

Estrutura genética em populações fragmentadas de *Chorisia speciosa* St. Hil (Bombacaceae)

Genetic structure in fragmented populations of *Chorisia speciosa* St. Hil

Lina Maria Farina Inglez de Souza
Paulo Yoshio Kageyama
Alexandre Magno Sebbenn

RESUMO: Os objetivos deste estudo foram avaliar os efeitos da fragmentação sobre a estrutura e a diversidade genética de populações de *Chorisia speciosa*. Populações naturais de diferentes tamanhos, situadas em quatro fragmentos florestais na região de Bauru, SP, foram estudadas por oito locos isoenzimáticos. Detectou-se que a diversidade genética presente nas populações de *C. speciosa* é superior à média estimada para as espécies arbóreas. A heterozigosidade observada (\hat{H}_o), a diversidade gênica (\hat{H}_g), a porcentagem de locos polimórficos ($\hat{P}_{95\%}$), o número médio de alelos por locos (\hat{A}) e o número efetivo de alelos por loco (\hat{A}_e) foram de 0,252, 0,344, 75%, 2,38 e 1,97, respectivamente. As conseqüências genéticas da fragmentação observadas nas populações foram: a perda de alelos raros, a fixação de alelos e as oscilações aleatórias das freqüências alélicas. A diferenciação genética entre populações foi também alta ($\hat{\theta}_p=0,273$), refletindo que as populações estão isoladas nos fragmentos. O índice médio de fixação dentro das populações ($\hat{f}=0,140$) foi menor que o índice médio de fixação estimado para o conjunto das populações ($\hat{F}=0,375$), indicando desvios das proporções do Equilíbrio de Hardy-Weinberg, combinados com efeitos da deriva genética. Foi também detectada ausência de associação entre distâncias genéticas e distâncias geográficas, sugerindo que a divergência detectada entre populações não pode ser explicada pelo modelo de isolamento por distâncias.

PALAVRAS-CHAVE: Espécies arbóreas tropicais, Isoenzimas, Fragmentação florestal, Diversidade genética, Deriva genética

ABSTRACT: The aims of this study were to evaluate the fragmentation effects on genetic structure and diversity of *Chorisia speciosa* populations. Natural populations of different sizes, located in four fragments in Bauru region, São Paulo State, were studied by eight allozyme loci. The genetic diversity estimated in *C. speciosa* is larger than the average of tree species. The observed heterozygosity (\hat{H}_o), gene diversity (\hat{H}_g), proportion of polymorphic loci at 95% level ($\hat{P}_{95\%}$), average number of alleles per locus (\hat{A}) and effective number of alleles per locus (\hat{A}_e) were 0.252, 0.344, 75%, 2.38 and 1.97, respectively. Genetic consequences of the fragmentation were loss of rare alleles, alleles fixation and alleles frequency oscillation. Genetic differentiation among population was also high ($\hat{\theta}_p=0.273$), reflecting the isolation of the population in the fragments. The average fixation index within populations ($\hat{f}=0.140$) was lower than the one estimated for the total of populations ($\hat{F}=0.375$), indicating deviations from Hardy-Weinberg proportions, combined with genetic drift effects. No consistent association between genetic and geographic distances was detected, suggesting that genetic divergence among populations cannot be explained by the isolation distance model.

KEYWORDS: Tropical tree species, Allozyme, Forest fragmentation, Genetic diversity, Genetic drift

INTRODUÇÃO

A destruição de habitats e a conseqüente fragmentação de populações naturais podem acarretar uma limitação evolutiva para as espécies que os compõem, devido à perda de variabilidade genética e a conseqüente redução na capacidade de adaptação às mudanças ambientais (Barret e Kohn, 1991). A fragmentação de habitats pode levar à perda de variação genética por duas vias: i) a redução do tamanho populacional cria gargalos genéticos, dado que os indivíduos remanescentes contêm apenas uma pequena amostra do conjunto gênico original e; ii) como conseqüência, a pequena população remanescente, caso permaneça isolada por muitas gerações, terá contínua perda de alelos devido à deriva genética. O gargalo contribui para a perda de alelos, especialmente dos raros e isto é mais efetivo do que a perda de heterozigosidade (Barret e Kohn, 1991; Charlesworth e Charlesworth, 1987). A redução na heterozigosidade média por loco não depende apenas do tamanho do gargalo, mas também da taxa de cruzamento e crescimento da população (Nei, 1975). Caso esta cresça rapidamente, a redução da heterozigosidade é mínima, mesmo que o número de fundadores seja pequeno. Em contraste, o número médio de alelos por loco é profundamente afetado pelo tamanho do gargalo.

As florestas do Estado de São Paulo foram intensamente exploradas no século passado, visando à abertura de campos para o cultivo, principalmente, de cana-de-açúcar e café, provocando a redução de mais de 90% da área de florestas naturais do Estado (Victor, 1975). As florestas remanescentes concentram-se, parte em poucos maciços (>50.000 ha) e parte em pequenos fragmentos (<100 ha). Nesses, acredita-se que o processo de fragmentação tenha reduzido a diversidade genética de inúmeras populações de espécies arbóreas. Dentre essas espécies, tem-se a *Chorisia speciosa* St. Hil. (Bombacaceae), que apresenta ampla distribuição geográfica, ocorrendo entre as latitudes 12°S (Bahia) a 30°S (Rio Grande do Sul) e habitando principalmente as Florestas Mesófilas Semidecíduas. A espécie ocorre também em outros países como Argentina e Pa-

raguai (Carvalho, 1994). Seu sistema de reprodução é misto, com predominância de cruzamentos (Souza et al., 2003), a dispersão de sementes é feita pelo vento e a polinização por animais (Lorenzi, 1992; Carvalho, 1994). Por não ter grande valor comercial, apenas uso ornamental, sua extração não é comum e, por isso, ocorre mesmo em pequenos fragmentos florestais. Como a espécie não foi objeto de exploração direta, possivelmente os efeitos sofridos por suas populações sejam totalmente aleatórios, tornando-a um modelo adequado para o estudo dos efeitos da deriva genética, causada pela fragmentação, em populações naturais de espécies arbóreas.

Os objetivos deste trabalho foram estudar os efeitos do gargalo genético, causado pelo processo de fragmentação, na diversidade e estrutura genética de populações naturais de *C. speciosa*.

MATERIAL E MÉTODOS

Locais de estudo

Este estudo foi desenvolvido na região de Bauru, SP, localizada nas coordenadas de 22°19'S e 49°04'W. A vegetação da região é caracterizada como de Floresta Mesófila Semidecídua. Foram estudados quatro fragmentos, denominados de: "Reserva", na Estação Ecológica de Bauru, do Instituto Florestal de São Paulo, com área de 287,28 ha; "Shangrilá" com 50 ha; "Santa Terezinha" com 25 ha; "Laranja" com 23 ha (Figura 1). Na Reserva foram identificados 92 indivíduos, sendo 53 amostrados. Nos outros fragmentos, devido ao reduzido número de indivíduos, todas as árvores encontradas foram amostradas (senso): Fazenda Shangrilá (Shangrilá): 10 árvores, sendo três jovens e sete adultos; Fazenda Laranja Azeda (Laranja): 12 árvores, sendo cinco jovens e sete adultos; Fazenda Santa Terezinha (Santa): 15 árvores, sendo cinco jovens e 10 adultos. Os adultos nos fragmentos pequenos tinham DAP (diâmetro a altura do peito) variando entre 38 cm a 120 cm e os indivíduos jovens tiveram DAP, variando de 10 cm a 28cm e a altura média de 2 m.

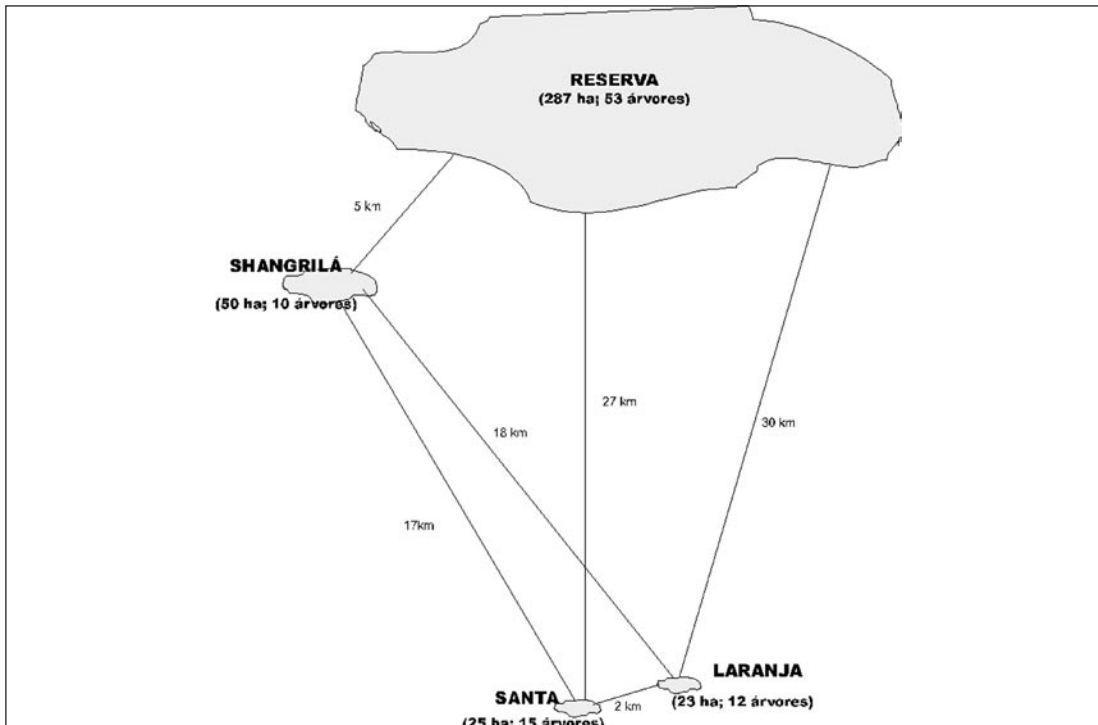


Figura 1

Esquema dos fragmentos, com suas respectivas áreas, distâncias entre fragmentos e número de indivíduos amostrado. (Picture of fragments with it areas, distance between fragments and sample size)

Eletroforese de isoenzimas

A partir de tecidos foliares, foram extraídas seis enzimas, absorvidas em papel de filtro e inseridas em gel de amido (12,5%) para eletroforese. O tampão de extração utilizado consistiu em (para 100 ml de volume): 0,60g fosfato de sódio bibásico pH 7,5 (0,034M); 7 g de sacarose; 2,56g de PVP-40 (2,56); 50mg de DTT (3mM); 100mg de DIECA (5,8mM) e 0,2 ml de 2-mercaptoethanol (0,2%). A maceração foi feita com nitrogênio líquido. O tampão de cuba e gel utilizado foi Citrato de Morfolina, pH 6,1 (Clayton e Tretiak, 1972). As enzimas utilizadas foram: leucina aminopeptidase (LAP); shiquimato desidrogenase (SKDH); malato desidrogenase (MDH); peroxidase (PER); fosfoglucoase isomerase (PGI); fosfoglucomutase (PGM). Os procedimentos eletroforéticos completos estão descritos em Souza (1997) e a receita das isoenzimas é a mesma apresentada por Alfenas (1998). As enzimas revelaram oito locos, sendo dois monomórficos e sete polimórficos.

Análise estatística

As freqüências alélicas e os índices de diversidade genética como heterozigidade observada ($\hat{H}_o = 1 - P_{ii}$, em que, P_{ii} é a freqüência de genótipos homocigotos), diversidade gênica esperada não viesada em equilíbrio de Hardy-Weinberg, $\hat{H}_e = 2n/(2n-1)(1 - \sum p_i^2)$ (Nei, 1978), número médio de alelos por loco (\hat{A}) e a porcentagem de locos polimórficos a 95% de probabilidade ($\hat{P}_{95\%}$) foram estimados utilizando o programa BIOSYS1 (Swofford e Selander, 1989). O índice de fixação não viesado (\hat{F}) foi estimado de acordo com Weir (1996):

$$\hat{F} = \frac{(\hat{H}_e - \hat{H}_o) + \frac{2}{2n} \hat{H}_o}{\hat{H}_e - \frac{1}{2n} \hat{H}_o}$$

em que, n é o tamanho amostral. Para verificar se o valor de \hat{F} médio era estatisticamente diferente de zero, utilizou-se o método de reamostragem bootstrap, com auxílio do programa GDA

(Lewis e Zaykin, 1999). O número efetivo de alelos por locos foi calculado por:

$$\hat{A}_e = \left(\sum_{i=1}^l p_i^2 \right)^{-1},$$

em que, l é o número de locos; p_i é a frequência do i -ésimo alelo na população. O tamanho efetivo de endogamia de cada população foi estimado com base em Li (1976) por:

$$\hat{N}_e = \frac{n}{1 + \hat{F}},$$

em que, n é o tamanho amostral e \hat{F} é o índice de fixação.

A divergência genética entre populações ($\hat{\theta}_p$), o índice de fixação para a média das populações (\hat{f}) e o índice de fixação total das populações (\hat{F}) foram estimados pela análise da variância nas frequências alélicas, segundo Weir (1996), utilizando o programa GDA de Lewis e Zaykin (1999). Este programa foi também utilizado para verificar se os valores médios do índice \hat{F} eram estatisticamente diferentes de zero, a partir de reamostragem boodstrap. O fluxo gênico aparente (\hat{N}_m) entre populações foi estimado de forma indireta, segundo o modelo de ilhas, com base em Crow e Aoki (1984), o qual corrige a estimativa para pequeno número de populações:

$$\hat{N}_m = \left(\frac{1}{4\alpha} \right) \left(\frac{1}{\hat{F}_{ST}} - 1 \right),$$

sendo, \hat{N}_m o número de migrantes por geração, \hat{F}_{ST} a divergência genética entre populações e α ($\alpha = [\alpha/(\alpha-1)]^2$) a correção para o número finito de populações (a). Substituiu-se o índice \hat{F}_{ST} por $\hat{\theta}_p$ conforme sugerem Cockerham e Weir (1993), para uma estimativa de fluxo gênico não viesada.

A distância entre pares de populações foi medida pela distância genética não viesada (\hat{D}) de Nei (1978). O cálculo de \hat{D} foi obtido a partir do programa BIOSYS1 (Swofford e Selander, 1989). As medidas de distância genética foram utilizadas para a construção do dendrograma, usando o método de agrupamento UPGMA (*Unweighted*

pair-group method using an arithmetic average). A matriz de distância genética foi comparada à matriz de distância geográfica pelo teste de Mantel (Manly, 1997) a fim de se verificar a existência de associação entre essas. Os valores da distância geográfica foram transformados em \log_{10} , visando maior proximidade da distribuição normal. Os resultados foram plotados em forma de gráfico de dispersão. O teste de Mantel foi realizado através do programa TFGA (Miller, 1997), utilizando-se 500 permutações aleatórias.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Diversidade genética

C. speciosa apresentou altos níveis de diversidade genética (Tabela 2), quando comparada à média das espécies arbóreas tropicais. A diversidade gênica ($\hat{H}_e = 0,344$), bem como os índices, número médio de alelos por loco ($\hat{A} = 2,38$) e porcentagem de locos polimórficos ($\hat{p}_{95\%} = 75\%$) estimados para o conjunto das população, foram maiores que os valores estimados por Hamrick e Godt (1990) para a média de 110 espécies arbóreas, 0,177, 2,19 e 64,7%, respectivamente. Em espécies arbóreas de vida longa, sistema misto de reprodução, polinizadas por animais (zoofilia e entomofilia), dispersão de sementes pelo vento (anemocoria) e de ampla distribuição geográfica, como *C. speciosa*, espera-se que apresentem altos níveis de diversidade genética (Hamrick e Godt, 1990).

Efeito da fragmentação nas frequências alélicas

Como consequência aparente da fragmentação foram observadas perdas e fixação de alelos nas populações (Tabela 1). Por exemplo, o alelo 3 no loco Mdh-I só foi observado no maior fragmento (Reserva) e o alelo 2 no loco Per-I estava fixado no fragmento Santa. Por outro lado, o alelo 3 no loco Skdh-I estava ausente no fragmento Reserva e Santa e apresentava frequência comum (> 10%) nos outros dois fragmentos. Também foram observadas flutuações nas frequências alélicas, tanto para alelos raros quanto para os comuns. Por exemplo: o alelo 4 do loco Pgi-I é

Tabela 1

Freqüências alélicas e índices de diversidade genética em populações de *C. speciosa*.
(Allele frequencies and genetic diversity index in *C. speciosa* populations)

Loco	Alelos	Reserva	Shangrilá	Laranja	Santa	Conjunto
Pgi-1	1	0,490	0,250	0,625	0,500	0,482
	2	0,281	0,350	0,042	0,033	0,212
	3	0,156	0,100	0,125	0,067	0,129
	4	0,073	0,300	0,208	0,400	0,176
Pgm-1	1	0,837	0,550	0,792	0,800	0,792
	2	0,096	0,200	0,167	0,133	0,124
	3	0,067	0,250	0,042	0,067	0,084
Mdh-1	1	0,872	0,800	0,750	0,867	0,845
	2	0,117	0,200	0,250	0,133	0,149
	3	0,011	0,000	0,000	0,000	0,006
Mdh-2	1	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000
Mdh-3	1	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000
Per-1	1	0,438	0,800	0,333	1,000	0,558
	2	0,563	0,200	0,667	0,000	0,442
Per-2	1	0,702	0,900	0,778	0,367	0,672
	2	0,298	0,100	0,222	0,633	0,328
Skdh-1	1	0,854	0,050	0,042	0,615	0,578
	2	0,146	0,800	0,833	0,385	0,383
	3	0,000	0,150	0,125	0,000	0,039

Tabela 2

Estimativas de parâmetros de diversidade e estrutura genética em populações de *C. speciosa*.
(Estimates of the parameters of diversity and genetic structure in *C. speciosa* populations)

Parâmetros	Reserva	Shangrilá	Laranja	Santa	Conjunto
n	53	10	12	15	90
\hat{H}_o	0,250	0,263	0,306	0,203	0,252
\hat{H}_e	0,293	0,324	0,307	0,271	0,344
$\hat{P}_{95\%}$	75	75	75	62,5	75
\hat{A}	2,3	2,3	2,3	2,0	2,38
\hat{A}_e	1,67	1,94	1,67	1,66	1,97
n_a	18	18	18	16	19
\hat{N}_e	47,1	8,3	11,9	11,9	72,6
\hat{N}_e/n	0,89	0,83	0,99	0,79	0,81
Índice médio de fixação dentro de populações - \hat{f}					0,140*
Índice de fixação total das populações - \hat{F}					0,375**
Divergência genética entre populações - $\hat{\theta}_p$					0,273**
Fluxo gênico entre populações - \hat{N}_m					0,370

\hat{H}_o , heterozigidade média observada; \hat{H}_e , diversidade média esperada; $\hat{P}_{95\%}$, porcentagem de locos polimórficos a 95%; \hat{A} , número médio de alelos por loco; \hat{A}_e , número efetivo de alelos; n_a , número total de alelos; n , número médio de indivíduos amostrados; \hat{N}_e , tamanho efetivo de endogamia; **: $P < 1\%$; *: $P < 5\%$.

raro na Reserva (0,073) e freqüente nos outros três fragmentos (Santa=0,400; Laranja=0,208; Shangrilá=0,300); o alelo 3 do loco Pgm-1 é raro nas populações da Reserva, Santa e Laranja (respectivamente 0,067; 0,067 e 0,042) e tem freqüência alta na população de Shangrilá (0,250); o alelo 1 do loco Skdh-1 é freqüente nas populações Reserva e Santa (respectivamente 0,854 e 0,615) e muito raro nas populações Laranja e Shangrilá (0,042 e 0,050). Estas oscilações nas freqüências alélicas entre populações são inerentes às populações que estão sob efeito da deriva genética (populações pequenas). A deriva é causada pela redução no tamanho populacional, levando à flutuação aleatória das freqüências alélicas e, conseqüentemente, à perda e fixação de alelos. A intensidade dos seus efeitos é inversamente proporcional ao tamanho populacional (Crow e Kimura, 1970). As maiores probabilidades de perda são associadas aos alelos raros ou de baixa freqüência, enquanto que os alelos comuns possuem maior probabilidade de serem fixados. Aqui, os resultados sugerem a ocorrência de deriva genética em conseqüência de uma redução populacional drástica.

Efeito da fragmentação nos índices de diversidade

As populações de *C. speciosa*, apesar de pequenas e fragmentadas, ainda conservam altos índices de diversidade genética, embora estes índices variem entre as populações (Tabela 2). As maiores variações foram observadas para a heterozigosidade observada e diversidade gênica. A heterozigosidade observada (\hat{H}_o) variou de 0,203 (Santa) à 0,306 (Laranja) e a diversidade gênica esperada em Equilíbrio de Hardy-Weinberg (\hat{H}_e) variou de 0,271 (Santa) à 0,344 (Shangrilá). As diferenças entre os menores e maiores valores dos índices \hat{H}_o e \hat{H}_e entre populações foram de 33% e 21,2%, respectivamente.

Os demais índices também variaram entre populações, mas a variação foi menor do que as observadas na heterozigosidade observada e diversidade gênica. A porcentagem de locos polimórficos ($\hat{P}_{95\%}$) e o número médio de alelos por locos (\hat{A}) foram, respectivamente 62,5% e 2,0 na população Santa e 75% e 2,3 nas demais popu-

lações. O número efetivo de alelos por loco (\hat{A}) variou de 1,66 (Santa) a 1,94 (Shangrilá). O menor número de alelos (n_e) foi observado na população Santa (16 alelos) e as demais apresentaram 18 alelos, sendo que o conjunto das populações apresentou 19 alelos. Verifica-se assim, que não existe uma clara associação entre a magnitude dos índices e o tamanho das populações. A maior população (Reserva) não apresentou os maiores valores para \hat{H}_o , \hat{H}_e e \hat{A} , e a menor população, Shangrilá, também não apresentou os menores valores para \hat{H}_o , \hat{H}_e e \hat{A} . Estes resultados diferem do obtido por Hall et al. (1996), que examinaram a diversidade genética de *Pithecellobium elegans* em oito populações fragmentadas na Costa Rica e observaram menores níveis de heterozigosidade nas populações menores. Alterações na heterozigosidade são percebidas mais facilmente quando se dá um número maior de gerações após a fragmentação (Futuyma, 1992). Portanto, os altos níveis de diversidade genética observados nos fragmentos e a ausência de grandes variações entre populações para estes índices devem-se, possivelmente, ao limitado número de gerações transcorridas após a fragmentação e à ocorrência de fluxo gênico de outros fragmentos próximos. A fragmentação das florestas da região de Bauru foi mais intensa nos últimos 100 anos. Portanto, nestas populações, podem ter transcorrido, no máximo, duas a quatro gerações pós-fragmentação, o que poderia explicar as altas heterozigosidades. Quando ocorre redução no tamanho populacional, mesmo que o número de alelos seja reduzido, o grau de heterozigosidade e a diversidade genética pode permanecer tão alto quanto na população original. Isto acontece porque, na maioria das vezes, os alelos perdidos por deriva são os raros, os quais contribuem pouco para o nível de heterozigosidade (Nei, 1975).

As poucas evidências de perda de heterozigosidade também podem estar relacionadas ao método de amostragem realizada, representando uma mescla de árvores originadas antes (adultos) e depois da fragmentação (jovens), ou seja, uma parte amostra a variação que já existia e sofreu um efeito de gargalo e, outra, a diversidade resultante do efeito gargalo. A amostragem de progênies dos fragmentos pode auxiliar o entendimen-

to do comportamento das heterozigosidades em função do processo de fragmentação. Em concordância, Souza (1997), estudando 28 progênies de polinização aberta de *C. speciosa* no fragmento Reserva, observou redução nas heterozigosidades entre a fase adulta e a fase de progênies, na ordem de 17% para \hat{H}_o , 6% para \hat{H}_e e aumento de 77% no índice \hat{F} , evidenciando a existência de deriva genética.

Tamanho populacional

O tamanho efetivo (\hat{N}_e) estimado para as populações é baixo (Tabela 2). O maior fragmento, Reserva, apresentou o maior tamanho efetivo 81,9 ($\hat{N}_{e(pop)} = 92 \times 0,89$), valor este suficiente para conservar a variação genética de uma população no curto prazo (Frankel e Soulé, 1981). A perda esperada da heterozigosidade atual (0,293) por deriva genética, para locos com dois alelos em populações de gerações discretas, é menor do que 6%, para o prazo de 10 gerações [$\hat{H}_{e(10)} = (1 - 1/2 \hat{N}_e)^t \hat{H}_{e(0)} = 0,275$]. Nos fragmentos menores, esperam-se perdas mais drásticas nas heterozigosidades. As heterozigosidades esperadas após 10 gerações de deriva genética nos fragmentos Santa, Laranja e Shangrilá são de 0,176, 0,200 e 0,174, respectivamente, o que representa uma redução média de 34,9% da heterozigosidade atual, para as duas primeiras populações e 46,3% para a última. A sobreposição de gerações e o cruzamento entre indivíduos aparentados dentro das populações podem acelerar a redução na heterozigosidade (Yeh, 2000). Para contrapor estes efeitos, seria necessário aumentar o tamanho das populações para pelo menos 100 a 150 indivíduos, considerando aspectos como sobreposição de gerações e sistema misto de reprodução. Um fluxo intenso de genes entre populações poderia, igualmente, barrar os efeitos da deriva. Contudo, o fluxo gênico estimado entre as populações foi baixo ($< 1,0$), sugerindo que este é insuficiente para contrapor os efeitos da deriva genética.

Estrutura genética das populações

A estimativa do índice de fixação médio dentro das populações (\hat{f}) e para o conjunto das populações (\hat{F}) foi alta e significativamente diferente de zero (0,140 e 0,375, respectivamente),

indicando altos níveis de endogamia nos fragmentos (Tabela 2) e reforçando a hipótese de deriva genética. O índice \hat{f} é função dos efeitos dos desvios de cruzamentos aleatórios dentro das populações e o índice \hat{F} dos efeitos combinados de desvios de cruzamentos aleatório no conjunto das populações, e da deriva genética causada pela subdivisão da espécie em populações. Qualquer população de tamanho finito torna-se mais endogâmica com o tempo, pelo aumento do parentesco com o passar das gerações, reduzindo a proporção de heterozigotos. O cruzamento entre indivíduos aparentados não altera as frequências alélicas, mas aumenta a frequência dos genótipos homozigotos. Quando a perda da variabilidade genética é meramente consequência da redução do tamanho populacional, a população permanece em EHW (Futuyma, 1992).

A divergência genética entre populações ($\hat{\theta}_p$) foi alta e significativa, 0,273, segundo classificação de Yeh (2000). Da diversidade genética total, foi detectado que 27,3% encontra-se entre populações e 72,7% dentro das populações. Em geral, em espécies arbóreas, devido ao predomínio de cruzamentos e os mecanismos de dispersão de pólen e sementes, são observados baixos níveis de diversidade genética entre populações ($\hat{\theta}_p < 0,05$). No presente caso, a alta divergência genética detectada deve estar associada ao processo de deriva genética. Em concordância, Hall et al. (1996) examinaram a distribuição da diversidade genética de *Pithecellobium elegans* em oito populações fragmentadas da Reserva de La Selva na Costa Rica e observaram, igualmente, alta divergência genética entre populações ($\hat{F}_{ST} = 0,101$), concluindo que as populações pequenas e isoladas não persistirão com o tempo. Por outro lado, Foré et al. (1992) estudaram a estrutura genética após a fragmentação em 15 populações de *Acer saccharum* e relacionaram o isolamento dos fragmentos com níveis de diversidade genética. Os autores observaram que a divergência genética entre fragmentos foi baixa ($\hat{G}_{ST} = 0,03$), que o fluxo gênico foi maior após a fragmentação, devido à maior incidência de vento, neste caso, e que a fragmentação não acarretou isolamento das populações. Ainda, Young et al (1993) investigaram o efeito da fragmentação na diversidade genética de *Acer saccharum*, com-

parando oito populações em florestas contínuas com oito populações em áreas fragmentadas no Canadá. Ao contrário das previsões teóricas, os autores não observaram reduções na divergência genética entre e dentro de populações. A divergência genética entre populações (\hat{F}_{ST}) foi 0,017 para fragmentos e 0,019 para populações contínuas e o efeito fundador resultou na perda de seis alelos nos fragmentos. O presente trabalho discorda dos resultados de Foré et al. (1992) e Young et al. (1993), mas corrobora com os de Hall et al. (1996), indicando que a fragmentação leva à deriva genética e ao aumento da divergência entre populações.

Distâncias genéticas

A menor distância genética (Nei, 1978) ocorreu entre as populações Laranja e Santa (4,9%) e a maior entre as populações Reserva e Shangrilá

(23,0%) (Tabela 3). O dendrograma das distâncias entre populações (Figura 2) formou dois grupos distintos, Reserva e Santa, e Shangrilá e Laranja, onde as populações próximas ficaram em diferentes grupos, sugerindo ausência de associação entre distância geográfica e distância genética. O primeiro nó, unindo os dois subgrupos foi suportado por 100% dos locos. O segundo e o terceiro nós foram suportados por 33% dos locos (2 em 6). O teste de Mantel revelou ausência de associação entre a matriz de distância genética de Nei (1978) e distância geográfica (Figura 3). O coeficiente de correlação (-0,443) entre as distâncias genéticas e as distâncias geográficas foi negativo e não significativo ($p=0,736$), demonstrando que a diferença nas frequências alélicas entre as populações não podem ser explicadas pela distância geográfica entre as populações, sendo a deriva genética a causa mais provável.

Tabela 3

Matriz de distância genética não viesada de Nei (1978) (diagonal superior) e distância geográfica (diagonal inferior) entre pares populações de *C. speciosa*. (Matrix of Nei (1978) genetic distance (upper diagonal) and geographic distance (lower diagonal) between pair of *C. speciosa* populations)

População	Reserva	Shangrilá	Laranja	Santa
Reserva	-	0,230	0,083	0,174
Shangrilá	5 km	-	0,103	0,049
Laranja	30 km	18 km	-	0,140
Santa	27 km	17 km	2 km	-

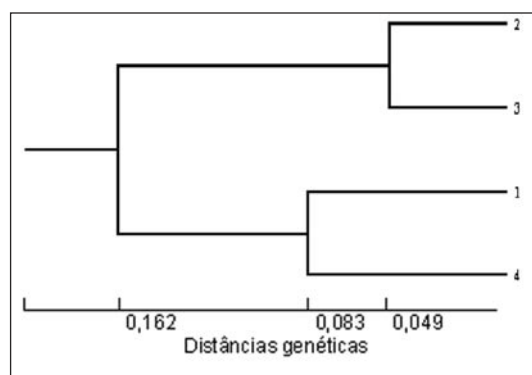


Figura 2
Dendrograma de distâncias genéticas não viesada de Nei (1978) entre quatro populações fragmentadas de *C. speciosa*. Em que, 1: Pop. Reserva; 2: Pop. Shangrilá; 3: Pop. Laranja; 4: Pop. Santa.

(Dendrogram of four *C. speciosa* fragmented populations based on Nei's (1978) unbiased genetic distance. Where, 1: Pop. Reserva; 2: Pop. Shangrilá; 3: Pop. Laranja; 4: Pop. Santa)

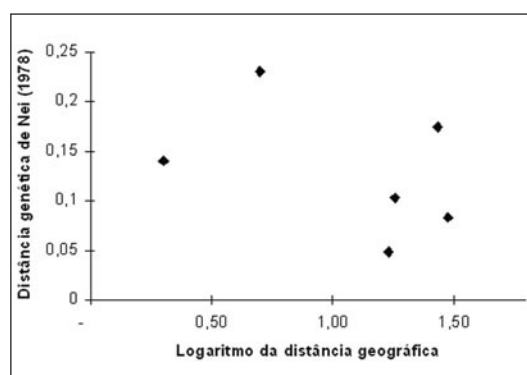


Figura 3
Relação entre distância genética não viesada de Nei (1978) e distância geográfica para populações de *C. speciosa*. O coeficiente de correlação de Mantel foi -0,443 ($p=0,736$).

(Relationship between Nei (1978) unbiased genetic distance and geographic distance for *C. speciosa* populations. The Mantel coefficient of correlation was -0.443 ($p=0.736$).

CONCLUSÕES

✓ A consequência genética da fragmentação ficou evidenciada pela potencial perda de alelos raros, fixação de alelos e oscilações aleatórias das frequências alélicas nas populações. Estes resultados e o alto nível de divergência genética encontrado entre as populações, sugerem a ocorrência de deriva genética devido à redução drástica no tamanho das populações;

✓ Os índices de diversidade genética (\hat{H}_o , \hat{H}_e , $\hat{p}_{95\%}$ e \hat{A}) não refletiram a perda de alelos raros. Estes índices não foram bons indicadores de perda de diversidade entre populações. Estas perdas ficaram evidentes a partir da avaliação direta das frequências alélicas e da medida de divergência genética entre populações;

✓ Os resultados observados não suportam a hipótese de associações entre distâncias genéticas e distâncias geográficas.

AUTORES

LINA MARIA FARINA INGLEZ DE SOUZA é Mestre em Ciências Florestais pela ESALQ/USP. Rua Carlos de Campos, 282 – Bairro dos Alemães – Piracicaba, SP – 13416-395

PAULO YOSHIO KAGEYAMA é Professor Titular do Departamento de Ciências Florestais da ESALQ/USP – Caixa Postal 9 – Piracicaba, SP – 13400-970 – E-mail: kageyama@esalq.usp.br

ALEXANDRE MAGNO SEBBENN é Doutor em Genética e Pesquisador do Instituto Florestal de São Paulo – Caixa Postal 1322 – São Paulo, SP – 01059-970 – E-mail: amsebbenn@bol.com.br

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALFENAS, S.A. **Eletroforese de isoenzimas e proteínas afins: fundamentos e aplicações em plantas e microrganismos**. Viçosa: UFV, 1998. 574p.

BARRET, S.C.H.; KOHN, J.R. Genetic and evolutionary consequences of small population size in plants: implications for conservation. In: FALK, D.A.; HOLSINGER, K.E., ed. **Genetics and conservation of rare plants**. Oxford: Oxford University Press, 1991. p.3-30

CARVALHO, P.E.R. **Espécies florestais brasileiras: recomendações silviculturais, potencialidades e uso da madeira**. Colombo: EMBRAPA/CNPQ, 1994. 640p.

CHARLESWORTH, D.; CHARLESWORTH, B. Inbreeding depression and its evolutionary consequences. **Annual review of ecology and systematics**, v.18, p.237-268, 1987.

CLAYTON, J.; TRETIAK, D. Amine-citrate buffers for pH control in starch gel electrophoresis. **Journal fisheries research board Canadian**, v.29, p.1169-1172, 1972.

COCKERHAM, C.C.; WEIR, B.S. Estimation of gene flow from F-statistics. **Evolution**, v.47, n.3, p.855-863, 1993.

CROW, J.F.; AOKI, K. Group selection for a polygenic behavioral trait: estimating the degree of population subdivision. **Proceedings of the National Academy of Science**, v.81, p.6073-6077, 1984.

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

FORÉ, S.A.; HICKEY, R.J.; VANKAT, J.L.; GUTTMAN, S.; SHAEFER, R. Genetic structure after forest fragmentation: a landscape ecology perspective on *Acer sacharum*. **Canadian journal of botany**, v.70, p.1659-1668, 1992.

FRANKEL, O.H.; SOULÉ, M.S. **Conservation and evolution**. Cambridge: Cambridge University Press, 1981. 327p.

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

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

HAMRICK J.L.; GODT, M.J.W. Allozyme diversity in plant species. In: BROWN, A.H.D.; CLEGG, M.T.; KAHLER, A.L.; WEIR, B.S., ed. **Plant population genetics, breeding, and genetic resources**. Sunderland: Sinauer, 1990. p.43-63.

LEWIS, P.O.; ZAYKIN, D. **GDA - Genetic data analysis: version 1.0(d12) for Windows**. Albuquerque: The University of New Mexico, 1999. 39p.

LI, C.C. **First course in population genetics**. Pacific Grove: The Boxwood Press, 1976. 631p.

LORENZI, H. **Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil**. Nova Odessa: Editora Plantarum, 1992. 352p.

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

MILLER, M. **Tools for populations genetic analyses (TFPGA) 1.3: a Windows program for analyses of allozyme and molecular population genetic data**. 1997. (Distribuído livremente pelo autor)

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

NEI, M. **Molecular population genetics and evolution**. Amsterdam: North-Holland Publishing Company, 1975. 288p.

- SOUZA, L.M. **Estrutura genética de populações naturais de *Chorisia speciosa* St Hil. em fragmentos florestais na região de Bauru, SP, Brasil.** Piracicaba, 1997. 84p. Tese (Mestrado). Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz. Universidade de São Paulo
- SOUZA, L.M.I.; SEBBENN, A.M.; KAGEYAMA, P.Y. Sistema de reprodução em população natural de *Chorisia speciosa* A. St.-Hil.. **Revista brasileira de botânica**, v.26, n.1, p.113-121, 2003.
- SWOFFORD, D.L.; SELANDER, R.B. BIOSYS I: a FORTRAN computer program for the analysis of allelic variation in population genetics and biochemical systematics. **Journal of heredity**, v.72, p.282-283, 1989.
- VICTOR, M. **A devastação florestal.** São Paulo: Sociedade Brasileira de Silvicultura, 1975. p.28-32,
- WEIR, B.S. **Genetic data analysis: 2- methods for discrete population genetic data.** Sunderland: Sinauer, 1996. 445 p.
- YEH, F. Populations genetics. In: YOUNG, A.; BOSHIER, D.; BOYLE, T., ed. **Forest conservation genetics: principles and practice.** Melbourne: CSIRO Publishing, 2000. 352p.
- YOUNG, A.G.; MERRIAN, H.G.; WARWICK, S.I. The effects of forest fragmentation on genetic variation in *Acer saccharum* Marsh. (sugar maple) population. **Heredity**, v.71, p.277-289, 1993