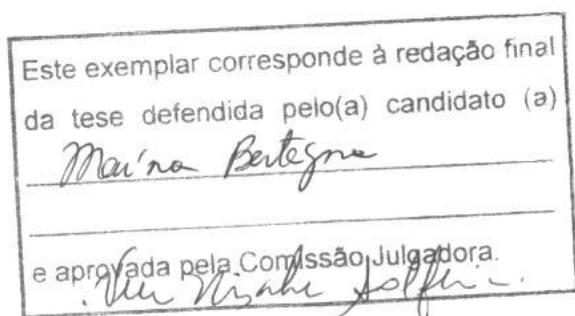


UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS



Maína Bertagna

"VARIABILIDADE GENÉTICA DE *CROTON FLORIBUNDUS* SPRENG. (EUPHORBIACEAE) EM SEIS FRAGMENTOS DE MATA ATLÂNTICA DO MUNICÍPIO DE CAMPINAS, SP."



Tese apresentada ao Instituto de Biologia para obtenção do Título de Mestre em Genética e Biologia Molecular na área de Genética Animal e Evolução.

Orientadora: Profa. Dra. Vera Nisaka Solferini

Campinas
2007

UNIDADE	BE
Nº CHAMADA:	7/UNICAMP
	B461v
V. _____	Ed. _____
TOMBO BC	72535
PROC.	16.145.02
C <input type="checkbox"/>	D <input checked="" type="checkbox"/>
PREÇO	41.000
DATA	16.05/07
BIB-ID	411292

**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA DO INSTITUTO DE BIOLOGIA – UNICAMP**

B461v

Bertagna, Maína

Variabilidade genética de *Croton floribundus* Spreng. (Euphorbiaceae) em seis fragmentos de Mata Atlântica do município de Campinas, SP / Maína Bertagna. – Campinas, SP: [s.n.], 2007.

Orientadora: Vera Nisaka Solferini.

Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Biologia.

1. Isoenzimas. 2. Árvores. 3. Fragmentação florestal. 4. Diversidade. 5. Estruturação genética. 1. Solferini, Vera Nisaka. II. Universidade Estadual de Campinas. Instituto de Biologia. III. Título.

Título em inglês: Genetic variability of *Croton floribundus* Spreng. (Euphorbiaceae) in six fragments of Atlantic forest in Campinas, SP.

Palavras-chave em inglês: Isoenzymes; Trees; Forest fragmentation; Diversity; Genetic structure.

Área de concentração: Genética Animal e Evolução.

Titulação: Mestre em Genética e Biologia Molecular.

Banca examinadora: Vera Nisaka Solferini, Louis Bernard Klaczko, Maria Tereza Grombone Guaratini.


Data da defesa: 12/02/2007.

Programa de Pós-Graduação: Genética e Biologia Molecular.

Campinas, 12 de fevereiro de 2007.

Banca Examinadora

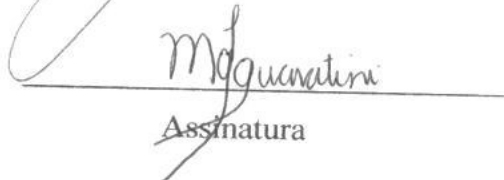
Profa. Dra. Vera Nisaka Solferini (Orientadora)
(Titular)


Assinatura

Prof. Dr. Louis Bernard Klaczko
(Titular)


Assinatura

Profa. Dra. Maria Tereza Grombone Guaratini
(Titular)


Assinatura

Profa. Dra. Maria Imaculada Zucchi
(Suplente)

Assinatura

Prof. Dr. João Semir
(Suplente)

Assinatura

Ao Felípe, com muito amor e carinho.

Sobre o solo
que as amarílis atapetam
ressurge triunfalmente
a flora tropical.
É uma
mutação
de
apoteose.

Euclides da Cunha

Agradecimentos

Aos meus pais, Eraldo e Vera, agradeço a força, a compreensão e o amor incomparável presente em todos os momentos importantes da minha vida.

Às minhas irmãs queridas, Taimê e Rana, agradeço o carinho e o aconchego.

À Vera Nisaka Solferini, minha orientadora, agradeço a oportunidade e os aprendizados acadêmico e de vida.

Às Jús, Thaís, Márcia, Bruna e amigos da Unesp/Rio Claro pelo apoio carinhoso e sempre presente.

Aos amigos e agregados do laboratório: Sônia e Horácio, Flávia e Andrés, Joice, Claudemir e Andréa, Aluana, Flávio, Suzana, Juliana, Kaiser e Camila, Renato, Ricardo e Heberth, que contribuíram de várias formas para este trabalho, agradeço a amizade e o apoio.

À Sônia, que perfumava as conversas do laboratório com aroma de café, agradeço o apoio, a orientação e a amizade.

À Flávia, companheira e amiga, pelo cantinho cedido em seu coração e em sua casa, agradeço a força, a revisão e a amizade.

À Aluana, agradeço as ajudas de laboratório.

Ao professor Jorge Yoshio Tamashiro (Departamento de Botânica, IB, Unicamp), agradeço as consultas animadíssimas sem data e hora marcadas, as saídas de campo e o empréstimo de materiais para coleta.

Aos responsáveis e proprietários das áreas onde estão os remanescentes de mata deste estudo: Administração do Condomínio Colinas do Atibaia, Sr. Carlos, Sr. Cristiano, Esther e Fátima, que autorizaram gentilmente as coletas.

À Karin dos Santos, Maria Santini Morini, Luciana Passos e outros pesquisadores, por nossas trocas de idéias via e-mail ou carta, que enriqueceram este trabalho.

À Capes e Fapesp, agradeço o apoio financeiro, fator imprescindível e de estímulo, a todos nós, jovens pesquisadores.

Aos membros da banca, Tereza e Louis Bernard, pelas sugestões e pelo apoio.

À Lourdes, agradeço a atenção e os encaminhamentos burocráticos.

Ao meu grande amor, Felipe, a quem dedico este trabalho e a minha vida, agradeço por te encontrar e compartilhar uma vida a dois, que começou com um simples olhar e terminou em altar. Agradeço a compreensão, força, auxílio nas coletas, análises, na genética de populações e a paciência.

À minha nova família Rocha, agradeço a força e o carinho sincero.

Índice

	Páginas
Agradecimentos	v
Resumo	vii
Abstract	viii
1. Introdução	01
2. Materiais e Métodos	
2.1. Locais de estudo	07
2.2. A espécie estudada	08
2.3. Os estádios ontogenéticos de <i>C. floribundus</i>	09
2.4. Procedimento de coleta	10
2.5. Eletroforese de isozimas	10
2.6. Análise dos resultados	
2.6.1. Estimativas de variabilidade genética intrapopulacional	11
2.6.2. Estruturação genética	12
3. Resultados	
3.1. Sistemas enzimáticos	16
3.2. Adultos	16
3.2.1. Frequências alélicas	16
3.2.2. Variabilidade genética intrapopulacional	18
3.2.3. Estruturação genética	20
3.3. Jovens	22
3.3.1. Frequências alélicas	22
3.3.2. Variabilidade genética intrapopulacional	24
3.3.3. Estruturação genética	25
3.4. Comparação entre adultos e jovens	28
3.4.1. Frequências alélicas	28
3.4.2. Variabilidade genética intrapopulacional	30
3.4.3. Estruturação genética	31
4. Discussão	
4.1. Variabilidade genética intrapopulacional de adultos e jovens	32
4.2. Estruturação genética de adultos e de jovens	35
4.3. Comparação entre adultos e jovens	36
5. Conclusão Geral	39
6. Referências Bibliográficas	40

Resumo

A fragmentação do habitat é o processo pelo qual uma área contínua pode ser tanto reduzida quanto dividida em áreas menores, chamadas de fragmentos. Conforme as paisagens florestais tornam-se fragmentadas, as populações são reduzidas, diminuindo a diversidade de espécies. A perda de espécies pode ser devido à redução da área, à perda de heterogeneidade ambiental e à perda de variabilidade genética. Em plantas, as consequências genéticas da fragmentação do habitat são mais complexas devido a características da história de vida de cada espécie. Em espécies arbóreas pioneiras, a extinção e a recolonização podem aumentar o fluxo gênico e reduzir a diferenciação entre as populações. Assim, estudos de genética de populações de ambientes fragmentados permitiriam entender quais são os mecanismos que envolvem desde a dinâmica destas populações nestes ambientes e o fluxo gênico entre elas. Através da eletroforese de isozimas, *Croton floribundus* (Euphorbiaceae) foi estudada em seis remanescentes de Mata Atlântica, pertencentes à Área de Proteção Ambiental de Souza e Joaquim Egídio, Campinas, SP. Os objetivos deste trabalho foram investigar e comparar a variabilidade genética entre e dentro de fragmentos, de adultos e jovens de *C. floribundus*, fazendo inferências sobre o fluxo gênico e sua importância em uma paisagem fragmentada. Amostras de adultos e jovens foram coletadas e analisadas através das estimativas de variabilidade genética intrapopulacional e dos níveis de estruturação populacional a partir das estatísticas-F de Wright (parâmetro θ). Os altos índices de diversidade genética e pouca diferenciação genética entre as amostras estudadas indicam que *C. floribundus* conseguiu manter a variabilidade genética de suas populações em curto prazo, sob condições de paisagem antropizada. Foi observada uma alta variabilidade genética e um alto índice de endocruzamento que podem ser explicados pelas características da história de vida de *C. floribundus*. A fragmentação recente, o número limitado de gerações transcorridas após a fragmentação, a dominância na paisagem, a alta densidade de indivíduos e à ocorrência de fluxo gênico entre fragmentos mais próximos podem ter facilitado a manutenção da variabilidade genética e a baixa diferenciação entre as amostras de adultos e jovens de *C. floribundus* estudadas.

Abstract

Habitat fragmentation is the process during which a large and continuous area is reduced or divided in small patches, called remnants. As forest landscapes are fragmented, their populations are reduced, so the species diversity. The loss of species may be due to the reduction of the area, of the environmental heterogeneity and of the genetic variability. In plants, the genetic consequences of habitat fragmentation are complex due to the particularities of the of each species' life history. In pioneer species, recurrent events of extinction and recolonization can promote gene flow and reduce the differentiation between populations. Thus, genetic studies of fragmented populations may help to understand the mechanisms involved in the dynamics of these populations as well as the levels of gene flow among them. Through electrophoretic procedures, *Croton floribundus* (Euphorbiaceae) was studied in six remnants of Atlantic Forest, belonging to the Área de Proteção Ambiental de Souza e Joaquim Egídio, Campinas, SP. The objectives of this study were to investigate and compare the genetic variability within and among samples of adults and juveniles of *C. floribundus*, making inferences about the levels of gene flow and its importance in a fragmented landscape. Samples were collected and analyzed through estimates of intrapopulacional genetic variability and levels of population structure. The high populational genetic diversity and the low genetic differentiation between the studied samples indicate that populations of *C. floribundus* keep their genetic variability in a short term, under the conditions of a disturbed landscape. The high genetic variability and the high levels of inbreeding can be explained by the life history characteristics of *C. floribundus*. The recent fragmentation, with a limited number of generations, the abundance of this species in the landscape, the high density of individuals and the occurrence of gene flow between close remnants may maintain of the high genetic variability and the low differentiation among the studied samples of adults and juveniles of *C. floribundus*.

1. Introdução

Da Mata Atlântica, o Brasil herdou a biodiversidade, que faz deste bioma um dos mais ricos em espécies do mundo. A Mata Atlântica (*sensu lato*) é constituída por um conjunto de formações vegetais arbóreas - definidas pelas Floresta Ombrófila Densa, Floresta Ombrófila Aberta, Floresta Ombrófila Mista, Floresta Estacional Semidecidual, Floresta Estacional Decidual e os Manguezais - e não arbóreas como a vegetação de Duna e de Campos de Altitude (Joly et al., 1999; Oliveira Filho e Fontes, 2000). Ela abriga 1.361 espécies conhecidas da fauna brasileira, com 261 espécies de mamíferos, 620 de aves, 200 de répteis e 280 de anfíbios. Possui, ainda, cerca de 20 mil espécies de plantas vasculares, das quais 8 mil são endêmicas deste bioma (Myers et al., 2000).

No entanto, menos de 100.000 km² (cerca de 7%) da cobertura vegetal da Mata Atlântica, um dos 5 *hotspots* mais ameaçados do mundo (Myers et al., 2000), restam hoje na forma de imensos arquipélagos de pequenos fragmentos de mata e muito espaçados devido à ilimitada perda de habitat. Adicionalmente à perda de habitat, outras ameaças contribuem para a degradação da floresta, incluindo a retirada de lenha, exploração ilegal de madeira, caça, extrativismo vegetal e invasão por espécies exóticas, mesmo existindo uma legislação para a proteção dessa floresta (Tabarelli et al., 2005).

A fragmentação do habitat, em decorrência da ação do homem, é o processo pelo qual uma área contínua pode ser tanto perdida quanto reduzida em áreas menores denominadas fragmentos (Primack e Rodrigues, 2001). Estes fragmentos podem se tornar potencialmente isolados, comprometendo assim, a diversidade de espécies. Conforme as paisagens florestais tornam-se fragmentadas, as populações das espécies são reduzidas, os padrões de migração e dispersão são alterados e os habitats tornam-se expostos a condições externas adversas anteriormente inexistentes. Além disso, os efeitos de borda que alteram a distribuição, o comportamento e a sobrevivência de espécies de plantas e animais serão aumentados em áreas de fragmentação florestal (Tabarelli et al., 1999; Nascimento e Laurence, 2006).

Historicamente, a cobertura florestal do planeta tem sido reduzida através do desmatamento, principalmente para a expansão de fronteiras agrícolas. Com isto, florestas anteriormente contínuas encontram-se agora dispostas em fragmentos remanescentes freqüentemente definidos pelos seus limites físicos e uma matriz ao seu redor, uma paisagem altamente modificada ou degradada. Os fragmentos podem diferir

na forma, tamanho, microclima, regime de luminosidade, solo, grau de isolamento e tipo de propriedade (Scariot, 1998; Rodrigues e Nascimento, 2006).

A riqueza das espécies e sua persistência nos remanescentes florestais estão relacionadas ao tamanho destes remanescentes e ao seu grau de isolamento, com os fragmentos funcionando como “ilhas de habitat” em uma matriz modificada e dominada pelo homem, conforme o modelo de biogeografia de ilhas (Brown e Lomolino, 1998). Após a fragmentação, entretanto, os remanescentes florestais poderão ser ainda invariavelmente expostos a diferentes escalas de perturbações humanas e ambientais que podem afetar as comunidades e populações das espécies, além das influências da área e do isolamento (Ghazoul, 2005; Benedick et al., 2006).

Os efeitos da fragmentação do habitat podem ser divididos em abióticos e bióticos. Os efeitos abióticos seriam o aumento na penetração de luz, a elevação da temperatura e a redução da umidade relativa do ar e do solo. Já os bióticos seriam a perda de diversidade e mudanças na composição das espécies, as alterações nos padrões de distribuição e de abundância dos organismos e o aumento da proporção de árvores mortas ou danificadas, gerando uma maior proporção de interrupções no dossel e de formação de clareiras (Santos, 2003).

A perda de espécies, um dos efeitos bióticos da fragmentação, pode ser consequência tanto da redução da área que foi fragmentada, da perda de heterogeneidade ambiental, como também, algumas espécies podem ser perdidas devido a condições microclimáticas em relação à floresta contínua, resultantes do efeito de borda. Além destes fatores, outras espécies podem se extinguir nos fragmentos devido à perda de variabilidade genética e do declínio da reprodução pela perda de polinizadores (Aizen e Feinsinger, 1994).

Além de alterações na composição e na riqueza das espécies, a fragmentação do habitat, com a diminuição do tamanho e com o aumento do isolamento dos remanescentes, pode levar a consequências genéticas para as populações como a erosão da variabilidade genética e o aumento de diferenciação genética entre as populações através do aumento da deriva genética, elevado endocruzamento, fluxo gênico reduzido e aumento da probabilidade de extinções locais de demes dentro de uma metapopulação (Young et al., 1996; Bacles et al. 2004). Além disso, tais consequências podem também resultar, a longo prazo, em diminuição do valor adaptativo e extinção das espécies (Zhao et al., 2006).

Em plantas, a fragmentação do habitat impõe sérias ameaças à variabilidade genética das populações com o aumento do isolamento e o tamanho reduzido dos fragmentos. No entanto, os efeitos genéticos da fragmentação do habitat são mais complexos devido a características da história de vida como: seu hábito sésil, diferenças interespecíficas na longevidade, o tempo de geração, a abundância dos indivíduos antes da fragmentação, a extensa variedade de sistemas reprodutivos sexuais e assexuais, a possibilidade de fluxo gênico através de pólen e sementes, a conservação do material genético em banco de sementes e suas interações com vetores de pólen e de sementes que podem também ser afetados por eventos de fragmentação (Young et al., 1996; Kolb e Lindhorst, 2006; Cuartas-Hernández e Núñez-Farfán, 2006).

A fragmentação de uma área contínua de populações arbóreas pode potencialmente romper processos ecológicos e evolutivos, modificando adversamente a composição genética destas populações. Hamrick (2004) dividiu os efeitos genéticos da fragmentação em espécies arbóreas em efeitos a curto e a longo prazo. A curto prazo, ou seja, em uma ou duas gerações imediatamente após a fragmentação, a estrutura genética na paisagem fragmentada deve representar a estrutura genética antes da fragmentação. Se na população original a estrutura genética espacial for pequena, os fragmentos espacialmente separados devem também mostrar pouca heterogeneidade genética. Além disso, não há muita perda de diversidade genética, uma vez que poucos alelos de baixa frequência são perdidos devido ao pequeno número de gerações transcorridas. Potencialmente, os padrões de cruzamento e o fluxo gênico através da polinização e a dispersão podem ser prejudicados.

A longo prazo (Hamrick, 2004), os efeitos da fragmentação podem modificar enormemente a composição genética de cada fragmento assim como da paisagem como um todo. Se o fluxo gênico entre os fragmentos for limitado, a deriva genética aumentará a diversidade entre os fragmentos e diminuirá dentro de cada um. O nível de fluxo gênico entre as populações é o elemento-chave para prever os efeitos da fragmentação sobre estas populações. Ele promove a conectividade genética entre as populações e com a fragmentação do habitat, a abundância dos vetores de pólen e de sementes e seus comportamentos podem ser alterados (Sork e Smouse, 2006).

Espécies arbóreas tropicais podem ser particularmente vulneráveis aos efeitos da fragmentação devido às suas características demográficas e reprodutivas, à baixa densidade de ocorrência, aos sistemas de cruzamento auto-incompatíveis, às altas taxas de fecundação cruzada e às interações com seus polinizadores e dispersores de

sementes (Lowe et al., 2005). No entanto, espécies pioneiras, também chamadas de secundárias ou colonizadoras, são sujeitas a extinções locais e recolonizações e possuem histórias de vida e estruturas populacionais únicas. A extinção e a recolonização podem aumentar o fluxo gênico e reduzir a diferenciação entre as populações, explicando, assim, a alta ocorrência destas espécies em paisagens perturbadas (Slatkin, 1987).

O estudo da estrutura e variabilidade genética de populações arbóreas em ambientes fragmentados pode contribuir para o entendimento dos mecanismos que envolvem desde a dinâmica destas populações nestes ambientes e o fluxo gênico entre as populações. Estes estudos, juntamente com as características da história de vida destas populações podem fornecer dados importantes sobre a capacidade de sobrevivência das espécies, uma vez que populações com níveis baixos de variabilidade podem ser mais suscetíveis a flutuações em parâmetros genéticos, ecológicos e ambientais. Além disso, quantificar o impacto da degradação do habitat em remanescentes florestais é também determinar o valor destes remanescentes para a conservação; estimar repercussões futuras da fragmentação florestal em ambientes tropicais e formular estratégias efetivas para a conservação e manejo sustentável de recursos genéticos para as espécies que habitam áreas degradadas (Gomes et al., 2004).

Alguns estudos com espécies arbóreas mostraram que a fragmentação pode agir de diferentes formas sobre a variabilidade genética das populações, dependendo das características da história de vida, demográficas e evolutivas das populações de cada espécie. Colevatti et al. (2001) não encontraram efeito da fragmentação na variabilidade genética em *Caryocar brasiliense* (Caryocaraceae), enquanto White et al. (1999) detectaram perda de alelos de baixa frequência em populações fragmentadas de *Swietenia humilis* (Meliaceae). Como um exemplo de fragmentação histórica, Billington (1991) encontrou uma correlação entre tamanho da população e variabilidade genética em *Halocarpus bidwillii* (Podocarpaceae), uma espécie polinizada pelo vento e Frankham (1996) confirma esta correlação através de meta-análises que incluíram várias espécies de plantas e de animais e apresentaram correlação positiva para estas duas variáveis.

Uma das formas mais utilizadas para avaliar a diversidade genética em populações naturais é baseada no estudo do polimorfismo por meio de eletroforese de isozimas em locos que codificam proteínas específicas. A eletroforese de isozimas é uma técnica muito utilizada devido às suas particularidades como: a simplicidade da metodologia, o baixo custo, a base molecular simples usada para identificar os polimorfismos e a falta de efeitos ambientais, quase sem exceções. Os locos

aloenzimáticos podem ser efetivamente identificados em um grande número de indivíduos por um curto período de tempo (Auler et al., 2002). Estudos sobre a estrutura e a diversidade genética de populações naturais de espécies de arbóreas tropicais através do uso de marcadores isozímicos são feitos há mais de 20 anos (Hamrick e Loveless, 1986; Loveless e Hamrick, 1987; Buckley et al., 1988; Murawsky e Hamrick, 1991; Hamrick e Murawsky, 1991; Eguiarte et al., 1992; Young et al., 1999; González-Astorga e Castillo-Campos, 2003; Kageyama et al., 2003; Souza et al., 2004; Botrel e Carvalho, 2004; Ribeiro et al., 2005).

No município de Campinas, há cerca de 197 fragmentos florestais remanescentes de vegetação original de aproximadamente 50 anos atrás, quando a expansão da agricultura promoveu um mosaico de Mata Atlântica. Estes fragmentos são florestas estacionais semidecíduas, que ocupam hoje apenas 2,55% da área total do município de Campinas e estão reunidos na Área de Proteção Ambiental de Souzas e Joaquim Egídio, SP (Santos, 2003).

O estudo destes remanescentes florestais teve significativo incremento nas últimas duas décadas. Alguns estudos mostraram que essas florestas são bastante heterogêneas (Santos, 2003) do ponto de vista biótico, uma vez que as espécies distribuem-se diferencialmente dentro e entre os fragmentos e do ponto de vista abiótico, onde a umidade, o solo, a topografia e a altitude influenciam fortemente na distribuição das espécies (Botrel et al., 2002). Cada fragmento, com histórico e estado de preservação próprio, é único, aumentando, assim, sua importância para o manejo e a conservação. Do ponto de vista florístico e fitossociológico, alguns remanescentes de Campinas já foram bem estudados (Bernacci e Leitão-Filho, 1996; Toniato et al., 1998; Santin, 1999; Santos, 2003).

No entanto, estudos sobre a distribuição da variabilidade genética dentro e entre as populações de plantas destes fragmentos não foram realizados, principalmente, relacionados a espécies arbóreas pioneiras, muito abundantes nestes fragmentos (Santos, 2003). Espécies pioneiras são um grupo particular de plantas que possuem características como banco de sementes e fluxo gênico, via polinização, a longa distância, que podem apresentar consequências genéticas e ecológicas importantes para as populações destas espécies (Ribas e Kageyama, 2004), principalmente em ambientes perturbados. O estudo da distribuição da variabilidade genética em populações de espécies pioneiras em fragmentos remanescentes pode fornecer subsídios para o conhecimento do comportamento deste grupo de plantas em um ambiente fragmentado,

além de auxiliar no planejamento do manejo e recuperação de áreas degradadas. Nos fragmentos pertencentes à Área de Proteção Ambiental de Souza e Joaquim Egídio, a abundância de indivíduos, a facilidade de identificação no campo dos seus estágios de desenvolvimento e estudos de polinização, dispersão, fenologia, sistema reprodutivo, distribuição espacial conhecidos, levaram à escolha de populações de *Croton floribundus* (Euphorbiaceae) para este trabalho.

Croton L. é um dos maiores gêneros das Euphorbiaceae, com cerca de 1.200 espécies nos trópicos e subtropicais, a maioria distribuída nas Antilhas e América do Sul, e poucas na América do Norte (Webster, 1994). Suas espécies são árvores, arbustos, ervas e lianas, geralmente monóicas, algumas vezes dióicas, com tricomas de vários tipos, inflorescências com as flores pistiladas na base e estaminadas no ápice, estames dobrados no botão floral e pétalas das flores pistiladas reduzidas ou ausentes (Secco, 2004).

C. floribundus é uma planta pioneira, com produção abundante de sementes e intolerante à sombra, de crescimento rápido, ciclo de vida de cerca de 30 a 40 anos e freqüentemente utilizada em plantios e enriquecimento de áreas florestais a partir de reflorestamentos mistos (Augusto et al., 2003). Ela é característica de matas secundárias da floresta semidecídua e comum em capoeiras, capoeirões e invadindo pastagens (Carvalho, 1994; Botelho, 1996)

Os objetivos deste trabalho foram, através da eletroforese de isozimas, investigar e comparar a variabilidade genética entre e dentro de fragmentos, de adultos e jovens de *C. floribundus*, fazendo inferências sobre o fluxo gênico e sua importância em uma paisagem fragmentada. Além disso, comparar a variabilidade genética intrapopulacional relacionada ao tamanho de cada fragmento.

2. Materiais e Métodos

2.1 Locais de estudo

O estudo foi realizado na região da Área de Proteção Ambiental (APA) de Sousas e Joaquim Egídio do município de Campinas, SP (22°45' a 23°00' S, 47°00' a 47°12' W) e do município de Itatiba, SP (23°10' a 23°15' S, 45°45' a 46°45' W). A APA localiza-se na porção nordeste do município de Campinas e está compreendida entre os rios Atibaia e o Jaguari que delimitam suas fronteiras oeste e leste, respectivamente.

Foram escolhidos cinco fragmentos pertencentes à APA com áreas menores do que 100 ha e um fragmento com área de 244,9 ha. A escolha dos fragmentos se baseou em trabalhos anteriores de mapeamento, caracterização fisionômica e florística da região (Santin, 1999; Santos, 2003). Os fragmentos escolhidos foram: Ribeirão Cachoeira, Macuco, Santana do Atalaia, Furnas, Malabar I e Malabar III (figura 1, tabela 1). As distâncias entre os fragmentos estudados estão representadas na tabela 2.

Todos os fragmentos apresentaram um certo grau de perturbação que, em alguns casos, dificultou a coleta dos indivíduos no interior da mata, uma vez que sua frequência era maior na borda das mesmas. Ribeirão Cachoeira, o maior fragmento e aparentemente o mais preservado, apresentou indivíduos jovens e adultos tanto nas bordas das trilhas como no interior da mata. Em algumas áreas deste fragmento, no entanto, não foram observados indivíduos, como no caso de altitudes maiores. Macuco, em relação a Ribeirão Cachoeira, pareceu mais perturbado, apresentando pouca cobertura do dossel e trilhas percorridas por gado. Em Santana do Atalaia a borda da mata era entrecortada, e havia em seu interior muitas lianas que dificultavam a passagem. Furnas foi o fragmento estudado mais perturbado, apresentando muitas lianas e dificultando a passagem para o interior da mata. Poucos indivíduos adultos e jovens foram encontrados e coletados em seu interior. Malabar III, um fragmento aparentemente contínuo, apresentava uma estrada em seu interior, supostamente utilizada para extração de madeira. Malabar I, por sua vez, se situa em um aclave, com algumas lianas, dificultando a chegada ao interior da mata.

Tabela 1: Características dos fragmentos estudados da região da APA de Souza e Joaquim Egídio, SP (adaptado de Santos, 2003).

Fragmentos	Área do fragmento (ha)	Latitude	Longitude	Altitude (m)
Malabar I	12,5	22°55'141"	46°52'730"	808
Furnas	13,2	22°47'280"	47°00'634"	658
Malabar III	20,0	22°55'563"	46°52'601"	717
Santana do Atalaia	25,2	22°48'605"	46°53'104"	733
Macuco	41,8	22°47'884"	47°56'466"	739
Ribeirão Cachoeira	244,9	22°49'920"	46°55'615"	653

Tabela 2: Distâncias (km) entre os fragmentos estudados.

Fragmentos	Ribeirão Cachoeira	Macuco	Furnas	Santana do Atalaia	Malabar III
Ribeirão Cachoeira					
Macuco	4,04				
Furnas	10,29	7,53			
Santana do Atalaia	3,18	2,95	10,47		
Malabar III	11,28	15,29	20,88	13,36	
Malabar I	9,96	13,96	19,67	12,01	1,35

2.2 A espécie estudada

Croton floribundus Spreng. (figura 2), conhecida popularmente como capixingui, é uma espécie arbórea, monóica, heliófita, de flores díclinas ou unissexuais, considerada pioneira na sucessão florestal. É freqüente nas áreas antropizadas das florestas mesófilas semidecíduas do estado de São Paulo, por isso é também denominada espécie pioneira antrópica. Possui grande capacidade de absorção de nutrientes e tem crescimento rápido, alcançando 4m de altura em 2 anos. Tem ampla distribuição no estado do Piauí, Mato Grosso, Minas Gerais, São Paulo, Rio de Janeiro e Paraná, podendo ocorrer em matas reconhecidas como secundárias tardias ou climácicas (Lorenzi, 1992; Danciguer, 1996).

Produz grande quantidade de frutos, com dispersão primária autocórica pela deiscência dos frutos (cápsula) e dispersão secundária zoocórica devido a associações com várias espécies de formigas (Queiroz e Oliveira, 2001; Morini et al., 2004). A polinização é feita por insetos e pelo vento, também chamada de ambifílica. Estudos da polinização por insetos encontraram abelhas sem ferrão (meliponíneos) (Ramalho et al., 2004), moscas da família Syrphidae, *Apis mellifera* e outros insetos denominados não especializados como outras espécies de pequenas abelhas, vespas, moscas, borboletas, mariposas e besouros que visitam flores morfológicamente pouco especializadas (Passos, 1995; Yamamoto, 2001).

A presença da espécie em todos os fragmentos estudados, a abundância de indivíduos, a facilidade de identificação, reconhecimento de seus estádios ontogenéticos no campo e estudos recentes sobre a ecologia da espécie foram os fatores decisivos para a escolha de *C. floribundus* para este projeto.

2.3 Os estádios ontogenéticos de *C. floribundus*

C. floribundus apresenta cinco estádios ontogenéticos: plântula, jovem 1, jovem 2, imaturo e adulto e foram definidos por Danciguer (1996) com base, principalmente, na altura dos indivíduos.

O estágio de plântula caracteriza-se por indivíduos com apenas 1 ou 2 folhas cotiledonares, ou estas mais o eófilo (primeira folha produzida pelo meristema apical) ou até 5 metáfilos (folhas posteriores à primeira), medindo cerca de 4 a 16 cm com DAS (Diâmetro do caule ao Nível do Solo) variando entre 0,05 a 0,20 cm.

O estágio de jovem é estruturalmente simples, não tem cotilédones, embora possa ter alguma estrutura embrionária. Possui características diferentes das plantas maduras, como a forma das folhas, do caule e do sistema radicular. O estágio jovem 1 foi definido pela ausência de cotilédones, sobrepondo-se parcialmente ao tamanho das plântulas e ramificação. Sua altura varia entre 5 a 37 cm e DAS de 0,05 a 0,40 cm.

O estágio jovem 2 distingue-se do estágio anterior por apresentar uma grande variação em altura (maior investimento) para um mesmo valor de diâmetro. Os indivíduos deste estágio medem de 27 a 400 cm de altura e DAS de 0,045 a 4,50 cm.

O estágio imaturo caracteriza-se por indivíduos acima de 420 cm a 1150 cm de altura e DAS de 3,82 a 30,25 cm, que reiteram e não possuem atividade reprodutiva. Já os indivíduos adultos são caracterizados por serem capazes de se reproduzirem. Esta fase em *C. floribundus* é determinada por indivíduos que medem entre 850 e 1.300 cm de altura e DAS de 19,42 a 55,09 cm.

Para este projeto foram escolhidos estádios que fossem mais distantes entre si temporalmente, ou seja, com menor e maior número de gerações acumuladas em cada estágio. Além disso, para conferir um número significativo de indivíduos à amostragem foram escolhidos os estádios com maior número de indivíduos encontrados em campo. Após a visita e sondagem de cada fragmento a ser estudado foram escolhidos os estádios jovem (jovem 1 e 2) e adulto (figura 3). O estágio de plântula não foi escolhido devido à sua difícil identificação no campo e ao número reduzido de indivíduos por amostra.

2.4 Procedimento de coleta

No campo, folhas de indivíduos jovens (1 e 2) com altura de 0,30 a 3 m e de indivíduos adultos com altura maior do que 9 m foram coletadas e identificadas. Os indivíduos foram coletados com uma distância maior do que 10 m entre eles para minimizar a amostragem de indivíduos aparentados.

Foram coletadas folhas de, em média, 20 indivíduos de *C. floribundus* adultos e 20 jovens, nos seis fragmentos propostos, que foram mantidas em nitrogênio líquido até o momento das análises isoenzimáticas. De cada coleta foi retirada uma exsiccata que foi depositada no Herbário da UEC (Departamento de Botânica, IB, Universidade Estadual de Campinas).

2.5 Eletroforese de isozimas

As folhas de cada indivíduo que foram armazenadas em nitrogênio líquido foram homogeneizadas em 30 μ L de tampão de extração (100mL Tris HCl 0,1mol/L pH 7,0; 6,846g sacarose; 0,6 PVP; 0,0372g EDTA; 0,145g BSA; 0,13g DIECA; 0,6g BORAX; 100 μ L β -mercaptoetanol; modificado de Sun e Ganders, 1990). Os extratos foram absorvidos em retângulos de papel Whatman 3 (0,4 x 10 mm), e em seguida aplicados em géis de amido (Sigma, 8,5%). As eletroforeses, realizadas nos sistemas-tampão 1 e 2 (tabela 3), foram conduzidas até que o marcador (azul de bromofenol) atingiu 9 cm do local de aplicação.

Tabela 3: Sistema-tampão e condições de corrida utilizados para *C. floribundus*.

Sistema-tampão	Eletrodo	Gel	Condições de corrida
Tampão 1	8,4g de ácido cítrico ajustado para pH 6,1 com N-(3- aminopropil)- morfolina.	Eletrodo diluído 1:20. (Clayton e Tretiak, 1972, com modificações).	20mA
Tampão 2	2,42g de Tris ajustado com HCl 0,1N para pH 8,5.	18g de ácido bórico e 2,4g de NaOH para 1000ml de água. Acertar pH 8,0. Eletrodo diluído 1:1 (Shaw e Prasad, 1970, com modificações).	50V

Depois de corados e secos, os géis foram fixados, interpretados e diafanizados. Para o sistema-tampão 1 obteve-se boa resolução de 3 sistemas-enzimáticos: *6Pgdh* (Glucose-6-fosfato desidrogenase, E.C 1.1.1.49), *Pgi* (Fosfogluco isomerase, E.C 5.3.1.9) e *Idh* (Isocitrato desidrogenase, E.C 1.1.1.42). No sistema-tampão 2 obteve-se boa resolução de 2 sistemas enzimáticos: *Acph* (Fosfatase ácida, E.C 3.1.3.2) e *Dia* (Diaforase, E.C 1.8.1.4).

2.6 Análise dos resultados

As amostras de indivíduos adultos foram analisadas separadamente das amostras de indivíduos jovens, resultando em dois conjuntos de dados. Posteriormente, os dois estádios (adultos e jovens) foram comparados a partir das mesmas estimativas e inferências foram feitas sobre o comportamento das populações *C. floribundus* nos fragmentos estudados.

2.6.1 Estimativas de variabilidade genética intrapopulacional

As frequências alélicas foram determinadas pela contagem direta das bandas de homozigotos e heterozigotos no gel. A variabilidade genética foi quantificada pela estimativa dos seguintes parâmetros: proporção de loci polimórficos (P), número médio de alelos por loco (A_p), diversidade gênica (H_e) e heterozigosidade observada (H_o) por loco e por amostra e índice de endogamia (F_{IS}) através do programa Genetix 4.04 (Belkhir et al., 2001).

Além destas estimativas, para testar se as distribuições das frequências alélicas foram diferentes entre as amostras de adultos, entre as amostras de jovens ou entre os dois estádios foi feito o teste de diferenciação de Fisher acompanhado da cadeia de Markov par a par e no conjunto total das amostras de adultos e das amostras de jovens. Foi testada a existência de desequilíbrio de ligação entre os locos estudados nas amostras de adultos e nas amostras de jovens. Estas análises foram feitas no Genepop versão 3.4 (Raymond e Rousset, 1995).

Para testar se os valores dos coeficientes de endogamia (F_{IS}) foram semelhantes para cada loco entre as amostras de adultos e jovens de *C. floribundus* foi feito um teste de homogeneidade dos desvios de Hardy-Weinberg segundo Gaffney et al. (1990).

Com o programa Fstat 2.9.3 (Goudet, 2001) foi calculada a riqueza alélica das amostras de adultos e das amostras de jovens, para detectar a possibilidade de diferença significativa entre adultos e jovens.

Para saber se as estimativas de variabilidade intrapopulacional H_e , A_p e F_{IS} das amostras de adultos e das amostras de jovens estavam correlacionadas ao tamanho de cada fragmento, à distância do fragmento mais próximo e à distância do Ribeirão Cachoeira (maior fragmento estudado de área igual a 244,9 ha) foram calculados coeficientes de correlação de Pearson (r) para estas variáveis através do programa Systat 8.0 (1998).

A diferença dos estimadores de variabilidade genética intrapopulacional entre as amostras de adultos e jovens foi testada através de um teste t pareado no programa Systat 8.0 (1998).

2.6.2 Estruturação genética

Os níveis de estruturação populacional foram quantificados através das estatísticas-F de Wright a partir do parâmetro θ de Weir e Cocherham (1984). Os intervalos de confiança foram determinados através de randomizações de *bootstrap*. As estatísticas-F foram calculadas e testadas no programa Genetix 4.04 (Belkhir et al., 2001).

As distâncias genéticas (Nei, 1978) entre as amostras de adultos e entre as amostras de jovens também foram calculadas pelo programa Genetix 4.04 (Belkhir et al., 2001). Um teste de Mantel entre a distância genética e o logaritmo da distância geográfica (Rousset, 1997) em quilômetros e entre $F_{ST}/1-F_{ST}$ e a distância geográfica em quilômetros foram calculados para verificar a correlação entre estas variáveis nas amostras de adultos e nas amostras de jovens através do programa Fstat 2.9.3 (Goudet, 2001).

Um teste de correlação de *Pearson* (Systat 8.0) e um gráfico de dispersão entre a distância genética e a distância geográfica em quilômetros foram calculados para verificar se estas variáveis estavam correlacionadas nas amostras de adultos e de jovens.

As amostras de adultos e jovens foram analisadas para testar onde haveria maior diferenciação, entre as amostras de adultos e entre as amostras de jovens (Genetix 4.04) ou entre adultos e jovens (Genetic Data Analysis, Lewis e Zaykin, 2001).

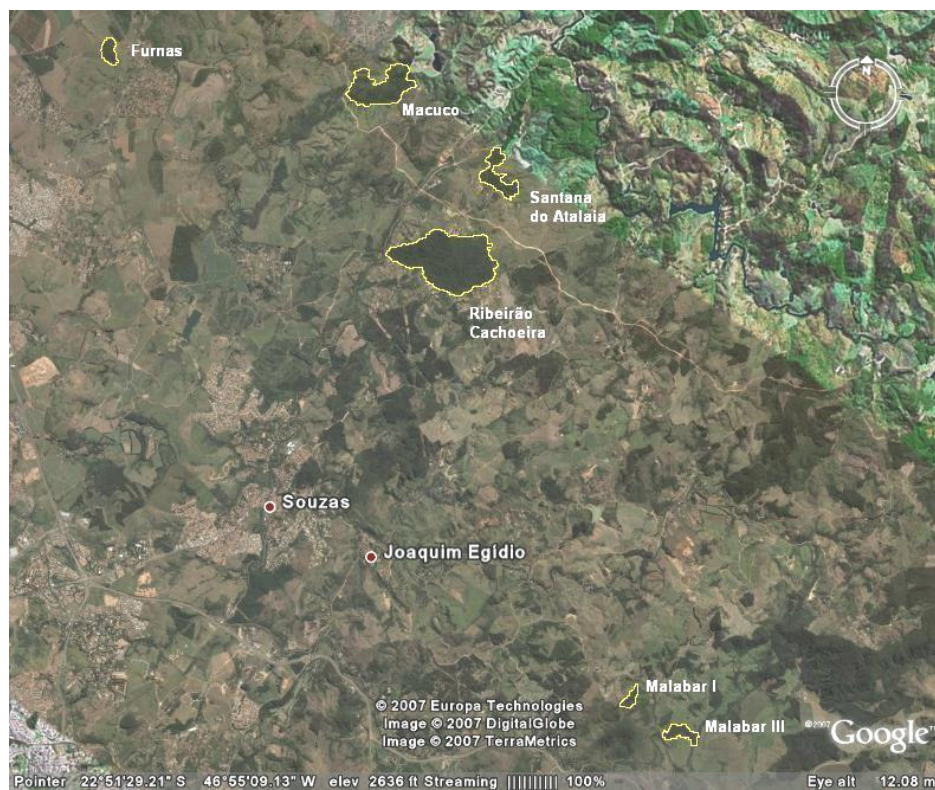
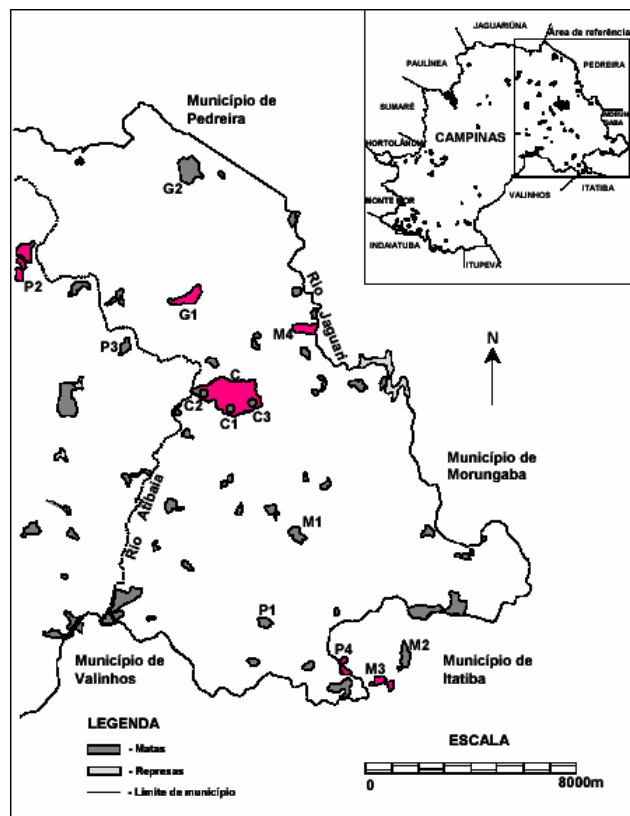


Figura 1: Mapa e vista do município de Campinas, destacando a região da APA e seus remanescentes de vegetação nativa e os fragmentos estudados. Onde, P2- Furnas (13,2 ha); P4- Malabar I (12,5 ha); M3- Malabar III (21 ha); M4- Santana do Atalaia (25,2 ha); G1- Macuco (41,8ha) e C- Ribeirão Cachoeira (244,9 ha); C1- Área 1; C2- Área 2; C3- Área 3. Mapa extraído e modificado de Santos (2003). Foto disponível em: <http://earth.google.com>.

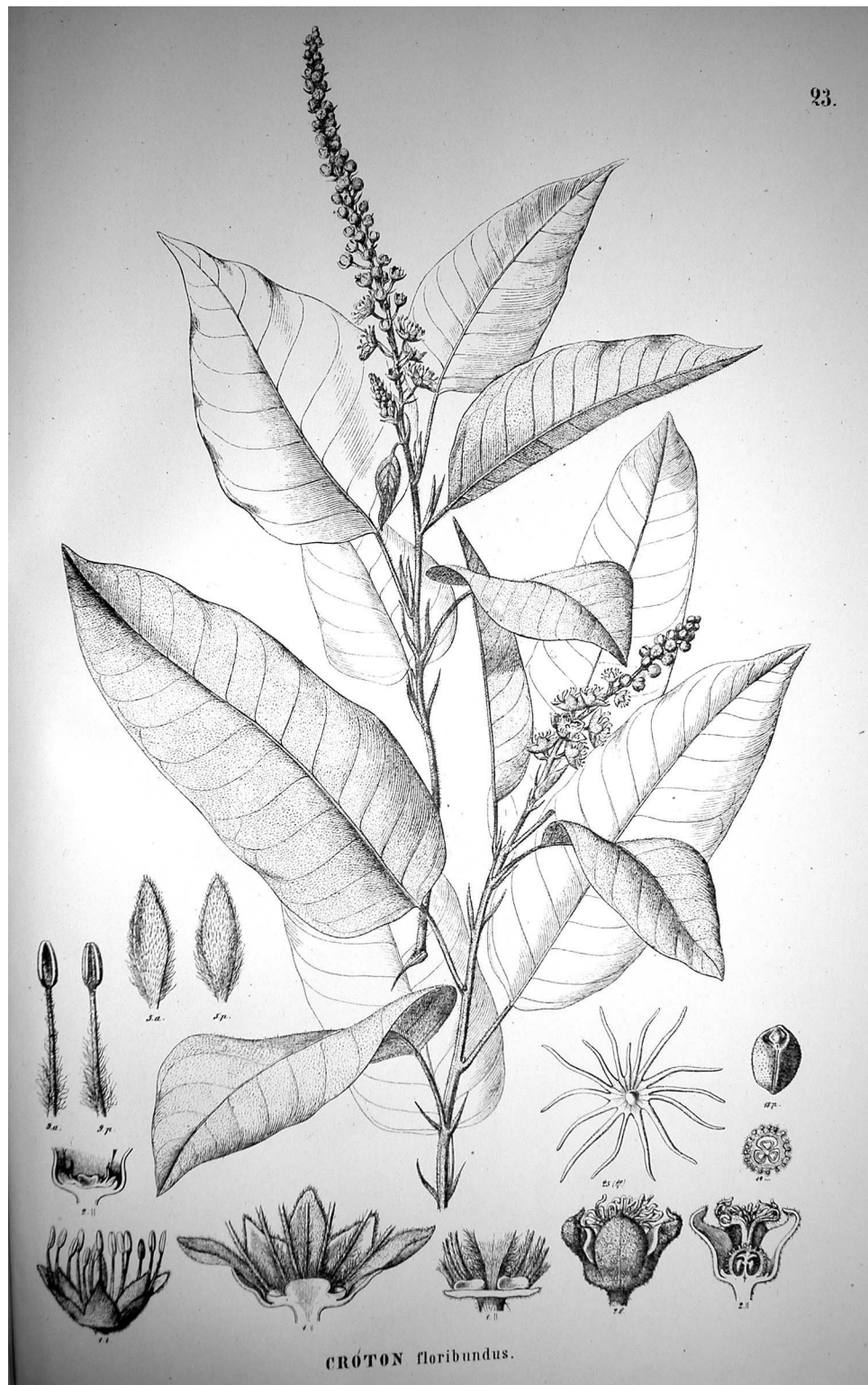


Figura 2: Ilustração de *C. floribundus* retirada da *Flora Brasiliensis*. Disponível em: <http://florabrasiliensis.cria.org.br>.



Figura 3: Fotos de *Croton floribundus*: 1- Indivíduo adulto e 2 - Indivíduo jovem.

3. Resultados

3.1 Sistemas enzimáticos

Foram testados 26 sistemas enzimáticos, mas somente cinco ofereceram boa resolução dos padrões de bandas tanto para as amostras de adultos quanto para as amostras de jovens, totalizando 8 locos: *6Pgdh-1*, *6Pgdh-2*, *Pgi-1*, *Pgi-2*, *Idh*, *Acph-1*, *Acph-2* e *Dia*. Estes locos apresentaram-se polimórficos, porém diferenciaram-se quanto ao número de alelos tanto para adultos e quanto para jovens.

3.2 Adultos

3.2.1 Frequências alélicas

Houve uma variação grande entre as frequências dos alelos de cada loco para cada amostra de adultos de *C. floribundus*. Cerca de 8% dos alelos observados nas amostras de jovens estudadas são raros (frequência $<0,05$) (tabela 4).

Foi observado desequilíbrio de ligação entre os locos: *6Pgdh-1* e *6Pgdh-2*; *6Pgdh-1* e *Pgi-1*; *Pgi-1* e *Pgi-2*; *Pgi-2* e *Idh*; e *Idh* e *Acph-1*.

A distribuição das frequências alélicas do conjunto de amostras de adultos foi significativamente diferente para os oito locos estudados, exceto para o loco *Idh* que não apresentou diferença significativa nas distribuições das frequências alélicas (teste exato de Fisher, $p=0,145$).

O mesmo pôde ser observado ao comparar as distribuições das frequências alélicas par a par para todos os locos: as distribuições são significativamente diferentes entre si e entre os pares de amostras estudados.

Tabela 4: Frequências alélicas nos locos enzimáticos das amostras de adultos de *C. floribundus* nos seis fragmentos estudados. N= número de indivíduos.

Loco	Amostra	Ribeirão Cachoeira	Macuco	Furnas	Santana do Atalaia	Malabar III	Malabar I
<i>6Pgdh-1</i>							
(N)		20	21	22	18	21	16
2		0,050		0,068			
3		0,100	0,119	0,068	0,139	0,143	
4		0,400	0,524	0,796	0,639	0,714	0,781
5		0,325	0,310	0,068	0,222	0,143	0,156
6		0,075	0,048				0,063
7		0,050					
<i>6pgdh-2</i>							
(N)		25	24	22	19	21	17
2		0,040	0,021	0,091			0,029
3		0,080	0,292	0,273	0,105	0,191	0,265
4		0,320	0,521	0,636	0,605	0,643	0,529
5		0,300	0,167		0,290	0,167	0,118
6		0,160					0,059
7		0,100					
<i>Pgi-1</i>							
(N)		24	25	22	18	19	17
1		0,042	0,040			0,053	0,059
2		0,063	0,080		0,028	0,079	0,206
3		0,104	0,060	0,182	0,389	0,105	0,294
4		0,438	0,580	0,636	0,444	0,553	0,265
5		0,250	0,180	0,182	0,139	0,158	0,177
6		0,104	0,060			0,053	
<i>Pgi-2</i>							
(N)		24	25	22	20	21	17
1		0,104	0,080				
2		0,146	0,080	0,023	0,025	0,143	0,088
3		0,042	0,020	0,091	0,150	0,333	0,059
4		0,229	0,380	0,705	0,325	0,452	0,471
5		0,167	0,320	0,091	0,250	0,071	0,382
6		0,229	0,120	0,091	0,175		
7		0,083			0,075		
<i>ldh</i>							
(N)		22	25	22	20	20	17
2			0,020	0,023			
3		0,227	0,220	0,227	0,200	0,100	0,324
4		0,591	0,680	0,591	0,525	0,575	0,471
5		0,182	0,080	0,159	0,275	0,325	0,206
<i>Acph-1</i>							
(N)		23	25	22	20	21	18
3		0,065		0,159	0,125	0,071	
4		0,500	0,960	0,546	0,825	0,738	0,722
5		0,435	0,040	0,273	0,050	0,191	0,278
6				0,023			

Tabela 4 (continuação): Frequências alélicas nos locos enzimáticos das amostras de adultos de *C. floribundus* nos seis fragmentos estudados. N= número de indivíduos.

Loco	Amostra	Ribeirão Cachoeira	Macuco	Furnas	Santana do Atalaia	Malabar III	Malabar I
<i>Acph-2</i>							
(N)		23	25	22	20	20	16
2						0,050	
3			0,120	0,136	0,150	0,175	
4		0,348	0,880	0,841	0,850	0,600	0,875
5		0,217		0,023		0,125	0,063
6		0,152				0,050	0,063
7		0,283					
<i>Dia</i>							
(N)		25	25	21	20	21	18
2		0,020				0,024	0,028
3		0,300		0,262		0,143	0,417
4		0,500	0,420	0,714	0,700	0,595	0,444
5		0,180	0,340	0,024	0,300	0,191	0,111
6			0,240			0,048	

3.2.2 Variabilidade genética intrapopulacional

As amostras de adultos apresentaram uma diversidade gênica média por população $\hat{H}_e = 0,541$ e o número médio de alelos por loco $\hat{A}_p = 3,9$. Com exceção de Furnas todas as amostras apresentaram 100% de locos polimórficos.

As amostras que apresentaram maior diversidade gênica (H_e) e maior número médio de alelos por loco A_p foram Ribeirão Cachoeira e Malabar III (tabela 5).

O coeficiente de endogamia médio foi alto e significativo (0,604, I.C. 95%= 0,568 - 0,647).

A amostra de Ribeirão Cachoeira apresentou o maior índice de diversidade gênica (H_e), heterozigosidade observada (H_o) e número médio de alelos por loco (A_p). Por outro lado, o coeficiente de endogamia (F_{IS}) foi o menor dentre as amostras estudadas. Os menores índices de H_e , A_p e H_o foram observados nas amostras de Furnas, Macuco e Santana do Atalaia (tabela 5).

Tabela 5: Estimativas de variabilidade genética nas amostras de adultos de *C. floribundus* nos seis fragmentos estudados. N, número de indivíduos analisados; A_p , número médio de alelos por loco; %P, porcentagem de locos polimórficos; H_o , heterozigosidade observada; H_e , diversidade gênica; F_{IS} , coeficiente de endogamia, entre parênteses – intervalo de confiança.

População	N	Área (ha)	A_p	%P*	Heterozigosidade		F_{IS}
					H_e	H_o	
Ribeirão Cachoeira	25	244,9	4,9	100	0,688	0,384	0,459 (0,348 - 0,541)
Macuco	25	41,8	3,9	100	0,499	0,137	0,735 (0,626 - 0,826)
Furnas	22	13,2	3,6	87,5	0,468	0,154	0,684 (0,553 - 0,772)
Santana do Atalaia	20	25,2	3,3	100	0,506	0,155	0,707 (0,539 - 0,833)
Malabar III	21	20	4,0	100	0,553	0,233	0,595 (0,469 - 0,683)
Malabar I	18	12,5	3,6	100	0,532	0,280	0,497 (0,326 - 0,620)

*Um loco é considerado polimórfico se o alelo mais comum ocorre em uma frequência menor que 0,95.

Os valores de F_{IS} foram homogêneos em todos os locos entre as amostras de adultos, exceto para os locos *6pgdh-1*, *Pgh-1* e *Acph-1* (tabela 6).

Tabela 6: Teste para homogeneidade dos desvios de Hardy-Weinberg do coeficiente de endogamia (F_{IS}) por loco entre as seis amostras de adultos de *C. floribundus*. Sendo: X^2 – qui-quadrado; gl – graus de liberdade.

Loco	X^2	gl
<i>6pgdh-1</i>	27,00*	5
<i>6Pgdh-2</i>	4,16	5
<i>Pgi-1</i>	5,03	5
<i>Pgi-2</i>	175,59*	5
<i>Idh</i>	2,78	5
<i>Acph-1</i>	224,63*	5
<i>Acph-2</i>	1,96	5
<i>Dia</i>	10,95	5

*= $p < 0,05$.

Quando foram correlacionadas as estimativas de variabilidade intrapopulacional H_e , A_p e F_{IS} , à área do fragmento, à distância do Ribeirão Cachoeira e à distância de cada fragmento ao seu fragmento mais próximo obtiveram-se valores significativos e correlações positivas para H_e e A_p e a área do fragmento (tabela 7).

Tabela 7: Correlações de *Pearson* entre as estimativas de diversidade gênica (H_e), número de alelos por loco (A_p) e coeficiente de endogamia (F_{IS}) para as amostras de adultos dos seis fragmentos estudados.

	Distância do fragmento mais próximo	Distância do Ribeirão Cachoeira	Área do fragmento
He	$r = -0,347$ ($p=0,503$)	$r = -0,774$ ($p=0,074$)	$r = 0,844^*$ ($p=0,037$)
Ap	$r = -0,126$ ($p=0,812$)	$r = -0,556$ ($p=0,255$)	$r = 0,865^*$ ($p=0,028$)
F_{IS}	$r = -0,386$ ($p=0,452$)	$r = -0,562$ ($p=0,249$)	$r = -0,388$ ($p=0,450$)

* = $p < 0,05$.

3.2.3 Estruturação genética

O coeficiente de estruturação genética entre as amostras de adultos foi moderado (Wright, 1951) e significativo ($\theta = 0,053$, I.C. 95% = $0,028 - 0,085$).

Valores moderados e significativos do θ par a par foram encontrados entre Ribeirão Cachoeira e os outros fragmentos e entre Macuco e Furnas; e Macuco e Malabar I (tabela 8).

Tabela 8: Matriz dos valores θ par a par (Weir e Cockerham, 1984) das amostras de adultos nos seis fragmentos estudados. RC – Ribeirão Cachoeira, MM – Macuco, FU – Furnas, STA – Santana do Atalaia, MIII – Malabar III e MI – Malabar I.

	RC	MM	FUR	STA	MIII	MI
RC	0,000					
MM	0,089*	0,000				
FUR	0,097*	0,077*	0,000			
STA	0,076*	0,019	0,048	0,000		
MIII	0,053*	0,037	0,016	0,009	0,000	
MI	0,066*	0,051*	0,032	0,033	0,031	0,000

* = $p < 0,05$

Entre as amostras de adultos, a maior distância genética foi entre Ribeirão Cachoeira e os outros fragmentos. As menores distâncias genéticas foram observadas entre Malabar III e Furnas; e Malabar III e Santana do Atalaia (tabela 9).

Tabela 9: Matriz das distâncias genéticas de Nei (1978) das amostras de adultos de *C. floribundus* nos seis fragmentos estudados. RC – Ribeirão Cachoeira, MM – Macuco, FU –Furnas, STA – Santana do Atalaia, MIII – Malabar III e MI – Malabar I.

	RC	MM	FUR	STA	MIII	MI
RC	0,000					
MM	0,156	0,000				
FUR	0,155	0,104	0,000			
STA	0,142	0,040	0,070	0,000		
MIII	0,111	0,063	0,031	0,030	0,000	
MI	0,134	0,082	0,050	0,062	0,063	

A correlação de Mantel entre a distância genética e a distância geográfica das amostras de adultos estudadas foi de 2,657 ($p=0,482$) e a de Pearson foi de -0,251 ($p=0,367$). A correlação de Mantel entre $F_{ST}/1-F_{ST}$ e distância geográfica foi de 1,391 ($p=0,698$).

O gráfico de dispersão entre a distância genética e a distância geográfica está representado na figura 4.

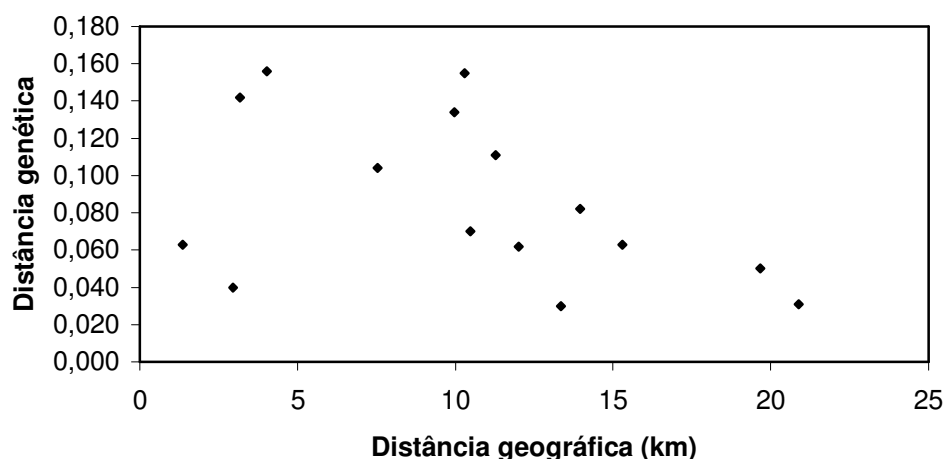


Figura 4: Relação entre distância genética de Nei (1978) e distância geográfica para todos os pares de combinação das seis amostras de adultos de *C. floribundus* nos fragmentos estudados.

3.3 Jovens

3.3.1 Freqüências alélicas

Houve uma variação grande entre as freqüências dos alelos de cada loco para cada amostra de jovens de *C. floribundus*. Cerca de 9% dos alelos observados nas amostras de jovens estudadas são raros (freqüência <0,05) (tabela 10).

Foi observado desequilíbrio de ligação entre os locos: *Pgi-1* e *Pgi-2*; e *Acph-1* e *Acph-2*.

A distribuição das freqüências alélicas do conjunto de amostras de jovens foi significativamente diferente entre si para os oito locos estudados (teste exato de Fisher).

O mesmo pôde ser observado ao comparar as distribuições das freqüências alélicas par a par para todos os locos: as distribuições são significativamente diferentes entre si entre os pares de amostras estudados.

Tabela 10: Freqüências alélicas nos locos enzimáticos das amostras de jovens de *C. floribundus* dos seis fragmentos estudados. N= número de indivíduos.

Loco	Amostra	Ribeirão Cachoeira	Macuco	Furnas	Santana do Atalaia	Malabar III	Malabar I
<i>6pgdh-1</i>							
(N)		26	24	25	20	17	12
2		0,019				0,147	
3		0,212	0,083	0,140	0,125	0,177	0,125
4		0,635	0,771	0,740	0,500	0,294	0,875
5		0,096	0,146	0,120	0,150	0,177	
6		0,039			0,225	0,206	
<i>6pgdh-2</i>							
(N)		26	24	25	20	21	15
2		0,096		0,020		0,095	0,067
3		0,327	0,208	0,140	0,300	0,143	0,033
4		0,442	0,521	0,820	0,575	0,476	0,600
5		0,135	0,208	0,020	0,125	0,238	0,300
6			0,021			0,048	
7			0,042				

Tabela 10 (continuação): Frequências alélicas nos locos enzimáticos das amostras de jovens de *C. floribundus* dos seis fragmentos estudados. N= número de indivíduos.

Loco	Amostra	Ribeirão Cachoeira	Macuco	Furnas	Santana do Atalaia	Malabar III	Malabar I
<i>Pgi-2</i>							
(N)	26	24	25	20	20	15	
1	0,039						
2	0,058	0,229		0,175		0,100	
3	0,135	0,104	0,040	0,125	0,225	0,167	
4	0,346	0,292	0,440	0,425	0,425	0,667	
5	0,212	0,375	0,300	0,225	0,200	0,067	
6	0,096		0,220	0,050	0,150		
7	0,115						
<i>Idh</i>							
(N)	26	24	25	20	21	15	
1						0,067	
2	0,077	0,063	0,120		0,119	0,033	
3	0,289	0,271	0,180	0,075	0,238	0,367	
4	0,442	0,479	0,360	0,550	0,595	0,467	
5	0,192	0,188	0,320	0,325	0,048	0,067	
6			0,020	0,050			
<i>Acph-1</i>							
(N)	25	23	25	19	17	14	
2				0,158			
3	0,120	0,065	0,180	0,053	0,265	0,143	
4	0,440	0,848	0,820	0,474	0,618	0,857	
5	0,320	0,087		0,290	0,118		
6	0,120			0,026			
<i>Acph-2</i>							
(N)	26	24	25	17	16	13	
1				0,029			
2	0,039	0,042		0,118			
3	0,058	0,313	0,160	0,147	0,250		
4	0,519	0,625	0,660	0,471	0,563	0,731	
5	0,289	0,021	0,160	0,177	0,188	0,269	
6	0,096		0,020	0,059			
<i>Dia</i>							
(N)	26	24	25	20	21	14	
2	0,019		0,080			0,071	
3	0,154	0,208	0,040	0,075	0,071	0,321	
4	0,500	0,688	0,460	0,350	0,500	0,500	
5	0,269	0,104	0,160	0,400	0,286	0,107	
6	0,058		0,220	0,175	0,143		
7			0,040				

3.3.2 Variabilidade genética intrapopulacional

As amostras de jovens apresentaram uma diversidade gênica média por população $\hat{H}_e = 0,498$ e o número médio de alelos por loco $\hat{A}_p = 4,2$. Todos os locos foram polimórficos (critério de 0,95).

As amostras que apresentaram maior diversidade gênica (H_e) foram Ribeirão Cachoeira e Malabar III, já os maiores valores de número médio de alelos por loco (A_p), heterozigosidade observada (H_o) e do coeficiente de endogamia (F_{IS}) foram Ribeirão Cachoeira, Furnas e Ribeirão Cachoeira. Já os menores valores de H_e , A_p , H_o e F_{IS} foram Malabar I (H_e e A_p), Furnas e Macuco (tabela 11).

O coeficiente de endogamia médio foi alto e significativo (0,625, I.C. 95%= 0,567 – 0,690).

Tabela 11: Estimativas de variabilidade genética nas amostras de jovens de *C. floribundus* dos seis fragmentos estudados. N, número de indivíduos analisados; A_p , número médio de alelos por loco; %P, porcentagem de locos polimórficos; H_o , heterozigosidade observada; H_e , diversidade gênica; F_{IS} , coeficiente de endogamia, entre parênteses – intervalo de confiança.

População	N	Área (ha)	A_p	%P*	Heterozigosidade		
					H_e	H_o	F_{IS}
Ribeirão Cachoeira	26	244,9	4,8	100	0,661	0,226	0,669 (0,574 - 0,737)
Mata do Macuco	24	41,8	3,9	100	0,539	0,246	0,559 (0,450 - 0,632)
Furnas	25	13,2	4,1	100	0,531	0,185	0,663 (0,555 - 0,749)
Santana do Atalaia	20	25,2	4,4	100	0,646	0,274	0,593 (0,445 - 0,690)
Malabar III	21	20	4,3	100	0,660	0,243	0,648 (0,505 - 0,744)
Malabar I	15	12,5	3,4	100	0,480	0,203	0,602 (0,350 - 0,774)

*Um loco é considerado polimórfico se o alelo mais comum ocorre em uma frequência menor que 0,95

Os valores de F_{IS} foram homogêneos em todos os locos entre as amostras de jovens, exceto para os locos *6pgdh-2*, *Pgh-2* e *Acph-1* (tabela 12).

Tabela 12: Teste para homogeneidade dos desvios de Hardy-Weinberg do coeficiente de endogamia (F_{IS}) por loco entre as seis populações de jovens de *C. floribundus*. Sendo: X^2 – qui-quadrado; gl – graus de liberdade.

Loco	X^2	gl
<i>6pgdh-1</i>	5,26	5
<i>6Pgdh-2</i>	14,46*	5
<i>Pgi-1</i>	5,11	5
<i>Pgi-2</i>	90,74*	5
<i>ldh</i>	5,31	5
<i>Acph-1</i>	107,63*	5
<i>Acph-2</i>	10,93	5
<i>Dia</i>	19,82	5

*= $p < 0,05$

Quando foram correlacionadas as estimativas de variabilidade intrapopulacional, H_e , A_p e F_{IS} , à área do fragmento, à distância do Ribeirão Cachoeira e à distância de cada fragmento ao seu fragmento mais próximo não obtivemos valores significativos para as correlações (tabela 13).

Tabela 13: Correlações de *Pearson* entre as estimativas de diversidade gênica (H_e), número de alelos por loco (A_p) e coeficiente de endogamia (F_{IS}) para as amostras de jovens dos seis fragmentos estudados.

	Distância do fragmento mais próximo	Distância do Ribeirão Cachoeira	Área do fragmento
H_e	$r = -0,205$ ($p = 0,698$)	$r = -0,525$ ($p = 0,288$)	$r = 0,548$ ($p = 0,263$)
A_p	$r = 0,163$ ($p = 0,759$)	$r = -0,334$ ($p = 0,520$)	$r = 0,711$ ($p = 0,116$)
F_{IS}	$r = 0,376$ ($p = 0,465$)	$r = 0,096$ ($p = 0,857$)	$r = 0,227$ ($p = 0,665$)

3.3.3 Estruturação genética

O coeficiente de estruturação genética entre as amostras de jovens foi baixo e significativo ($\theta = 0,035$, I.C. 95% = $0,021 - 0,053$).

Valores baixos e significativos do coeficiente de estruturação genética par a par foram encontrados entre as amostras de jovens de Ribeirão Cachoeira e as outras amostras, Furnas e Santana do Atalaia e entre Santana do Atalaia e Malabar III. Um único valor significativo de estruturação moderada foi observado entre Macuco e Santana do Atalaia (tabela 14).

Tabela 14: Matriz dos valores de θ par a par (Weir e Cockerham, 1984) das amostras de jovens nos seis fragmentos estudados. Sendo: RC – Ribeirão Cachoeira, MM – Macuco, FU – Furnas, STA – Santana do Atalaia, MIII – Malabar III e MI – Malabar I.

	RC	MM	FUR	STA	MIII	MI
RC	0,000					
MM	0,047*	0,000				
FUR	0,042*	0,032	0,000			
STA	0,001	0,051*	0,037	0,000		
MIII	0,012	0,046	0,044	0,013*	0,000	
MI	0,035	0,039	0,033	0,069	0,048	0,000

*= $p < 0,05$

As amostras Malabar I e Santana do Atalaia apresentaram a maior distância genética e as amostras Santana do Atalaia e Ribeirão Cachoeira apresentaram a menor distância genética (tabela 15).

Tabela 15: Matriz das distâncias genéticas de Nei (1978) das amostras de jovens de *C. floribundus* nos seis fragmentos estudados. RC – Ribeirão Cachoeira, MM – Macuco, FU – Furnas, STA – Santana do Atalaia, MIII – Malabar III e MI – Malabar I.

	RC	MM	FUR	STA	MIII	MI
RC	0,000					
MM	0,092	0,000				
FUR	0,080	0,057	0,000			
STA	0,033	0,099	0,071	0,000		
MIII	0,060	0,090	0,084	0,065	0,000	
MI	0,066	0,066	0,060	0,127	0,089	0,000

A correlação de Mantel entre a distância genética e a distância geográfica das amostras de jovens estudadas foi de 2,854 ($p=0,385$) e a de Pearson foi de -0,010 ($p=0,972$). A correlação de Mantel entre $F_{ST}/1-F_{ST}$ e distância geográfica foi de 1,052 ($p=0,464$).

O gráfico de dispersão entre a distância genética pela distância geográfica está representado na figura 5.

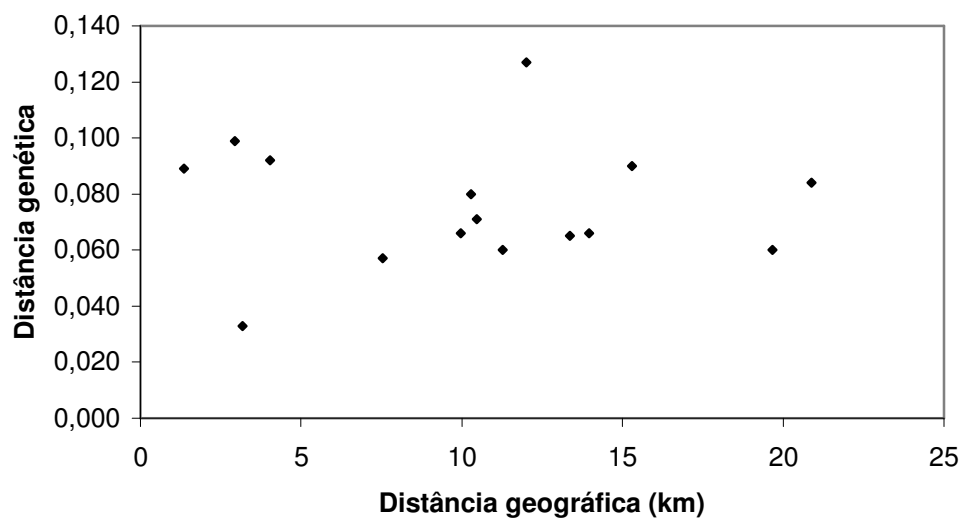


Figura 5: Relação entre distância genética de Nei (1978) e distância geográfica para todos os pares de combinação das seis amostras de jovens de *C. floribundus* nos fragmentos estudados.

3.4. Comparação entre adultos e jovens

3.4.1 Frequências alélicas

Os locos *Pgi-1*, *Idh*, *Acph-1* e *Dia* apresentaram um número maior de alelos por loco nas amostras de jovens do que nas amostras de adultos (figura 6).

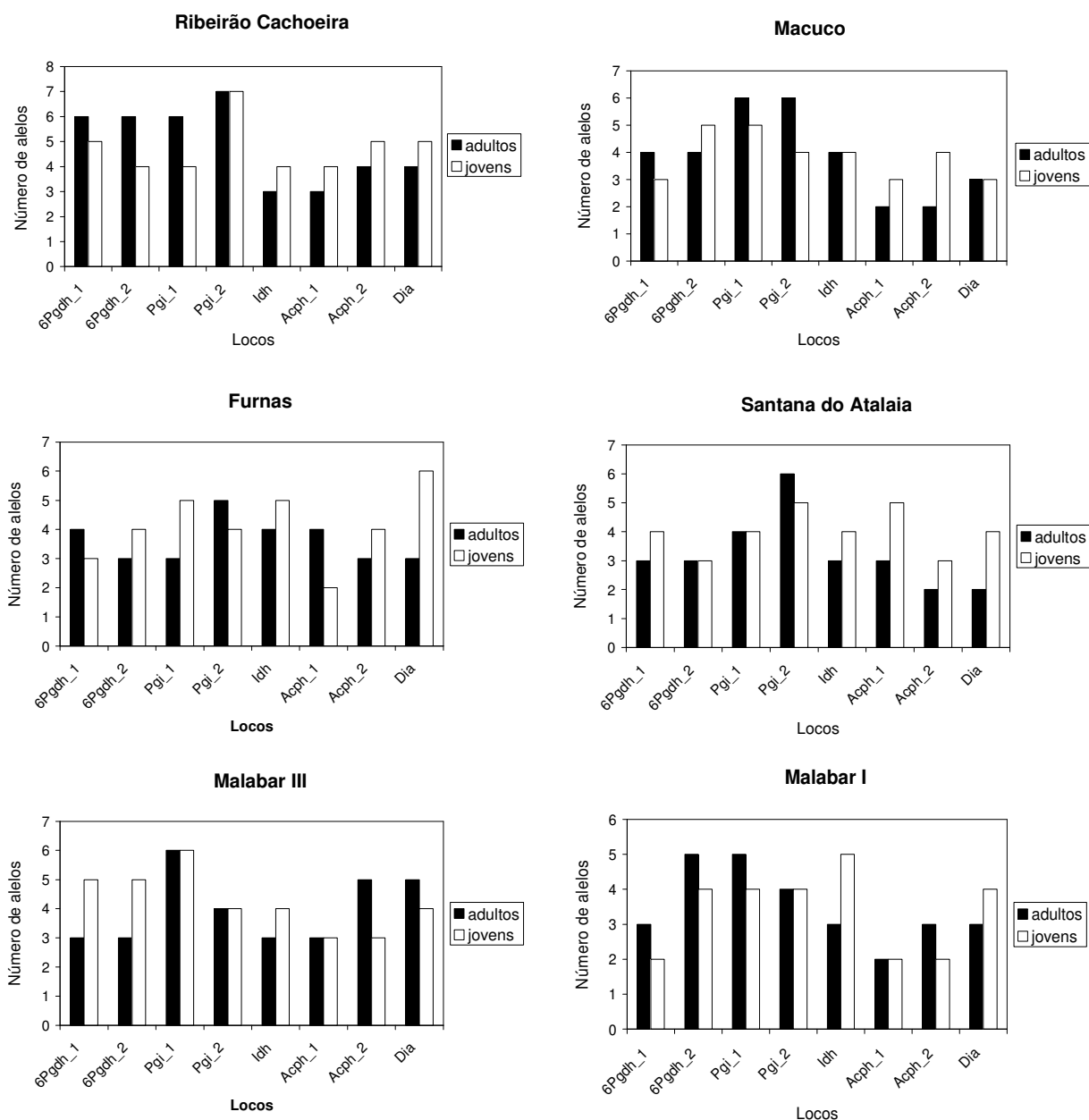


Figura 6: Comparação do número de alelos em cada loco estudado entre as amostras de adultos e de jovens de *C. floribundus*.

Observou-se um número maior de locos em desequilíbrio de ligação nas amostras de adultos do que nas de jovens.

As amostras de jovens apresentaram uma frequência maior de alelos raros. A amostra que apresentou maior número de alelos raros em adultos e jovens foi o Ribeirão Cachoeira. Já o loco que apresentou uma frequência maior de alelos raros foi o loco *Pgi-2* em adultos e o loco *6Pgdh-2* em jovens (tabelas 4 e 10).

A riqueza de alelos observada nas amostras de adultos foi de 3,645 e nas amostras de jovens foi de 3,885, sendo $p = 0,193$.

A distribuição das frequências alélicas do conjunto de amostras de adultos e jovens foi significativamente diferente quando comparamos adultos e jovens do mesmo fragmento (teste exato de Fisher). No entanto, a distribuição das frequências alélicas de alguns locos foi semelhante nas amostras de adultos e jovens (tabela 16).

Tabela 16: Distribuição das frequências alélicas para cada par de amostras de adultos e jovens de *C. floribundus* de cada fragmento estudado. Sendo: A1 e J1: amostra de adultos (A) e jovens (J) de Ribeirão Cachoeira (1); Macuco (2); Furnas (3), Santana do Atalaia (4), Malabar III (5) e Malabar I (6).

Loco	Populações	Probabilidade	Erro Padrão
<i>6pgdh-1</i>	A1 e J1	0,005*	0,001
	A2 e J2	0,050	0,002
	A3 e J3	0,165	0,004
	A4 e J4	0,017*	0,001
	A5 e J5	0,000*	0,000
	A6 e J6	0,010*	0,001
<i>6pgdh-2</i>	A1 e J1	0,000*	0,000
	A2 e J2	0,502	0,009
	A3 e J3	0,078	0,003
	A4 e J4	0,049*	0,002
	A5 e J5	0,095	0,004
	A6 e J6	0,017*	0,002
<i>Pgi-1</i>	A1 e J1	0,000*	0,000
	A2 e J2	0,053	0,004
	A3 e J3	0,382	0,006
	A4 e J4	0,088	0,003
	A5 e J5	0,188	0,005
	A6 e J6	0,321	0,007
<i>Pgi-2</i>	A1 e J1	0,122	0,005
	A2 e J2	0,002*	0,000
	A3 e J3	0,008*	0,001
	A4 e J4	0,049*	0,003
	A5 e J5	0,003*	0,001
	A6 e J6	0,017*	0,001

* = $p < 0,05$

Tabela 16 (continuação): Distribuição das frequências alélicas para cada par de amostras de adultos e jovens de *C. floribundus* de cada fragmento estudado. Sendo: A1 e J1: amostra de adultos (A) e jovens (J) de Ribeirão Cachoeira (1); Macuco (2); Furnas (3), Santana do Atalaia (4), Malabar III (5) e Malabar I (6).

Loco	Populações	Probabilidade	Erro Padrão
<i>Idh</i>	A1 e J1	0,212	0,006
	A2 e J1	0,069	0,003
	A3 e J3	0,047*	0,003
	A4 e J4	0,249	0,005
	A5 e J5	0,001*	0,000
	A6 e J6	0,216	0,007
<i>Acph-1</i>	A1 e J1	0,054	0,003
	A2 e J2	0,087	0,002
	A3 e J3	0,000*	0,000
	A4 e J4	0,000*	0,000
	A5 e J5	0,068	0,003
	A6 e J6	0,000*	0,000
<i>Acph-2</i>	A1 e J1	0,000*	0,000
	A2 e J2	0,008*	0,001
	A3 e J3	0,051	0,003
	A4 e J4	0,000*	0,000
	A5 e J5	0,512	0,006
	A6 e J6	0,038*	0,002
<i>Dia</i>	A1 e J1	0,166	0,005
	A2 e J2	0,000*	0,000
	A3 e J3	0,000*	0,000
	A4 e J4	0,001*	0,000
	A5 e J5	0,270	0,006
	A6 e J6	0,780	0,004

* = $p < 0,05$

3.4.2. Variabilidade genética intrapopulacional

A comparação das estimativas de variabilidade genética intrapopulacional das amostras de adultos e jovens está representada na figura 7.

Foi aplicado um teste t entre as amostras de variabilidade genética de adultos e jovens que revelou que as diferenças não são significativas:

Diversidade gênica (H_e): $t = -1,483$ ($p = 0,198$, $df = 5$, I.C.=95%);

Heterozigosidade Observada (H_o): $t = 0,129$ ($p = 0,902$, $df = 5$, I.C.=95%);

Número médio de alelos por loco (A_p): $t = -1,348$ ($p = 0,235$, $df = 5$, I.C.=95%);

Coeficiente de endogamia (F_{is}): $t = -0,163$ ($p = 0,877$, $df = 5$, I.C.=95%);

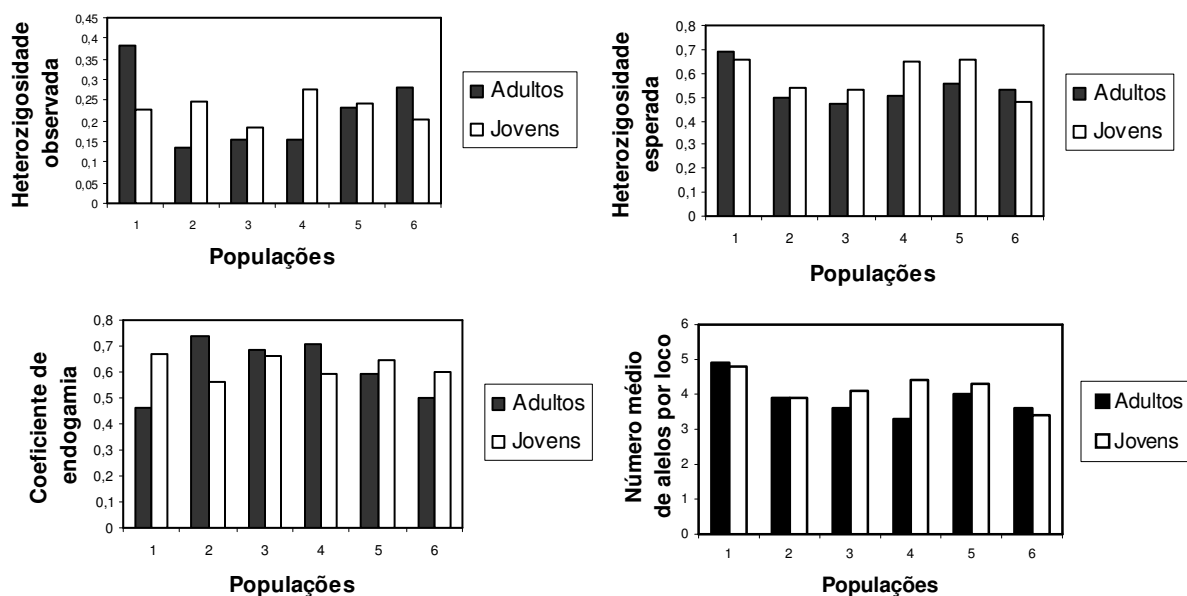


Figura 7: Comparação das estimativas de variabilidade genética intrapopulacional das amostras de adultos e jovens de *C. floribundus* nos seis fragmentos estudados. 1- Ribeirão Cachoeira, 2- Macuco, 3- Furnas, 4- Santana do Atalaia, 5- Malabar III e 6- Malabar I.

3.4.3 Estruturação genética

Não foi observada estruturação genética entre as amostras de adultos e de jovens ($\theta = -0,004$, I.C.95% = $-0,010 - 0,002$).

4. Discussão

4.1. Variabilidade genética intrapopulacional de adultos e de jovens

O número baixo de locos com boa resolução observado nas amostras de *C. floribundus* foi também observado em outros trabalhos com espécies arbóreas tropicais (Negrao, 1999; Seoane et al., 2000; Botrel e Carvalho, 2004; Ribeiro et al., 2005). As frequências alélicas das amostras de adultos e de jovens de *C. floribundus* variaram em cada loco entre as amostras; a única exceção foi o loco *Idh* nas amostras de adultos, que apresentou frequências alélicas semelhantes em todas as amostras. Também foi observada semelhança nos coeficientes de endogamia para o mesmo loco tanto nas amostras de adultos quanto nas amostras de jovens estudadas. Isto pode ser um indício de seleção, atuando sobre o loco *Idh* ou sobre locos ligados a ele. Nas amostras de adultos o loco *Idh* apresentou-se em desequilíbrio de ligação com os locos *Pgi-2* e *Acph-1*; no entanto, as frequências alélicas e os coeficientes de endogamia destes dois locos foram heterogêneos entre as amostras.

As estimativas de variabilidade genética intrapopulacional observadas para *C. floribundus* foram altas quando comparadas a outros trabalhos sobre a variabilidade genética de espécies arbóreas através da análise de isozimas (Eguiarte et al., 1992; Alvarez-Buylla and Garay, 1994; Cardoso et al., 1998; Loveless et al., 1998; Ledig et al., 2002). Hamrick e Godt (1989, 1990) encontraram para espécies arbóreas valores médios de diversidade gênica de 0,109 e, para espécies arbóreas tropicais, valores de 0,211. Os valores encontrados em *C. floribundus* estão entre os maiores observados para espécies arbóreas tropicais e especialmente, para espécies de ambientes fragmentados (Moraes, 1997; González-Astorga e Castillo-Campos, 2003; Kageyama et al., 2003; Souza et al., 2004; Botrel e Carvalho, 2004; Ribeiro et al., 2005) e com dispersão autocórica e polinização por insetos (Kang et al., 2005; Oliveira et al., 2006).

A variabilidade genética dentro das populações pode ser entendida como resultado de características da história de vida de cada espécie e processos evolutivos recentes. Em *Couratari multiflora* e *C. guianenses* (Lecythidaceae), a alta variabilidade genética foi relacionada à baixa densidade de indivíduos, a eficientes mecanismos de polinização e dispersão a longas distâncias e a altas taxas de cruzamento entre as populações (Lepsch-Cunha et al., 1999). Em *Machaerium villosum* (Fabaceae), a alta variabilidade genética dentro das populações foi relacionada ao sistema reprodutivo tipicamente alógamo (Botrel e Carvalho, 2004). *Antirhea aromatica* (Rubiaceae), apesar da baixa densidade populacional, apresentou

alta diversidade e variabilidade genética, que foram relacionadas ao sistema de auto-incompatibilidade pré-zigótica e à eficiência do polinizador (González-Astorga e Castillo-Campos, 2003).

Nas amostras de adultos e de jovens de *C. floribundus*, a alta variabilidade genética pode estar relacionada a características da espécie, como o fato de ser pioneira e oportunista ocupando ambientes perturbados, com alta densidade populacional. Assim como as árvores pioneiras *Trema micrantha* (Ulmaceae), *Cecropia pachystachya* (Cecropiaceae) e *Esenbeckia leiocarpa* (Rutaceae), estudadas por Kageyama et al. (2003), as amostras de *C. floribundus* apresentaram características relacionadas à manutenção dos altos níveis de variabilidade genética, uma vez que as plantas ocorrem agregadas ou em subpopulações com alta densidade, constituídas, muitas vezes, de centenas de indivíduos e na maioria das vezes dominando a paisagem nos seus locais de ocorrência. Além disso, a alta variabilidade genética pode estar relacionada ao fato das sementes de *C. floribundus* serem abundantes e persistentes em banco de sementes (Válio e Scarpa, 2001) e a polinização ser feita a longas distâncias tanto por insetos quanto pelo vento (Passos, 1995) que diminui a diferenciação entre populações. Os bancos de sementes podem reter a variação genética, servindo como um tampão de variabilidade para espécies sujeitas a flutuações ambientais ao longo do tempo (Alvarez-Buylla e Garay, 1994, Ribas e Kageyama, 2001). Além disso, estão envolvidos no estabelecimento de populações, na manutenção da diversidade de espécies, no estabelecimento de grupos ecológicos e na restauração da riqueza de espécies durante a regeneração da floresta após distúrbios naturais ou antrópicos (Baider, 1999).

A fragmentação do habitat pode causar perda da variação genética populacional. Em *Rutidosia leptorhynchoide* (Asteraceae) (Young et al., 1999), *Swietenia humilis* Zucc. (Meliaceae) (White et al., 1999), *Eucalyptus albens* (Prober e Brown, 1994), *Gentiana pneumonanthe* (Gentianaceae) (Raijman et al., 1994) um efeito imediato da fragmentação foi evidente através da perda de alelos raros nas populações menores.

A maior variabilidade genética observada nas amostras de adultos e de jovens de Ribeirão Cachoeira, o maior fragmento estudado, assim como o fato das menores amostras apresentarem menor variabilidade genética, pode estar relacionada ao modelo de biogeografia de Ilhas (Macarthur e Wilson, 1967). Segundo este modelo, ilhas pequenas e isoladas teriam uma riqueza de espécies menor devido ao número reduzido de populações, levando à extinção algumas espécies através da perda de variabilidade genética e à falta de imigração de espécies novas devido ao reduzido fluxo gênico. Ilhas maiores possuiriam riqueza de espécies e variabilidade genética maiores. A alta riqueza de espécies equilibraria as taxas de extinção e

imigração, possibilitando a doação de propágulos de espécies novas para outras ilhas. Se considerarmos cada fragmento como uma ilha podemos relacionar os resultados obtidos a este modelo. A Área de Proteção Ambiental de Souza e Joaquim Egídio tem cerca de 197 fragmentos de diversos tamanhos e Ribeirão Cachoeira é o segundo maior fragmento (Santin, 1999). Assim, pode-se dizer que o Ribeirão Cachoeira se comportaria como uma ilha grande com maior riqueza de espécies e maior variabilidade genética. Além disso, Ribeirão Cachoeira poderia ser um dos fragmentos doadores de propágulos ou genes para os outros fragmentos da APA. No entanto, Santos (2003) estudou os mesmos fragmentos deste trabalho e não observou correlação entre riqueza de espécies e tamanho dos fragmentos.

C. floribundus é uma espécie monóica, em cujas inflorescências encontram-se flores estaminadas (masculinas) na parte terminal e pistiladas (femininas) na parte inferior de racemos pendentes (Lorenzi, 1992). Esta disposição das flores masculinas pode facilitar a autofecundação, uma vez que a espécie é autocompatível (Passos, 1995). No entanto, *C. floribundus* apresenta dioícia temporal (também chamada dicogamia), ou seja, amadurecimento em períodos diferentes das flores masculinas e femininas nas inflorescências, o que evitaria a autofecundação. No entanto, há sobreposição das fases femininas e masculinas entre inflorescências de um mesmo indivíduo. Os polinizadores de *C. floribundus* visitam, de modo geral, todas as flores receptivas (abertas e com néctar) de uma inflorescência e depois se dirigem à outra com vôos curtos (Passos, 1995, Ramalho, 2004), forrageando preferencialmente, dentro de cada fragmento. Este comportamento pode estar relacionado aos altos valores de F_{IS} encontrados.

Outro fator que poderia atuar na redução de heterozigotos de *C. floribundus* é a dispersão de sementes, que ocorre através da deiscência dos frutos associada à dispersão secundária por formigas, considerada uma situação primitiva na família Euphorbiaceae e presente em numerosos gêneros (Narbona et al., 2005). Este tipo de dispersão pode gerar uma estruturação espacial local, uma vez que as sementes caem até 5m de distância da planta-mãe (Vander Wall e Longland, 2004) e as formigas podem carregá-las. A presença do elaiosomo nas sementes, uma estrutura rica em lipídios, atrai formigas que se alimentam destas estruturas. Após se alimentarem, a semente exposta potencialmente pode germinar no local em que foi abandonada, ficando os indivíduos agregados e próximos uns dos outros.

Assim, a dispersão das sementes e a conseqüente distribuição espacial dos indivíduos de *C. floribundus* (Danciguer, 1996; Dislich, 2001) facilitariam a ação local dos polinizadores que encontrariam uma abundância de recursos (néctar e pólen) concentrados, que seriam

explorados primeiramente nas inflorescências de um mesmo indivíduo, facilitando, assim a autopolinização.

4.2 Estruturação genética de adultos e de jovens

A distribuição agregada dos indivíduos, a alta densidade das populações e o comportamento dos pequenos insetos polinizadores podem levar a uma estruturação maior entre os fragmentos estudados do que entre adultos e jovens de cada fragmento (Dislich, 2001). Em *Eurya japonica* (Theaceae), os mecanismos de polinização (abelhas) e a distribuição agregada dos indivíduos foram responsáveis pela alta estruturação genética dentro da população estudada (Chung e Epperson, 1999).

A dispersão das sementes que propicia uma distribuição agregada dos indivíduos pode resultar na estruturação genética moderada observada entre as amostras de adultos ($\theta = 0,053$, I.C. 95% = 0,028 – 0,085). Em jovens, observou-se uma baixa estruturação genética ($\theta = 0,035$, I.C. 95% = 0,021 – 0,053) entre as amostras. O fluxo gênico via polinização por insetos e pelo vento pode ser um dos fatores atuantes na baixa estruturação genética das amostras de *C. floribundus*. Apesar de serem pequenos, alguns polinizadores têm um amplo raio de forrageamento (500 a 4000m para abelhas sem ferrão, Ramalho, 2004) e vivem em grandes colônias (Passos, 1995). Os altos índices de fluxo gênico e o coeficiente de estruturação genética (F_{ST}) baixo encontrados em populações de diferentes estádios de ciclo de vida de *Cecropia obtusifolia* (Cecropiaceae) podem ter sido determinados pela polinização a longa distância (Alvarez-Builla e Garay, 1994).

4.3 Comparação entre adultos e jovens

As estimativas de variabilidade genética não foram significativamente diferentes entre as amostras de adultos e jovens de *C. floribundus* (teste t). Uma possibilidade para explicar a falta de diferença significativa na variabilidade genética entre adultos e jovens seria o número baixo de amostras utilizado no teste t. Outra estaria relacionada à fragmentação recente da área (aproximadamente 50 anos) e ao tempo de vida dos adultos (30 a 40 anos). Os efeitos genéticos da fragmentação do habitat podem ser mais pronunciados em espécies que formam pequenas populações, são auto-compatíveis e tem dispersão limitada de sementes. No entanto, a dormência de bancos de sementes, a mobilidade dos polinizadores e o tempo de vida dos adultos podem prevenir ou atrasar o acúmulo dos efeitos genéticos da fragmentação

por décadas ou centenas de anos em populações de ambientes fragmentados (England et al., 2002). Em *C. floribundus*, a variabilidade genética encontrada refletiria a variabilidade genética antes da fragmentação.

A alta variabilidade genética encontrada em adultos e jovens de *C. floribundus* não indica um efeito da deriva genética sobre a variabilidade genética destas amostras como foi observado em *Acer saccharum* (Aceraceae) (Foré et al., 1992) e em *Berchemiella wilsonii* var. (Rhamnaceae) (Kang et al., 2005). Este fato pode ser explicado de duas maneiras: mesmo que o número de alelos seja reduzido, ao ocorrer uma redução no tamanho da população, o grau de heterozigosidade e de diversidade genética podem permanecer tão altos quanto na população original, uma vez que, os alelos perdidos por deriva são os alelos raros, que pouco contribuem para o nível de heterozigosidade. Deste modo, não há muitos estudos que indiquem reduções nos níveis de heterozigosidade em populações remanescentes de espécies arbóreas (Souza et al., 2004; Kang et al., 2005, Ribeiro et al., 2005). O estudo de gerações próximas, em um curto período de tempo, pode ter dificultado a visualização de alguma ação da deriva genética no sentido de alterar drasticamente a variabilidade genética das amostras. Ainda, o fato de *C. floribundus* ser uma árvore pioneira e oportunista, dominando paisagens perturbadas, com polinização a longa distância, a alta variabilidade e a pouca diferenciação das populações puderam ser mantidas facilmente nestas populações sob fragmentação.

Por outro lado, Ribeirão Cachoeira, o maior fragmento, apresentou o maior número de alelos raros nas amostras de adultos e jovens, o que pode ser resultado de uma menor deriva genética neste fragmento ou nesta população. Sendo assim, é possível que fragmentos de tamanhos maiores preservem uma proporção de alelos raros, que podem servir base genética para mudanças evolutivas em resposta a mudanças ambientais.

A estruturação genética entre as amostras de adultos e de jovens não foi significativa ($\theta = -0,004$, I.C.95% = $-0,010 - 0,002$), o que pode estar relacionado ao fluxo gênico via polinização por insetos e pelo vento que mantém a troca de genes entre os fragmentos.

Em relação aos valores obtidos houve uma redução da estruturação genética de adultos para jovens. Adultos e sementes de *Astrocaryum mexicanum* (Palmae) apresentaram baixa estruturação, porém adultos eram mais estruturados do que as sementes, evidenciando um intenso fluxo gênico através da polinização (Eguiarte et al., 1992). Para Foré et al. (1992) a estruturação maior em adultos de *Acer saccharum* (Aceraceae) do que em jovens foi devido ao aumento do fluxo gênico entre os fragmentos estudados e alternativamente, ao fato da fragmentação mudar as pressões seletivas na estrutura genética das populações estudadas.

Espécies pioneiras, como *C. floribundus*, apresentam características de extinção local e de recolonização, que podem contribuir para o aumento do fluxo gênico, reduzindo a diferenciação genética entre populações (Slatkin, 1987). A facilidade de ocupação de ambientes perturbados faz com que ela esteja presente tanto dentro das matas quanto em sua borda e, até entre os fragmentos, ocupando estradas e pastagens, surgindo assim, áreas de conectividade genética (Sork e Smouse, 2006). A presença destas espécies em pequenas manchas na paisagem e cada vez mais fora das suas condições naturais faz com que apresentem características desejáveis para compor diversos tipos de programas de restauração da cobertura vegetal (Ribas e Kageyama, 2004). Além disso, a polinização pelo vento aumenta as chances das espécies que utilizam este tipo de polinização atingirem longas distâncias em ambientes mais abertos (matriz) (Santos, 2003).

Outra possibilidade para a ocorrência de fluxo gênico seria o fato da área estudada (APA de Souza e Joaquim Egídio) ser muito fragmentada (cerca de 197 fragmentos catalogados por Santin, 1999) e entre os fragmentos estudados haver outros que poderiam atuar como áreas de conectividade (Lepsch-Cunha et al., 1999; Sork e Smouse, 2006) para os insetos polinizadores. Além disso, os fragmentos estudados possuem uma matriz grande rodeada de estradas e pastagem, o que poderia facilitar a locomoção dos insetos entre os fragmentos, facilitando o fluxo gênico. Alguns estudos verificaram que árvores remanescentes nos pastos podem exercer considerável influência no nível de fluxo gênico entre populações fragmentadas (Chase et al., 1996; Aldrich e Hamrick, 1998). Diante da maior frequência de indivíduos nas formações florestais secundárias e da posição de eficientes colonizadoras em paisagens antropizadas, a baixa diferenciação entre as amostras de *C. floribundus* pode ser mantida facilmente nas populações sob fragmentação.

Além da polinização por pequenos insetos, *C. floribundus* é também polinizada pelo vento. Apesar de alguns trabalhos sugerirem que a fragmentação do habitat provoca isolamento e a diminuição do fluxo gênico entre os fragmentos, outros, porém, encontraram uma taxa maior de fluxo gênico da polinização pelo vento (anemofilia) após a fragmentação (Foré et al., 1996; Chung e Epperson, 1999; White et al., 1999; González-Astorga e Castillo-Campos, 2003).

5. Conclusão geral

Os altos índices de diversidade genética e a ausência de grandes variações genéticas entre as amostras estudadas podem indicar que *C. floribundus* consiga se manter sem prejuízos na variabilidade genética de suas populações em curto prazo, sob condições de paisagem antropizada.

A manutenção da variabilidade genética nas amostras de *C. floribundus* pode ser explicada pelo fato de possuírem características que as permitam resistir a mudanças ambientais em um período curto de tempo. Assim, podemos dizer que a espécie pode ser considerada um mau indicador do efeito da fragmentação sobre populações de espécies arbóreas, uma vez que é pioneira invasora e se mantém em ambientes antropizados.

O sistema de cruzamento, a morfologia das inflorescências, a polinização restrita e não especializada de insetos e do vento, a dispersão autocórica e mirmercórica associada à distribuição espacial em aglomerados de muitos indivíduos aparentados próximos uns aos outros podem permitir o endocruzamento nas amostras de *C. floribundus* estudadas.

A relação entre tamanho do fragmento e variabilidade genética em adultos, a proporção de alelos raros maior em Ribeirão Cachoeira e as flutuações na distribuição das frequências alélicas podem ter sido causadas pela deriva genética.

Ribeirão Cachoeira, o maior fragmento estudado, apresentou as maiores estimativas de variabilidade nas amostras de adultos e jovens estudadas, sugerindo uma atenção especial para remanescentes que conservam grandes áreas de floresta e atuam como remanescentes dispersores de propágulos e de genes para outros fragmentos.

A fragmentação recente, o número limitado de gerações transcorridas após a fragmentação, a dominância na paisagem, a alta densidade de indivíduos e à ocorrência de fluxo gênico entre fragmentos mais próximos podem ter facilitado a manutenção da variabilidade genética e a baixa diferenciação entre as amostras de adultos e jovens de *C. floribundus*.

Estudos que contemplem um maior número de gerações após a fragmentação poderão talvez perceber alterações na heterozigosidade nas populações de *C. floribundus*.

6. Referências bibliográficas

- AIZEN, M. A.; FEINSINGER, P. 1994. Forest fragmentation, pollination, and plant reproduction in Chaco dry forest, Argentina. *Ecology* **75**: 330-351.
- ALDRICH, P.R.; HAMRICK, J.L. 1998. Reproductive dominance of pasture trees in a fragmented tropical forest mosaic. *Science* **281**: 103-105.
- ALVAREZ-BUYLLA, E.R.; GARAY, A.A. 1994. Population genetic structure of *Cecropia obtusifolia*, a tropical pioneer tree species. *Evolution* **48**: 437-453.
- AUGUSTO, D.C.C.; GUERRINI, I. A.; ENGEL, V.L.; ROUSSEAU, G.X. 2003. Utilização de esgotos domésticos tratados através de um sistema biológico na produção de mudas de *Croton floribundus* Spreng. (capixingui) e *Copaifera langsdorffii* Desf. (copaíba). *Revista Árvore* **27**: 335-342.
- AULER, N.M.F.; REIS, M.S.; GUERRA, M.P.; NODARI, R.O. 2002. The genetics and conservation of *Araucaria angustifolia*: I. Genetic structure and diversity of natural populations by means of non-adaptive variation in the state of Santa Catarina, Brazil. *Genetics and Molecular Biology* **25**: 329-338.
- BACLES, C.F.E. LOWE, A.J.; ENNOS, R.A. 2004. Genetic effects of chronic habitat fragmentation on tree species: the case of *Sorbus aucuparia* in a deforested Scottish landscape. *Molecular Ecology* **13**: 573-584.
- BAIDER, C. TABARELLI, M.; MANTOVANI, W. 1999. O banco de sementes de um trecho de floresta Atlântica montana (São Paulo, Brasil). *Revista Brasileira de Biologia* **59**: 319-328.
- BELKHIR, K.; BORSA, P.; CHIKHI, L.; RAUFASTE, N.; BONHOMME, F. . 2001. **GENETIX 4.02, logiciel sous Windows TM pour la génétique des populations**. Laboratoire Génome, Populations, Interactions, CNRS UMR 5000. Université de Montpellier II, Montpellier, France.
- BENEDICK, S.; HILL, J.K.; MUSTAFFA, N.; CHEY, V.K.; MARYATI, M.; SEARLE, J.B.; SCHILTHUIZEN, M.; HAMER, K.C. 2006. Impacts of rain forest fragmentation on butterflies in northern Borneo: species richness, turnover and the value of small fragments. *Journal of Applied Ecology* **43**: 967-977.
- BERNACCI, L.C.; LEITÃO FILHO, H.F. 1996. Flora fanerogâmica da floresta da Fazenda São Vicente, Campinas, SP. *Revista Brasileira de Botânica* **19**: 149-164.
- BILLINGTON, H.L. 1991. Effect of population size on genetic variation in a dioecious conifer. *Conservation Biology*. **5**: 115-119.
- BOTELHO, S.A.; DAVID, A.C.; FARIA, J.M.R 1996. Desenvolvimento inicial de seis espécies florestais nativas em dois sítios, na região Sul de Minas Gerais. *Revista Cerne* **2**: 4-13.
- BOTREL, M.C.G.; de CARVALHO, D. 2004. Variabilidade isoenzimática em populações naturais de jacarandá paulista (*Machaerium villosum* Vog.). *Revista Brasileira de Botânica* **27**: 621-627.

- BOTREL, R.T.; OLIVEIRA, A.T.; FILHO, RODRIGUES, L.A.; CURI, N. 2002. Influência do solo e topografia sobre as variações na composição florística e estrutura da comunidade arbóreoarbustiva de uma floresta estacional semidecidual em Ingaí, MG. *Revista Brasileira de Botânica* **25**: 195-213.
- BUCKLEY, D.P.; O'MALLEY, D.M.; APSIT, V.; PRANCE, G.T.; BAWA, K.S. 1988. Genetics of Brazil nut (*Bertholetia excelsa* Humb & Bonpl.: Lecythidaceae) 1: Genetic variation in natural populations. *Theoretical Applied Genetics* **76**: 923-928.
- CARDOSO, M.A. PROVAN, J.; POWELL, W.; FERREIRA, P.C.G.; OLIVEIRA, D.E. 1998. High genetic differentiation among remnant populations of the endangered tree *Caesalpinia echinata* Lam. (Leguminosae - Caesalpinioideae). *Molecular Ecology* **7**: 601-608.
- CARVALHO, P.E.R. 1994. **Espécies florestais brasileiras: recomendações silviculturais, potencialidades e uso da madeira**. Brasília: EMBRAPA.
- CHASE, M.R.; MOLLER, C.; KESSELI, R.; BAWA, K.S. 1996. Distant gene flow in tropical trees. *Nature* **383**: 398-399.
- CHUNG, M.G.; EPPERSON, B.K. 1999. Spatial genetic structure of allozyme polymorphisms in a population of *Eurya japonica* (Theaceae). *Silvae Genetica* **49**: 1-4.
- CLAYTON, J.W.; TRETIAK, D.N. 1972. Amine-citrate buffers for pH control in starch-gel electrophoresis. *Journal of The Fisheries Research Board of Canada* **29**: 1169-&.
- COLLEVATTI, R.G.; GRATTAPAGLIA, D.; HAY, J.D. 2001. Population genetic structure of the endangered tropical tree species *Caryocar brasiliense*, based on variability at microsatellite loci. *Molecular Ecology* **10**: 349-356.
- CROW, J.F.; AOKI, K. 1984. Group selection for polygenic behavioral trait: estimating the degree of population subdivision. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **81**: 6073-6077.
- CUARTAS-HERNÁNDEZ, S.; NÚÑEZ-FARFÁN, J. 2006. The genetic structure of the tropical understory herb *Dieffenbachia seguine* L. before and after forest fragmentation. *Evolutionary Ecology Research* **8**: 1061-1075.
- DANCIGUER, L. 1996. **Aspectos da regeneração de duas espécies arbóreas em um fragmento florestal do sudeste brasileiro**. Tese de Mestrado. Unicamp, Campinas.
- DISLICH, R. 2002. **Análise da vegetação arbórea e da conservação na reserva florestal da cidade universitária "Armando Salles de Oliveira", São Paulo, SP**. Tese de Doutorado. USP, São Paulo.
- EGUIARTE L.E.; NASSER-PEREZ, N.; PIÑERO, D. 1992 Genetic structure, outcrossing rate and heterosis in *Astrocaryum mexicanum* (tropical palm): implications for evolution and conservation. *Heredity* **69**: 217-218.
- ENGLAND, P.R.; USHER, A.V.; WHELAN, R.J.; AYRE, D.J. 2002. Microsatellite diversity and genetic structure of fragmented populations of the rare, fire-dependent shrub *Grevillea macleayana*. *Molecular Ecology* **11**: 967-977.

- Flora Brasiliensis*. Centro de Referência em Informação Ambiental (CRIA). Disponível em: http://florabrasiliensis.cria.org.br/search?taxon_id=5240. Data de acesso: 26/02/2007.
- FORÉ, S.A.; HICKEY, R.J.; VANKAT, J.L. 1992. Genetic structure after forest fragmentation: a landscape ecology perspective on *Acer saccharum*. *Canadian Journal of Botany* **70**: 1659-1668.
- FRANKHAM, R. 1996. Relationship of genetic variation to population size in wildlife. *Conservation Biology* **10**: 1500–1508.
- GAFFNEY, P.M. 1990. Interrelationships of heterozygosity, growth rate and heterozygote deficiencies in the CootC lam, *Mulinia lateralis*. *Genetics* **124**: 687-699.
- GHAZOUL, J. 2005. Pollen and seed dispersal among dispersed plants. *Biological Reviews* **80**: 413–443.
- GOMES, V.; COLLEVATTI, R.G.; SILVEIRA, F.A.O.; FERNANDES, G.W. 2004. The distribution of genetic variability in *Baccharis concinna* (Asteraceae), an endemic, dioecious and threatened shrub of rupestrian fields of Brazil. *Conservation Genetics* **5**: 157-165.
- GONZALEZ-ASTORGA, J.; CASTILLO-CAMPOS, G. 2004. Genetic variability of the narrow endemic tree *Antirhea aromatica* Castillo-Campos & Lorence, (Rubiaceae, Guettardeae) in a tropical forest of Mexico. *Annals of Botany* **93**: 521-528.
- GOOGLE EARTH. 2007. **Google Earth Beta (v4.0.27XX)**. Europa Technologies (atualizada em 2007 Jan 12). Disponível em: <http://earth.google.com>. Data de acesso: 26/01/2007.
- GOUDET, J. 2001 **FSTAT, a program to estimate and test gene diversities and fixation indices (version 2.9.3)**.
- HAMRICK, J.L. 2004. Response of forest trees to global environmental changes. *Forest Ecology and Management* **197**: 323-335.
- HAMRICK, J.L.; GODT, M.J.W. 1989. Allozyme diversity in plant species. In: BROWN, A.H.D.; CLEGG, M.T.; KAHLER, A.L.; WEIR, B.S., eds. **Plant population genetics, breeding and genetic resources**. Sunderland, Sinauer, MA.
- HAMRICK, J.L.; GODT, M.J.W. 1990. Allozyme diversity in plant species. In: BROWN, A.H.D.; CLEGG, M.T.; KAHLER, A.L.; WEIR, B.S., ed. **Plant population genetic resources**. **Sunderland**, Sinauer, MA.
- HAMRICK, J.L.; LOVELESS, M.D. 1986. Isozyme variation in tropical trees: procedures and preliminary results. *Biotropica* **18**: 201-207.
- HAMRICK, J.L.; MURAWSKY, D.A. 1991. Levels of allozyme diversity in populations of incommum neotropical tree species. *Journal of Tropical Ecology* **7**: 395-399.
- JOLY, C.A.; AIDAR, M.P.M.; KLINK, C.A.; MCGRATH, D.G.; MOREIRA, A.G.; MOUTINHO, P.; NEPSTAD, D.C.; OLIVEIRA, A.A.; POTT, A.; RODAL, M.J.N.; SAMPAIO, E.V.S.B. 1999. Evolution of the Brazilian phytogeography classification systems: implications for biodiversity conservation. *Ciência e Cultura* **51**: 331-348.

- KAGEYAMA, P.Y.; SEBBENN, A.M.; RIBAS, L.A.; GANDARA, F.B.; CASTELLEN, M.; PERECIN, M.B.; VENCovsky, R. 2003. Diversidade genética em espécies tropicais de diferentes estágios sucessionais por marcadores genéticos. *Scientia Forestalis* **64**: 93-107.
- KANG, M. JIANG, M.; HUANG, H. 2005. Genetic Diversity in fragmented populations of *Berchemiella wilsonii* var. *pubipetiolata* (Rhamnaceae). *Annals of Botany* **95**: 1145–1151.
- KOLB, A.; LINDHORST, S. 2006. Forest fragmentation and plant reproductive success: a case study in four perennial herbs. *Plant Ecology* **185**: 209 –220.
- LEDIG, F.T.; HODGSKISS, P.D.; JACOB-CERVANTES, V. 2002. Genetic diversity, mating system, and conservation of a mexican subalpine relict, *Picea mexicana* Martínez. *Conservation Genetics* **3**: 113-122.
- LEPSCH-CUNHA KAGEYAMA, P.Y.; VENCovsky, R. 1999. Genetic diversity of *Couratari multiflora* e *Couratari guianensis* (Lecythidaceae): consequences of two types of rarity in central Amazonia. *Biodiversity and Conservation* **8**: 1205-1218.
- LEWIS, P.O.; ZAYKIN, D. 2001. **Genetic data analysis: Computer program for the analysis of allelic data**. Version 1.0 (d16c).
- LORENZI, H. 1992. **Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil**. Nova Odessa: Plantarum.
- LOVELESS, M.D.; HAMRICK, J.L. 1987. Distribución de la variación genética en especies arboreas tropicales. *Revista de Biología Tropical* **35**: 165-175.
- LOVELESS, M.D.; HAMRICK, J.L.; FOSTER, R.B. 1998. Population structure and mating system in *Tachigali versicolor*, a monocarpic neotropical tree. *Heredity* **81**: 134-143.
- LOWE, A.J.; BOSHIER, D.; WARD, M.; BACLES, C.F.E.; NAVARRO, C. 2005. Genetic resource impacts of habitat loss and degradation; reconciling empirical evidence and predicted theory for neotropical trees. *Heredity* **95**: 255–273.
- MACARTHUR, R.H.; WILSON, E.O. 1967. **The theory of island biogeography**. Princenton and Oxford: Princenton University Press. 203p.
- MORINI, M.S.C.; KATO, L.M.; BUENO, O.C. 2004. The ant (Hymenoptera: Formicidae) community in two species of the Euphorbiaceae, *Alchornea sidifolia* and *Croton floribundus*, in an area of the Atlantic forest of Brazil. *Sociobiology* **43**: 467-475.
- MURAWSKI, D.A.; HAMRICK, J.L. 1991. The effect of the density of flowering individuals on the mating systems of nine tropical tree species. *Heredity* **67**:167-74.
- MYERS, N.; MITTERMEIER, R.A.; MITTERMEIER, C.G.; DA FONSECA, G.A.B.; KENT, J. 2000. Biodiversity hotspots for conservation priorities. *Nature* **403**: 852-858.
- NABORNA, E.; ARISTA, M.; ORTIZ, P.L. 2005. Explosive seed dispersal in two perennial mediterranean *Euphorbia* species (Euphorbiaceae). *American Journal of Botany* **92**: 510-516.

- NASCIMENTO, H.E.M.; LAURANCE, W.F. 2006. Efeitos de área e de borda sobre a estrutura florestal em fragmentos de floresta de terra-firme após 13-17 anos de isolamento. *Acta Amazonica* **36**: 183-192.
- NEGRÃO, M.O. 1999. **Estrutura genética de populações naturais de *Syagrus romanzffiana* (Arecaceae) do continente (Serra do Mar, SP) e da Ilha dos Alcatrazes**. Tese de Mestrado. Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", USP, Piracicaba.
- NEI, M. 1978. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. *Genetics* **89**: 583-590.
- OLIVEIRA, C.A.M.; da SILVA, E.F.; MOLICA, S.G.; FERREIRA, R.L.C.; de LIRA, L.A.; JÚNIOR, J.A.B.B. 2006. Diversidade e estrutura genética em populações de *Caesalpinia echinata* (Lam.) na estação ecológica de Tapacurá, PE. *Scientia Florestalis* **70**: 77-83.
- OLIVEIRA FILHO, A.T.; FONTES, M.A.L. 2000 Patterns of floristic differentiation among Atlantic Forest in south-eastern Brazil, and the influence of climate. *Biotropica* **32**: 793-810.
- PASSOS, L.C. 1995. **Fenologia, polinização e reprodução de duas espécies de *Croton* (Euphorbiaceae) em Mata Semidecídua**. Tese de Mestrado. Unicamp, Campinas, SP.
- PRIMACK, R.B.; RODRIGUES, E. 2001. Ameaças à diversidade biológica. In: _____. **Biologia da Conservação**. Londrina: Mediograf.
- PROBER, S.M.; BROWN, A. H. D. 1994. Conservation of the grassy white box woodlands: Population genetics and fragmentation of *Eucalyptus albens*. *Conservation Biology* **8**: 1003-1013.
- QUEIROZ, J.M.; OLIVEIRA, P.S. 2001. Tending ants protect honeydew-producing whiteflies (Homoptera: Aleyrodidae). *Population Ecology* **30**: 295-297.
- RAJIMANN, L.E.L.; VAN LEEUWEN, N.C.; KERSTEN, R.; OOSTERMEIJER, J.G.B.; DEN NIJS, J.C.M.; MENKEN, S.B.J. 1994. Genetic variation and outcrossing rate in relation to population size in *Gentiana pneumonanthe* L. *Conservation and Biology* **8**: 1014-1026.
- RAMALHO, M. 2004. Stingless bees and mass flowering trees in the canopy of Atlantic Forest: a tight relationship. *Acta botânica brasileira* **18**: 37-47.
- RAYMOND, M.; ROUSSET, F. 1995. GENEPOP (version 1.2): Population genetics software for exact tests and ecumenicism. *J. Heredity* **86**: 248-249.
- RIBAS, L.A.; KAGEYAMA, P.Y. 2004. Diversidade e estrutura genética em populações naturais de *Trema micrantha* (L.) B. *Scientia Florestalis* **6**: 66-75.
- RIBEIRO, R.A.; RAMOS, A.C.S.; FILHO, J.P.L.; LOVATO, M.B. 2005. Genetic variation in remnant populations of *Dalbergia nigra* (Papilionoideae), an endangered tree from the brazilian Atlantic Forest. *Botany* **95**: 1171-1177.
- RODRIGUES, P.J.F.P.; NASCIMENTO, M. T. 2006. Fragmentação florestal: breves considerações sobre efeito de borda. *Rodriguésia* **57**: 63-74.

- ROUSSET, F. 1997. Genetic differentiation and estimation of gene flow from *F*-Statistics under isolation by distance. *Genetics* **145**:1219-1228.
- SANTIN, D.A. 1999. **A vegetação remanescente do município de Campinas (SP): mapeamento, caracterização fisionômica e florística, visando a conservação.** Tese de doutorado. Unicamp, Campinas.
- SANTOS, K. 2003. **Caracterização florística e estrutural de onze fragmentos de mata estacional semidecidual da área de proteção ambiental do município de Campinas – SP.** Tese de Doutorado. Unicamp, Campinas.
- SCARIOT, A. 1998. Conseqüências da fragmentação da floresta na comunidade de palmeiras na Amazônia Central. *Série Técnica IPEF* **12**: 71-86.
- SECCO, R.S. 2004. *Croton faroensis*, uma nova Euphorbiaceae da Amazônia brasileira. *Revista Brasileira de Botânica* **27**: 333-335.
- SEOANE, C.E.S.; KAGEYAMA, P.Y.; SEBBENN, A.M. 2000. Efeitos da fragmentação florestal na estrutura genética de populações de *Esenbeckia leiocarpa* Engl. (Guarantã). *Scientia Florestalis* **57**: 123-139.
- SHAW, C.R.; PRASAD, R. 1970. Starch gel electrophoresis of enzymes – a compilation of recipes. *Biochemical Genetics* **4**: 297-&.
- SLATKIN, M. 1987. Gene flow and the geographic structure of natural populations. *Science* **236**: 787-792.
- SORK, V.L.; SMOUSE, P.E. 2006. Genetic analysis of landscape connectivity in tree populations. *Landscape Ecology* **21**: 821-836.
- SOUZA, L.M.F.I KAGEYAMA, P.Y.; SEBBENN, A.M. 2004. Estrutura genética em populações fragmentadas de *Chorisia speciosa* St. Hil (Bombacaceae). *Scientia Florestalis* **75**: 70-79.
- SUN, M.; GANDERS, F.R. 1990. Outcrossing rates and allozyme variation in rayed and rayless morphs of *bidens-pilosa*. *Heredity* **64**: 139-143.
- SYSTAT 8.0. 1998. Statistics. **SYSTAT user's guide**. SPSS Inc., Chicago.
- TABARELLI, M.; MANTOVANI, V.; PERES, C.A. 1999. Effects of habitat fragmentation on plant guild structure in the montane Atlantic forest of southeastern Brazil. *Biological Conservation* **91**: 119-127.
- TABARELLI, M.; PINTO, L.P.; SILVA, J.M.; HIROTA, M.M.; BEDÊ, L.C. 2005. Desafios e oportunidades para a conservação da biodiversidade na Mata Atlântica brasileira. *Megadiversidade* **1**: 132-138.
- TONIATO, M.T.Z.; LEITÃO-FILHO, H.F.; RODRIGUES, R.R. 1998. Fitossociologia de um remanescente de floresta higrófila (mata de brejo) em Campinas, SP. *Revista Brasileira de Botânica* **21**: 197-210.

- VÁLIO, I.F.M.; SCARPA, F.M. 2001. Germination of seeds of tropical pioneer species under controlled and natural conditions. *Revista Brasileira de Botânica* **24**: 79-84.
- VANDER WALL, S.B.; LONGLAND, W.S. 2004. Diplochory: are two seed dispersers better than one? *TRENDS in Ecology and Evolution* **19**: 155-161.
- WEBSTER, G.L. 1994. Synopsis of the genera and suprageneric taxa of Euphorbiaceae. *Annals of Missouri Botanical Garden* **81**: 33-144.
- WEIR, B.S.; COCKERHAM, C.C. 1984. Estimating F-statistics for the analysis of population structure. *Evolution* **38**: 1358-1370.
- WHITE, G.M.; BOSHIER, D.H.; POWELL, W. 1999. Genetic variation within a fragmented population of *Swietenia humilis* Zucc. *Molecular Ecology* **8**: 1899-1909.
- WRIGHT, S. 1951. The genetical structure of populations. *Annals of Eugenics* **15**: 323-354.
- YAMAMOTO, L.F. 2001. **Florística e síndromes de polinização e dispersão em um fragmento de floresta estacional semidecídua montana, município de Pedreira, estado de São Paulo**. Tese de Mestrado. Unicamp, Campinas.
- YOUNG, A.G.; BOYLE, T.; BROWN, T. 1996. The population genetic consequences of habitat fragmentation for plants. *Tree* **11**: 413-418.
- YOUNG, A.G.; BROWN, H.D.; ZICH, F.A. 1999. Genetic structure of fragmented populations of the endangered grassland daisy *Rutidosia leptorrhynchoides*. *Conservation Biology* **13**: 256-265.
- ZHAO, A.; CHEN, X.; ZHANG, X.; ZHANG, D. 2006. Effects of fragmentation of evergreen broad-leaved forests on genetic diversity of *Ardisia crenata* var. *bicolor* (Myrsinaceae). *Biodiversity and Conservation* **15**: 1339-1351.