

Efeitos da fragmentação florestal na estrutura genética de populações de *Esenbeckia leiocarpa* Engl. (Guarantã)

Forest fragmentation effects in population genetic structure of *Esenbeckia leiocarpa* Engl. (Guarantã)

Carlos Eduardo Sícoli Seoane
Paulo Yoshio Kageyama
Alexandre Magno Sebbenn

RESUMO: Estudos sobre os efeitos da fragmentação florestal sobre a estrutura genética de determinadas espécies são importantes para o planejamento de estratégias de conservação genética, já que elas indicam o comportamento genético de outras espécies com características ecológicas semelhantes. *Esenbeckia leiocarpa* é uma espécie arbórea tropical autócórica e miofílita da família das Rutáceas que ocorre em uma distribuição agregada na floresta latifoliada semidecídua, com várias subpopulações constituindo uma população de um fragmento florestal. Tecidos foliares de indivíduos de duas subpopulações de um fragmento florestal de 2.178 hectares e de duas subpopulações de um fragmento de 76 hectares foram analisadas pela técnica de eletroforese de isoenzimas horizontal, em meio suporte de gel de amido. Os locos avaliados segregaram de um a quatro alelos: Pgm-1, Idh-1 e Mdh-2 foram monomórficos para ambos adultos e progênies; 6Pgdh-2, Skdh-1, Mdh-1, Mdh-3, Mdh-4, Pgi-2, Est-1 e Prx-1 foram polimórficos para as progênies e Mdh-1, Mdh-3, Pgi-2, Est-1 e Prx-1 foram polimórficos nos adultos. A heterozigosidade média observada (H_o) e esperada segundo expectativas do equilíbrio de Hardy-Weinberg (H_e), não foram significativamente diferentes entre si. Os valores \hat{f} e \hat{F} obtidos, sugerem que as populações se encontram em equilíbrio de Hardy-Weinberg. A divergência genética entre populações (θ_p) foi de 12,1% para os indivíduos adultos e 8,7% para as progênies, mostrando diferenças entre as populações. Igualmente, as frequências alélicas revelaram diferenças e alelos exclusivos entre as populações. Os níveis de fixação de alelos e o fluxo gênico foram maiores no menor fragmento, sugerindo maior homogeneidade entre as subpopulações. A análise hierárquica da distribuição da variação genética entre e dentro das populações e subpopulações mostrou que a maior parte da variabilidade genética da espécie encontra-se dentro das subpopulações. Estes resultados indicam que *E. leiocarpa* apresenta menor variabilidade genética em fragmentos menores em relação a fragmentos maiores, sendo necessário, para a sua conservação genética *in situ*, áreas naturais que abriguem um número grande de subpopulações. Estes resultados confirmam que grandes áreas naturais são necessárias para a conservação genética *in situ* da diversidade arbórea tropical.

PALAVRAS-CHAVE: Fragmentos, *Esenbeckia leiocarpa*, Estrutura genética, Variabilidade genética, Conservação genética *in situ*

ABSTRACT: Studies of forest fragmentation effects upon the genetic structure of selected species are important for planning genetic conservation strategies. They can indicate the genetic behavior of species with similar ecological characteristics. *Esenbeckia leiocarpa* is a myophilic and autochoric Rutaceae tropical tree species occurring in an aggregated distribution in Tropical Moist Seasonal Brazilian Atlantic Forest, with several subpopulations constituting a forest fragment

population. Leaf tissues of individuals from two subpopulation from a 2178 hectares forest fragment and two subpopulations from a 76 hectares forest fragment were analysed in aozymes horizontal electrophoresis in corn starch gel support. A_1 the loci showing from 1 to 4 alleles. The loci Pgm-1, Idh-1 and Mdh-2 were monomorphic. Skdh-1, 6Pgdh-2, Mdh-1, Mdh-3, Mdh-4, Est-1, Prx-1 and Pgi-2 loci were polymorphic. The average of observed heterozigosity (H_o) and expected heterozigosity (H_e) were not statistically significant. The f and F values, suggested that the populations are in Hardy-Weinberg equilibrium. The genetic diversity among populations (θ_p) was 12.1% for adult individuals and 8.7% for the progenies showing differences among populations. The allele frequencies of subpopulations from the larger fragment showed greater differences than those from the smaller fragment. Allele fixation levels were more homogenous in the smaller fragment subpopulation. The gene flow was the high among subpopulations in Ibicatu fragment. Hierarquical analysis of genetic distribution within and among populations and subpopulations showed that the major part of genetic variability of species is maintained within subpopulations. These results suggest that this species had modified its natural genetic structure in small forest fragments, showing the necessity of maintaining natural areas for *in situ* genetic conservation of the species and confirming the necessity of maintaining large natural areas for conservation of tropical tree genetic diversity.

KEYWORDS: Forest fragmentation, *Esenbeckia leiocarpa*, Genetic structure, Genetic variability, *In situ* genetic conservation

INTRODUÇÃO

Estudos da variabilidade genética entre e dentro de populações naturais buscam descrever os níveis e a distribuição da variabilidade genética entre e dentro de populações. Esta distribuição é decorrente do sistema reprodutivo, da forma de cruzamento e da síndrome de dispersão de pólen e sementes. Tais fatores permitem explicar o comportamento dos alelos nas populações (Wright, 1943).

Ocorrendo paralelamente à expansão das fronteiras antrópicas, a fragmentação florestal é um processo de formação de mosaicos de habitats, que incluem fragmentos de diferentes tamanhos, áreas agrícolas e urbanas e que apresentam uma probabilidade reduzida de dispersão e estabelecimento de indivíduos adultos e juvenis da fauna (Santos, 1995), fauna esta, responsável pela maior parte do fluxo gênico entre populações de plantas. Assim, uma das conseqüências da fragmentação é que as populações remanescentes sofrem alterações nos padrões de troca de genes e têm sua variabilidade e estrutura genética alterada (Ballal et al., 1994). Por exemplo, Hall et al. (1996) encontraram na espécie arbórea *Pithecellobium*

elegans que a variabilidade genética foi menor em populações de menor tamanho e que se localizam mais distantes da floresta contínua.

A fragmentação florestal, além de isolar reprodutivamente indivíduos que contêm apenas uma pequena amostra do conjunto gênico da população original (gargalo genético), pode causar contínua perda de alelos devido à deriva genética, caso a população remanescente permaneça isolada por várias gerações (Souza, 1997). As predições teóricas indicam que quando se tem poucas gerações, os resultados observados se devem ao efeito de gargalo genético (Young et al., 1996) e que quanto menor for o remanescente populacional, maior será a perda da variabilidade genética.

A curto prazo, a perda de variabilidade genética pode reduzir a aptidão individual da espécie, inviabilizando o remanescente populacional. A longo prazo, a redução da riqueza alélica deve limitar a habilidade das espécies a responderem às mudanças devidas à ação de forças seletivas (Ellstrand e Ellan, 1993).

Portanto, o entendimento da estrutura genética das espécies existentes nos fragmentos florestais remanescentes é fundamental para a escolha correta das estratégias de manejo e conservação a serem implantadas (Kageyama, 1987). Buscando detectar efeitos da fragmentação sobre a genética de populações da *Esenbeckia leiocarpa*, estudaram-se dois fragmentos florestais de distintos tamanhos onde a ocorrência da espécie é natural.

E. leiocarpa, ou Guarantã, é espécie da família Rutaceae, semidecídua e esciófita, característica da floresta latifoliada primária, onde apresenta distribuição espacial agregada, na forma de reboleiras, consideradas neste trabalho como uma subpopulação da espécie, que podem se estender por centenas de metros. A polinização é miofilica, com fecundação cruzada obrigatória (Crestana et al., 1982). O fruto é autocórico, podendo ser lançado até cinco metros de distância da planta mãe. As sementes são uma recompensa em potencial para dispersores.

Como a miofilia e a autocoria são pouco eficientes em termos de distância de dispersão, os indivíduos dentro das subpopulações devem apresentar um maior grau de parentesco entre si do que indivíduos entre subpopulações, ou seja, deve haver estrutura genética dentro das subpopulações. Assim sendo, importante fração da variabilidade genética das populações seria dada pelo grande número de subpopulações que constituem a população em ambientes naturais ou em fragmentos maiores. Contudo, em fragmentos de tamanho reduzido, o fluxo gênico ficará restrito entre as subpopulações restantes, o que poderá acarretar em erosão genética por efeito de deriva genética, a longo prazo.

Desta forma, o estudo do comportamento genético de populações de *E. leiocarpa*, objetivou quantificar a variabilidade genética intra e interpopulacional e determinar possíveis efeitos da fragmentação sobre a estrutura genética da espécie, visando fornecer subsídios para adoção de diretrizes de manejo e conservação.

MATERIAL E MÉTODOS

A Floresta Mesófila Semidecídua ocupa trechos dos Estados de Minas Gerais, São Paulo, Paraná, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul e Goiás (Leitão-Filho, 1987), sendo atualmente composta de fragmentos florestais pequenos, isolados e não sustentáveis (Viana, 1995). O estudo foi realizado em dois fragmentos de Floresta Mesófila Semidecídua, Caetetus e Ibicatu, onde se observa a ocorrência natural de *E. leiocarpa*. Em cada fragmento foi amostrada uma população composta de duas subpopulações. A Estação Ecológica de Caetetus, ocupa uma área de 2.178 hectares e localiza-se entre as Latitudes 22°22' e 22°27' S e Longitudes de 49°40' a 49°43' W, entre os Municípios de Gália e Alvinlândia, SP. A Esta-

ção Ecológica de Ibicatu, ocupa uma área de 76 hectares, localiza-se entre as Latitudes 22°47' e 22°48' S e Longitudes de 47°49' a 47°50' W, no Município de Piracicaba, SP. A distância entre os dois fragmentos é de aproximadamente 250 km. Em Caetetus a espécie encontra-se distribuída em reboleiras compostas por até 100 plantas, denominadas de subpopulações. A distância entre as subpopulações chega a 4 km, sendo de 2 km a distância entre as duas subpopulações amostradas. Em Ibicatu a distância entre as subpopulações chega a 0,8 km, sendo que a distância entre as subpopulações amostradas era de 0,4 km.

Eletoforese de isoenzimas

A eletroforese de isoenzimas foi realizada com tecido foliar de plantas adultas e plântulas de *E. leiocarpa*, segundo a metodologia proposta por Kephart (1990) e Alfenas et al. (1991). Na extração das enzimas empregou-se a solução de extração número 1 de Alfenas et al. (1991), modificada pela ausência de 2-Mercaptoetanol. A eletroforese foi a horizontal, conduzida em meio suporte de gel de amido de milho (penetrose 30) a 13%.

Em Caetetus foram genotipadas 26 plantas adultas da SPop1 (subpopulação 1) e 19 na SPop2 (subpopulação 2) e em Ibicatu, 23 plantas na SPop1 e 20 na SPop2. A amostragem das plantas adultas era feita tendo como referência um indivíduo situado no centro da subpopulação, sendo a partir deste, genotipadas as plantas mais próximas. Desta forma, é possível detectar-se a presença de estruturação espacial dentro das subpopulações. Também coletaram-se sementes aleatoriamente de 10 plantas na SPop2 de Caetetus e 10 na SPop2 de Ibicatu. As sementes foram germinadas e 20 plântulas genotipadas por árvore matriz (Caetetus = 200 plântulas; Ibicatu = 200 plântulas).

Análise estatística

As freqüências alélicas foram estimadas para cada subpopulação e populações de adultos e progênies. O teste de aderência ao equilíbrio de Hardy-Weinberg (EHW) foi realizado através do teste exato de Fischer. Em locos que rejeitaram a hipótese de EHW e apresentavam três ou mais alelos, realizou-se o teste de equilíbrio de endogamia de Wright (EEW). O teste de EHW não distingue se os desvios de seus pressupostos são devido ao sistema reprodutivo ou a algum fator evolutivo, sendo que o teste EEW permite discriminar qual desses fatores

está atuando para causar tais desvios (Sebbenn, 1997).

A distribuição da variação genética entre e dentro das populações de plantas adultas e de progênies foi caracterizada pela análise de variância hierárquica das freqüências alélicas (Weir, 1996). A análise de variância para plantas adultas permitiu obter o nível de fixação de alelos para a média das populações (\hat{f}), total das populações (\hat{F}), o coeficiente de coancestralidade ou parentesco entre indivíduos dentro de subpopulações ($\hat{\theta}_{SP}$) e o coeficiente de coancestralidade entre indivíduos dentro de populações ($\hat{\theta}_P$). A análise das progênies forneceu adicionalmente o coeficiente de coancestralidade entre plantas dentro de famílias ($\hat{\theta}_F$), o que corresponde a 1/8, em famílias de meios irmãos. O \hat{f} é uma medida de desvios das freqüências genotípicas observadas dentro das populações das esperadas pelo EHW, ou de cruzamentos aleatórios e o \hat{F} é uma medida de desvios das freqüências genotípicas observadas para o conjunto das populações, das esperadas pelo EHW. O $\hat{\theta}_{SP}$ dá uma medida de diferenciação entre subpopulações dentro de populações, o $\hat{\theta}_F$ entre famílias dentro de populações e o $\hat{\theta}_P$ entre populações. A significância dos valores de \hat{f} , \hat{F} , $\hat{\theta}_{SP}$, $\hat{\theta}_F$ e $\hat{\theta}_P$, em nível de média de locos foram obtidas pelo método de aleatorização "bootstrap" sobre os locos.

O fluxo gênico (\hat{Nm}) foi estimado entre as subpopulações dentro dos fragmentos e entre os fragmentos, de forma indireta, segundo modelo de ilhas proposto por Crow e Aoki (1984), o qual corrige a análise para pequeno número de populações:

$$\hat{Nm} = \left(\frac{1}{4\alpha}\right) \left[\left(\frac{1}{\hat{F}_{ST}}\right) - 1 \right]$$

onde \hat{N}_m corresponde ao número de migrantes por geração, \hat{F}_{ST} a divergência genética entre populações e α a correção para o número de populações (ν), sendo:

$$\alpha = \left[\frac{n}{(n-1)} \right]^2$$

Neste estudo, o \hat{F}_{ST} foi substituído por $\hat{\theta}_{SP}$ e $\hat{\theta}_P$, conforme sugerem Cockerham e Weir (1993), para uma estimativa de fluxo gênico menos viesada. As estimativas do tamanho de vizinhança (\hat{N}_b), ou o número médio de indivíduos reprodutivos por área, foram realizadas baseadas no modelo de alondras de estrutura populacional (Slatkin e Barton, 1989): $\hat{N}_b = 2 \rho \hat{N}_m$. A área média de vizinhança (A) foi obtida conforme Boshier et al. (1995), baseando-se no número médio de indivíduos reprodutivos em cada população e subpopulações (\hat{N}_b), e no número médio de plantas por hectare (D), conforme:

$$\hat{A} = \hat{N}_b / D$$

A diversidade genética foi calculada a partir das estimativas das freqüências alélicas para cada subpopulações e população de adultos e progênies. As freqüências alélicas permitiram os cálculos dos índices de diversidade genética como: heterozigosidade média observada (H_o), heterozigosidade média esperada segundo expectativas do EHW (\hat{H}_e), porcentagem de locos polimórficos (P) (considerou-se como um loco polimórfico o loco em que a freqüência do alelo mais comum não ultrapassa-se 95%), número médio de alelos por loco (A) e índice de fixação (\hat{f}) de Wright (1965). Para verificar se os valores médios de \hat{f} , eram diferentes de zero, utilizou-se um método de reamostragem “bootstrap”, com 10.000 repetições sobre os locos, a um intervalo de confiança de 95% de probabilidade. O “bootstrap” foi obtido através do programa GDA de Lewis e Zaykin (1999).

Os índices de diversidade, as freqüências alélicas, o teste de EHW e a análise de variância foram obtidos a partir do programa BIOSYS-2 de Swofford e Selander (1997).

RESULTADOS

Freqüências alélicas

Dos onze locos avaliados, Pgm-1, Idh-1 e Mdh-2 foram monomórficos nos adultos e nas progênies (Tabela 1). Os locos 6Pgdh-1, Skdh-1, Mdh-4 foram monomórficos nos adultos e polimórficos nas progênies, enquanto que os locos Mdh-1, Mdh-3, Pgi-2, Est-1 e Prx-1 foram polimórficos em ambos adultos e progênies. No fragmento Caetetus, os adultos amostrados apresentaram um total de 18 alelos e as progênies de 23 e no fragmento Ibicatu, foram detectados 19 alelos nos adultos e 21 nas progênies. As freqüências alélicas nos indivíduos adultos e nas progênies de *E. leiocarpa* variaram entre as subpopulações e populações. O alelo 1 no

loco Mdh-1 estava fixado nos adultos da população Caetetus e presente em baixa freqüência na população Ibicatu. No loco Est-1 o alelo 2 era o mais freqüente em Caetetus e o alelo 1 em Ibicatu. Nas subpopulações de Caetetus, o alelo 2 no loco Mdh-3 estava ausente na SPop1 e presente em alta freqüência no SPop2 (0,361), o alelo 4 no loco Prx-1 estava presente na SPop1 e ausente na SPop2 e as freqüências alélicas no loco Est-2 foram diferentes entre as subpopulações. Nas subpopulações de Ibicatu o alelo 2 no loco Mdh-1 estava ausente na SPop2 e o alelo 4 no loco Prx-1 estava ausente na SPop1. Nas progênies, a variação entre po-

Tabela 1. Freqüências alélicas e tamanho da amostra (n) em populações (Pop) e subpopulações (SPop) de adultos e progênies de *E. leiocarpa*, para 11 locos isoenzimáticos.

(Allele frequencies and amostral size (n) in populations (Pop) and subpopulations (SPop) of adults and progenies of *E. leiocarpa*, for the 11 isoenzymes loci)

Locos	Alelos	Adultos						Progênies	
		Caetetus			Ibicatu			Caetetus	Ibicatu
		SPop1	SPop2	Pop	SPop1	SPop2	Pop		
Pgm-1	1	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000
	n	26	19	45	23	20	43	190	180
6Pgdh-2	1	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	0,992	1,000
	2	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,008	0,000
	n	26	19	45	23	20	43	190	200
ldh-1	1	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000
	n	26	19	45	23	20	43	190	200
Skdh-1	1	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	0,998	1,000
	2	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,002	0,000
	n	26	19	45	23	20	43	190	200
Mdh-1	1	1,000	1,000	1,000	0,950	1,000	0,977	1,000	0,993
	2	0,000	0,000	0,000	0,050	0,000	0,023	0,000	0,007
	n	26	19	45	23	20	43	140	140
Mdh-2	1	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000
	n	26	19	45	23	20	43	120	140
Mdh-3	1	1,000	0,639	0,852	0,870	0,868	0,869	0,686	0,938
	2	0,000	0,361	0,148	0,130	0,132	0,131	0,293	0,062
	3	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,021	0,000
	n	26	18	44	23	19	42	118	89
Mdh-4	1	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	0,988	0,969
	2	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,009	0,022
	3	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,003	0,009
	n	26	7	33	23	20	43	165	160
Pgi-2	1	0,577	0,579	0,578	0,595	0,763	0,675	0,744	0,719
	2	0,423	0,421	0,422	0,405	0,237	0,325	0,256	0,281
	n	13	19	32	21	19	40	158	183
Est-1	1	0,167	0,059	0,118	0,548	0,450	0,500	0,069	0,381
	2	0,714	0,529	0,632	0,119	0,150	0,134	0,566	0,211
	3	0,119	0,412	0,250	0,333	0,400	0,366	0,362	0,408
	4	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,003	0,000
	n	21	17	38	21	20	41	145	168
Prx-1	1	0,519	0,472	0,500	0,283	0,225	0,256	0,121	0,224
	2	0,308	0,333	0,318	0,304	0,450	0,372	0,500	0,323
	3	0,154	0,195	0,171	0,413	0,300	0,360	0,379	0,450
	4	0,019	0,000	0,011	0,000	0,025	0,012	0,000	0,003
	n	26	18	44	23	20	43	29	181
Total de alelos		17	17	18	18	18	19	23	21

pulações foi ainda maior. Em Caetetus detectou-se a presença de alelos exclusivos, como o alelo 2 no loco Skdh-1, alelo 3 no loco Mdh-3 e alelo 4 no loco Est-1, enquanto que em Ibicatu detectaram-se alelos exclusivos nos locos Mdh-1 e Prx-1. A presença de alelos privados nas populações e subpopulações é um forte indicativo de fluxo gênico restrito. Comparando-se adultos e progênies, em Caetetus verifica-se nas progênies a presença de 6 alelos ausentes nos adultos e 1 presente nos adultos e ausente nas progênies. Em Ibicatu, observa-se nos adultos a ausência de 2 alelos presentes nas progênies.

Equilíbrio de Hardy-Weinberg e endogamia de Wright

O teste exato de Fischer (Tabela 2), revelou desvios das proporções genotípicas esperadas pelo equilíbrio de Hardy-Weinberg (EHW), na população de Caetetus, em um dos quatro locos avaliados nos adultos (Prx-1) e um dos seis locos nas progênies (Pgi-2). Em nível de subpopulações, a SPop1 mostrou desvios em

dois dos três locos avaliados. Em Ibicatu, detectaram-se desvios na população de adultos em um dos cinco locos analisados (Mdh-1) e nas progênies em quatro dos sete locos revelados (Mdh-1, Mdh-4 Pgi-2 e Est-1). Nas subpopulações, detectaram-se desvios na SPop2 nos locos Mdh-1 e Pgi-2. Os locos que apresentaram desvios das proporções do EHW e possuíam no mínimo três alelos foram submetidos ao teste de EEW (Tabela 3), visando separar os desvios causados pelos efeitos do sistema reprodutivo (cruzamentos preferenciais, entre aparentados e autofecundação) dos causados por fatores evolutivos, como deriva genética e/ou seleção. O loco Est-1, na SPop1 de adultos do fragmento Caetetus e o loco Mdh-4 nas progênies do fragmento Ibicatu mostraram desvios do modelo de EEW, sugerindo a atuação de forças evolutivas. O loco Prx-1, na SPop1 dos adultos em Caetetus e o loco Est-1 nas progênies Ibicatu, apresentaram aderência ao modelo EEW, indicando que os desvios foram causados pelo sistema reprodutivo, possivelmente cruzamento entre aparentados, dado que *E. leiocarpa* é autoincompatível.

Tabela 2. Teste exato de Fischer para o equilíbrio de Hardy-Weinberg em populações (Pop) e subpopulações (SPop) de *E. leiocarpa*.

(Fischer exact test for Hardy-Weinberg equilibrium in populations (Pop) and subpopulations (SPop) of *E. leiocarpa*)

Locos	População Caetetus				População Ibicatu			
	Adultos			Progênies	Adultos			Progênies
SPop1	SPop2	Pop	SPop1		SPop2	Pop		
6Pgdh-1	---	---	---	1,000	---	---	---	---
Skdh-1	---	---	---	---	---	---	---	1,000
Mdh-1	---	---	---	---	---	0,026	0,012	0,004
Mdh-3	---	0,321	1,000	0,833	1,000	1,000	1,000	1,000
Mdh-4	---	---	---	1,000	---	---	---	0,000
Pgi-2	0,574	0,161	0,143	0,000	1,000	0,052	0,275	0,001
Est-1	0,021	0,162	0,726	0,399	0,394	0,650	0,221	0,006
Prx-1	0,005	0,151	0,001	0,710	1,000	0,650	0,745	0,133

Tabela 3. Teste de qui-quadrado (χ^2) para aderência ao equilíbrio de endogamia de Wright, em populações (Pop) e subpopulações (SPop) de *E. leiocarpa*.

(Chi-square tests (χ^2) for Wright inbreeding equilibrium adherence in populations (Pop) and subpopulations (SPop) of *E. leiocarpa*.)

Progênes - de Ibicatu						Subpopulação 1 - adultos de Caetetus					
Mdh-4			Est-1			Est-1			Prx-1		
Classes	no	ne	Classes	no	ne	Classes	no	ne	Classes	no	ne
1-1	54	152,5	1-1	14	15,3	1-1	2	1,6	1-1	3	4,9
1-2	2	3,5	1-2	34	33,2	1-2	1	3,2	1-2	13	11,2
1-3	1	1,7	1-3	2	1,1	1-3	2	0,5	1-3	7	5,2
2-2	0	1,5	2-2	66	64,1	2-2	13	12,3	1-4	1	0,8
2-3	3	0,1	2-3	33	35,6	2-3	3	2,3	2-2	1	0,2
3-3	0	0,7	3-3	19	18,6	3-3	0	1,1	2-3	0	2,9
$\chi^2 = 264,56$ ** (3)			$\chi^2 = 1,14$ ns (3)			$\chi^2 = 7,01$ * (3)			2-4	0	0,4
									3-3	0	0,0
									3-4	0	0,2
									4-4	0	0,0
									$\chi^2 = 7,65$ ns (5)		

Onde: no = número observado; ne = número esperado pelo modelo de equilíbrio de endogamia de Wright. ** e *: Significativo a 1% e 5% de probabilidade

Variabilidade genética entre e dentro de populações

O coeficiente de coancestralidade ($\hat{\theta}_P$) mostrou baixa, mas significativa diferenciação genética entre populações, tanto para plantas adultas (12,1%) como para progênes (8,7%), sugerindo a existência de diferenças genéticas entre os indivíduos das duas populações (Tabela 4). O coeficiente de coancestralidade entre plantas dentro de subpopulações ($\hat{\theta}_{SP}$) revelou que na média dos locos, 12,7% da variabilidade genética das populações de *E. leiocarpa* encontram-se distribuída entre as subpopulações, indicando a presença de estruturação dentro das populações. A análise hierárquica dentro das populações revelou maior diferenciação entre as subpopulações no fragmento Caetetus (6,7%) em comparação ao fragmento Ibicatu (3,5%). Contudo, a julgar pelo intervalo de confiança da média de $\hat{\theta}_{SP}$, esse

valor só foi significativo em Ibicatu. O coeficiente de coancestralidade de famílias dentro de populações ($\hat{\theta}_F$) mostrou que 17,1% da variabilidade genética das progênes encontra-se entre famílias $\hat{\theta}_F$ e, a julgar pelo intervalo de confiança (95 % de probabilidade) da média, este valor é significativamente diferente de zero. O índice de fixação total (\hat{F}), ou a probabilidade de dois alelos amostrados aleatoriamente em indivíduos diferentes no conjunto das populações ser idênticos por descendência, foi de 0,112 (0,223 a 0,001) para os adultos e de 0,120 (0,176 a -0,064) para as progênes, revelando excesso significativo de homocigotos nos adultos dentro das populações. O índice de fixação (\hat{f}) médio dentro das populações, ou a probabilidade de dois alelos em um indivíduo amostrado aleatoriamente dentro das popula-

ções de adultos e de progênies serem idênticos por descendência, foi de -0,008 (0,101 a -0,117) e 0,041 (0,139 a -0,057), respectivamente, demonstrando que na média as populações não apresentam endogamia. Entretanto, a análise hierárquica dentro das populações mostrou excesso de homozigotos para a população ($\hat{F} = 0,034$) e subpopulações ($\hat{f} = 0,030$) de Ibicatu, apesar desses valores não serem estatisticamente diferentes de zero.

Fluxo gênico, tamanho e área de vizinhança

A estimativa do fluxo gênico (Tabela 5), ou do número de migrantes entre populações por geração, foi baixo entre as populações ($\hat{N}_m < 1$), tanto pela estimativa nos indivíduos adultos como nas progênies, sugerindo isolamento por distância entre as populações. Dentro das populações, o fluxo gênico estimado entre subpopulações foi igualmente baixo em

Caetetus, mas alto em Ibicatu ($\hat{N}_m > 1$). O tamanho médio de vizinhança (\hat{N}_b), ou o número médios de indivíduos reprodutivos (Tabela 5), potencialmente apto ao cruzamento, foi de baixo para a média das populações de adultos (2,86). Dentro das populações, o \hat{N}_b estimado foi de 5,48 em Caetetus e 10,85 em Ibicatu. A área física (A) ocupada pelo tamanho de vizinhança (Tabela 5), foi de aproximadamente 0,5 ha para adultos na média das populações, 0,8 ha para a média das subpopulações em Caetetus e 1,56 ha para Ibicatu, mostrando que o potencial de dispersão de genes, ou em outras palavras, as unidades panmíticas, são maiores em Ibicatu.

Diversidade genética intrapopulacional

Os locos segregaram de 1 a 4 alelos (Tabela 1), sendo que o número médio de alelos por loco (A), para os adultos, foi de 1,64 na po-

Tabela 4. Coeficientes de coancestralidades para duas populações naturais (Caetetus, Ibicatu) de indivíduos adultas e progênies de *E. leiocarpa* e para duas subpopulações de indivíduos adultos.

(Coancestry coefficient for two natural populations (Caetetus, Ibicatu) of the adult and progenies of *E. leiocarpa* and the two subpopulations of individuals adults)

Locos	Adultos									Progênies				
	Populações				Subpopulações					Populações				
	Caetetus vs Ibicatu				Caetetus		Ibicatu			Caetetus vs Ibicatu				
	\hat{f}	\hat{F}	$\hat{\theta}_{SP}$	$\hat{\theta}_P$	\hat{f}	\hat{F}	$\hat{\theta}_{SP}$	\hat{f}	\hat{F}	$\hat{\theta}_{SP}$	\hat{f}	\hat{F}	$\hat{\theta}_F$	$\hat{\theta}_P$
6Pgd-2 0,006	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	-0,005	0,001	0,052
Mdh-1	1,000	1,000	0,000	0,000	---	---	---	1,000	1,000	0,000	1,000	1,000	0,000	0,000
Mdh-3	-0,054	-0,065	0,119	-0,100	-0,303	0,216	0,399	-0,127	-0,151	-0,021	-0,034	0,130	0,218	0,158
Mdh-4	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	0,346	0,348	0,008	0,026
Pgi-1	0,259	0,261	0,001	0,023	0,324	0,294	-0,045	0,201	0,227	0,033	0,302	0,301	0,189	-0,023
Est-1	-0,044	0,223	0,271	0,256	0,011	0,103	0,094	-0,124	-0,135	-0,009	-0,135	0,042	0,191	0,156
Prx-1	-0,151	-0,080	0,060	0,062	-0,377	-0,392	-0,011	0,067	0,074	0,003	0,076	0,099	0,127	0,025
Média	-0,008	0,112	0,127	0,121	-0,075	-0,004	0,067	0,030	0,034	0,035	0,041	0,120	0,171	0,087
IC*Sup.	0,101	0,223	0,252	0,205	0,139	0,198	0,146	0,117	0,129	0,045	0,139	0,176	0,221	0,134
Inf.	-0,117	0,001	0,002	0,037	-0,289	-0,206	-0,012	-0,057	-0,061	0,025	-0,057	-0,064	0,121	0,040

*: Intervalo de confiança a 95 % de probabilidade, obtido do erro padrão da média estimado a partir de 10.000 reamostragem "bootstrap".

pulação Caetetus e 1,73 na população Ibicatu (Tabela 6). As progênies de ambas as populações apresentaram A igual a 2,00. A porcentagem de locos polimórficos (P) que mede a variação genética entre locos dentro dos indivíduos, foi de 36,36% (95% de probabilidade) para ambas as populações de adultos e progênies. Ocorreu uma pequena variação para a SPop1 em Caetetus (27,27%) e SPop2 de Ibicatu (45,45), mas no geral os valores mostraram um baixo polimorfismo para a espécie. A heterozigosidade média observada (H_o) e esperada segundo as expectativas do EHW (\hat{H}_e) para adultos e progênies foram semelhantes entre as populações, com valores aproximados de 0,180. O erro padrão das estimativas de H_o e \hat{H}_e evidenciou que estes valores não são diferentes entre si e entre as populações. A \hat{H}_e indica que o potencial evolutivo das duas populações é semelhante. No entanto, as heterozigosidades em nível de subpopulações variaram no fragmento Caetetus, sendo que na SPop1 esses valores estavam em torno 0,140 e a SPop2 em torno de 0,200, apesar do erro

Tabela 5. Estimativa do fluxo gênico (\hat{N}_m), tamanho de vizinhança (\hat{N}_b) e área de vizinhança (A) para a média dos locos entre e dentro de populações de *E. leiocarpa*.

(Gene flow estimate (\hat{N}_m), neighborhood size (\hat{N}_b) and of the neighborhood area (\hat{A}) for loci average among and within populations in *E. leiocarpa*).

	\hat{N}_m	\hat{N}_b	A (ha)
Populações - Progênies	0,66	4,13	0,59
Populações - Adultos	0,45	2,86	0,41
SPop - Caetetus	0,87	5,48	0,79
SPop - Ibicatu	1,72	10,85	1,56

ha = hectares

padrão da média dessas estimativas mostrar que elas não são diferentes entre si e nem entre populações. O índice de fixação médio (\hat{f}) foi baixo e não estatisticamente diferentes de zero em todas as unidades amostradas (populações e subpopulações de adultos e progênies), exceção para a SPop2 do fragmento Caetetus (-0,218), onde detectou um valor alto de excesso de heterozigotos. Apesar da magnitude de \hat{f} , ele não foi significativo.

DISCUSSÃO

Os resultados da análise hierárquica das freqüências alélicas foram coerentes com a literatura para espécies arbóreas tropicais, que mostram maiores níveis de variabilidade genética dentro do que entre as populações (Tabela 4). O padrão da variação das isoenzimas evidenciou que a extensão da diferenciação genética diminui do nível de populações para subpopulações. A divergência genética entre as populações de indivíduos adultos (12,1%) foi maior que a divergência genética entre as subpopulações (Caetetus; Ibicatu). Dentro das populações, Caetetus apresentou a maior divergência genética entre subpopulações (6,7%), em comparação a Ibicatu (3,5%). Este aumento na divergência genética com o aumento da distância entre unidades amostrais (população

e subpopulação) é consistente com o modelo de isolamento por distância de Wright (1943). Segundo este modelo, quanto maior é a distância entre as populações ou subpopulações, mais restrito é a dispersão de pólen e sementes, levando ao isolamento das unidades amostrais e ao aumento da divergência genética por deriva ou seleção. Em concordância, a estimativa do fluxo gênico entre populações (Tabela 5), foi baixa ($\hat{N}_m < 1$) para os adultos e para as progênies. Este resultado era predito, dado que a distância entre as populações é de aproximadamente 250 km, sendo pouco provável a existência de troca gênica entre populações tão distante. Ainda, a polinização de *E. leiocarpa* é realizada por moscas de vôos curtos (Crestana et al., 1982), diminuindo, assim,

a probabilidade de fluxo gênico efetivo entre as populações. O fluxo gênico entre as subpopulações, dentro das populações, foi alto ($\hat{N}_m > 1$) no fragmento Ibicatu e baixo no fragmento Caetetus. A distância entre as subpopulações de Ibicatu é de aproximadamente 400 m e em Caetetus de 2.000 metros, confirmando a hipótese de isolamento por distância. Esta hipótese é também, sugerida pela presença de alelos exclusivos nas populações e subpopulações (Tabela 1).

Considerando adultos e progênies conjuntamente, o fragmento Caetetus apresentou três alelos que estavam ausentes na população Ibicatu e, esta por sua vez, apresentou um alelo ausente em Caetetus. Em nível de subpopulações, detectou-se 1 alelo exclusivo em cada subpopulação de Caetetus e Ibicatu. A presença de um número maior de alelos exclusivos em nível de populações, relativamente a subpopulações de um mesmo fragmento, também sugere que o fluxo gênico está associado a distância entre as unidades amostrais. O padrão de isolamento por distância, teorizado por Wright (1943), foi observado, igualmente como aqui neste estudo, por Coates (1992), Yang e Yeh (1995), Wolf e Campbell (1995), entre outros. O fluxo gênico é o fator evolutivo responsável pela homogeneização das populações, restringindo os efeitos da deriva genética e seleção. A presença de fluxo gênico restrito entre e dentro das populações de uma espécie pode, inicialmente, levar ao aumento da divergência genética entre populações e subpopulações, devido à deriva genética e seleção e, finalmente, levar a formação de uma nova espécie.

A deriva genética é a distribuição aleatória dos alelos nos locos, causada pela redução no tamanho efetivo populacional, resultando na perda de variabilidade genética pelo aumento da homozigose e redução da heterozigose (Nei et al. 1975). A distribuição aleatória leva à fixação e perda de alelos nas populações ou

subpopulações. Sua origem é o tamanho amostral, estando geralmente associada a eventos aleatórios de colonização ou, como no presente caso, ao isolamento das populações pelo processo de fragmentação antrópica. A redução no tamanho das populações ou número de subpopulações pode resultar na formação de estruturas familiares com um maior grau de parentesco entre os indivíduos mais próximos, dentro das unidades populacionais.

O tamanho e a área de vizinhança estimados no presente trabalho foram baixos (Tabela 5), sendo de no máximo de 10 indivíduos reprodutivos representando as unidades panmítica, ocupando uma áreas de apenas 1,56 hectares. O aumento do grau de parentesco dentro de uma área de vizinhança pode, com o passar das gerações, resultar no cruzamento entre indivíduos aparentados e, conseqüentemente, no aparecimento de endogamia por consangüinidade. Este efeito é ainda maior em espécies perenes de vida longa, onde ocorre a sobreposição de gerações, permitindo que indivíduos aparentados (exemplo pais, filhos, irmãos etc.) venham a se intercruzar, dando origem à endogamia. A endogamia em plantas alógamas expõe genes deletérios em homozigose, resultando na depressão por endogamia a qual pode caracterizar-se pelo aparecimento de albinismo nas plântulas, mortalidade juvenil, decréscimo na germinabilidade, viabilidade e produção de sementes, decréscimo na taxa de crescimento e perda de vigor (Mitton, 1989; Souza Jr., 1995). A seleção natural para indivíduos de maior valor adaptativo a ambientes específicos, pode levar a extremos na divergência genética entre populações, resultando no isolamento reprodutivo e, por fim na especiação (Nei et al, 1975).

A divergência genética entre as subpopulações (Ibicatu = 3,5%; Caetetus 6,7%) evidencia que a variabilidade genética das populações de *E. leiocarpa* não é mantida só pela

variabilidade genética existente dentro das subpopulações, mas também pela variabilidade existente entre subpopulações. Como o fragmento Caetetus é maior e o número de subpopulações também é maior em relação ao fragmento menor Ibicatu, deve haver um maior potencial para troca gênica, sendo que os alelos exclusivos em suas progênies, possivelmente são oriundos do fluxo gênico de outras subpopulações não amostradas, mas localizadas dentro do fragmento. Como existe um número menor de subpopulações no fragmento Ibicatu, a possibilidade de troca gênica nesse fragmento é menor. Neste caso, o maior fluxo gênico detectado deve estar associado, além da menor distância entre as subpopulações, ao fluxo gênico sistemático entre as subpopulações amostradas. O fluxo gênico sistemático pode levar ao aumento do parentesco entre os indivíduos das subpopulações, portanto, à sua homogeneização.

Observando-se na Tabela 6 as heterozigosidades nas subpopulações de Ibicatu, verifica-se que estas apresentam valores similares, tanto para a o valor atual (\hat{H}_o) como para a seu potencial evolutivo (\hat{H}_e). Ambas as heterozigosidade foram altas se comparados aos estudos de Hamrick et al. (1979) e

Hamrick e Godt (1990). Altas heterozigosidades são desejáveis, considerando o grande número de recombinações genotípicas possíveis de ocorrer nas próximas gerações, capacitando as populações à melhor adaptação local e colonização de novos ambientes (Reis, 1996; Sebbenn, 1997).

Ainda, na Tabela 4, verifica-se que em Ibicatu, os níveis de fixação de alelos para o conjunto das subpopulações (população), apesar de baixos e não significativos (0,034), sugerem desvios dos cruzamentos aleatórios para os preferenciais. Entretanto, observando-se o índice de fixação (\hat{f}) das progênies geradas em Ibicatu (Tabela 6), notam-se valores negativos, indicando um pequeno excesso de heterozigotos, portanto, ausência de endogamia nas progênies e boas perspectivas para a população, caso o processo de fragmentação seja estancado, e a população tenha chance de se expandir para um tamanho que tenda ao infinito.

O índice de fixação (Tabela 4), para o conjunto das populações (\hat{F}) foi alto e significativo (0,112), demonstrando a presença de endogamia no conjunto. Levando em conta a divergência, o isolamento e o índices de fixação negativo e não significativo dentro das po-

Tabela 6. Índices de diversidade genética nas populações (Pop) e subpopulações (SPop) de adultos e progênies de *E. leiocarpa* em dois fragmentos (Caetetus e Ibicatu).

(Genetic diversity index in populations (Pop) and subpopulations (SPop) of adults and progenies of *E. leiocarpa* in two fragments (Caetetus e Ibicatu).

	Caetetus				Ibicatu			
	Adultos			Progênies	Adultos			Progênies
	SPop1	SPop2	Pop		SPop1	SPop2	Pop	
P (%)	27,27	36,36	36,36	36,36	36,36	45,45	36,36	36,36
A	1,55	1,55	1,64	2,00	1,55	1,73	1,73	2,00
H_o	0,138	0,235	0,178	0,183	0,188	0,161	0,175	0,168
	(0,082)	(0,106)	(0,087)	(0,075)	(0,084)	(0,081)	(0,081)	(0,084)
\hat{H}_e	0,141	0,193	0,171	0,168	0,176	0,178	0,180	0,172
	(0,074)	(0,082)	(0,076)	(0,072)	(0,080)	(0,077)	(0,079)	(0,079)
\hat{f}	0,021	-0,218	-0,041	-0,089	-0,068	0,096	0,028	-0,023

pulações (\hat{f}), verifica-se que esta endogamia não é generalizada nos dois fragmentos. A análise da estrutura intrapopulacional revelou excesso de homozigotos apenas na população Ibicatu, como já discutido. Este quadro é melhor caracterizado, observando-se o índice de fixação médio de cada subpopulação de Ibicatu, (Tabela 6), onde a SPop2 apresentou excesso de homozigotos (0,096) e a SPop1 de heterozigotos (-0,068). Quanto aos índices de fixação negativos, eles sugerem a presença de seleção em favor de heterozigotos. Existem na literatura várias explicações para este fenômeno, indo desde a suposições de que certos locos isoenzimáticos estariam ligados a locos de forte valor adaptativo, portanto comportar-se-iam como locos que sofrem seleção e, que alguns sistemas isoenzimáticos realmente têm algum valor adaptativo, assim não são totalmente neutros (Futuyma, 1992). Observa-se na Tabela 5 que a SPop2 de Caetetus, apresentou um índice de fixação de -0,218, porém este valor, apesar de alto, não foi significativo. O valor encontrado para o índice de fixação (\hat{f}) na SPop2 de Caetetus pode ser um indicativo da presença de seleção favorecendo localmente os heterozigotos. Muitos estudos têm encontrado evidências semelhantes, podendo-se citar os trabalhos de Murawski (1995), Reis (1996) e Sebbenn (1997).

Nas Tabelas 4 e 6, os baixos e não significativos valores de fixação alélica (\hat{f} e \hat{F}), para a média dos locos, nos indivíduos adultos e nas progênies para todos as unidades populacionais (populações e subpopulações) sugerem aderência ao equilíbrio de Hardy-Weinberg (EHW). A amostragem de duas gerações sucessivas (adultos e progênies) em cada população permite inferir-se sobre o EHW (Tabela 2). Na população Caetetus, de modo geral, ambos os adultos e progênies encontravam-se nas proporções do EHW, apesar da SPop1 apresentar desvios deste modelo em dois dos locos avaliados, mostrando uma certa estruturação dentro das subpopulações, mas cruzamentos ale-

atórios para a população (conjunto de subpopulações). Esta hipótese sugere que a manutenção da variabilidade genética das populações de *E. leiocarpa* ocorra pelo troca gênica entre subpopulações. A SPop2 em Caetetus, a qual deu origem às progênies, encontrava-se com suas proporções genotípicas aderidas ao EHW, dando origem a progênies igualmente em EHW, demonstrando que os cruzamentos ocorreram de forma aleatória. A SPop1 apresentou dois locos (Est-1 e Prx-1) com desvios do EHW, sendo que o loco Prx-1 (Tabela 3), apresentou aderência ao equilíbrio de endogamia de Wright (EEW), evidenciando que seus desvios foram causados por cruzamentos entre aparentados ou preferenciais, dado que a espécie é auto-incompatível, assim, não é possível ocorrer autofecundação. Considerando a pressuposição de neutralidade das isoenzimas, os desvios do EEW na Est-1, podem ser atribuídos à deriva genética. É possível, que a deriva observada esteja relacionada ao tamanho da amostragem, a qual não permitiu a obtenção de um número suficiente de indivíduos em todas as classes genotípicas. Contudo, pode também ser intrínseca da SPop1, a qual não possui indivíduos distribuídos em todas as classes genotípicas para este loco. Nesse caso, a deriva seria originada, provavelmente, do efeito fundador com indivíduos de poucas classes genotípicas para este loco. No fragmento Ibicatu, as duas subpopulações de adultos encontraram-se nas proporções do EHW, mas as progênies oriundas da SPop1 apresentaram desvios do EHW em mais de 50% dos locos avaliados. O teste do EEW revelou que os desvios do EHW no loco Est-1 foram originados pelo sistema reprodutivo e, do loco Mdh-4 por fatores evolutivos, possivelmente deriva genética. Este modelo, por sua vez, indica que a espécie é preferencialmente alógama, distribuindo seus genes aleatoriamente entre os indivíduos dentro e entre as subpopulações de cada população.

O polimorfismo (Tabela 6) encontrado em *E. leiocarpa* (36,36%) foi menor que o encontrado para as outras espécies arbóreas da Mata Atlântica brasileira, estudadas através de isoenzimas. Moraes (1993) encontrou 66,7% de locos polimórficos em *Myracrodruon urundeuva*; Reis (1996) 85,7% em *Euterpe edulis*; Sebbenn (1997) 50% em *Genipa americana*; Souza (1997) 77,8% em *Chorisia speciosa* e Moraes (1998) em torno de 80% em *Cryptocarya moschata*. O baixo polimorfismo em *E. leiocarpa* pode estar associado à presença de deriva genética nas populações, levando à fixação aleatória de alelos nas populações ou a características do próprio marcador usado, isoenzimas, o qual pode não ter permitido acessar a verdadeira variabilidade genética entre os locos.

O número médio de alelos por loco (A) não mostrou diferenças significativas entre as populações (Tabela 6). Nas progênes, apesar de A ser maior do que nos adultos, ele também foi igual para as duas populações. O A permite supor que ambas as populações compartilham o mesmo conjunto gênico, mesmo considerando a grande distância que separa as populações e a divergência detectada, tanto para os indivíduos adultos como para as progênes. Esta suposição pode ser explicada por uma origem comum, ou seja, ambas as populações são oriundas de um mesmo centro de origem da espécie, sendo que a pressão antrópica resultando na fragmentação, do presente século, e o pequeno número de gerações transcorridas desde este evento, ainda não permitiram que as populações divergissem de forma brusca. Quanto ao maior número de alelos detectados nas progênes, em relação aos indivíduos adultos, provavelmente é decorrente de problemas amostrais nos adultos, não detectando toda a variação alélica presente nas populações, ou devido à presença de fluxo gênico oriundo de outras subpopulações dentro dos fragmentos, ou ainda, do fluxo gênico oriundo de outros fragmentos próximos. Qualquer que seja a hipóte-

se verdadeira, sugere um aumento da variabilidade genética das populações nas próximas gerações, caso essas possam se expandir para um tamanho que tenda ao infinito.

Os valores encontrados para o $\hat{N}b$ (Tabela 5), indicam a necessidade de um número diferenciado de indivíduos reprodutivos nas populações para a manutenção da variabilidade genética existente. No caso do fragmento menor (Ibicatu), constituído de poucas subpopulações, é necessário um maior tamanho efetivo para garantir a manutenção de sua variabilidade genética. Por sua vez, no fragmento maior (Caetetus), onde existe um número bem maior de subpopulações trocando genes, é necessário um menor tamanho efetivo para impedir o aparecimento de endogamia. Concordantemente, a área de vizinhança (A) foi maior na população menor.

A análise genética das populações de *E. leiocarpa* demonstrou que a variabilidade genética encontra-se distribuída em vários níveis hierárquicos: entre plantas dentro de subpopulações, entre subpopulações dentro de populações e entre populações. Dentro das subpopulações de Ibicatu, a variabilidade genética encontra-se com um certo grau de estruturação, não sendo, portanto, aleatoriamente distribuída. Estes resultados são importantes para o planejamento das estratégias de conservação *in situ* da espécie, mostrando que a espécie, apesar de comum, não mantém sua variabilidade genética dentro de pequenas áreas, pois importante parte da variabilidade parece ser mantida pelo fluxo gênico entre subpopulações que compõem as populações.

Os resultados obtidos apontam para a importância, em termos de conservação genética, da preservação de áreas naturais que abriguem várias subpopulações da espécie. Estes resultados também concordam com as estimativas teóricas de Kageyama e Gandara (1993) sobre a área mínima em torno de 500.000 hectares para conservação dos recursos genéticos

de espécies arbóreas tropicais, ao indicar que, mesmo para as espécies comuns, é necessária a manutenção de grandes áreas em estado

natural para a efetiva conservação genética *in situ*.

CONCLUSÕES

O estudo genético das populações de *E. leiocarpa* permitiu as seguintes conclusões:

1) A variabilidade genética encontra-se distribuída de forma hierárquica, entre indivíduos dentro de subpopulações, entre subpopulações dentro de populações e entre populações;

2) O coeficiente de endogamia, apesar de não significativo, foi maior no fragmento menor;

3) O fluxo gênico estimado entre as unidades populacionais mostrou isolamento por dis-

tância, sendo baixo entre unidades distantes e alto entre unidades próximas;

4) Os resultados sugerem que em pequenos fragmentos florestais, constituídos por poucas subpopulações de *E. leiocarpa*, as populações estarão sujeitas à perda de variabilidade genética por deriva, o que poderá comprometer a sobrevivência local da população, a longo prazo, caso a pressão antrópica não permita que essa se expanda.

AUTORES E AGRADECIMENTOS

CARLOS EDUARDO SÍCOLI SEOANE é Doutorando da UNICAMP, Campinas. E-mail: eduardoseoane@hotmail.com

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

ALEXANDRE MAGNO SEBBENN é Pesquisador do Instituto Florestal de São Paulo.

Caixa Postal 1322, 01059-970 – São Paulo, SP. E-mail: amsebben@carpa.ciagri.usp.br

Os autores agradecem ao Instituto Florestal de São Paulo pela permissão para a amostragem na Estação Ecológica de Ibicatu, SP e Estação Ecológica de Caetetus, SP. Os autores também são gratos à FAPESP pelo suporte financeiro deste trabalho e pela concessão da bolsa de mestrado para o primeiro autor.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALFENAS, S.A.; PETERS, I.P.; BRUNE, W.; PASSADOR, G.C. **Eletroforese de proteínas e fungos em essências florestais**. Viçosa: UFV, 1991. 242p.

BALLAL, S.R.; FORÉ, S.A.; GUITTMEN, S.I. Apparent gene flow and genetics structure of *Acer saccharum* subpopulations in fores fragments. **Canadian journal of botany**, v.72, p.1311-1315, 1994.

BOSHIER, D.H.; CHASE, M.R.; BAWA, K.S. Population genetics of *Cordia alliodora* (Boraginaceae), a neotropical tree: 2- mating system. **American journal of botany**, v.82, n.4, p.476-483, 1995.

COATES, D.J. Genetic consequences os a bottleneck and spatial genetic structure in the triggerplant *Stylidium coroniforme* (Syliidiaceae). **Heredity**, v.69, p.512-520, 1992.

- COCKERHAM, C.C.; WEIR, B.S. Estimation of gene flow from F-statistics. **Evolution**, v.47, n.3, p.855-863, 1993.
- CRESTANA, C.S.M.; DIAS, I.S.; KAGEYAMA, P.Y. Biologia floral do Guarantã (*Esenbeckia leiocarpa* Engl.). **Silvicultura**, v.8, n.28, p.35-38, 1982.
- 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 of the United States of America**, v.81, p.6073-6077, 1984.
- ELLSTRAND, N.C.; ELLAN, D.R. Population genetic consequences of small population sizes: implication for plant conservation. **Annual review on ecological systematics**, v.24, p.217-242, 1993.
- FUTUYMA, D.J. **Biologia evolutiva**. Ribeirão Preto: Sociedade Brasileira de Genética, 1992. 631p.
- HALL, P.; WALKER, S.; BAWA, K. Effect of forest fragmentation on genetic diversity and mating system in tropical tree *Pithecelobium 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.
- HAMRICK, J.L.; LINHART, Y.B.; MITTON, J.B. Relationships between life history characteristic and electrophoretically detectable genetic variation in plants. **Annual review of ecology and systematics**, v.10, p.173-200, 1979.
- KAGEYAMA, P.Y. Conservação *in situ* de recursos genéticos de plantas. **IPEF**, n.35, p.7-37, 1987.
- KAGEYAMA, P.Y.; GANDARA, F.B. Dinâmica de populações de espécies arbóreas: implicações para o manejo e a conservação. In: SIMPÓSIO DE ECOSSISTEMAS DA COSTA BRASILEIRA, 3, 1993. **Anais**. p.23-31.
- KEPHART, S.R. Starch gel eletrophoresis of plant isozymes: a comparative analysis of techniques. **American journal of botany**, v.77, n.5, p.693-712, 1990.
- LEITÃO-FILHO, H.F. Considerações sobre florística de florestas tropicais e subtropicais do Brasil. **IPEF**, n.35, p.41-46, 1987.
- LEWIS, P.O.; ZAYKIN, D. **Genetic date analysis: versão 1.0 para Windows 3.1**. 1999. (Não publicado).
- MITTON, J.B. Physiological and demographic variation associated with allozyme variation. In: SOLTIS, D.; SOLTIS, P.S. **Isozymes in plant biology**. London: Chapman and Hall, 1989. p.127-145.
- MORAES, M.L.T. **Variabilidade genética por isoenzimas e caracteres quantitativos em duas populações naturais de Aroeira *Myracrodruon urundeuva* F.F. & M.F. Allemão Anacardiaceae (Syn: *Astronium urundeuva* (Fr. Allemão) Engler**. Piracicaba, 1993. 139p. Tese (Doutorado) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz. Universidade de São Paulo.
- MORAES, P.L.R. **Estrutura genética de populações de *Cryptocarya moschata* Nees & Martius ex Nees (Lauraceae)**. Rio Claro, 1998. 190p. Tese (Doutorado) – Universidade Estadual Paulista – Rio Claro
- MURAWSKI, D.A. Reproductive biology and genetics of tropical trees from a canopy perspective. In: LOWMAN, M.D.; NADKARMI, N.M. **Forest canopies**. New York: Academic Press, 1995. p.457-493.
- NEI, M.; MARUYAMA, T.; CHAKRABORTY, R. The bottleneck effect and genetic variability in populations. **Evolution**, v.29, p.1-10, 1975.
- REIS, M.S. **Distribuição e dinâmica da variabilidade genética em populações naturais de palmitreiro (*Euterpe edulis* M.)**. Piracicaba, 1996. 210p. Tese (Doutorado) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz. Universidade de São Paulo
- SANTOS, P.S. Fragmentação de habitats: implicações para a conservação *in situ*. In: ESTEVES, F.A., ed. **Oecologia brasiliensis**. Local: Editora, 1995. 616p.
- SEBBENN, A.M. **Estrutura genética de subpopulações de *Genipa americana* L. (Rubiaceae) a partir de isoenzimas**. Piracicaba, 1997. 107p. Tese (Mestrado) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz. Universidade de São Paulo.
- SLATKIN, M.; BARTON, N.H. A comparison of three indirect methods for estimating average levels of gene flow. **Evolution**, v.43, n.7, p.1349-1368, 1989.
- SOUZA, L.M.F.I. **Estrutura genética de populações naturais de *Chorisia speciosa* St. Hill (Bombacaceae) em fragmentos florestais na região de Bauru (SP) - Brasil**. Piracicaba, 1997. 76p. Tese (Mestrado). Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz. Universidade de São Paulo

- SOUZA JR, C.L. **Melhoramento de espécies de propagação vegetativa**. Piracicaba: Departamento de Genética / ESALQ/USP, 1995. 41p. (Publicações didáticas)
- SWOFFORD, D.L.; SELANDER, R.B. **Byosys-2: a computer program for the analysis of allelic variation in population genetics and biochemical systematics. Release 1,7**. Chicago; Illinois Natural History Survey, 1997. 78p.
- VIANA, V.M. Conservação da biodiversidade de fragmentos de florestas tropicais em paisagens intensivamente cultivadas. In: CONFERÊNCIA INTERNACIONAL ON COMMON GROUP INTERDISCIPLINARY APPROACHES TO BIODIVERSITY CONSERVATION AND LAND USE DYNAMICS IN THE NEW WORLD, Belo Horizonte, 1995. **Anais**. Belo Horizonte, 1995. p.135-154.
- WEIR, B.S. **Genetic data analysis: 2- methods for discrete population genetic data**. Sunderland: Sinauer Associates, 1996. 445p.
- WOLF, P.G.; CAMPBELL, D.R. Hierarchical analysis of allozymic and morphometric variation in a montane herb, *Ipomopsis aggregata* (polemoniaceae). **Journal of heredity**, v.86, p.386-394, 1995.
- WRIGHT, S. The interpretation of population structure by F-statistics with special regard to systems of mating. **Evolution**, v.19, p.395-420, 1965.
- WRIGHT, S. Isolation by distance. **Genetics**, v.28, p.114-138, 1943.
- YANG, R.C.; YEH, F. Patterns of gene flow and geographic structure in *Pinus contorta* Dougl. **Forest genetics**, v.2. n.2, p.65-75, 1995.
- YOUNG, A.; BOYLE, T.; BROWN, T. The population genetic consequences of habitat fragmentation for plants. **Tree**, v.11, n.10, p.413-418, 1996.

