácido Bórico 1M e EDTA 0,5M) 1X de acordo com Sambrook, Fritsch e Maniats (1989), a uma voltagem de 120V, por duas horas e meia. Para a eletroforese foram acrescentados em cada reação 2µL de uma solução de azul de bromofenol (0,25%) mais sacarose (40%). A visualização dos produtos amplificados foi feita em luz ultravioleta (UV) por meio do corante brometo de etídio, diluído no gel, numa concentração de 1mg/mL. Os géis foram visualizados e fotografados em equipamento de foto documentação por transiluminação UV Vilber Loumart.

3.3 Teste e seleção de primers ISSR

Foram testados 28 *primers* ISSR, dos quais sete foram selecionados, por apresentarem melhor resolução e fragmentos mais polimórficos de DNA (Tabela 4). O perfil de amplificação de cada *primer* foi verificado em gel de agarose após a eletroforese. A PCR para teste e seleção de *primers* ISSR foi feita utilizando-se quatro amostras aleatórias retiradas dos 175 indivíduos analisados na pesquisa.

Tabela 4 Nome, sequência e número de fragmentos dos sete *primers* ISSR utilizados para amplificação do DNA de *Cavanillesia arborea*

<i>Nome do primer</i>	<i>Sequência (5'- 3')</i>	<i>No. Fragmentos de DNA</i>
UBC 850	GTGTGT GTG TGT GTGTYC	11
UBC 864	ATGATGATGATGATGATG	13
UBC 899	CATGGTGTGGTCATTGTTCCA	15
TERRY (GTG)4-RC	GTG GTG GTG GTG RC	09
BECKY (CA)7-YC	CAC ACA CAC ACA CAY C	8
AW3 (GT)6-RG	GTG TGT GTG TGT RG	10
M1 CAA-(GA)5	CAA GAG AGA GAG A	15
Total		81

R = purina (A ou G) e Y = pirimidina (C ou T)

3.4 Fenologia

O estudo dos eventos fenológicos de *C. arborea* foi conduzido no Parque Estadual da Mata Seca (PEMS), localizado no Vale do Médio São Francisco, entre as coordenadas 14°49'23.0"S, e 47°53'26.0" W. O PEMS encontra-se na margem esquerda do rio São Francisco, entre os municípios de Manga, Matias Cardoso, São João das Missões e Itacarambi, no Norte do Estado de Minas Gerais (Figura 3). O PEMS tem uma área de reserva integral sobre os

cuidados do Instituto Estadual de Floresta (IEF) de Minas Gerais que cobre 10.281,44 hectares.

Os dados climatológicos do período de novembro de 2007 a dezembro de 2009 foram obtidos do banco de dados da EPAMIG (Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais), oriundos da Estação Climatológica com nome de Mocambinho. Esta estação da EPAMIG localiza-se no município de Itacarambi, localizada a 15 km da área de estudo. Os dados obtidos da estação climatológica continham informações de médias mensais de temperatura, umidade relativa e precipitação total mensal.

A avaliação fenológica de *C. arborea* foi realizada em 15 indivíduos adultos da população PC com CAP (Circunferência a Altura do Peito; medida a 1,30 m do solo) maiores do que 1,80 m e altura superior a 10 m, que apresentavam boas condições fitossanitárias, sem doenças ou parasitoses aparentes (NUNES et al., 2005). Além disso, foram escolhidos indivíduos dentro da população PC por se tratar de indivíduos de uma população em área preservada dentro do PEMS. Os indivíduos foram escolhidos aleatoriamente, percorrendo-se trilhas na área de estudo como sugerido por Eça-Neves e Morellato (2004). As fenofases foram avaliadas no campo durante 26 meses, entre novembro de 2007 a dezembro de 2009.

As visitas mensais para observações fenológicas seguiram a metodologia proposta por Morellato e Leitão Filho (1998) e realizadas com auxílio de binóculo quando necessário. Assim, foram observadas fenofases vegetativas e reprodutivas da espécie. Os eventos vegetativos observados foram: (1) presença de folhas secas (FS), caracterizadas por apresentarem cor marrom e envelhecidas, em estado de deciduidade; (2) presença de folha verde (FV), caracterizada pela cor verde, ou seja, folhas novas ou maduras; e (3) brotamento (BR), marcado pelo aparecimento de folhas com coloração diferenciada (verde-claro ou avermelhadas) (NUNES et al., 2005, 2008). Os eventos reprodutivos

foram: (4) botões florais (BF), caracterizado pela presença da estrutura floral até a abertura dos botões florais; (5) floração (FL): representada pela abertura dos botões florais (antese) até a queda das flores; (6) frutos imaturos (FI), representado pela presença da formação do fruto até o amadurecimento do mesmo, visualizado pela presença do fruto de coloração verde; e (7) frutos maduros (FM), caracterizado pela presença do fruto com cor amarela e marrom claro, característico do amadurecimento do fruto na espécie.

3.5 Análises dos dados moleculares e fenológicos

A partir da leitura criteriosa dos géis foi gerada uma matriz binária em que os indivíduos foram genotipados quanto a presença (1) ou ausência de bandas (0). As bandas que apresentaram coloração fraca e baixa definição foram descartadas. Um loco foi considerado polimórfico para a população quando, pelo menos, dois indivíduos foram diferentes em relação aos demais, considerando a presença ou ausência de bandas.

3.5.1 Identificação do número ótimo de fragmentos de DNA

Com a finalidade de estimar o número de fragmentos de DNA necessário para obter associações estáveis entre os indivíduos, foi realizada a análise de *bootstrap*. Utilizando-se o programa GENES (CRUZ, 2001), a similaridade genética para cada par de indivíduos foi estimada a partir de simulações com reamostragens de diferentes tamanhos, com 10.000 permutações. Foram obtidas as estimativas de correlação de valores da matriz de similaridade com outras matrizes geradas com diferentes números de fragmentos de DNA. A partir da análise de *bootstrap*, também foi obtido o valor de estresse (E), que indica o ajuste entre a matriz original e a simulada. Quando o valor de

estresse assume valor inferior a 0,05, o número de fragmentos é considerado suficiente para as análises (DIAS; KAGEYAMA, 1998; KRUSKAL, 1964).

3.5.2 Diversidade e estrutura genética

Com o auxílio do programa computacional PopGene (versão 1.32) (YEH et al., 1997), foram estimadas as similaridades genéticas entre as populações, para a construção do dendrograma pelo método UPGMA (*Unweighted Pair-Group Method with Arithmetic Averages*), adotando a rotina SAHN (*Sequential Agglomerative, Hierarchical and Nested Clustering*), com o auxílio do programa NTSYS, versão 2.11X (ROHLF, 2000). A consistência dos agrupamentos foi obtida por meio da utilização de 1.000 permutações com o programa TFPGA (*Tools for Population Genetic Analysis*) versão 1.3 (MILLER, 1997).

A análise da diversidade genética intrapopulacional também foi realizada com o auxílio do programa computacional POPGENE (versão 1.32), em que, para dados dominantes, assume-se que as populações estão em Equilíbrio de Hardy-Weinberg (EHW). Foram estimados o número de alelos observados (n_a), o número efetivo de alelos (n_e) (KIMURA; CROW, 1964), a heterozigosidade esperada (H_e) (NEI, 1978), porcentagem de locos polimórficos, o índice de Shannon (LEWONTIN, 1972), a heterozigosidade total (H_t), e a heterozigosidade média dentro da população (H_s). A diversidade entre populações (D_{ST}) foi dada pela expressão: $D_{ST} = H_t - H_s$, e o coeficiente de diferenciação populacional (G_{ST}), dado pela expressão: $G_{ST} = D_{ST} / H_t$, o fluxo alélico (cálculo indireto), foi realizado pela fórmula: $Nm = 0,5 (1 - G_{ST})/G_{ST}$ (MCDERMOTT; MCDONALD, 1993).

Para inferir sobre a estrutura genética das populações, foi realizada a análise de variância de dados moleculares – AMOVA (EXCOFFIER; SMOUSE;

QUATTRO, 1992), obtida com o auxílio do programa ARLEQUIN, versão 3.1 (EXCOFFIER; LAVAL; SCHNEIDER, 2007), realizada pela decomposição total dos componentes entre e dentro das populações. Uma das vantagens da utilização da AMOVA para a análise é que ela não necessita da pressuposição do EHW. Para o cálculo da AMOVA foi utilizado como coeficiente, o quadrado das distâncias euclidianas, que é análoga às análises de Excoffier, Smouse e Quattro (1992), Huff, Peakall e Smouse (1993) e Nybom (2004). A significância dos componentes da variância foi testada com 10.000 permutações.

3.5.3 Estrutura genética espacial

A estrutura genética espacial dos genótipos dentro de cada população foi estimada com o uso do valor de coancestria, pelo coeficiente de *kinship*, entre os pares de indivíduos para as classes de distância (HARDY, 2003), utilizou o programa SPAGEDI, versão 1.2 (HARDY; VEKEMANS, 2002). Na análise, a endogamia foi considerada como zero. O coeficiente é dado pela fórmula:

$$F_{ij} = \left(\frac{Q_{ij} - Q_m}{1 - Q_m} \right)$$

em que:

F_{ij} é o coeficiente de *kinship* de coancestria genética entre i e j ;

Q_{ij} é a probabilidade de as amostragens aleatórias de i e j serem idênticas por ascendência;

Q_m é a probabilidade média de que amostragem aleatória feita na população seja idêntica por ascendência.

A partir do erro padrão da média das estimativas obtidas por reamostragem *jackknife*, intervalos de confiança foram construídos, a 95% de probabilidade, para o coeficiente de coancestria médio estimado para as classes de distância, de acordo com Hardy e Vekemans (2002). Dentro de cada classe, fizeram-se 1.000 permutações para teste da ocorrência de estrutura genética espacial e sua magnitude foi calculada pela fórmula (VEKEMANS; HARDY, 2004):

$$S_p = -b_{\log}/(1-F_{ij(1)})$$

em que:

B_{\log} é a inclinação da curva de regressão do coeficiente de coancestria;

$F_{ij(1)}$ é a média do coeficiente de coancestria da primeira classe de distância (F_{ij}).

Os valores de S_p foram utilizados para comparar a extensão da estrutura genética espacial entre as populações. Adicionalmente, foi realizado o teste de Mantel entre as populações, pelo programa computacional *PCord* (MCCURE; MEFFORD, 1997), com 1.000 permutações, para teste de correlação entre a distância genética e geográfica.

3.5.4 Análises fenológicas

Para a quantificação dos dados fenológicos foram utilizados dois métodos de observação: o índice de atividade e o índice de intensidade de Forunier (1974). O índice de atividade refere-se à porcentagem de indivíduos manifestando o evento em cada amostragem, quando é registrada somente a presença ou ausência da fenofase específica. Para a determinação do índice de intensidade de Fournier, foram obtidos dados fenológicos em campo, em uma escala intervalar semiquantitativa de cinco categorias (0 a 4), com intervalo de

25% entre cada categoria. Em todos os meses, os valores obtidos de todos os indivíduos foram somados e divididos pelo valor máximo possível (número de indivíduos multiplicado por quatro). Esse valor corresponde a uma proporção que é, então, multiplicada por 100, para transformá-la em um valor porcentual (EÇA-NEVES; MORELLATO, 2004).

A influência das variáveis ambientais (temperatura, umidade relativa, e precipitação) sobre os eventos fenológicos, de atividade e de intensidade de cada fenofase (folhas secas, folhas verdes, brotamento, botões florais, floração, frutos imaturos, frutos maduros) foi testada pela correlação de Spearman (ZAR, 1996). Foi utilizada a correlação de Spearman considerando que os dados não são paramétricos. Todas as análises foram realizadas por meio do programa Statistica 5.0 (STATISTICA..., 2001).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Fragmentos de DNA amplificados

Os sete *primers* utilizados produziram 81 locos polimórficos. A Tabela 4 (Material e Métodos), pg.35, apresenta a distribuição de locos entre os *primers*, que variou de 8 a 15 por primer, com média de 11,57 locos polimórficos. Como em todas as populações estudadas o tamanho amostral foi inferior a 50, foram considerados polimórficos os locos em que a frequência do alelo mais comum foi menor ou igual a 95% (NEI, 1987). A figura 4, ilustra um exemplo do padrão de fragmentos de DNA encontrados para as populações de *C. arborea*.

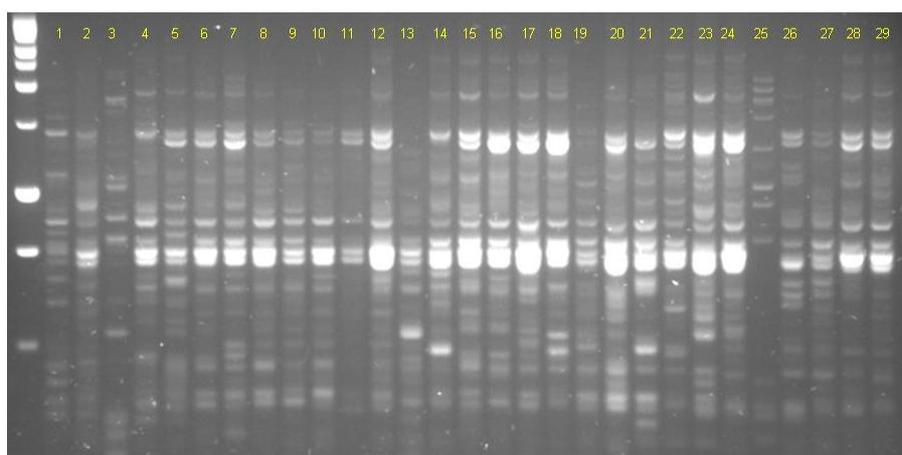


Figura 4 Padrão de um gel de agarose, em indivíduos de *Cavanillesia arborea*, com fragmentos de DNA amplificados com primer ISSR UBC 864

Diversos estudos citam que o número de locos de marcadores dominantes varia de acordo com a espécie em estudo (BRANDÃO, 2008; CHEN et al., 2006; FERNANDES, 2008; GE; SUN, 2002; TAN et al., 2003). Dessa forma, a análise do número ótimo de marcadores ISSR para caracterizar

as populações de *C. arborea*, pela reamostragem bootstrap, estimou 57 locos, em que o valor de estresse foi inferior a 0,05 e a correlação de 0,95 (Gráfico 1). Este valor representa um número de fragmentos amplificados suficiente e ou mínimo para obter associações estáveis entre os indivíduos amostrados (KRUSKAL, 1964; SILVEIRA; RUAS; RUAS, 2003).

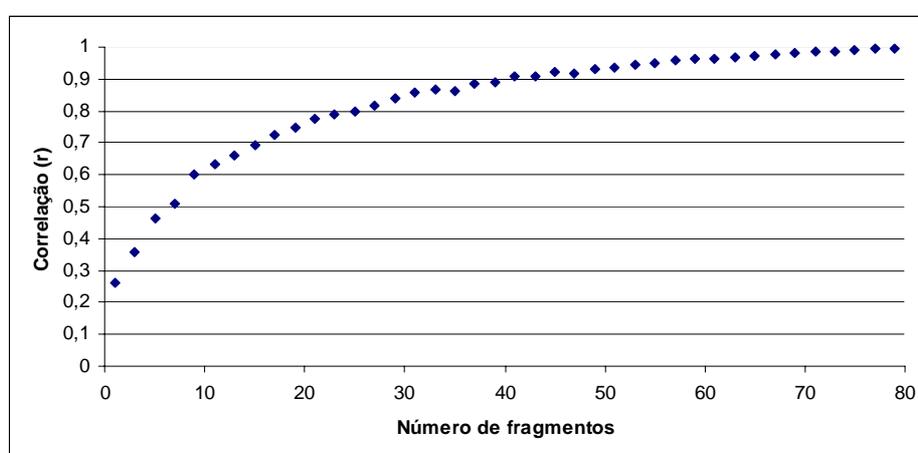


Gráfico 1 Coeficiente de correlação do número ótimo de fragmentos de DNA para *Cavanillesia arborea*

Foi possível constatar a qualidade e a potencialidade do marcador ISSR no presente estudo, pois os indivíduos nas diferentes populações apresentaram o mesmo padrão de fragmentos de DNA com uso de um mesmo *primer*. Isso reforça o potencial do uso de marcadores ISSR em estudos de diversidade genética para diferentes espécies.

4.2 Diversidades genética das populações analisadas

As estimativas de divergência genética intrapopulacional obtidas em populações naturais de *C. arborea* estão dispostas na Tabela 5. A porcentagem

de locos polimórficos (P) foi elevada em todas as populações, com valores variando de 95,06% na população de Mato Verde a 100% nas populações de FU e PC, sendo a média de 98,27%.

Tabela 5 Estimativas genéticas de *C. arborea* em cinco populações naturais. N_a : número de alelos observados, N_e : número efetivo de alelos, H_e : diversidade genética de Nei, I : índice de Shannon, e P : porcentagem de locos polimórficos

Populações	N_a	N_e	H_e	I	P
JAN	1,97 (0,156)	1,68 (0,240)	0,39 (0,106)	0,57 (0,136)	97,53
FU	2,00 (0,000)	1,83 (0,188)	0,45 (0,074)	0,63 (0,087)	100
PC	2,00 (0,000)	1,83 (0,154)	0,45 (0,050)	0,64 (0,053)	100
MO	1,99 (0,111)	1,79 (0,217)	0,43 (0,090)	0,62 (0,110)	98,77
MV	1,95 (0,218)	1,79 (0,244)	0,42 (0,113)	0,61 (0,152)	95,06
Média	1,98	1,78	0,43	0,61	98,27

(): Desvio padrão. JAN: Januária; FU: Furado; PC: Parcela Carlos; MO: Mocambinho; MV: Mato Verde

Diversos trabalhos com populações naturais (ALEXANDER; LISTON; POPOVICH, 2004; GE; SUN, 2001; XIA et al., 2007), apontam para o uso da porcentagem de locos polimórficos como uma medida importante da diversidade genética. Entretanto, apesar do uso desse parâmetro como indicador de diversidade genética, em diversos trabalhos com marcadores dominantes percebe-se que os valores de porcentagem de locos polimórficos variam bastante. Os níveis de polimorfismo para diferentes espécies são descritos como muito baixos, cerca de 7%, em *Vicia psiformis* (BLACK-SAMUELSSON et al., 1997), de 20 a 30% em *Acanthus ilicifolius* Linn. e *Limonium dufourii* (LAKSHIMI et al., 1997; PALÁCIOS; GONZÁLES-CANDELAS, 1997) e valores maiores, como os relatados por Lacerda et al. (2001) com 71% de locos

polimórficos para *Plathymenia reticulata* e 64,9% para *P. foliolosa* (LACERDA et al., 2002). Em *Hymenaea courbaril* e *H. stigonocarpa*, Brandão (2002) encontrou 77% e 65% de locos polimórficos, respectivamente. Em *Eremanthus erythropappus*, Moura (2005) encontrou 75% de locos polimórficos, utilizando 8 *primers* RAPD. Brandão (2008) encontrou valores entre 83 a 89% de locos polimórficos para espécie *Myrcia splendens* com uso do marcador ISSR, resultados parecidos como os obtidos por Fernandes (2008) que utilizou o mesmo marcador em *Caryocar brasiliense*.

Ao comparar com resultados obtidos neste trabalho com o de outras espécies estudadas como os citados acima que utilizaram marcadores da mesma natureza pode-se concluir que ocorre variação expressiva nesses percentuais, em função provavelmente de características ecológicas de cada espécie, amostragem de indivíduos e populações que variam em cada trabalho, ou ainda, em função do maior polimorfismo dos marcadores ISSR quando comparados com os marcadores RAPD.

O valor médio da diversidade genética foi 0,43, e a média do índice de Shannon foi 0,61.. A heterozigiosidade esperada (H_e) variou de 0,39 na população de Januária a 0,45 nas populações localizadas no PEMS (FU e PC). Os valores estimados para o índice de Shannon (I) variaram de 0,57 na população de Januária (JAN) a 0,64 na população Parcela de Carlos (PC). Os índices de diversidade genética apresentados (H_e e I) mostram altos níveis de diversidade genética dentro das populações de *C. arborea*. Ao observar os desvios padrões apresentados para as estimativas de H_e , é possível perceber que os níveis de diversidade genética são similares em todas as populações. A existência de alta diversidade genética dentro das populações naturais de *C. arborea* também pode ser confirmada quando se compara os valores do índice de Shannon, com aqueles encontrados para outras espécies arbóreas, nos quais

foram utilizadas metodologias similares, como encontrados por Brandão (2008) e Fernandes (2008).

Lacerda et al. (2001) observaram valores de H_e variando de 0,301 a 0,367 para *Plathymenia reticulata*. Torezan et al. (2005) obtiveram o H_e igual a 0,41 para indivíduos adultos de *Aspidosperma polyneuron*. Tais comparações revelam forte evidência de que a espécie *C. arborea* apresenta níveis altos de variabilidade genética intrapopulacional. No caso específico da *Cavnillesia arborea*, os altos índices de diversidade genética encontrados podem ser resultado de suas características ecológicas, uma vez que a espécie tem fertilização cruzada, e é polinizada por morcegos, além disso, tem dispersão anemocórica (PEZZINI, 2008), e ainda segundo Vieira e Sacariot (2006), produz grande quantidade de frutos antes da estação chuvosa.

Ao comparar os diferentes tipos de marcadores, geralmente os dominantes apresentam maiores níveis de diversidade genética em relação aos marcadores codominantes (GE; SUN, 2001). Moura (2005), em trabalho com *Eremanthus erythropappus* utilizou tanto marcadores codominantes (isoenzimas) quanto dominantes (RAPD), e encontrou altos níveis de diversidade genética na espécie *Eremanthus erythropappus* em cinco populações estudadas com os dois tipos marcadores (aloenzimas e RAPD). No entanto, estimativas genéticas por meio de marcadores dominantes são algumas vezes menores do que por marcadores codominantes de acordo com estudos de Smith e Pham (1996). Por outro lado, Tarezan et al. (2005) encontraram baixos níveis de diversidade genética, tanto em indivíduos adultos, quanto regenerantes, de *Aspidosperma polyneuron*, utilizando marcadores dominantes (RAPD).

Entretanto, é importante salientar que esses resultados encontrados são estimativas da geração atual, que provavelmente já estavam presentes antes dos processos da destruição e da fragmentação nos ambientes amostrados. Assim, é importante que essas estimativas também sejam obtidas para outras gerações

dessas populações com trabalhos que envolvam regenerantes e progênies, e que serão desenvolvidos como continuação deste trabalho.

4.3 Estrutura genética das populações

Os valores da heterozigosidade genética total (H_T), heterozigosidade média dentro de populações (H_S), diversidade entre populações (D_{ST}) e fluxo alélico (Nm) estão distribuídos na Tabela 6. O valor de H_T (0,471) foi superior ao encontrado para outras espécies polinizadas por animais (0,167), e também por espécies de ampla distribuição (0,204) (HAMRICK; GOLDT, 1989; LOVELESS; HAMRICK, 1984), incluindo populações com espécies da mesma família da *C. arborea*, como presentes no trabalho de Souza, Kageyama e Sebbenn (2004), que obteve 0,344 para *Chorisia speciosa*, e também em diversas outras espécies nativas arbóreas relatados na revisão realizada por Nybom (2004).

Entretanto, esses trabalhos foram desenvolvidos com marcadores co-dominantes. Recentemente alguns trabalhos com marcadores ISSR apresentaram resultados semelhantes com espécies de fecundação cruzada, como em *Caryocar brasiliense* cujo valor foi de 0,395 (FERNANDES, 2008), e de 0,390 e 0,370 em fragmentos e corredores ecológicos para a espécie; *Myrcia splendens* (BRANDÃO, 2008), de 0,505 em *Gautheria fragrantissima* (APTE et al., 2006).

Tabela 6 Dados da estrutura genética de *Cavanillesia arborea* nas populações amostradas. H_t = heterozigosidade genética total; H_s = heterozigosidade média dentro da população; D_{ST} = diversidade entre populações; G_{ST} = coeficiente de diferenciação populacional e Nm = fluxo alélico

	H_t	H_s	D_{ST}	G_{ST}	Nm
Média das populações	0,471	0,423	0,048	0,0874	5,22
Desvio padrão	(0,0021)	(0,0026)	-	-	-

Com relação ao fluxo alélico (Nm), foi observado um valor igual a 5,22 para o conjunto das populações. Em princípio, um fluxo alélico maior do que quatro migrantes por geração é suficiente para contrapor os efeitos da deriva genética (SLATKIN, 1987; WRIGHT, 1951). Segundo Mills e Allendorf (1996) e Wang (2004), de 1 a 10 migrantes por geração entre populações pode evitar os efeitos do acasalamento de indivíduos aparentados. Ao comparar esses resultados com outros trabalhos, percebe-se que o número de migrantes foi relativamente próximo aos encontrados para *Caryocar brasiliense* cujo valor foi de 4,00 (FERNANDES, 2008), e também em *Myrcia splendens* com valor de 8,72, que analisaram populações em ambientes fragmentados. Entretanto, o fluxo alélico encontrado em *Chorisia speciosa* com valor de 0,370 (SOUZA; KAGEYAMA; SEBBENN, 2003) espécie da mesma família, foi bem menor, porém esse trabalho foi desenvolvido com marcador codominante (aloenzimas). Além disso, Perecin (2000), estudando *Maytenus aquifolia* Mart. e *M. ilicifolia* Mart. ex Reiss, encontrou valores baixos (0,23) a moderados (6,22) de fluxo alélico. Em estudos com canafistula (*Peltophorum dubium*), Mori (2000) observou um fluxo gênico variando de 3,63 a 3,11. Zimback et al. (2004), estudando populações de *Trichilia pallida* observou um fluxo gênico de 0,78, e Reis et al. (2009) encontraram valor de $Nm = 3,0$ para *Calophyllum brasiliense*, com marcador RAPD.

Assim, ao avaliar os valores aqui estimados de Nm , e compará-los aos encontrados em outras espécies é possível presumir que o fluxo alélico em *C. arborea*, ocorre em função das características ecológicas da espécie, como a polinização (quiropterofilia), que segundo Bawa (1990), em sua revisão sobre polinização de espécies em florestas tropicais, a polinização por morcegos pode ter longo alcance, uma vez que esses animais podem percorrer muitos quilômetros durante o voo. E ainda, dispersão dos frutos (anemocórica), tornando eficiente o fluxo alélico entre as populações.

É importante ressaltar que os valores de fluxo alélico aqui encontrados, podem ser reflexos de eventos como polinização e dispersão ocorridos no passado (SMOUSE; SORK, 2004), pois os indivíduos amostrados são adultos e estão presentes no ambiente antes do evento de fragmentação observados nessas áreas. Outros estudos, como por exemplo, as análises nas progênies e ou a análise de paternidade, podem auxiliar uma melhor compreensão do fluxo alélico contemporâneo na paisagem estudada. Trabalhos em microescala também são importantes para melhor entender os padrões da atual estrutura genética destas populações.

Os valores de diversidade entre populações (D_{ST}) e do coeficiente de diferenciação populacional (G_{ST}) foram 0,048 e 0,087 respectivamente. O valor de G_{ST} indica que a variabilidade entre e dentro das populações contribuiu com 8,7% e 91,3% da heterozigosidade total respectivamente. Esses valores estão de acordo com os observados em espécies de fecundação cruzada (HAMRICK; GODT, 1989) com marcadores isoenzimáticos e também trabalhos com marcadores como marcadores dominantes (BRANDÃO, 2008; FERNANDES, 2008; MOURA, 2005). Alguns valores referentes a trabalhos com marcadores dominantes, segundo Nybom e Bartish (2000), as estimativas do G_{ST} são similares àquelas obtidas com marcadores codominantes.

Os resultados obtidos pela análise de variância molecular (AMOVA) para as cinco populações estão dispostos na Tabela 7. Os resultados da AMOVA, 0,0872, foram próximos aos valores obtidos de G_{ST} 0,0874. Esses valores indicam que a maior parte da diversidade genética (91,28%) encontra-se dentro das populações, enquanto que 8,72% estão distribuídos entre as populações. Esses resultados são comuns quando se analisa outros trabalhos com espécies de fecundação cruzada (BRANDÃO, 2008; FERNANDES, 2008; GILLIES et al., 1999; GOULART; RIBEIRO; LOVATO, 2005; RENAUMORATA et al., 2005).

Tabela 7 Análise de variância molecular (AMOVA) em cinco populações de *Cavanillesia arborea*. GL = graus de liberdade e SQ = soma do quadrado dos desvios

Fonte de variação	GL	SQ	Componentes da variância	Varição Total (%)	P
Entre populações	4	184,96	1.035	8,72	< 0,0001
Dentro de populações	170	1843,66	10.85	91,28	< 0,0001
Total	174	2018,62	11,88	100	

De fato, espécies arbóreas geralmente, mostram grande variação genética dentro das populações (AAGAARD; KRUTOVSKII; STRAUSS, 1998; YUN et al., 1998). Espécies arbóreas normalmente apresentam sistema misto de reprodução e mecanismos eficientes de dispersão de pólen e sementes, que resultam em fluxo alélico a longa distância, o que diminui a divergência genética entre as populações e aumenta a variabilidade encontrada dentro delas (LOVELESS; HAMRICK, 1984). Se, contudo, o fluxo gênico é restrito, as populações deverão mostrar baixa divergência intrapopulacional e alta entre as populações (LOVELESS; HAMRICK, 1984).

A baixa diferenciação genética média entre as populações pode ser atribuída ao fato de que todas faziam parte de uma única população contínua no passado. Assim, os possíveis efeitos da degradação e fragmentação só poderão ser constatados com estudos de progênies, e ou indivíduos regenerantes, pois os eventos de fragmentação mais intensos nos locais de ocorrência das populações, principalmente em decorrência da pecuária extensiva, ocorreram nos últimos 50 anos (ESPÍRITO-SANTO et al., 2009).

Os resultados obtidos são confirmados pelo modo de polinização da *C. arborea*, quiropterocoria, em que esse polinizador alcança longas distâncias, homogeneizando geneticamente as populações. Em outras espécies que possuem mesmo agente polinizador, os resultados de estrutura genética são próximos aos encontrados aqui, como em *Caryocar brasiliense* onde 2% da variabilidade encontra-se entre e 98% dentro as populações (MELO JÚNIOR et al., 2004), trabalho realizado com marcador aloenzimático, e Fernandes (2008) encontrou para mesma espécie 11,1% da variabilidade entre, e 88,9% dentro das populações, com uso do marcador ISSR.

As estimativas de identidade e de distância genética de Nei (1978) para *C. arborea*, nas cinco populações são mostradas na Tabela 8.

Tabela 8 Estimativas de identidade (acima da diagonal) e distância genética (abaixo da diagonal) de Nei (1978), nas populações de *Cavanillesia arborea*

Populações	JAN	FU	PC	MO	MV
JAN	****	0,9508	0,9497	0,9345	0,8316
FU	0,0504	****	0,9726	0,9684	0,8865
PC	0,0516	0,0278	****	0,9535	0,8958
MO	0,0677	0,0322	0,0476	****	0,8847
MV	0,0184	0,1205	0,1100	0,1226	****

A distância genética média entre as cinco populações foi de 0,065. As populações que apresentaram menor distância genética entre si foram JAN e MV (0,0184), e as que apresentaram maior valor foram MV e MO (0,1226).

De maneira geral os valores de distância genética de Nei (1978) indicam baixa divergência genética entre as populações, em função da eficiência do fluxo alélico ($Nm=5,22$) entre as populações. Esse fluxo alélico deve ocorrer via pólen, apesar da dispersão dos frutos da espécie ocorrer por anemocoria, que teoricamente alcança longas distâncias. Essa hipótese se baseia na existência de barreiras geográficas que impedem a dispersão dos frutos a longas distâncias. Essas barreiras à dispersão dos frutos que reforçam hipótese de fluxo alélico via pólen, como a distância geográfica entre as populações podem ter gerado a divergência uma vez que algumas populações apresentam distâncias consideráveis umas das outras como é o caso da população MV, por exemplo, que se encontra em média 130,12Km de distância das demais, e as outras populações que se encontram em distâncias umas das outras superiores a 45 km com exceção de PC-FU com 7,87km distantes entre si. Além disso, o próprio Rio São Francisco que é um dos mais caudalosos e importantes do Brasil separa as populações estudadas. As populações de JAN, PC e FU localizam-se na margem esquerda do rio, enquanto que as outras se localizam a direita (Figura 2). Outra forte evidência da dispersão via pólen é a polinização realizada pelo morcego cujo alcance de vôo é longo e pode alcançar muitos quilômetros de distância em florestas tropicais (BAWA, 1990).

A partir da matriz de identidade genética de Nei (1978) entre as populações naturais de *C. arborea*, construiu-se um dendrograma pelo método UPGMA (Figura 5).

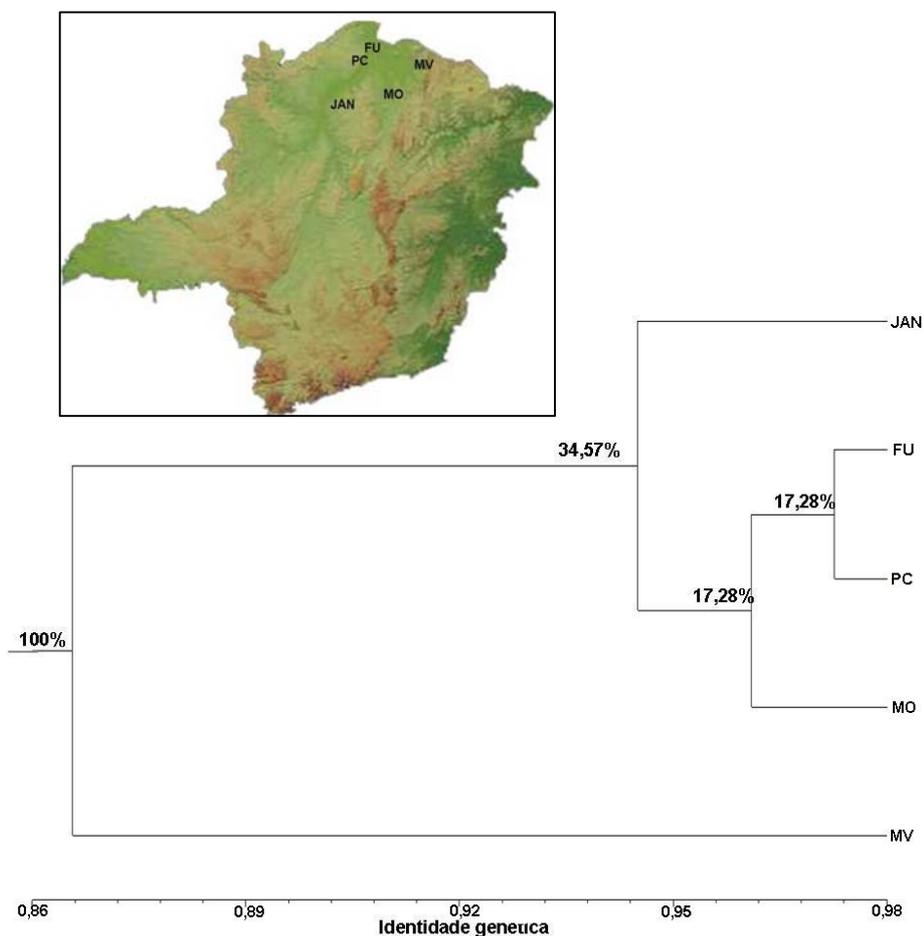


Figura 5 Dendrograma UPGMA das populações de *Cavanillesia arborea*, calculado de acordo com a identidade genética de Nei (1978). Os números acima dos nós indicam a consistência dos mesmos, após 1.000 permutações. JAN-Januária; FU-Furados; PC-Parcela Carlos; MO-Mocambinho; MV-Mato Verde

O dendrograma apresenta uma faixa de similaridade de 86 a 98,% entre as cinco populações. Acima de 93% de similaridade observam-se dois agrupamentos: um formado por quatro populações (JAN, FU, PC E MO), e outro MV. Isso pode ter ocorrido em função do baixo número de indivíduos

nessa população, que foi 14, ou ainda, pelo fato de estar localizada numa região geograficamente diferenciada das demais, cercada por muitos afloramentos calcários. Além disso, está inserida no complexo da Serra do Espinhaço na região norte de Minas Gerais, enquanto que as outras populações localizam-se na Bacia do Rio São Francisco. MV é a população que apresenta a maior distância média entre as populações (130,12 km). As outras quatro populações (PC, FU, JAN, MO), encontram-se isoladas devido à fragmentação intensa na região. Esse isolamento pode impedir a troca de alelos entre as populações, o que causa a divergência genética e a formação de grupos distintos no dendrograma.

Ao analisar a formação da primeira divisão do dendrograma, percebe-se a formação de um nó com 34,57% de consistência, o que permite supor a existência de uma relação entre a similaridade genética entre as populações, e a distância geográfica entre elas, pois essas populações encontram-se numa região às margens do Rio São Francisco, com características geográficas bastante semelhantes, reforçando a hipótese de que essas populações constituíam-se de uma população contínua no passado.

O Teste de Mantel estabeleceu uma correlação positiva e significativa entre as distâncias geográficas e as distâncias genéticas estimadas ($r=0,8929$; $P=0,0330$) nas populações estudadas de *C. arborea*. Este resultado confirma a hipótese de isolamento por distância, em que as distâncias geográficas entre as populações amostradas estão correlacionadas com a distância genética. Além disso, elementos da paisagem como o próprio Rio São Francisco nesse sentido pode atuar como barreira geográfica para alguma dessas populações manterem distâncias genéticas umas das outras, e ainda outros elementos como os processos de fragmentação em toda região Norte do Estado.

O fato das populações apresentarem correlação positiva entre distância geográfica e distância genética, pode ser muito importante para programas de

conservação da espécie, tendo em vista que essa é uma informação importante, podendo ser utilizada como indicativa de área de coleta de sementes para conservação *ex situ*, já que um maior número de áreas amostradas representaria a maior variabilidade possível (MELO; CIAMPI; VIEIRA, 2009).

Resultados semelhantes foram relatados também com marcadores dominantes RAPD, onde encontrou-se correlação positiva entre as distâncias genética e geográfica, como em *Eugenia dysenterica* no Cerrado goiano (ZUCCHI et al., 2005) com valor de $r = 0,770$ e *Lychnophora ericoides* no Distrito Federal, cujo valor de $r = 0,820$ (MELO; CIAMPI; VIEIRA, 2009).

4.4 Estrutura genética espacial

Todos os indivíduos de *C. arborea* amostrados estão representados na Gráfico 2. Os pontos na figura representam as plantas coletadas dentro das populações, e como apresentam-se distribuídas ao longo de distâncias que variam entre 1000 a 4500 metros aproximadamente. A figura foi construída a partir das coordenadas UTM, marcadas pelo GPS.

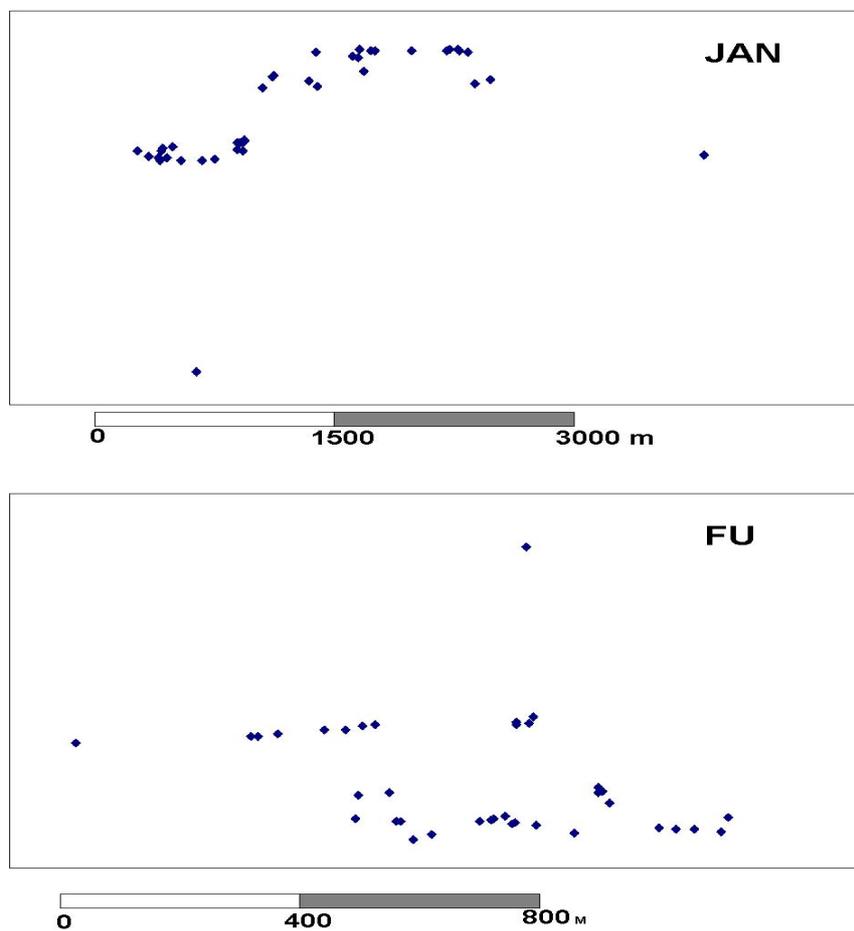
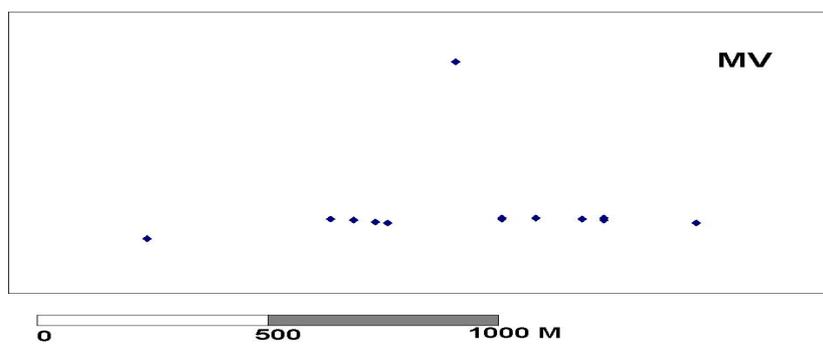
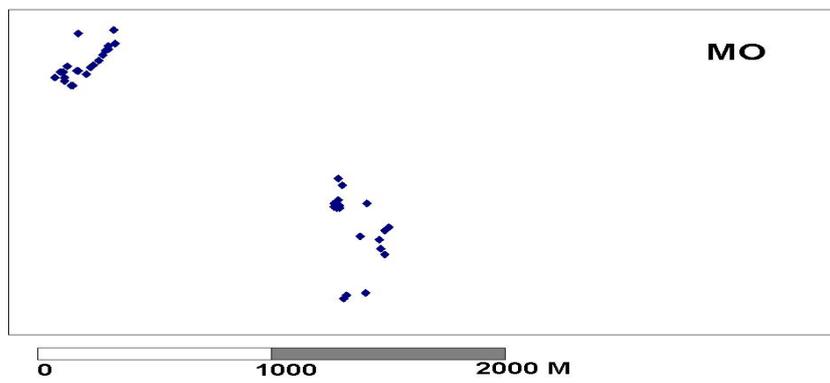
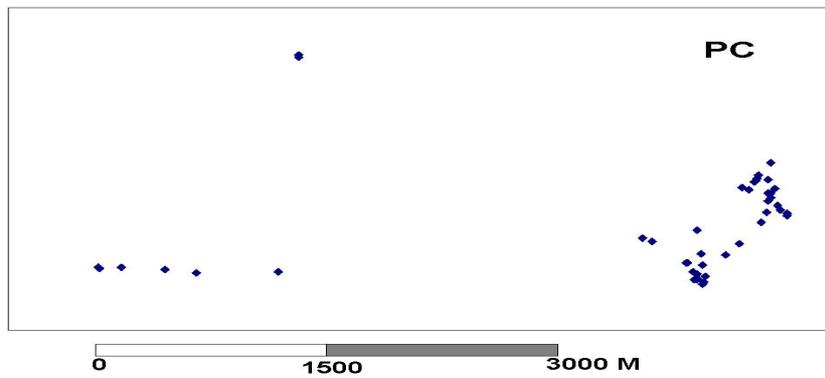


Gráfico 2 Posição e distribuição espacial de árvores de *Cavanillesia arborea* em populações naturais no Norte de Minas Gerais. JAN: Januária, FU: Furado, PC: Parcela Carlos, MO: Mocambinho, e MV: Mato Verde

(...continua...)



A distribuição espacial dos genótipos dentro de cada população foi obtida por meio do coeficiente de Kinship de coancestria (HARDY, 2003) entre plantas para cada classe de distância (Gráfico 3).

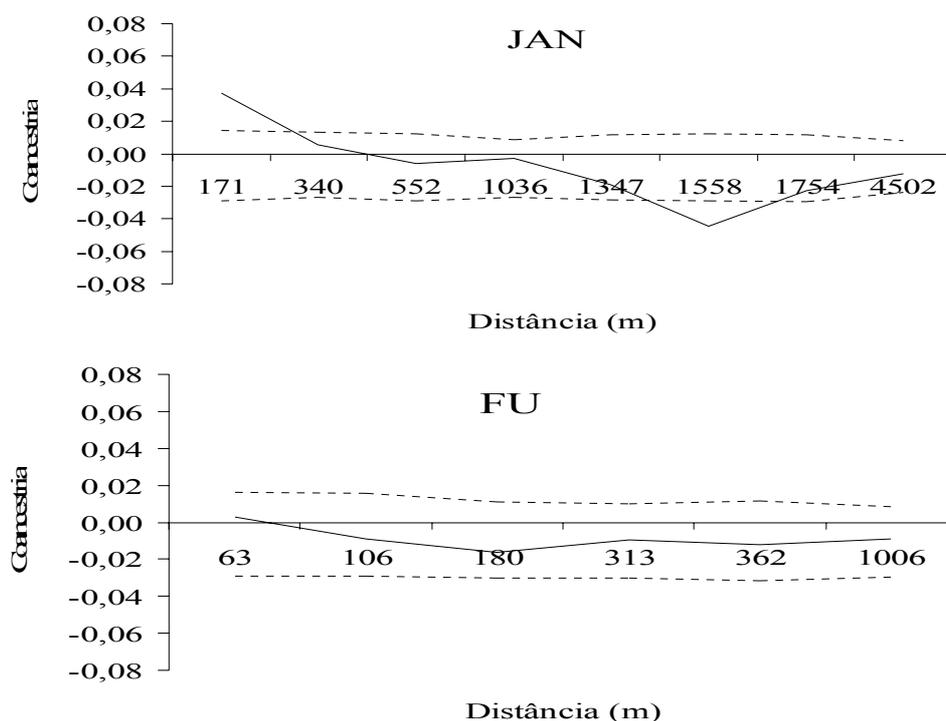
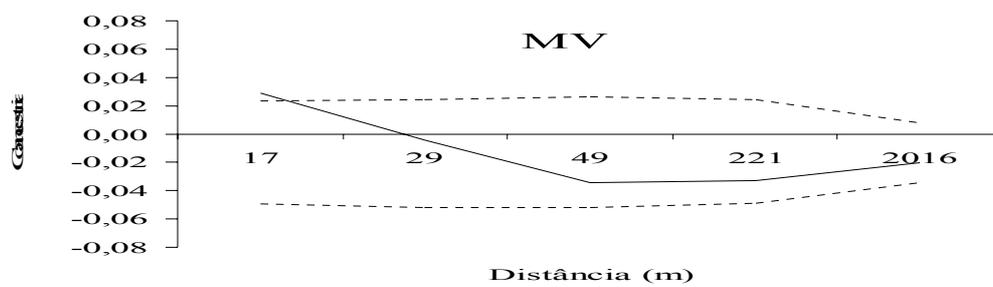
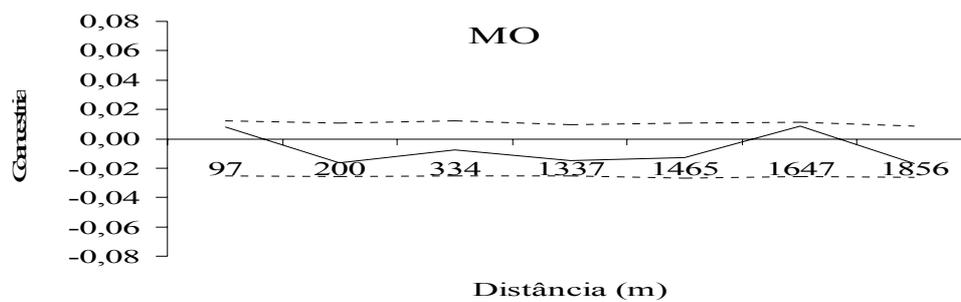
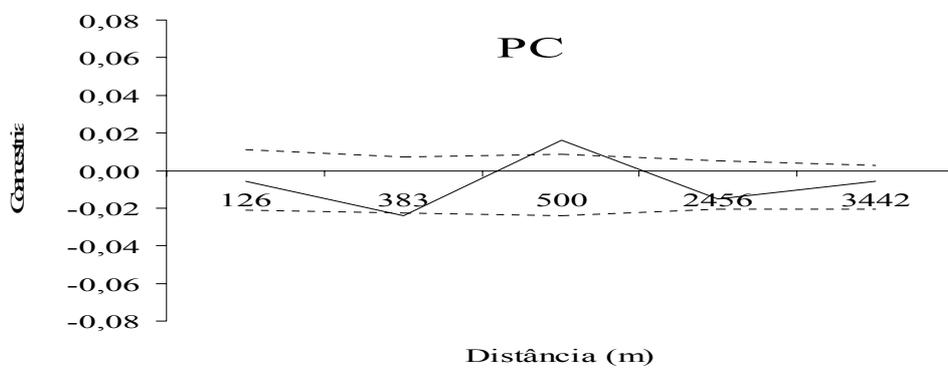


Gráfico 3 Correlogramas do coeficiente de coancestria (*kinship*), por classes de distância, para indivíduos de *Cavanillesia aborea* nas populações naturais amostradas no norte de Minas Gerais ---- intervalo de confiança, a 95% de probabilidade

(...continua...)



Nas populações FU e MO percebe-se uma ausência de estruturação genética significativa ($P > 0,05$), o que representa uma distribuição aleatória dos genótipos dentro destas populações. Entretanto, nas outras populações foi constatada estruturação espacial com valores significativos de coancestria ($P < 0,05$), além dos valores de S_p que foram diferentes de zero e significativos a 95% de probabilidade (Tabela 9).

Na população JAN os coeficientes de coancestria foram significativos na primeira classe de distância (0 a 171 metros) e assumiu valores de 0,037 ($P = 0,00$); e ainda na sexta classe de distância onde assumiu o valor negativo de -0,0445 ($P = 0,003$). Esses resultados apontam para uma estruturação espacial, em que os indivíduos geograficamente mais próximos foram geneticamente similares, resultado de uma coancestria positiva. Ao mesmo tempo nessa população ocorreu na classe de distância 6, a 1558m, uma coancestria negativa, indicando que os indivíduos geograficamente distantes tem menor similaridade genética.

Tabela 9 Caracterização da estrutura espacial de *Cavanillesia arborea* nas 5 populações, incluindo para cada população o coeficiente de *kinship* (F_{ij}) para primeira classe de distância, B_{log} , estatística S_p e valor de significância (P)

Populações	F_{ij}	B_{log}	S_p	P
Januária	0,0375	-0,0182	0,0189	0*
Furado	0,0026	-0,0028	0,0028	0,5085 ^{ns}
Parcela Carlos	-0,0056	-0,0005	0,0005	0,7123 ^{ns}
Mocambinho	0,0083	-0,0029	0,0029	0,3167 ^{ns}
Mato Verde	0,0289	-0,009	0,009	0,005*

* $P < 0,05$; ^{ns}, não significativo

A análise do correlograma da população PC apresenta resultado onde os valores de coancestria foram baixos e em duas classes de distâncias: a segunda entre 383 a 500 metros e, a terceira entre 500 e 2456 metros apresentaram estruturação genética espacial significativa, respectivamente de -0,0238

($P=0,033$) e $0,0159$ ($P=0,005$). Na segunda classe de distância com coancestria negativa os indivíduos mais distantes geograficamente são menos similares geneticamente. Na terceira o contrário, a estruturação se deu com os indivíduos mais próximos geograficamente, estes também são mais próximos geneticamente. Esse padrão de estruturação genética espacial pode ter ocorrido em função de características locais da população, tais como interferência do vento na dispersão dos frutos, ou ainda, prováveis elementos da paisagem que possam influenciar na ação do polinizador, e que não foram avaliados no presente trabalho.

Na população MV, houve estruturação espacial na primeira classe de distância entre 0 a 17 metros com valores de $0,0289$ ($P=0,037$). Esses resultados indicam a presença de estruturação espacial nessa população na primeira classe de distância, indicando assim que os indivíduos geograficamente mais próximos foram geneticamente similares, resultado de uma coancestria positiva.

Diante dos resultados da estatística S_p da estrutura genética (Tabela 9) para as cinco populações de *C. arborea* foi observado nas populações JAM, PC e MV a ocorrência de estruturação genética espacial significativa com valores baixos e próximos a outros trabalhos com espécies de fecundação cruzada (VEKEMANS; HARDY, 2004). Isso pode ter ocorrido em função da limitada dispersão de sementes nesses locais, agravada pela degradação das áreas amostradas com redução do número de indivíduos o que pode ser um indicio formação de agregados de plantas nesses ambientes.

Os baixos valores de S_p aqui encontrados variaram de $0,0005$ a $0,0189$ e estão próximos aos valores encontrados em outras espécies de fertilização cruzada (BRANDÃO, 2008; FERNANDES, 2008; MOURA, 2005). Os contrastes entre as populações no que diz respeito à estruturação espacial pode ser explicada considerando a hipótese de que a similaridade de condições ecológicas como clima, solo e altitude pode levar a similaridade genética entre

indivíduos (GRAUDAL et al., 1997), e que a dispersão do pólen e sementes dentro das populações muitas vezes podem ser limitadas às vizinhanças da matriz, supõe-se que árvores mais próximas apresentem maior similaridade genética do que árvores mais distantes espacialmente (GRAUDAL et al., 1997; SOKAL; MENOZZI, 1982). Futuyama (1992) considera que, em uma população, existem limitações físicas que podem dificultar os cruzamentos aleatórios, devendo haver maior probabilidade de cruzamentos entre indivíduos mais próximos, o que, por sua vez, pode levar à formação de grupos, estruturando a população. Além disso, a dispersão dos frutos pelo vento pode alterar a estrutura genética espacial em função da variação da intensidade dos ventos nesses locais, e ainda o comportamento do polinizador, que no caso da *C. arborea* é o morcego que vôa longas distâncias (BAWA, 1990).

Os estudos de estrutura genética espacial são muito importantes quando se pensa em conservação *in situ* de populações naturais e suas estratégias de amostragem, uma vez que com essas informações é possível assim, maximizar a diversidade populacional ou da espécie (EPPERSON; ALLARD, 1989). E ainda, no caso de manejo, seria uma indicação do distanciamento mínimo entre indivíduos a serem amostrados para programas de melhoramento genético da espécie e para a coleta de sementes, pois, assim, a amostragem seria maximizada, visando à obtenção de maior variabilidade genética (CLOUTIER et al., 2007; JIN; HE; LU, 2003; KELLY; HARDY; BOUVET, 2004).

No caso específico de *C. arborea* os estudos apontaram para presença de estruturação espacial nas populações JAN nas classes de distância 0 a 171 e 1558m, PC nas classes de distância de 383 a 500 e 500 a 2456m, e MV na classe de distância de 0 a 17m.. Portanto, seria de fundamental importância que as estratégias de conservação tivessem como foco a preservação de grandes áreas de matas secas, uma vez que os indivíduos correm em distâncias consideráveis uns dos outros. Aliado a isso, outras informações geradas em

estudos de diversidade genética, e ainda outras abordagens com distribuição espacial dos genótipos em microescala, com amostragem de progênies e ou indivíduos regenerantes, associados a estudos da biologia reprodutiva, podem auxiliar na compreensão da estrutura genética da espécie nos ambientes estudados.

Os dados gerados nesse trabalhos podem ser de fundamental importância, uma vez que a conservação desse ecossistema é prioritária tendo em vista os altos índices de fragmentação nas áreas de ocorrência da Mata Seca, e também por causa da perspectiva de desmate a curto prazo, tendo em vista a criação da Lei estadual número 17.353/2008 que subsidia a redução das áreas de reserva legal no domínio desse ecossistema. Assim, ao propor a estratégias conservação com preservação de grandes áreas, inevitavelmente é possível estabelecer condições para a preservação de outras espécies das Matas Secas.

4.5 Eventos fenológicos

4.5.1 Caracterização climática da área de estudo

A temperatura média mensal apresentou resultados relativamente constantes e altos no período amostrado, sendo que a temperatura média mensal máxima foi de 28,12° C em outubro/2008 e a mínima foi de 20,55 °C em novembro do mesmo ano (Gráfico 4).

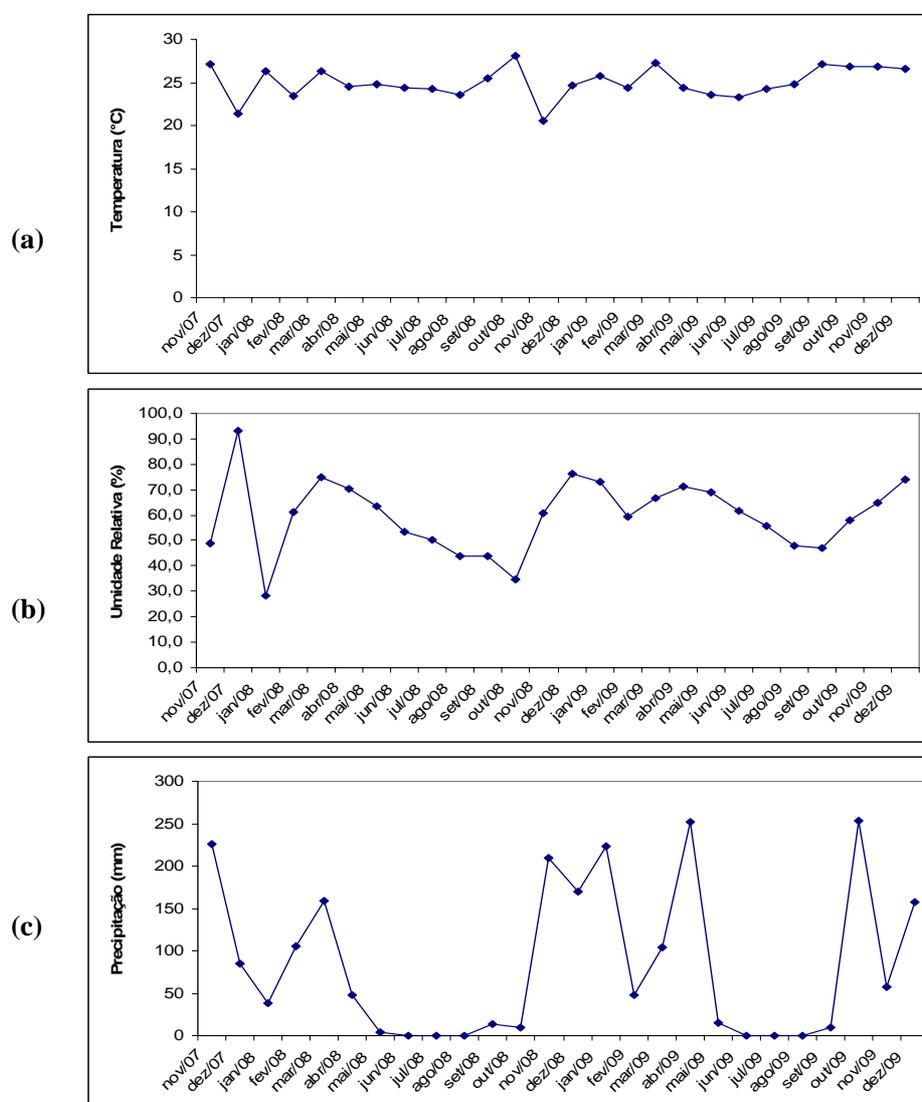


Gráfico 4 (a) Variação de temperatura (°C). (b) Umidade Relativa do ar (%) e (c) dados de precipitação (mm). Dados da Estação de Mocambinho-Epamig no município de Itacarambi, de novembro de 2007 a dezembro de 2009

A umidade relativa do ar apresentou picos nos mês de novembro, dezembro e abril em todos os anos amostrados, com máximo de 93,29% em novembro de 2007, resultados que indicam sazonalidade desta variável.

Os valores de precipitação foram baixos, no ano de 2008 um total de 757,8 mm, e no ano de 2009, 1110,7 mm. No período de estudo fenológico, entre novembro de 2007 e dezembro de 2009, um total 11 meses, isto é, 42% do período avaliado apresentou valores de precipitação abaixo de 20 mm ao mês. E ainda, entre os meses de julho a agosto/2008 e junho a agosto/2009 não foram registradas chuvas na área de estudo, e o valor de precipitação foi igual a zero. Os meses de novembro de 2007, novembro a janeiro de 2008 e outubro de 2009 apresentaram picos de pluviosidade, sendo o mês de outubro/2009 o que apresentou a maior média de todo período avaliado 252mm.

4.5.2 Fenologia reprodutiva

As fenofases de *C. arborea* não foram influenciadas pela variável temperatura, não sendo observadas correlações significativas entre os eventos fenológicos reprodutivos observados botão floral(BF), floração (FL), frutos imaturos (FI) e frutos maduros (FM) com a temperatura. Entretanto, as diferentes fenofases se correlacionaram significativamente com as variáveis de precipitação e de umidade relativa do ar, tanto em relação a intensidade quanto a atividade (Tabela 10).

Tabela 10 Correlação de Spearman entre os índices de atividade e intensidade das diferentes fases mensais de *Cavanillesia arborea* com as variáveis climáticas no período de novembro de 2007 a dezembro de 2009

Fenofase	Avaliação	Variável climática	n	R	P
Folha seca	Atividade	Precipitação	26	-0,2766	0,1715
	Intensidade	Precipitação	26	-0,4177	0,0337*
	Atividade	U. Relativa	26	0,0769	0,7086
	Intensidade	U. Relativa	26	-0,1432	0,4850
Folha verde	Atividade	Precipitação	26	0,2738	0,1759
	Intensidade	Precipitação	26	0,2132	0,2956
	Atividade	U. Relativa	26	0,5472	0,0038*
	Intensidade	U. Relativa	26	0,5683	0,0024*
Brotamento	Atividade	Precipitação	26	0,4139	0,0355*
	Intensidade	Precipitação	26	0,4216	0,0319*
	Atividade	U. Relativa	26	0,3562	0,0740
	Intensidade	U. Relativa	26	0,3614	0,0696
Botão floral	Atividade	Precipitação	26	-0,6630	0,0002*
	Intensidade	Precipitação	26	-0,6630	0,0002*
	Atividade	U. Relativa	26	-0,4231	0,0312*
	Intensidade	U. Relativa	26	-0,4194	0,0329*
Floração	Atividade	Precipitação	26	-0,2832	0,1609
	Intensidade	Precipitação	26	-0,2832	0,1609
	Atividade	U. Relativa	26	-0,4552	0,0194*
	Intensidade	U. Relativa	26	-0,4552	0,0194*
Fruto imaturo	Atividade	Precipitação	26	-0,2832	0,1609
	Intensidade	Precipitação	26	-0,2832	0,1609
	Atividade	U. Relativa	26	-0,4523	0,0203*
	Intensidade	U. Relativa	26	-0,5937	0,0013*
Fruto maduro	Atividade	Precipitação	26	0,4061	0,0395*
	Intensidade	Precipitação	26	0,4555	0,0193*
	Atividade	U. Relativa	26	-0,1979	0,3324
	Intensidade	U. Relativa	26	-0,0840	0,6831

*Valores significativos a 5% de probabilidade

De maneira geral, o surgimento de botões florais e abertura das flores ocorreram de forma sazonal entre os meses de junho a outubro nos dois anos observados, com pico de produção entre julho-agosto para botões florais e

setembro e outubro para antese, que coincidiram com a estação seca (Gráfico 5). A produção de botões florais correlacionou-se negativamente com a precipitação e umidade relativa tanto para o índice de atividade quanto para o índice de intensidade. A abertura de flores correlacionou-se negativamente apenas com umidade relativa do ar (Tabela 10). Esses fenômenos estão relacionados ao período seco do ano (maio a outubro), que atingiram os valores percentuais mais altos nesse período (Fig 9c). A presença de botões florais apresentou picos de 66% e 86% em 2008 e 2009, respectivamente, para índice atividade, e 43% e 61% para o índice de intensidade. Ao mesmo tempo, a fenofase antese atingiu picos menores de floração, com intensidade de 20% em setembro/2008 e 21% setembro de 2009, já os picos do para esta fenofase no índice de atividade foram de 26% e 53% em 2008 e 2009, respectivamente (Gráfico 5)

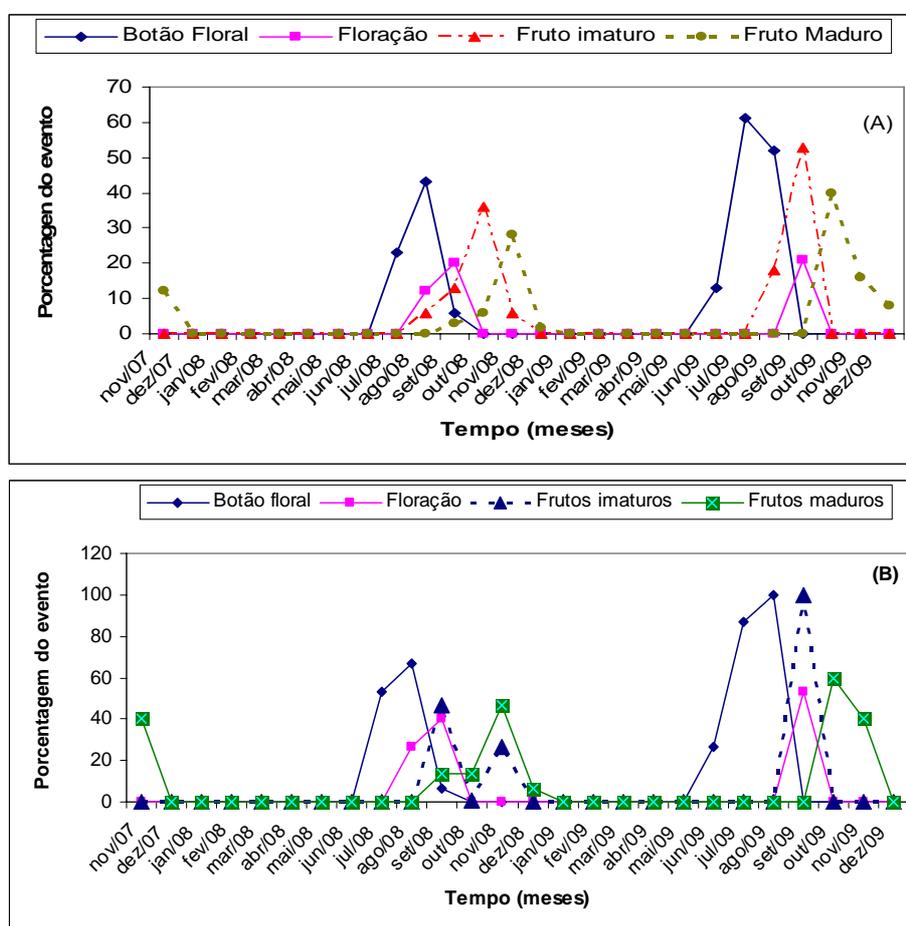


Gráfico 5 Índices de intensidade (A) e atividade (B) fenológica reprodutiva de indivíduos de *Cavanillesia arborea* no Parque Estadual Mata Seca no período de novembro de 2007 a dezembro 2009: botão floral, floração, Frutos maduros e frutos imaturos

A produção de frutos imaturos e maduros ocorreu de forma sazonal entre os meses de agosto a dezembro nos dois anos observados. Os picos de produção dos frutos imaturos ocorreram nos meses de setembro, e para os frutos maduros, os meses de maior produtividade foram outubro e novembro.

A produção frutos imaturos correlacionou-se negativamente com a umidade relativa do ar, tanto para o índice de intensidade quanto de atividade. Entretanto, não houve correlação significativa com a precipitação no período avaliado, o que indica que a ocorrência desta fenofase está relacionada ao período seco do ano. No entanto, a produção de frutos maduros correlacionou-se positivamente com a precipitação para os dois índices avaliados, coincidindo com período chuvoso na região. Portanto, pode-se dizer que, o estabelecimento dos frutos ocorre simultaneamente no período de maior pluviosidade (Tabela 10).

O ritmo fenológico reprodutivo apresentado por *C. arborea*, caracterizou-se pela ocorrência sazonal das fenofases. A floração da barriguda pode ser classificada como anual e regular, segundo a classificação de Newstrom, Frankie e Baker (1994). Essa fenofase apresentou alta sincronia (atividade) e produtividade no período estudado. Fatores ambientais, especialmente precipitação, afetam a atividade dos agentes polinizadores e também as espécies vegetais, por meio de mecanismos de resposta aos estímulos ambientais que estão sincronizados com fatores bióticos (MANTOVANI; MARTINS, 1998). Segundo Pedroni, Sanchez e Santos (2002), a produção de inflorescências no período seco encontra-se associada a uma maior proteção dos órgãos reprodutivos. Assim, é possível associar a floração nos períodos secos a uma adaptação da espécie aos fatores bióticos e abióticos, como sugerido em espécies de Mata Seca por Nunes et al. (2005) para *Guazuma ulmifolia* (Malvaceae) e Nunes et al. (2008) para *Myracrodruon urundeuva* (Anarcadiaceae).

O padrão de frutificação também ocorreu de forma sazonal e sincrônica. Entretanto, foi possível observar esse fenômeno uma vez que os picos de produção frutos verdes ocorreram no período antes do início das chuvas, e os frutos estavam maduros nos períodos em que haviam picos de precipitação no período avaliado. Segundo Mantovani et al. (2003), em estudo com *Copaifera*

langsdorffii, foi observado que na estação seca as plantas perdem folhas aliviando o déficit hídrico e abrem os frutos quando a umidade do ar é favorável a deiscência. Além disso, no período chuvoso, a decomposição da serrapilheira proporcionará uma maior umidade e abundância temporária de nutrientes (MORELLATO; LEITÃO-FILHO, 1992), que contribuem para o estabelecimento inicial da planta e seu crescimento mais rápido, antes da chegada da próxima estação seca (NUNES et al., 2005). Esse padrão de frutificação apresentado pela barriguda, provavelmente, é uma forma de regulação da dispersão numa época propícia para germinação das sementes (PIÑA RODRIGUES; PIRATELLI, 1993).

4.5.3 Fenologia vegetativa

Assim como nos estudos de fenofases reprodutivas, os resultados para fenologia vegetativa para *C. arborea*, não foram significativos para a variável climática temperatura e apresentaram algumas correlações significativas para precipitação e umidade relativa (Tabela 10).

O brotamento das folhas ocorreu nos meses com maior pluviosidade, onde houve correlação positiva entre esta fenofase e a precipitação, tanto para o índice de atividade quanto de intensidade. A espécie apresentou picos de brotação entre os meses de novembro a dezembro, durante os 26 meses avaliados. Entretanto, no período de novembro de 2007 a abril de 2008, esse fenômeno perdurou por mais tempo, com cinco meses de duração (Gráfico 6).

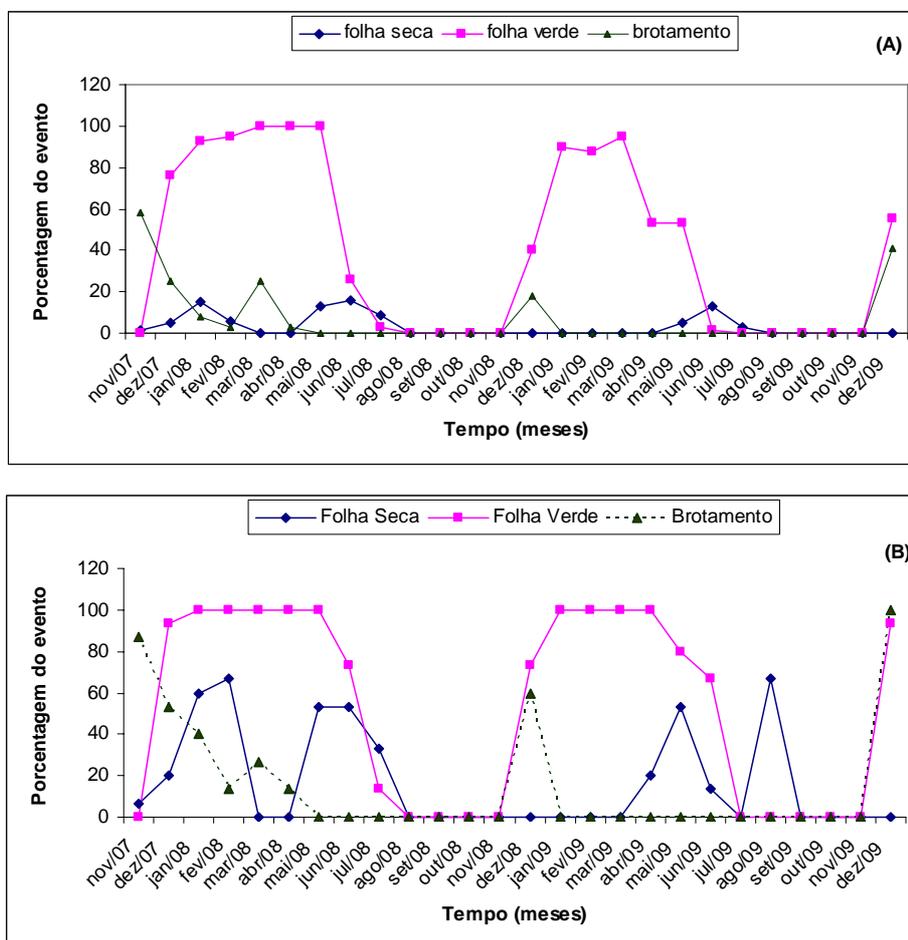


Gráfico 6 Índices de intensidade (A) e atividade (B) fenológica vegetativa de indivíduos de *Cavanillesia arborea* no Parque Estadual Mata Seca no período de novembro de 2007 a dezembro 2009: folha seca, folha verde e brotamento

A intensidade da presença de folhas secas (deciduidade) foi afetada negativamente pela precipitação, e no que diz respeito ao índice de atividade desta fenofase e precipitação não houve nenhuma correlação. No entanto, a umidade relativa do ar correlacionou-se positivamente tanto para os índices de atividade quanto de intensidade para presença de folhas verdes de *C. arborea*

(Tabela 10). Assim, o enfolhamento nessa população ocorreu de dezembro a julho, durante os dois anos avaliados, o que demonstrou uma sincronia bastante expressiva desta fenofase (Figura 11). Os períodos de maio a agosto, nos dois anos estudados, apresentaram ausência total de folhas verdes, o que coincide de maneira bastante clara com os períodos secos do ano (Gráfico 4C). Os indivíduos da população apresentaram 100% de sincronia de deciduidade nos meses de setembro a novembro nos dois anos avaliados, dessa forma, todos os indivíduos perderam as folhas nesse período, o que condiz com a caduficolia da espécie (Figura 11, a e b)

Diversos trabalhos em florestas tropicais demonstram que os eventos fenológicos, em sua grande maioria, são sazonais, principalmente quando as florestas estão sujeitas a uma forte estacionalidade climática (LOCATELLI; MACHADO, 2004).

Ao analisar os dados fenológicos da barriguda nos 26 meses avaliados é possível observar que tal afirmação pode ser comprovada, uma vez que, a presença de folhas novas ocorreu de forma recorrente no período entre os meses de dezembro a julho, seguidas de períodos de deciduidade total nos meses de setembro a novembro, resultado semelhante ao encontrado por Barbosa, Barbosa e Lima (2005) com *Myracrodruon urundeuva* na região de Caatinga no nordeste brasileiro, e Nunes et al. (2008) com a mesma espécie no Cerrado no norte de Minas Gerais.

Longman e Jenik (1987) afirmam que o fluxo sazonal de folhas novas é um traço característicos das florestas tropicais. Outros estudos (BORCHERT, 1994; REICH, 1995; WRIGHT, 1991) apontam para incremento na produção de folhas em função do aumento da disponibilidade de luz e água, que neste trabalho não foram realizados em função da não disponibilidade destes dados na estação climática de Mocabinho da EPAMIGA para essas análises. No entanto, este estudo aponta para a presença de folhas verdes em sete meses no ano, a

duração deste evento foi marcante durante os 26 meses avaliados, mesmo sem esta fenofase ter se correlacionado com a variável ambiental precipitação. Assim, fatores fisiológicos podem ter afetado essa fenofase (ELLIOT; BAKER; BORCHERT, 2006). Estudos futuros com avaliação de fotoperíodo e, ainda, estudos fisiológicos da planta poderiam ampliar o conhecimento sobre a produção de folhas verdes e floração desta espécie para a espécie.

O brotamento de *C. arborea* ocorreu de forma sazonal e correlacionado com precipitação, o que segundo Borchert (1994) é característica de florestas sazonais, influenciado principalmente pela disponibilidade de água e luz. A presença de folhas secas ocorreu, praticamente, ao mesmo tempo que a presença de folhas verdes. De acordo com Borchert, Rivera e Hagnauer (2002) e Elliott, Baker e Borchert (2006), a queda foliar ocorre como consequência do aumento da deficiência hídrica e pelo próprio envelhecimento das folhas. Além disso, outros fatores ambientais, como comprimento do dia podem ser determinantes da fenologia foliar (MARQUES; OLIVEIRA, 2004).

O sincronismo das fenofases reprodutivas e vegetativas de *C. arborea* demonstra que fatores climáticos influenciaram na fenologia da espécie, mesmo quando a precipitação apresentou valores bastante diferentes, como no caso dos valores de precipitação de 2009 que foi quase que o dobro de 2008. Assim, *C. arborea* apresentou suas fenofases seqüenciais, o mesmo não aconteceu com os estudos de Nunes et al. (2005) com *Guazuma ulmifolia*, espécie da mesma família que também ocorre no mesmo ecossistema, que apresentou enfolhamento, floração e frutificação entre agosto e outubro. Por outro lado, Pedroni, Sanchez e Santos (2002), obteve fenofases seqüenciais para *Copaifera Langsdorfii* em florestas semidecíduais no sudeste do Brasil., que no período das chuvas a planta apresenta uma copa grande, resultado de enfolhamento intenso, e no período seco perde as folhas, o que resulta em redução do déficit hídrico, e

florescem em abundância, o que acaba favorecendo a ação polinizadores da espécie.

|

5 CONCLUSÕES

- a) as populações de *Cavanillesia arborea* k. Schum. Apresentam altos níveis de diversidade genética, e a maior a maior parte dessa diversidade genética (91,28%) encontra-se dentro das populações, enquanto que 8,72% estão distribuídos entre as populações estudadas;
- b) a baixa diversidade entre as populações provavelmente ocorreu em função do fluxo alélico alto entre elas;
- c) a análise do dendograma UPGMA construído a partir da matriz genética de Nei (1978) sugere que a população Mato Verde (MV) apresenta-se separada geneticamente das demais, provavelmente em decorrência de diferenças na paisagem entre as populações, ou ainda em função da distância geográfica entre as populações;
- d) há correlação positiva entre distância genética e distância geográfica entre as populações estudadas, ou seja, este resultado permite confirmar a hipótese de isolamento por distância, em que as distâncias geográficas entre as populações amostradas estão correlacionadas com a distância genética;
- e) os estudos de estrutura genética espacial mostram que as populações FU e MO apresentam distribuição aleatória dos genótipos. Nas populações Januária (JAN), Parcela do Carlos (PC) e Mato Verde (MV) os indivíduos apresentaram estruturação espacial em algumas classes de distância, o que indicou parentesco entre os indivíduos mais próximos, ao mesmo tempo, esse parentesco diminuiu com o aumento da distância entre as plantas. Com base nisso, é fundamental a preservação de grandes áreas para a conservação dessa espécie;

- f) a fenologia reprodutiva da *Cavanillesia arborea* foi sazonal, sincrônica e seqüencial, e aconteceu principalmente na estação seca e início da estação chuvosa, que favoreceu a dispersão dos frutos;
- g) a fenologia vegetativa também apresentou-se sazonal e sincrônica, influenciada por fatores climáticos, e provavelmente por fatores fisiológicos da espécie que influenciam nos eventos de fenologia vegetativa.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

As Florestas Estacionais Deciduais (FEDs) também chamadas de Matas Secas, são ambientes extremamente ameaçados e, ao mesmo tempo, muito pouco estudados no mundo e principalmente no Brasil. Estudos como este produzem informações importantes e básicas para o manejo e conservação desses ecossistemas. É ainda mais premente a necessidade de pesquisas em áreas de matas secas, uma vez que recentemente foi sancionada pelo Governo do Estado de Minas Gerais a Lei 17.353 (MINAS GERAIS, 2008), que aumenta a possibilidade de desmatamento para 70% da comunidade arbórea secundária das Florestas Estacionais Deciduais e para 60% a cobertura florestal em estado primário.

Neste contexto, é importante que estudos genéticos sejam considerados nos programas de conservação, tais como, distribuição da diversidade genética, distribuição espacial dos genótipos, fluxo gênico, taxas de cruzamento, dentre outras. Além disso, estudos fenológicos são importantes para a compreensão dos processos biológicos associados às populações naturais e fornecem bases para o entendimento dos papéis que os fatores ambientais exercem nas plantas.

Os processos de fragmentação na região das Matas Secas no Norte de Minas ocorreram num período de tempo relativamente curto, em torno de 50 anos, que podem não ter influenciado nos índices de diversidade genética observados na *Cavanillesia arbórea*. E ainda, é importante salientar que os resultados encontrados nesse trabalho dizem respeito às gerações presentes nas áreas estudadas antes dos processos de fragmentação.

Entretanto, é importante salientar que esses ambientes continuam sofrendo pressão antrópica sistemática, uma vez que a exploração agropecuária na região continua sendo a atividade econômica mais importante das populações locais, o que pode colocar espécies como a barriguda em risco. Além dos

estudos de genética de populações, outra abordagem que fornece subsídios biológicos para conservação da *Cavanillesia arborea*, é a fenologia, que neste trabalho foi de grande importância, uma vez que contribuiu com informações ecológicas importantes que dizem respeito a influência das variáveis ambientais no comportamento biológico da espécie. Esse conhecimento associado aos estudos de diversidade genética ajudam a compor um conjunto de informações básicas para a conservação de *Cavanillesia arborea*.

Tendo em vista o conjunto de informações geradas neste trabalho, que particularmente no caso da *C. arborea*, a sua conservação em grandes áreas é muito importante também por que disponibiliza informações estratégicas para subsidiar o debate em torno do uso e ocupação das Matas Secas em Minas Gerais, tendo em vista a criação Lei estadual número 17.353/2008 (MINAS GERAIS, 2008) que subsidia a redução das áreas de reserva legal no domínio desse ecossistema. Assim, ao propor a estratégias conservação com preservação de grandes áreas, inevitavelmente é possível estabelecer condições para a preservação de outras espécies das Matas Secas.

REFERÊNCIAS

- AAGAARD, J. E.; KRUTOVSKII, K. V.; STRAUSS, S. H. RAPDs and allozymes exhibit similar levels of diversity and differentiations among populations and races of Douglas-fir. **Heredity**, Washington, v. 81, n. 1, p. 69-78, July 1998.
- AIDE, T. M. Patterns of leaf development and herbivory in a tropical understory community. **Ecology**, Durham, v. 74, n. 2, p. 455-466, Apr. 1993.
- AKAGI, H. et al. Microsatellite DNA markers for rice chromosomes. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 93, n. 5, p. 1071-1077, Oct. 1996.
- ALEXANDER, J. A.; LISTON, A.; POPOVICH, S. J. Genetic diversity of the narrow endemic astragalus oniciformis (Fabaceae). **American Journal of Botany**, Columbus, v. 91, n. 12, p. 2004-2012, Dec. 2004.
- ANGIOSPERM PHYLOGENY GROUP. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for orders and families of flowering plants: APG II. **Botanical Journal of the Linnean Society**, London, v. 141, n. 4, p. 399-436, Dec. 2003.
- ANTUNES, F. Z. Caracterização climática caatinga do Estado de Minas Gerais. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 17, n. 181, p. 15-19, 1994.
- APTE, G. S. et al. Genetic diversity analysis in *Gaultheria fragrantissima* Wall. (Ericaceae) from the two biodiversity hotspots in India using ISSR markers. **Current Science**, Columbus, v. 91, n. 12, p. 1634-1640, Dec. 2006.
- BARBOSA, D. C. A.; BARBOSA, M. C. A.; LIMA, L. C. M. Fenologia de espécies lenhosas da caatinga. In: LEAL, I. R.; ABARELLI, M.; SILVA, J. M. C. (Ed.). **Ecologia e conservação da caatinga**. Recife: UFPE, 2005. p. 657-694.
- BARREIRA, S. **Diversidade genética em população natural de *Eremanthus erythropappus* (DC.) MacLeish como base para o manejo florestal**. 2005. 73 f. Tese (Doutorado em Recursos Florestais) - Universidade de São Paulo, São Paulo, 2005.
- BARROSO, G. M. et al. **Sistemática de angiospermas do Brasil**. São Paulo: EDUSP, 1977. v. 1, 255 p.

BATALHA, M. A.; ARAGAKI, S.; MANTOVANI, W. Variações fenológicas das espécies do cerrado de Emas, Pirassununga, SP. **Acta Botanica Brasílica**, São Paulo, v. 11, n. 1, p. 61-78, fev. 1997.

BATALHA, M. A.; MANTOVANI, W. Reproductive phenological patterns of cerrado plant species at the Pé-de Gigante Reserve (Santa Rita do Passa Quatro, SP, Brazil): a comparison between the herbaceous and woody floras. **Revista Brasileira de Biologia**, São Paulo, v. 60, n. 1, p. 129-145, nov. 2000.

BAWA, K. S. Breeding systems of tree species of a lowland tropical community. **Evolution**, Lancaster, v. 28, p. 85-92, 1974.

_____. Mating systems, genetic differentiation and speciation in tropical rain forest plants. **Biotropica**, Washington, v. 24, n. 2, p. 250-255, June 1992.

_____. Plant-pollinator interactions in tropical rain forests. **Annual Review of Ecology and Systematics**, Palo Alto, v. 21, p. 399-422, Nov. 1990.

BECKER, J.; HEUN, M. Barley microsatellites: allele variation and mapping. **Plant Molecular Biology**, Dordrecht, v. 27, n. 4, p. 835-845, Feb. 1995.

BIERREGAARD JUNIOR, R. O.; DALE, V. H. Islands in an ever-changing sea: the ecological and socioeconomic dynamics of Amazonian rainforest. In: BLACK-SAMUELSSON, S. et al. RAPD and morphological analysis of the rare plant species *Vicia pisiformis* (Fabaceae). **Biological Journal of the Linnean Society**, London, v. 61, n. 3, p. 325-343, July 1997.

BLACK-SAMUELSSON, S. et al. RAPD and morphological analysis of the rare plant species *Vicia psiformis* (Fabaceae). **Biological Journal of the Linnean Society**, London, v. 61, n. 3, p. 325-343, July 1997.

BLAIR, M. W.; PANAUD, O.; MCCOUCH, S. R. Inter-simple sequence repeat (ISSR) amplification for analysis of microsatellite motif frequency and fingerprinting in rice (*Oryza sativa* L.). **Theoretical and Applied Genetics**, New York, v. 98, n. 6, p. 780-792, Dec. 1999.

BORCHERT, R. Soil and stem water storage determine phenology and distribution of tropical dry forest trees. **Ecology**, Durham, v. 75, n. 5, p. 1437-1449, June 1994.

BORCHERT, R. et al. Photoperiodic induction of synchronous flowering near the Equator. **Nature**, London, v. 433, n. 5110, p. 627-629, Feb. 2005.

BORCHERT, R.; RIVERA, G.; HAGNAUER, W. Modification of vegetative phenology in a tropical semideciduous forest by abnormal drought and rain. **Biotropica**, Washington, v. 34, n. 1, p. 27-39, Aug. 2002.

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. 88 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Florestal) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2008.

BRANDÃO, R. L. **Variabilidade genética de duas espécies vicariantes, *Hymenaea courbaril* (jatobá da mata) e *H. stigonocarpa* (jatobá do cerrado)**. 2002. 55 f. Dissertação (Mestrado em Genética) - Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2002.

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

BULLOCK, S. H.; SOLIS-MAGALLANES, J. A. Phenology of canopy trees of a tropical deciduous forest in México. **Biotropica**, Washington, v. 22, n. 1, p. 22-35, Jan. 1990.

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**, Oxford, v. 17, n. 13, p. 3147-3159, July 2008.

CAVALLARI, M. M. **Estrutura genética de populações de *Encholirium* (Bromeliaceae) e implicações para sua conservação**. 2004. 106 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Piracicaba, 2004.

CHARTERS, Y. M. et al. PCR analysis of oilseed rape cultivars (*Brassica napus* L. ssp. *oleifera*) using 50-anchored simple sequence repeat (SSR) *primers*. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 92, n. 10, p. 442-447, Nov. 1996.

CHEN, J. M. et al. The extent of clonality and genetic diversity in the rare *Caldesia grandis* (Alismataceae): comparative results for RAPD and ISSR markers. **Aquatic Botany**, Amsterdam, v. 84, n. 4, p. 301-307, May 2006.

- CLOUTIER, D. et al. Impact of selective logging on inbreeding and gene dispersal in an Amazonian tree population of *Carapa guianensis* Aubl. **Molecular Ecology**, Oxford, v. 16, n. 1, p. 797-809, June 2007.
- COCKERHAM, C. C. Variance of gene frequencies. **Evolution**, Washington, v. 23, n. 1, p. 72-84, Feb. 1969.
- COLES, J. F.; FOWLER, D. P. Inbreeding in neighboring trees in two White Spruce populations. **Silvae Genetica**, Frankfurt, v. 25, n. 1, p. 29-34, Feb. 1976.
- CRONQUIST, A. An integrated system of classification of flowering plants. In: BOVINI, M. G.; CARVALHO-OKANO, R. M. de; VIEIRA, M. F. **Malvaceae A. Juss. no Parque Estadual do Rio Doce, Minas Gerais, Brasil**. Rio de Janeiro: Rodriguésia, 2001. p. 17-47.
- CRUZ, C. D. **Programa GENES**: versão Windows. Viçosa, MG: UFV, 2001. 642 p.
- DIAS, H. C. T. **Fenologia de quatro espécies arbóreas e variação temporal e espacial da produção de serrapilheira em uma área de floresta estacional semidecidual montana em Lavras, MG**. 1995. 95 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Florestal) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 1995.
- DIAS, L. A. S.; KAGEYAMA, P. Y. Multivariate genetic distance and hybrid performance of cacao (*Thebroma cacao*). **Brazilian Journal of Genetic**, Ribeirão Preto, v. 20, n. 1, p. 63-70, Mar. 1998.
- EÇA-NEVES, F. F.; MORELLATO, L. P. C. Métodos de amostragem e avaliação utilizados em estudos fenológicos de florestas tropicais. **Acta Botânica Brasilica**, São Paulo, v. 18, n. 1, p. 99-108, jan./fev. 2004.
- EGUIARTE, L.; RIO, C. M. El néctar y el pólen como recursos: el papel ecológico de los visitantes a las flores de *Pseudobombax ellipticum* (H.B.K.) Dugand. **Biotropica**, Washington, v. 19, n. 1, p. 74-82, 1987.
- ELLIOTT, S.; BAKER, P. J.; BORCHERT, R. Leaf flushing during the dry season: the paradox of Asian monsoon forests. **Global Ecology and Biogeography**, Oxford, v. 15, n. 3, p. 248-257, May 2006.
- ELLSTRAND, N. C.; ELAM, D. R. Population genetic consequences of small population size: implications for plant conservation. **Annual Review of Ecology and Systematics**, Palo Alto, v. 24, p. 217-242, Nov. 1993.

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

ESPÍRITO-SANTO, M. M. et al. Sustainability of tropical dry forests: two case studies in southeastern and central Brazil. **Forest Ecology and Management**, Amsterdam, v. 258, n. 6, p. 922-930, Sept. 2009.

_____. Variáveis ambientais e a distribuição de espécies arbóreas em um remanescente de Floresta Estacional Semidecídua Montana no Campus da Universidade Federal de Lavras, MG. **Acta Botanica Brasílica**, Porto Alegre, v. 16, n. 3, p. 331-356, maio/jun. 2002.

EWEL, J. J. Natural systems as models for the design of sustainable systems of land use. **Agroforestry Systems**, Heidelberg, v. 45, n. 1, p. 1-21, Jan. 1999.

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: 10 fev. 2007.

EXCOFFIER, L.; SMOUSE, P. E.; QUATTRO, J. M. Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: application to human mitochondrial DNA restriction data. **Genetics**, Austin, v. 131, n. 2, p. 479-491, June 1992.

FERNANDES, R. C. **Diversidade e estrutura genética em populações naturais de pequi (Caryocar brasiliense Camb.) no Norte de Minas Gerais**. 2008. 73 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Florestal) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2008.

FERRAZ, D. K. et al. Fenologia de árvores em fragmento de mata em São Paulo, SP. **Revista Brasileira de Biologia**, São Paulo, v. 59, n. 2, p. 305-317, abr./jun. 1999.

FISCHER, E. A.; JIMENEZ, F. A.; SAZIMA, M. Polinização por morcegos em duas espécies de Bombacaceae na Estação ecológica de Juréia, São Paulo. **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v. 15, n. 1, p. 67-72, jan./mar. 1992.

FORÉ, S. A. et al. Genetic structure after forest fragmentation: an landscape ecology perspective on *Acer saccharum*. **Canadian Journal of Botany**, Ottawa, v. 70, n. 8, p. 1659-1668, Aug. 1992.

FOURNIER, L. A. Un método cuantitativo para la medición de características fenológicas en árboles. **Turrialba**, San José, v. 24, n. 4, p. 422-423, 1974.

FRANKHAM, R.; BALLOU, J. D.; BRISCOE, D. A. **Fundamentos da genética da conservação**. Ribeirão Preto: Sociedade Brasileira de Genética, 2008. 280 p.

FRANKIE, G. W.; BAKER, H.; OPLER, P. A. Comparative phenological studies of trees in tropical wet and dry forests in the lowlands of Costa Rica. **Journal of Ecology**, Oxford, v. 62, p. 810-819, 1974.

FREEMAN, R. S.; BRODY, A. K.; NEEFUS, C. D. Flowering phenology and compensation for herbivory in *ipomopsis aggregata*. **Oecologia**, Berlin, v. 136, n. 3, p. 394-401, Mar. 2003.

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

GANDARA, F. B. **Diversidade genética, taxa de cruzamento, e estrutura espacial dos genótipos em uma população de Cedrella fissilis Vell. (Meliáceas)**. 1996. 69 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 1996.

GE, X. J.; SUN, M. Population genetic structure of *Ceriops tagal* (Rhizophoraceae) in Thailand and China. **Wetlands Ecology and Management**, Dordrecht, v. 9, n. 3, p. 203-209, June 2001.

GILLIES, A. C. M. et al. Genetic diversity in Mesoamerican populations of mahogany (*Swietenia macrophylla*), assessed using RAPDs. **Heredity**, Washington, v. 83, n. 6, p. 722-732, Dec. 1999.

GONÇALVES, A. C. **Estrutura genética em populações naturais de *Dimorphandra mollis* Benth.** 2006. 98 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Florestal) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2006.

GOULART, M. F.; RIBEIRO, S. P.; LOVATO, M. B. Genetic, morphological and spatial characterization of two populations of *Mabea fistulifera* Mart. (Euphorbiaceae), in different successional stages. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, Curitiba, v. 48, n. 2, p. 275-284, Mar. 2005.

GRAUDAL, L. et al. Planning national programmes for conservation of forest genetic resources. **Technical Note Danida**, Copenhagen, v. 48, n. 2, p. 1-58, Mar. 1997.

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

GUPTA, M. et al. Amplification of DNA markers from evolutionarily diverse genomes using single primers of simple-sequence repeats. **Theoretical Applied and Genetics**, Berlin, v. 89, n. 6, p. 998-1006, Nov. 1994.

HAMRICK, J. L. Plant population genetics and evolution. **American Journal of Botany**, Columbus, v. 69, n. 10, p. 1685-1693, 1982.

HAMRICK, J. L.; GODT, M. T. Allozyme diversity in plant species. In: BROW, A. H. D. et al. (Ed.). **Plant population genetics, breeding and genetic resources**. Sunderland: Sinauer, 1990. p. 43-63.

_____. _____. In: BROWN, A. H. D.; CLEGG, M. T.; KAHLER, A. L. E. (Ed.). **Plant population genetics, breeding and genetic resources**. Sunderland: Sinauer, 1989. p. 43-63.

HARDY, O. J. Estimation of pairwise relatedness between individuals and characterisation of isolation by distance processes using dominant genetic markers. **Molecular Ecology**, Dordrecht, v. 12, n. 6, p. 1577-1588, June 2003.

HARDY, O. J.; SONKÉ, B. Spatial pattern analysis of tree species distribution in a tropical rain forest of Cameroon: assessing the role of limited dispersal and niche differentiation. **Forest Ecology and Management**, Amsterdam, v. 197, n. 2, p. 191-202, Aug. 2004.

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

HUFF, D. R.; PEAKALL, R.; SMOUSE, P. E. RAPD variation within and among natural populations of outcrossing buffalograss (*Buchoë dactuloides* (Nutt.) Elgen). **Theoretical and Applied Genetics**, New York, v. 86, n. 7, p. 927-934, Aug. 1993.

INSTITUTO ESTADUAL DE FLORESTAS. **Parecer técnico para a criação do Parque Estadual da Mata Seca**: relatório técnico. Belo Horizonte, 2000. 123 p.

JAMES, E. A.; ASHBURNER, G. R. Intraspecific variation in *Astelia australiana* (Liliaceae) and implications for the conservation of this Australian species. **Biological Conservation**, Essex, v. 82, n. 3, p. 253-261, Dec. 1997.

JANZEN, D. H. Synchronization of sexual reproduction of trees within the Dry Season in Central America. **Evolution**, Lancaster, v. 21, p. 620-637, 1967.

JIN, Y.; HE, T.; LU, B. Fine scale genetic structure in a wild soybean (*Glycine soja*) population and the implications for conservation. **New Phytologist**, Cambridge, v. 159, n. 2, p. 513-519, Aug. 2003.

JUSTINIANO, M. J.; FREDERICKSEN, T. S. Phenology of tree species in Bolivian dry forests. **Biotropica**, Washington, v. 32, n. 2, p. 276-281, Apr. 2000.

KAGEYAMA, P. Y.; GANDARA, F. B. Conseqüências genéticas da fragmentação sobre populações de espécies arbóreas. **Revista do Instituto de Pesquisas e Estudos Florestais**, Piracicaba, v. 12, n. 32, p. 65-70, dez. 1998.

KELLY, B. A.; HARDY, O. J.; BOUVET, J. Temporal and spatial genetic structure in *Vitellaria paradoxa* (shea tree) in an agroforestry system in southern Mali. **Molecular Ecology**, Oxford, v. 13, n. 5, p. 1231-1240, May 2004.

KRUSKAL, J. B. Multidimensional scaling by optimizing goodness of fit to a no metric hypothesis. **Psychometrika**, Williamsburg, v. 29, n. 1, p. 1-27, 1964.

LACERDA, D. R. et al. Genetic diversity and structure of natural populations of *Plathyenia reticulata* (Mimosoideae), a tropical tree from the Brazilian Cerrado. **Molecular Ecology**, Dordrecht, v. 10, n. 5, p. 1143-1152, May 2001.

_____. Técnica de RAPD: uma ferramenta molecular em estudos de conservação de plantas. **Lundiana**, Belo Horizonte, v. 3, n. 2, p. 87-92, 2002.

LAKSHMI, M. et al. Molecular phylogeny of mangroves I: use of molecular markers in assessing the intraspecific genetic variability in the mangrove species *Acanthus ilicifolius* Linn. (Acanthaceae). **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 94, n. 8, p. 1121-1127, June 1997.

LARCHER, W. **Ecofisiologia vegetal**. São Carlos: RiMa, 2000. 531 p.

LEWONTIN, R. C. The apportionment of human diversity. **Evolutionary Biology**, New York, v. 6, p. 381-398, 1972.

LIEBERMAN, D.; LIEBERMAN, M. The causes and consequences of synchronous flushing in a dry tropical Forest. **Biotropica**, Washington, v. 16, n. 3, p. 193-201, 1984.

LIETH, H. Purpose of a phenology book. In: _____. **Phenology and seasonality modeling**. Berlin: Springer, 1974. p. 3-19.

LIU, B.; WENDEL, J. F. Intersimple sequence repeat (ISSR) polymorphisms as a genetic marker system in cotton. **Molecular Ecology Notes**, Oxford, v. 1, n. 4, p. 205-208, Dec. 2001.

LOCATELLI, E.; MACHADO, I. C. Fenologia das espécies arbóreas de uma Mata Serrana (Brejo de Altitude) em Pernambuco, Nordeste do Brasil. In: PORTO, K. C.; CABRAL, J. J.; TABARELLI, M. (Org.). **Brejos de altitude: história natural, ecologia e conservação**. Brasília: MMA/PROBIO, 2004. p. 255-276.

LOISELLE, B. A. et al. Spatial genetic structure of a tropical understory shrub, *Psychotria officinalis* (Rubiaceae). **American Journal of Botany**, Columbus, v. 82, n. 11, p. 1420-1425, Nov. 1995.

LONGMAN, K. A.; JENIK, J. **Tropical forest and its environments**. New York: Longman Scientific & Technical, 1987. 205 p.

LORENZI, H. **Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas do Brasil**. 2. ed. Nova Odessa: Plantarum, 1998. 252 p.

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, Oct. 1984.

MACHADO, I. C. S.; BARROS, L. M.; SAMPAIO, E. V. S. B. Phenology of Caatinga species at Serra Talhada, PE, northeastern Brasil. **Biotropica**, Washington, v. 29, n. 1, p. 57-68, Mar. 1997.

MACHADO, I. C. S.; LOPES, A. V. floral traits and pollination systems in the caatinga, a brazilian tropical dry forest. **Annals of Botany**, London, v. 94, n. 3, p. 365-376, Sept. 2004.

MADEIRA, B. G. et al. Mudanças sucessionais nas comunidades arbórea e de lianas em fragmentos de matas secas no Parque Estadual da Mata Seca: entendendo o processo de regeneração natural. **Biota MG**, Belo Horizonte, v. 1, n. 1, p. 28-36, abr. 2008.

MANTOVANI, M. et al. Fenologia reprodutiva de espécies arbóreas em uma formação secundária da floresta atlântica. **Revista Árvore**, Viçosa, MG, v. 27, n. 4, p. 451-458, jul./ago. 2003.

MANTOVANI, W.; MARTINS, F. R. Variações fenológicas das espécies do cerrado da Reserva Biológica de Mogi Guaçu, Estado de São Paulo. **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v. 11, n. 2, p. 101-112, Nov. 1988.

MARQUES, M. C. M.; OLIVEIRA, P. E. A. M. Fenologia de espécies do dossel e do sub-dossel de duas Florestas de Restinga na Ilha do Mel, Sul do Brasil. **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v. 27, n. 4, p. 713-723, jul./ago. 2004.

MARTINS, P. S. Estrutura populacional, fluxo gênico e conservação “in situ”. **Revista do Instituto de Pesquisas e Estudos Florestais**, Piracicaba, v. 35, n. 2, p. 71-78, abr. 1987.

MCCUNE, B.; MEFFORD, M. J. **PC-ORD**: multivariate analysis of ecological data. Version 3.0. Gleneden Beach: Oreg, 1997. 66 p.

MCDERMOTT, J. M.; MCDONALD, B. A. Gene flow in plant pathosystems. **Annual Review Phytopathology**, Palo Alto, v. 31, p. 353-373, Nov. 1993.

MELO, L. Q.; CIAMPI, A. Y.; VIEIRA, R. F. Análise da variabilidade genética de arnica (*Lychnophora ericoides* Less. - Asteraceae) usando marcadores RAPDs. **Acta Botânica Brasílica**, Porto Alegre, v. 23, n. 1, p. 259-266, jan. 2009.

MELO JÚNIOR, A. F. et al. Estrutura genética de populações naturais de pequiheiro (*Caryocar brasiliense* Camb.). **Scientia Forestalis**, Piracicaba, v. 66, n. 6, p. 56-65, dez. 2004.

MENDONÇA, M. P.; LINS, L. V. **Lista vermelha das espécies ameaçadas de extinção da flora de Minas Gerais**. Belo Horizonte: Fundação Biodiversitas; Fundação Zoo-Botânica, 2000. 334 p.

MENGES, E. S. Seed germination percentage increases with population size in a fragmented prairie species. **Conservation Biology**, Boston, v. 5, n. 2, p. 158-164, June 1991.

MILLER, M. P. **Tools for population genetic analysis**. Version 1.3. Flagstaff: Northern Arizona University, 1997. 57 p.

MILLS, L. S.; ALLENDORF, F. W. The one-migrant-pergeneration rule in conservation and management. **Conservation Biology**, Essex, v. 10, n. 6, p. 1509-1518, Dec. 1996.

MINAS GERAIS. **Lei nº. 17.353**, de 17 de janeiro de 2008. Dispõe sobre a alteração do uso do solo nas áreas de ocorrência de mata seca. Belo Horizonte, 2008. Disponível em: <http://hera.almg.gov.br/cgi-bin/nph-brs?d=NJMG&f=G&l=20&n=&p=1&r=1&u=http://www.almg.gov.br/njmg/cha_ma_pesquisa_avancada.asp&SECT1=IMAGE&SECT3=PLUROFF&SECT6=HITIMG&SECT7=LINKON&SECT8=TODODOC&s1=lei+17353&SECT2=THESOFF&n>. Acesso em: 10 mar. 2010.

MIRANDA, I. S. Fenologia do estrato arbóreo de uma comunidade de cerrado em Alter-do-Chão, PA. **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v. 18, n. 2, p. 235-241, mar./abr. 1995.

MOGG, R. J.; BOND, J. M. A cheap, reliable and rapid method of extracting highquality DNA from plants. **Molecular Ecology**, Oxford, v. 12, n. 3, p. 666-668, Mar. 2003.

MORELLATO, L. P. C. et al. Estudo fenológico comparativo de espécies arbóreas de floresta de altitude e floresta mesófila semidecídua na Serra do Japi, Jundiá, SP. **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v. 12, n. 1, p. 85-98, jan./fev. 1989.

MORELLATO, L. P. C.; LEITÃO-FILHO, H. F. Padrões de frutificação e dispersão na Serra do Japi. In: MORELLATO, L. P. C. (Ed.). **História natural da Serra do Japi: ecologia e preservação de uma área florestal no sudeste do Brasil**. Campinas: UNICAMP, 1992. p. 112-138.

MORI, E. S. **Estrutura genética e populações naturais de canafístula *Peltophorum dubium* (Spreng) Taub.** 2000. 145 f. Tese (Livre Docência em Botânica) - Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2000.

MOURA, E. F. **Divergência genética entre acessos de jaborandi (*Pilocarpus microphyllus*)**. 2003. 75 p. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2003.

MOURA, M. C. O. **Distribuição da variabilidade genética em populações naturais de *Eremanthus erythropappus* (DC) MacLeish por isoenzimas e RAPD**. 2005. 165 p. Tese (Doutorado em Ciências Florestais) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2005.

MURAWSKI, D. A. et al. Mating systems of two Bombacaceous trees of a neotropical moist forest. **Oecologia**, New York, v. 82, n. 4, p. 501-506, Aug. 1991.

MURCIA, C. Edge effects in fragmented forests: implications for conservation. **Trends in Ecology and Evolution**, Amsterdam, v. 10, n. 2, p. 58-62, Feb. 1995.

MURPHY, P. G.; LUGO, A. E. Ecology of tropical dry forest. **Annual Review of Ecology and Systematics**, Palo Alto, v. 17, n. 1, p. 67-88, 1986.

MYAMOTO, M.; KURAMOTO, N.; YAMADA, H. Differences in spatial autocorrelation between four sub-populations of *Alnus trabeculosa* Hand. Mazz. (Betulaceae). **Heredity**, Essex, v. 89, n. 4, p. 273-279, Oct. 2002.

NASCIMENTO, R. T. N.; FELFILI, J. M.; MEIRELLES, M. A. Florística e estrutura da comunidade arbórea de um remanescente de floresta estacional decidual de encosta, Monte Alegre, GO, Brasil. **Acta Botanica Brasílica**, Porto Alegre, v. 18, n. 3, p. 650-669, jun. 2004.

NEI, M. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. **Genetics**, Madison, v. 89, n. 3, p. 586-590, 1978.

_____. **Molecular evolutionary genetics**. New York: Columbia University, 1987. 512 p.

NEWSTROM, L. E.; FRANKIE, G. W.; BAKER, H. G. A new classification for plant phenology based on flowering patterns in lowland tropical rain forest trees at La Selva, Costa Rica. **Biotropica**, Washington, v. 26, n. 2, p. 141-159, Mar. 1994.

NUNES, Y. R. F. et al. Aspectos ecológicos de Aroeira (*Myracrodruon urundeuva* Allemão – Anacardiaceae): fenologia e germinação de sementes. **Revista Árvore**, Viçosa, MG, v. 32, n. 2, p. 233-243, mar./abr. 2008.

_____. Atividades fenológicas de *Guazuma ulmifolia* Lam. (Malvaceae) em uma floresta estacional decidual no norte de Minas Gerais. **Lundiana**, Belo Horizonte, v. 6, n. 2, p. 99-105, 2005.

NYBOM, H. Comparison of different nuclear DNA markers for estimating intraspecific genetic diversity in plants. **Molecular Ecology**, Dordrecht, v. 13, n. 5, p. 1143-1155, May 2004.

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**, Jena, v. 3, n. 2, p. 93-114, May 2000.

OLIVEIRA, P. E.; GIBBS, P. E. Reproductive biology of woody plants in a cerrado community of Central Brazil. **Flora**, London, v. 195, n. 4, p. 311-329, Dec. 2000.

OLIVEIRA, R. I. C. de. **Diagnóstico do sistema ambiental da bacia hidrográfica do Alto Viamão, Mato Verde - MG**. 2007. 126 f. Dissertação (Mestrado em Geografia) - Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2007.

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**, Washington, v. 30, n. 3, p. 362-375, Mar. 1998.

PALÁCIOS, C.; GONZÁLES-CANDELAS, F. Analysis of population genetic structure and variability using RAPD markers in the endemic and endangered *Limonium dufourii* (Plumbaginácea). **Molecular Ecology**, Oxford, v. 6, n. 12, p. 1107-1121, Dec. 1997.

PEDRONI, F.; SANCHEZ, M.; SANTOS, F. A. M. Fenologia de copaíba (*Copaifera langsdorfii* Desf. Leguminosae, Caesalpinioideae) em uma floresta semidecídua no sudeste do Brasil. **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v. 25, n. 2, p. 183-194, mar./abr. 2002.

PENNINGTON, R. T.; LEWIS, G. P.; RATTER, J. A. **Neotropical savannas and seasonally dry forests: plant diversity, biogeography, and conservation**. London: Taylor & Francis, 2006. p. 1-30.

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.

PERECIN, M. B. **Diversidade genética em populações naturais de espécies de Espinheira-Santa, *Maytenus aquifolia* Mart. e *M. ilicifolia* Mart. ex Reiss.** 2000. 134 p. Tese (Doutorado em Agronomia) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Piracicaba, 2000.

PEZZINI, F. F. **Fenologia e características reprodutivas em comunidades arbóreas de três estágios sucessionais em Floresta Estacional Decidual do norte de Minas Gerais.** 2008. 130 p. Dissertação (Mestrado em Ecologia) - Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2008.

PIÑA-RODRIGUES, F. C. M.; PIRATELLI, A. J. Aspectos ecológicos da produção de sementes. In: AGUIAR, I. B.; PIÑA-RODRIGUES, F. C. M.; FIGLIOLIA, M. B. (Ed.). **Sementes florestais tropicais.** Brasília: ABRATES, 1993. p. 47-81.

PRADO, D. E.; GIBBS, P. E. Patterns of species distributions in the dry forest South America. **Annals Missouri Botany Garden**, Saint Louis, v. 80, n. 2, p. 902-927, July 1993.

PRIMACK, R. B.; RODRIGUES, E. **Biologia da conservação.** Londrina: E. Rodrigues, 2001. 328 p.

RATNAPARKHE, M. B. et al. Inheritance of inter-simple-sequence-repeat polymorphisms and linkage with a fusarium wilt resistance gene in chickpea. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 96, n. 3, p. 348-353, Mar. 1998.

REDDY, N.; SARLA, N.; SIDDIQ, E. A. Inter simple sequence repeat (ISSR) polymorphism and its application in plant breeding. **Euphytica**, Wageningen, v. 128, n. 1, p. 9-17, Sept. 2002.

REICH, P. B. Phenology of tropical forests: patterns, causes and consequences. **Canadian Journal of Botany**, Ottawa, v. 73, n. 1, p. 164-174, Sept. 1995.

REICH, P. B.; BORCHERT, R. Water stress and tree phenology in a tropical dry forest in the lowlands of Costa Rica. **Journal of Ecology**, Oxford, v. 72, n. 1, p. 61-74, 1984.

REIS, C. A. F. et al. Diversidade e estrutura genética espacial de *Calophyllum* brasiliense Camb. (Clusiaceae) em uma floresta paludosa. **Revista Árvore**, Viçosa, MG, v. 33, n. 3, p. 265-275, maio/jun. 2009.

RENAU-MORATA, B. et al. Genetic diversity and structure of natural and managed populations of *Cedrus atlantica* (Pinaceae) assessed using random amplified polymorphic DNA. **American Journal of Botany**, Columbus, v. 92, n. 5, p. 875-884, May 2005.

RIBEIRO, J. F.; WALTER, B. M. T. Fitofisionomias do bioma Cerrado. In: SANO, S. M.; ALMEIDA, S. P. **Cerrado: ambiente e flora**. Planaltina: EMBRAPA-CPAC, 1998. p. 89-166.

RITLAND, K. Estimators for pairwise relatedness and individual inbreeding coefficients. **Genetics Research**, New York, v. 67, n. 2, p. 175-185, Apr. 1996.

RIZZINI, C. T. Nota prévia sobre a divisão fitogeográfica do Brasil. **Revista Brasileira de Geografia**, Rio de Janeiro, v. 25, n. 1, p. 3-64, 1963.

ROHLF, F. J. **Numerical taxonomy and multivariate analysis system**. Version 2.11. New York: Applied Biostatistics, 2000. 142 p.

ROUSSET, F. Genetic differentiation and estimation of gene flow from F-statistics under isolation by distance. **Genetics**, Austin, v. 145, n. 4, p. 1219-1228, July 1997.

SALIS, S. M. et al. Fitossociologia de remanescentes de florestas estacionais decíduas em Corumbá, Estado do Mato Grosso do Sul, Brasil. **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v. 27, n. 4, p. 671-684, out./dez. 2004.

SAMBROOK, J.; FRITSCH, E. F.; MANIATS, T. **Molecular cloning: a laboratory manual**. New York: Cold Spring Harbor Laboratory, 1989. 653 p.

SÁNCHEZ-AZOFEIFA, G. A. et al. Need for integrated research for a sustainable future in tropical dry forests. **Conservation Biology**, Boston, v. 19, n. 2, p. 285-286, Apr. 2005a.

_____. Research priorities for Neotropical dry forests. **Biotropica**, Washington, v. 37, n. 4, p. 477-485, 2005b.

SANTOS, R. M. et al. Riqueza e similaridade florística de oito fragmentos florestais no norte de Minas Gerais, Brasil. **Revista Árvore**, Viçosa, MG, v. 31, n. 1, p. 135-144, jan./fev. 2007.

SCARIOT, A.; FELFILI, J. M.; SOUZA-SILVA, J. C. **Cerrado: ecologia, biodiversidade e conservação**. Brasília: Ministério do Meio Ambiente, 2005. 139 p.

SCARIOT, A.; SEVILHA, A. C. Biodiversidade, estrutura e conservação de florestas estacionais decíduais no Cerrado. In: SCARIOT, A.; SOUSA-SIVA, J. C.; FELFILI, J. M. **Cerrado: ecologia, biodiversidade e conservação**. Brasília: Ministério do Meio Ambiente, 2005. v. 1, p. 122-139.

SCHAIK, C. P.; TERBORGH, J.; WRIGHT, S. J. The phenology of tropical forests: adaptative significance and consequences for primary consumers. **Annual Review of Ecology and Systematics**, Palo Alto, v. 24, p. 353-377, Nov. 1993.

SCOLFORO, J. R. S.; CARVALHO, L. M. T. **Mapeamento e inventário da flora nativa e dos reflorestamentos de Minas Gerais**. Lavras: UFLA, 2006. 288 p.

SEBBENN, A. M. **Estrutura genética de subpopulações de *Genipa americana* L. (Rubiáceas) a partir de isoenzimas**. 1997. 107 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Florestais) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Piracicaba, 1997.

SETSUKO, S.; ISHIDA, K.; TOMARU, N. Size distribution and genetic structure in relation to clonal growth within a population of *Magnolia tomentosa* Thunb. (Magnoliaceae). **Molecular Ecology**, Oxford, v. 13, n. 9, p. 2645-2653, Sept. 2004.

SEVILHA, A. C.; SCARIOT, A.; NORONHA, S. E. Estado atual da representatividade de unidades de conservação em florestas estacionais decíduais no Brasil. In: CONGRESSO NACIONAL DE BOTÂNICA, 55., 2004, São Paulo. **Anais...** São Paulo: Sociedade Brasileira de Botânica, 2004. p. 1-63.

SHAPCOTT, A. The spatial genetic structure in natural populations of the Australian temperate rainforest tree *Atherosperma moschatum* (Labill.) (Monimiaceae). **Heredity**, Oxford, v. 74, n. 1, p. 28-38, Jan. 1995.

SILVA, J. M. C. et al. **Biodiversidade da Caatinga: áreas e ações prioritárias para a conservação**. Brasília: Ministério do Meio Ambiente, 2004. 382 p.

SILVEIRA, S. R.; RUAS, P. M.; RUAS, C. F. Assessment of genetic variability within and among coffee progênies and cultivars using RAPD markers. **Genetics and Molecular Biology**, São Paulo, v. 26, n. 3, p. 329-336, May 2003.

SLATKIN, M. The average number of sites separating DNA sequences drawn from a subdivided population. **Theoretical Populations Biology**, London, v. 32, n. 1, p. 42-49, Aug. 1987.

SLOTTA, T. A. B.; PORTER, D. M. Genetic variation within and between *Iliamna corei* and *I. remota* (Malvaceae): implications for species delimitation. **Botanical Journal of the Linnean Society**, London, v. 151, n. 3, p. 345-354, July 2006.

SMITH, J. F.; PHAM, T. V. Genetic diversity of the narrow endemic *Allium aaseae* (Alliaceae). **American Journal of Botany**, Columbus, v. 83, n. 6, p. 717-726, Dec. 1996.

SMOUSE, P. E.; SORK, V. L. Measuring pollen flow in forest trees: an exposition of alternative approaches. **Forest Ecology and Management**, Amsterdam, v. 197, n. 1/3, p. 21-38, Aug. 2004.

SOKAL, R. R.; MENOZZI, P. Spatial autocorrelation of HLA frequencies in Europe support demic diffusion of early farmers. **American Naturalist**, Chicago, v. 119, n. 1, p. 1-17, Jan. 1982.

SOULÉ, M. **Conservation biology**. Cambridge: Sinauer, 1986. 104 p.

SOUZA, L. M. F. I. de. **Estrutura genética de populações naturais de *Chorisia speciosa* St. Hil. (Bombacaceae) em fragmentos florestais na região de Bauru (SP), Brasil**. 1997. 76 p. Dissertação (Mestrado em Ciências Florestais) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Piracicaba, 1997.

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

_____. Sistema de reprodução em população de *Chorisia speciosa* A. St.-Hil (Bombacaceae). **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v. 26, n. 1, p. 113-121, jan./fev. 2003.

SOUZA, V. Q. et al. Dissimilaridade genética em mutantes de aveia tolerantes e sensíveis a ácidos orgânicos. **Bragantia**, Campinas, v. 64, n. 4, p. 569-575, 2005.

STATISTICA for Windows 5.0: computer program manual. Tulsa: StatSoft, 2001. 76 p.

STEVENS, P. F. **Angiosperm phylogeny website**. Disponível em: <<http://www.mobot.org>>. Acesso em: 20 nov. 2008.

TAN, H. et al. Isolation of resistance gene analogs in cotton (*Gossypium Hirsutum* L.) based on conserved domains of plant disease resistance genes. **Euphytica**, Wageningen, v. 134, n. 1, p. 1-7, Oct. 2003.

TANKSLEY, S. D.; ORTON, T. J. **Isozymes in plant breeding and genetics**. Amsterdam: Elsevier, 1983. 472 p.

TELLES, M. P. C. et al. Caracterização genética de populações naturais de araticunzeiro (*Annona crassiflora* Mart. - Annonaceae) no Estado de Goiás. **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v. 26, n. 1, p. 123-129, abr. 2003.

TOREZAN, J. M. D. et al. Genetic variability of pré and post-fragmentation cohorts of *Aspidosperma polyneuron* Muell. Arg. (Apocynaceae). **Brazilian Archives of Biology and Technology**, Curitiba, v. 48, n. 2, p. 171-180, Apr. 2005.

VEKEMANS, X.; HARDY, O. J. New insights from fine-scale spatial genetic structure analyses in plant populations. **Molecular Ecology**, Dordrecht, v. 13, n. 5, p. 921-935, May 2004.

VIANA, V. M.; PINHEIRO, L. A. F. V. Conservação da biodiversidade em fragmentos florestais. **Revista do Instituto de Pesquisas e Estudos Florestais**, Piracicaba, v. 12, n. 32, p. 25-42, dez. 1998.

VIEIRA, D. L. M.; SCARIOT, A. Principles of natural regeneration of tropical dry forests for restoration. **Restoration Ecology**, Malden, v. 14, n. 1, p. 11-20, Feb. 2006.

WANG, G.; MAHALINGAM, R.; KARP, H. T. (C-A) and (GA) anchored simple sequence repeats (ASSRs) generated polymorphism in soybean, *Glycine max* L. Merr. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 96, n. 8, p. 1086-1096, June 1998.

WANG, J. Application of the one-migrant-per-generation rule to conservation and management. **Conservation Biology**, Essex, v. 18, n. 2, p. 332-343, Apr. 2004.

WOLFE, A. D.; LISTON, A. Contributions of PCR-based methods to plant systematics and evolutionary biology. In: SOLTIS, D. E.; SOLTIS, P. S.; DOYLE, J. J. (Ed.). **Molecular systematics of plants II: DNA sequencing**. New York: Kluwer, 1998. p. 43-86.

WOLFE, A. D.; RANDLE, C. P. Relationships within and among species of the holoparasitic genus *Hyobanche* (Orobanchaceae) inferred from ISSR banding patterns and nucleotide sequences. **Systematic Botany**, Kent, v. 26, n. 1, p. 120-130, 2001.

WOLFE, A. D.; XIANG, Q. Y.; KEPHART, S. R. Assessing hybridization in natural populations of *Penstemon* (Scrophulariaceae) using hypervariable intersimple sequence repeat (ISSR) bands. **Molecular Ecology**, Oxford, v. 7, n. 9, p. 1107-1125, Sept. 1998.

WOODS, K. et al. Pattern of variation and systematics of *Nymphaea odorata*: I. evidence from morphology and inter-simple sequence repeats (ISSRs). **Systematic Botany**, kent, v. 30, n. 3, p. 471-480, July/Sept. 2005.

WRIGHT, S. J. Genetical structure of populations. **Annals of Eugenics**, London, v. 15, p. 395-420, 1951.

_____. Seasonal drought and the phenology of understory shrubs in a tropical moist forest. **Ecology**, Durham, v. 72, n. 4, p. 1643-1657, Apr. 1991.

XIA, T. et al. ISSR analysis of genetic diversity of the Qinghai-Tibet Plateau endemic *Rhodiola chrysanthemifolia* (Crassulaceae). **Biochemical Systematics and Ecology**, Oxford, v. 35, n. 4, p. 209-214, Apr. 2007.

XIAO, M. et al. ISSR analysis of the genetic diversity of the endangered species *Sinopodophyllum hexandrum* (Royle) ying from Western Sichuan Province, China. **Journal of Integrative Plant Biology**, Beijing, v. 48, n. 10, p. 1140-1146, Oct. 2006.

YEH, F. C.; CHONG, D. K. X.; YANG, R. C. RAPD variation within and among natural populations of trembling aspen (*Populus tremuloides* Michx.) from Alberta. **Heredity**, Washington, v. 86, n. 6, p. 454-460, Nov./Dec. 1995.

YEH, F. C. et al. **POPGENE, the user-friendly shareware for population genetic analysis molecular biology and biotechnology centre**. Edmonton: University of Alberta, 1997. 143 p.

YUN, R. et al. Study on DNA diversity of Liaodong population at Dongling mountain region. **Acta Botanica Sinica**, Beijing, v. 40, n. 6, p. 169-175, June 1998.

ZAR, J. H. **Biostatistical analysis**. New Jersey: Prentice-Hall, 1996. 562 p.

ZHOURI, A. et al. Processos socioambientais nas matas secas no Norte de Minas Gerais: políticas de conservação e os povos do lugar. **Biota MG**, Belo Horizonte, v. 1, n. 1, p. 31-57, Apr. 2008.

ZIETJIEWICZ, E.; RAFALSKI, A.; LABUDA, D. Genome fingerprinting by simple sequence repeat (SSR)-anchored polymerase chain reaction amplification. **Genomics**, San Diego, v. 20, n. 2, p. 176-183, Mar. 1994.

ZIMBACK, L. et al. Estrutura genética de populações de *Trichillia pallida* Swartz (Meliaceae) por marcadores RAPD. **Scientia Florestalis**, Piracicaba, n. 65, p. 114-119, ago. 2004.

ZUCCHI, M. I. **Análise da estrutura genética de *Engenia dysenterica* DC utilizando marcadores RAPD e SSR**. 2002. 148 f. Tese (Doutorado em Agronomia) - Universidade de São Paulo, São Paulo, 2002.

ZUCCHI, M. I. et al. Genetic structure and gene flow of *Eugenia dysenterica* natural populations. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 40, n. 10, p. 975-980, out. 2005.