TIAGO ESPOSITO OLIVEIRA MELO

EFEITOS DA PERTURBAÇÃO ANTRÓPICA SOBRE A DEMOGRAFIA E A ESTRUTURAÇÃO GENÉTICA DE *Simarouba amara* Aubl. (Simaroubaceae)

RECIFE
2014

TIAGO ESPOSITO OLIVEIRA MELO

EFEITOS DA PERTURBAÇÃO ANTRÓPICA SOBRE A DEMOGRAFIA E A ESTRUTURAÇÃO GENÉTICA DE *Simarouba amara* Aubl. (Simaroubaceae)

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal da Universidade Federal de Pernambuco como parte dos requisitos à obtenção do título de Mestre em Biologia Vegetal.

Orientadora: Dra. Andrea Pedrosa Harand
Coorientador: Dr. Felipe Melo
Área de concentração: Ecologia Vegetal
Linha de pesquisa: Ecologia de Populações e Comunidades Vegetais

RECIFE
2014

Catalogação na fonte
Elaine Barroso
CRB 1728

Melo, Tiago Esposito Oliveira

Efeitos da perturbação antrópica sobre a demografia e a estruturação genética de *Simarouba amara* Aubl. (Simaroubaceae)/ Recife: O Autor, 2014.

65 folhas : il., fig., tab.
Orientadora: Andrea Pedrosa Harand
Coorientador: Felipe Melo
Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco, Centro de Ciências Biológicas, Ecologia Vegetal, 2014.
Inclui bibliografia e anexos

1. **Simaroubaceae 2. Genética vegetal 3. Ecologia vegetal I. Harand, Andrea Pedrosa (orientadora) II. Melo, Felipe (coorientador) III. Título**

583.77 CDD (22.ed.) UFPE/CCB- 2014- 237

TIAGO ESPOSITO OLIVEIRA MELO

EFEITOS DA PERTURBAÇÃO ANTRÓPICA SOBRE A DEMOGRAFIA E A ESTRUTURAÇÃO GENÉTICA DE *Simarouba amara* Aubl. (Simaroubaceae)

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal da Universidade Federal de Pernambuco como parte dos requisitos à obtenção do título de Mestre em Biologia Vegetal.

Data de Aprovação: _30_/_04_/_2014

BANCA EXAMINADORA:

Dra. ANDREA PADROSA HARAND (Orientadora)
Departamento de Botânica – UFPE

Dra. ADNA CRISTINA BARBOSA DE SOUSA (Titular externo)
Departamento Biologia Celular e Molecular – UFPB

Dr. SEVERINO RODRIGO RIBEIRO PINTO (Titular externo)
Doutorando em Biologia Vegetal – UFPE

Dr. MARCELO TABARELLI (Suplente interno)
Departamento de Botânica – UFPE

Dr. DIEGO SOTERO DE BARROS PINANGÉ (Suplente externo)
Doutorando em Ciências Biológicas – UFPE

RECIFE
2014

Dedico esta Dissertação à Silmara Rufino, minha mãe, pelo apoio e incentivo constante; à Gabriela Esposito e Sabrina Esposito, minhas irmãs, pela energia, confiança e inspiração; à Carolina Couceiro, minha namorada, pelo afago e cordialidade.

AGRADECIMENTOS

À minha família, pelos momentos de lazer.

À Dra Andrea Pedrosa Harand, pela orientação, oportunidade, disponibilidade e paciência;

Ao Dr. Felipe Melo, pelas instruções no conhecimento ecológico, parceria na coorientação durante o mestrado

Ao Dr. Marcelo Tabarelli, pelo incentivo e discussões bastante produtivas.

Ao Tarcísio Leão, pela ajuda no período crítico para a seleção da espécie modelo do estudo.

A Liliane Dantas, pelas força, disponibilidade e incentivo.

Ao Artur Maia, por estar sempre presente, discutindo e questionado minha pesquisa.

Ao Santelmo Selmo, pelo seu auxílio e dicas extremamente valiosas.

Ao Rodrigo César, por perpetuar as dicas sobre as análises genéticas nos softwares nem sempre compreensíveis.

Aos parceiros de campo, Bruno, Fabíola, Tati, Patrícia, Val e Rafaela os quais me deram ajuda e incentivo.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de mestrado.

Aos amigos do Laboratório de Citogenética e Evolução vegetal, por todos os dias que estivemos juntos compartilhando conhecimento e vivência.

À minha eterna namorada, Carolina Couceiro, pelo apoio e compreensão.

E em especial a minha mãe, Silmara Rufino, por tudo.

Muito Obrigado!

RESUMO

Uma das principais hipóteses para explicar a coexistência de uma grande quantidade de espécies nos trópicos é a de mortalidade dependente de densidade ou "efeito Janzen-Connell". Tal mecanismo se baseia a interação entre plantas e seus inimigos naturais espécie-específicos, levando a um menor sucesso de estabelecimento quanto mais próximo o indivíduo de um adulto coespecífico. No entanto, as atividades socioeconômicas tem sido responsável pelas modificações de muitos hábitats naturais, alterando diversas relações ecológicas. É possível, portanto, que essas atividades possam estar alterando as interações responsáveis pela mortalidade dependente de densidade e pela dispersão de sementes, levando a um maior adensamento de indivíduos coespecíficos em áreas que sofreram com essas modificações. Sendo assim, o objetivo do trabalho foi testar se a fragmentação de hábitat tem reduzindo a dispersão de sementes e amenizado a mortalidade dependente de densidade, levando a uma redução das distâncias de recrutamento e à estruturação genética de *Simarouba amara*. A espécie modelo é uma pioneira de porte arbóreo, dióica, com polinização por pequenos insetos generalistas e síndrome de dispersão zoocórica. Já foi utilizada com espécie modelo em estudos ecológicos que envolveram análises com marcadores moleculares, uma vez que 14 locos de microssatélites estão disponíveis para a espécie. Seis populações, sendo três mais perturbadas e três mais conservadas, foram selecionadas numa paisagem onde a Floresta Atlântica se apresenta bastante fragmentada, compreendendo duas RPPNs, Pacatuba e Gargau, no estado da Paraíba, nordeste do Brasil. Foram avaliadas a demografia, a distribuição espacial e a estruturação genética das populações. Um total de 195 indivíduos foram mapeados e classificados quanto ao tamanho do seu CAP. Destes, 90 indivíduos, sendo 60 adultos e 30 jovens, foram genotipados com cinco locos microssatélites previamente estabelecidos para a espécie. Os resultados demonstraram que as áreas mais fragmentadas possuíam maior número de indivíduos e isso foi devido ao maior recrutamento de indivíduos mais jovens nessas áreas. No entanto, não foi observada redução das distâncias entre indivíduos de CAPs maiores e CAPs menores nas áreas fragmentadas, o que seria esperado se a MDDD estivesse sendo atenuada. A maior parte da variabilidade genética foi observada dentro das populações. Esta variabilidade foi, entretanto, reduzida, quando comparada a uma população menor, previamente analisada no Panamá com os mesmos marcadores. O índice de diferenciação entre populações (F_{ST} = 0,077) indicou um elevado fluxo gênico e o Teste de Mantel apontou uma fraca estruturação geográfica, porém significativa. Embora não tenha sido detectada perda de diversidade genética recente e tenha sido observado recrutamento numeroso de *S. amara* na área de estudo, a baixa diversidade geral e a insipiente estruturação podem ser ameaças à espécie se a defaunação continuar.

Palavra-Chave: Conservação, estruturação genética, fragmentação, mortalidade dependente de densidade, marcadores moleculares.

ABSTRACT

One of the main hypotheses to explain the coexistence of a large number of species in the tropics is the negative density dependence or "Janzen - Connell effect". This mechanism is based on the species-specific interaction between plants and their natural enemies, leading to less success establishing closer the individual from an adult conspecific. However, the socio-economic activities have been responsible for many changes in natural habitats, altering various ecological relationships. It is therefore possible that these activities may be altering the interactions responsible for the negative density dependence and by seed dispersal, leading to a higher density of conspecific individuals in areas that have suffered from these changes. Thus, the objective was to test whether habitat fragmentation has reduced seed dispersal and softened the negative density dependence, leading to a reduction in recruitment distances and genetic structuring *Simarouba amara*. The model species is a pioneer tree, dioecious, pollinated by small generalist insects and zoochoric dispersion syndrome. It has been used to model species in ecological studies involving molecular marker analysis, once 14 microsatellite loci are available for the species. Six people, three more disturbed and three more conserved, were selected in a landscape where the Atlantic Forest presents highly fragmented, comprising two RPPNs, Pacatuba and Gargaú in the state of Paraíba, northeastern Brazil. Demography, spatial distribution and genetic structure of populations were evaluated. A total of 195 individuals were mapped and classified according to the size of your HBC. Of these 90 individuals, 60 adults and 30 youths were genotyped with five microsatellite loci previously established for the species. The results showed that the most fragmented areas had a greater number of individuals and this was due to increased recruitment of younger individuals in these areas. However, no reduction of the distances between individual CAPs larger and smaller in CAPs fragmented areas, which would be expected if it were being attenuated negative density dependence was observed. Most of the genetic variability was observed within populations. This variability was, however, reduced compared to a smaller population, previously analyzed in Panama with the same markers. The index of population differentiation (F_{ST} = 0.077) indicated a high gene flow and the Mantel test showed a weak geographic structure , but significant. Although no recent loss of genetic diversity has been detected and numerous high recruitment of *S. amara* individuals has been observed in the study area, the overall low diversity and insipient genetic structure may represent a threat to the species if defaunation continues.

Keyword: conservation, genetic structure, fragmentation, negative density dependence, molecular markers.

SUMÁRIO

1. APRESENTAÇÃO 8
2. REVISÃO DE LITERATURA 10
2.1 PERTURBAÇÕES ANTRÓPICAS E SUAS CONSEQUÊNCIAS 10
2.2 A BIODIVERSIDADE DA FLORESTA ATLÂNTICA E SUA SITUAÇÃO ATUAL 12
2.3 ESTRUTURA POPULACIONAL DE PLANTAS E MORTALIDADE DEPENDENTE DE DENSIDADE 13
2.4 FLUXO GÊNICO E FRAGMENTAÇÃO DE HÁBITAT 15
2.5 GENÉTICA DA CONSERVAÇÃO 17
2.5.1 MARCADORES MOLECULARES 18
2.5.2 PERDA DE DIVERSIDADE GENÉTICA 19
2.6 *SIMAROUBA AMARA* 20
3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS 21
4. *Manuscrito a ser submetido à revista Biodiversity and Conservation* 31
RESUMO 33
INTRODUÇÃO 34
MATERIAIS E MÉTODOS 36
RESULTADOS 40
DISCUSSÃO 43
AGRADECIMENTOS 47
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS: 48
5. CONCLUSÕES 64
6. ANEXO 65
Instructions for Authors 65
General 65
Manuscript submission 65

1. APRESENTAÇÃO

Um dos principais modelos para explicar a manutenção da biodiversidade em florestas tropicais é o da mortalidade dependente de densidade (MDD) ou "efeito Janzen-Connell" (PETERS, 2003; LEIGH et al., 2004). O modelo prediz que plântulas e sementes de uma determinada espécie têm uma menor probabilidade de sobrevivência caso estejam adensadas ou próximas a um adulto coespecífico. Isso porque essa proximidade aumenta a probabilidade de serem atacadas por predadores de semente e herbívoros especialistas, aumentando a taxa de mortalidade. Tal mecanismo permite a coexistência de uma grande quantidade de espécies, não provoca espaçamento regular dos indivíduos e assim, possibilita a grande biodiversidade dos trópicos (JANZEN, 1970; ARMSTRONG, 1989).

No entanto, a expansão das atividades socioeconômicas tem sido responsável por modificações dos habitats naturais. A fragmentação e a perda de hábitat são dois dos principais processos que causam efeitos negativos sobre a diversidade biológica, afetando de forma direta a riqueza de espécies (KATTAN & ALVAREZ-LÓPEZ, 1996; KELLMAN et al., 1996; LOVEJOY, 1986), a abundância e distribuição das populações (STEFFAN-DEWENTER & TSCHARNTKE, 1997; FAHRIG, 2003) e a diversidade genética das mesmas (AGUILAR et al., 2008). A dispersão de sementes também tem sido reduzida nesses ambientes (CASTRO, 2004) e, somado às evidências de que a mortalidade dependente de densidade pode estar sendo modificada em ambientes severamente perturbados, é de se esperar que se encontre nesses ambientes uma maior quantidade de indivíduos coespecíficos adensados e próximos às árvores adultas que as geraram.

As técnicas moleculares tornaram possível investigar a estruturação genética dentro e entre populações (AGUILAR et al., 2008; ASHLEY, 2010). Associados a estudos de demografia de populações, marcadores microssatélites (SSR) possibilitam uma melhor compreensão da dinâmica populacional por acessarem a variabilidade genética das populações (EPPERSON, 1992). Além disso, o conhecimento do nível de estruturação genética espacial é importante para fins de conservação *in situ* e *ex situ* (SEBBENN et al., 2008; TARAZI et al., 2010). Alguns estudos sobre estruturação genética espacial investigam a variação da diversidade genética entre as classes ontogenéticas das espécies e muitos deles têm apontado para o aumento da estruturação genética espacial em indivíduos juvenis quando comparados a adultos, sendo a principal causa a limitação da dispersão (CHUNG et al. 2003; KELLY et al. 2004; HARDESTY et al. 2005; JOLIVET et al. 2011). Dessa forma, a compreensão dos efeitos da perda de processos ecológicos em ambientes perturbados pode ser

maximizado quando se agrega ambas as abordagens.

Simarouba amara (Simaroubaceae) é uma espécie pioneira de florestas úmidas neotropicais, que pode chegar a 35 metros de altura. É dispersa por vertebrados e polinizada por pequenos insetos generalistas. Com o desenvolvido 14 marcadores microssatélites para a espécie, estudos abordando questões ecológicas puderam se beneficiar de ferramentas moleculares (HARDESTY et al., 2006; HARDESTY, et al., 2010). O fato da espécie ocorrer na Floresta Atlântica, um dos biomas mais ameaçados do mundo (MYERS et al., 2000), a torna um bom modelo para a compreensão dos mecanismos que regulam a biodiversidade. Em um dos estudos sobre a espécie foi demonstrada a ocorrência de mortalidade dependente de densidade em uma área de floresta conservada no Panamá (HARDESTY et al., 2006). Desta forma, as características e as ferramentas disponíveis para a espécie a torna um bom modelo para investigar uma possível alteração no mecanismo de mortalidade dependente de densidade em um ambiente que tem sofrido severamente com a perda de hábitat.

No presente estudo, foi avaliada a diversidade genética, estruturação genética, parâmetros demográficos e espaciais de indivíduos pertencentes a *S. amara*. Três diferentes classes de indivíduos baseadas na circunferência a altura do peito (CAP) foram coletadas em seis fragmentos florestais. Destes, três foram considerados perturbados e três formam considerados conservados. Com base nos fatores acima mencionados, a hipótese é que a perda de hábitat está alterando as interações ecológicas das populações locais, reduzindo a dispersão de sementes e amenizando a MDD. Para testar esta hipótese, foi analisada a distribuição espacial de 195 indivíduos, considerando as distâncias médias entre indivíduos e dentro e entre classes, assim a distribuição das classes nas populações. Além disso, 90 indivíduos das três classes de tamanho foram genotipados para cinco locos microssatélites e analisados quanto à diversidade e estruturação genética. Além disso, foram comparados os dados atuais com dados para uma população da espécie presente numa vegetação primária sem perturbações de uma grande reserva florestal no Panamá (HARDESTY et al., 2006).

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 PERTURBAÇÕES ANTRÓPICAS E SUAS CONSEQUÊNCIAS

A perturbação é um componente chave dos sistemas ecológicos, podendo afetar os ecossistemas em várias escalas espaciais e temporais, modificando a dinâmica e a diversidade dos mesmos (EWERS & DIDHAM, 2006; TURNER 2010). Desta maneira, exerce influência importante nas populações e comunidades, afetando uma variedade de processos que determinam os padrões de recrutamento, crescimento e mortalidade dos indivíduos. Por gerarem padrões de distribuição espaciais particulares, seus efeitos na população não são homogêneos ao longo do hábitat, fato que contribui para uma maior heterogeneidade em adição àquela já existente antes de sua ação (TURNER, 2005).

A primeira definição de perturbação foi apresentada por White & Pickett (1985): "Qualquer evento relativamente discreto no tempo que rompe o ecossistema, comunidade ou a estrutura da população e modifica a disponibilidade de recursos, substrato ou altera o ambiente físico". As perturbações são subdivididas quanto à sua origem em bióticas, abióticas, ou ainda antropogênicas, como, por exemplo, ação de pragas e patógenos (bióticos), vulcões e furacões (abióticos), e extração de madeira e transformação de áreas naturais em áreas agriculturáveis (antropogênicos) (ZWOLAK, 2009; TURNER, 2010). Apesar dos relevantes impactos negativos das perturbações, elas têm um papel crucial na formação e manutenção de comunidades ecológicas (CONNELL & SLATYER, 1977; MILLER et al., 2011) e muitas espécies são dependentes de condições pós-perturbações para sobrevivência, como por exemplo, durante a sucessão natural, quando existe uma substituição gradativa da composição da comunidade pioneira até a comunidade clímax (SWANSON et al., 2010).

Muitas perturbações agem em caráter de regimes, podendo variar de acordo com a estação, frequência, intensidade e localização (GILL, 1975; KEELEY & ZEDLER, 2009). Elas podem influenciar a evolução das espécies (POFF, 1992; GILL & BRADSTOCK, 1995; LYTLE, 2001), além da estrutura e diversidade dos ecossistemas (MILLER et al., 2011). A, ação do homem é a principal causa das modificações desses regimes (TEMPLETON et al., 2001; WILLIAMS et al., 2001; FLANNIGAN et al., 2009). Assim, a compreensão das consequências bióticas das perturbações e das mudanças dos regimes de perturbações é cada vez mais importante se quisermos antecipar cenários futuros da biodiversidade ou estabelecer programas de conservação (TURNER, 2010).

As perturbações antrópicas merecem destaque devido ao alto grau de impacto gerado

aos ecossistemas em um tempo relativamente curto. A intensificação das pesquisas sobre a dinâmica das florestas tropicais nas últimas décadas foi motivada pela rápida perda de grandes superfícies cobertas com essas formações florestais em todo mundo e pelo reconhecimento de seu grande valor (MYERS, 1988, 1990; MYERS et al., 2000). O entendimento dos atributos demográficos das populações, da estrutura e funcionamento das comunidades e da relação das espécies com o meio físico permitem a interpretação daquela dinâmica, sendo então possível prever o futuro da floresta (BAZZAZ, 1991). Entender como as perturbações antrópicas alteram o meio ambiente não é simples, pois suas alterações são muito variáveis e complexas. Além do mais, é preciso integrar a compreensão da dinâmica espacial da população e das perturbações, em escalas espaciais e temporais que nem sempre coincidem (BANKS et al., 2013).

Dentre as perturbações antrópicas, destaca-se a fragmentação de hábitat, que compreende dois processos distintos, mas não independentes: a redução de uma área contínua e a divisão desta área em diversos fragmentos (FAHRIG, 2003). Juntos esses processos transformam áreas anteriormente contínuas em paisagens alteradas progressivamente, formando pequenos remanescentes florestais, isolados uns dos outros e inseridos em uma matriz alterada pelo homem (PIRES et al., 2006).

Esses pequenos remanescentes florestais podem diferir na forma, tamanho, microclima, regime de luminosidade, solo, grau de isolamento e tipo de matriz (SAUNDERS et al., 1991). A principal consequência desta súbita alteração da paisagem é a extinção local e regional de inúmeros grupos de organismos (SILVA & TABARELLI, 2000; BIERREGAARD et al., 2001; FAHRIG, 2003), além da modificação na dinâmica de funcionamento dos ecossistemas, causando modificações nos padrões de interação e distribuição das espécies (BANCLES, 2014; MURCIA, 1995), assim como perda de atributos funcionais reprodutivos, por exemplo (GIRÃO et al., 2007). Portanto, esse processo constitui uma das maiores ameaças a biodiversidade global merecendo destaque (FAHRIG, 2003).

A fragmentação de hábitat pode trazer consequências danosas principalmente às interações ecológicas entre plantas e animais, como, por exemplo, limitando a polinização (GHAZOUL, 2005; AGUILAR et al., 2008). Desse modo, ela pode afetar o sucesso reprodutivo e o fluxo gênico de espécies arbóreas tropicais sob tais condições, isolando e reduzindo a variabilidade genética de populações e comprometendo a dinâmica dos processos ecológicos de uma comunidade e ecossistema (ALDRICH & HARMIK, 1998; CASCANTE et al., 2002; MURCIA, 2005; NAITO et al., 2008). É evidente que, a depender da espécie estudada, as respostas a determinados eventos de perturbação podem ser variáveis ou até

mesmo mascaradas. Isso se deve às características biológicas das espécies, suas estratégias e históricos de vida (EWERS & DIDHAM, 2006). Dessa maneira, se faz necessário investigar quais relações ecológicas estão sendo perdidas nas áreas que sofreram com a perturbação ambiental.

As relações ecológicas também podem afetar a resposta das espécies à fragmentação, pois existe a possibilidade de que espécies ou processos sejam perdidos após a eliminação de outra espécie no ambiente. Um exemplo foi observado por Herrera & García (2009), no qual duas espécies arbóreas dispersas por pássaros tiveram sua dispersão de sementes reduzida devido à perda de poleiros e espécies frutíferas na área de estudo em função da fragmentação. Ou ainda, o fenômeno conhecido como *Mesopredator release*, observado por Fonseca e Robinson (1990) em fragmentos de Mata Atlântica em Minas Gerais, onde se observou uma alta densidade de gambás devido à perda de seus predadores, o que poderia ter ocasionado a extinção das presas dos gambás.

As florestas tropicais representam um local ideal para estudos sobre fragmentação, pois apresentam taxas extremamente altas de destruição e, em alguns locais, já se encontram completamente subdivididas em fragmentos de variados tamanhos e formatos (GASCON et al., 1999). Este é o caso da Floresta Atlântica, que é, por sua alta diversidade de espécies e nível de endemismo, um dos complexos vegetacionais mais singulares no mundo. Portanto, representa um domínio modelo para estudos que visam compreender as respostas dos organismos à fragmentação.

2.2 A BIODIVERSIDADE DA FLORESTA ATLÂNTICA E SUA SITUAÇÃO ATUAL

A biodiversidade contribui de forma direta (produtos biológicos) e indireta (serviços ambientais) para o bem-estar do ser humano e suas relações sociais. Qualquer perda de diversidade biológica em nível de ecossistema, espécie ou população representa perda de qualidade ambiental. No final da década de 1980, dois estudos realizados por Myers (1988, 1990) demonstraram que a biodiversidade mundial tinha uma distribuição muito desigual, além de observar que os lugares que continham a maior riqueza de espécies eram também os que mais sofriam com a destruição de hábitat, influenciando decisivamente a ciência da conservação. Posteriormente os estudos foram revisados e expandidos (MITTERMEIER et al., 2000; MYERS et al., 2000), servindo como base para vários estudos de fundações e organizações internacionais (MYERS, 2003). Mittermeier et al. (2005) acrescentaram na última expansão nove *hostspots* aos 25 que Myers et al. (2000) haviam apontado. Portanto um

número total de 34 áreas do planeta são consideradas como prioritárias para a conservação da biodiversidade e dois domínios brasileiros estão inseridos, o Cerrado e a Floresta Atlântica.

Devido a seu histórico de uso, a Floresta Atlântica possui hoje menos de 8% de sua área original (CONSERVATION INTERNATIONAL et al., 2000; PINTO & BRITO, 2005). A devastação recorrente é um exemplo claro da falta de planejamento de ocupação e da utilização dos recursos naturais, principalmente madeireiros (DEAN, 1996; BARBOSA, 2006), o que resultou em milhões de hectares de áreas de florestas convertidas em pastagens, lavouras e centros urbanos (MYERS et al., 2000; GALINDO-LEAL & CÂMARA, 2003). A severidade das alterações deste domínio aumentou drasticamente no século passado, especialmente pela alta fragmentação do hábitat, com consequente redução e pressão sobre sua biodiversidade (PINTO et al., 2006). Em um estudo feito por Girão et al. (2007) no Estado de Alagoas no Nordeste brasileiro, em fragmentos bastante degradados de Mata Atlântica inseridos em uma matriz de cana-de-açúcar, sugeriu-se que a fragmentação do hábitat promove uma mudança acentuada na abundância relativa de árvores, características reprodutivas e reduz a diversidade funcional de suas assembléias. Dessa maneira, fica evidente a necessidade de estudos que levem à compreensão da dinâmica florestal pós-perturbação a fim de que se tomem decisões melhor embasadas com relação à conservação e restauração florestal.

2.3 ESTRUTURA POPULACIONAL DE PLANTAS E MORTALIDADE DEPENDENTE DE DENSIDADE

A estrutura populacional de uma espécie se refere tanto às proporções de indivíduos em diferentes classes de tamanho ou de idade e à densidade e distribuição espacial desses indivíduos nas áreas de ocorrência, ou seja, sua estrutura demográfica, quanto à distribuição de frequências gênicas nessas populações, sua estrutura genética. Ela resulta da ação de fatores bióticos e abióticos a que seus membros foram expostos no passado (HUTCHINGS, 1997). Portanto, trata-se de uma informação muito importante, podendo ser utilizada em estudos sobre regeneração natural, dinâmica pós-perturbações (VACEK & JAN, 1996) e relações ecológicas entre espécies, tais como competição (DUNCAN, 1991) e dispersão (COLLINS, 1991). O conhecimento do padrão espacial de uma população é o primeiro passo para o entendimento dos processos ou fatores que determinam a distribuição dos indivíduos da população (LIEBHOLD & GUREVITCH, 2002; PERRY et al., 2002). O grau de agregação ou dispersão dos indivíduos é uma informação importante para o entendimento de

como uma espécie usa determinado recurso ou como ela é usada como recurso, assim como para a compreensão de sua biologia reprodutiva (CONDIT et al., 2000).

Com o intuito de explicar o padrão espacial e a biodiversidade observada nos trópicos, muitas hipóteses têm sido testadas através dos anos. Aparentemente não se apresentam num contexto de um processo singular e nem de teoria unificada que explique a complexidade do fenômeno. Dentre as mais relevantes se tem a hipótese de Fischer (1960), conhecida como a hipótese do tempo, onde destaca os trópicos como sendo mais antigos e, portanto, as espécies que ocorrem lá teriam tido mais tempo para evoluírem e ainda discute que as espécies de climas mais quentes teriam taxas de evolução maiores. Outra hipótese relevante é a da heterogeneidade de habitat desenvolvida inicialmente por MacArthur & MacArthur (1961), considera que ambientes mais heterogêneos disponibilizariam mais recursos, o que acarretaria em maior número de nichos, suportando maior diversidade de espécies do que ambientes mais simples. Facilmente observado nos ecossistemas dos trópicos que freqüentemente apresentam grande diversidade de habitats e de formas de vida. Também se destaca a hipótese da estabilidade climática de Sanders (1969), ela considera as glaciações como sendo elemento chave para diversidade biológica e aponta que os trópicos foram menos influenciados por tal perturbação. Ainda podemos destacar a hipótese de competição de Dobzhansky (1950), afirma que nos trópicos haveria maior competição entre os organismos o que induziria uma crescente especialização no uso dos recursos disponíveis. Todas as hipóteses citadas acima são baseadas no gradiente latitudinal e todas demonstram que a biodiversidade é inversamente proporcional a latitude.

Uma hipótese que se sobressai na atualidade é a Janzen (1970) e Connell (1971) que propuseram, de maneira independente, um modelo que veio a se tornar um paradigma em ecologia: o "Modelo de Janzen-Connell". Ele propõe que a mortalidade de sementes e plântulas é fortemente dependente da densidade coespecífica e, portanto, deve ser bem mais alta perto da planta-mãe, do que mais afastado dela. O processo proposto por estes autores considera a pressão exercida por patógenos (especialmente fungos) e predadores (herbívoros). Este modelo foi amplamente aceito, apesar de, na época, não se ter muitas evidências empíricas para suportá-lo. Atualmente muitos trabalhos corroboram a mortalidade não aleatória de plântulas e sementes, inclusive em áreas não tropicais, como hipótese válida (BELL et al., 2006; NORGHAUER et al., 2006; COMITA & HUBBELL, 2009; JOHNSON et al., 2012).

A mortalidade dependente de densidade em plantas é um dos principais responsáveis pela manutenção da biodiversidade em florestas tropicais (PETER, 2003; LEIGH et al.,

2004). Este mecanismo permite uma maior coexistência de espécies, tendo em vista que espécies que ocorrem mais comumente em algumas regiões estarão sofrendo mais intensamente o efeito desse mecanismo, resultando em uma vantagem para espécies raras (CONNELL et al., 1984). Os predadores e patógenos naturais, como fungos e insetos predadores de sementes e herbívoros, são os elementos chave causadores da mortalidade de sementes e plântulas (BELL et al., 2006; BAGCHI et al., 2014). Estas fases de crescimento são importantes para a estruturação das populações, porque durante esses estágios a mortalidade pode ser muito elevada. Um crescente corpo de evidências sugere que um grande número de espécies são afetadas pela dependência da densidade em florestas tropicais (HARMS et al., 2000; PETERS, 2003), embora não esteja claro se esta dependência é provocada pela ação de patógenos ou outros agentes. Segundo Clark & Clark (1984), caso exista um efeito da distância sobre as probabilidades de recrutamento, isso deve ser refletido na distância média entre os indivíduos nas diferentes fases ontogenéticas. Em espécies com alta taxa de mortalidade denso-dependente, o padrão espacial de adultos tende a ser menos agregado do que o de plântulas (CRAWLEY, 1986).

A distribuição espacial de indivíduos maduros depende da influência de fatores de mortalidade e do padrão espacial de recrutamento (CRAWLEY, 1986). Em plantas, a estruturação de uma população também reflete, portanto, os padrões de dispersão de pólen e sementes. Apesar da importância da dispersão para a ecologia de plantas e dinâmica de comunidades (CLARK et al., 1999; HAMILTON, 1999; HARMS et al., 2000), o estudo destes processos sempre foi um desafio. Várias tentativas utilizando armadilhas para estudar a polinização (GREENWOOD, 1986; CARON & LEBLANC, 1992) e dispersão (FORGET & WENNY, 2005; XIAO et al., 2006), se mostraram bastante complexas. Por outro lado, a atribuição de paternidade, por meio do uso de marcadores moleculares na genotipagem de plantas adultas e sua progênie, atua de forma direta, pois refaz, por exemplo, o caminho de um grão de pólen que resultou em uma fertilização bem sucedida. Em sua revisão, Ashley (2010), reforça a aplicação dos microssatélites de DNA na ecologia vegetal por ser um marcador molecular preciso o suficiente para atribuir a paternidade de sementes e plântulas já estabelecidas, permitindo aos pesquisadores determinar que distância os novos recrutas têm viajado a partir de seus progenitores. Isso possibilita um melhor entendimento da ecologia de plantas e dinâmica da comunidade.

2.4 FLUXO GÊNICO E FRAGMENTAÇÃO DE HÁBITAT

As populações evoluem através da ação da seleção, mutação, migração (fluxo gênico) e deriva, uma vez que a evolução está relacionada, em seu nível mais básico, com a mudança na composição genética de uma população (FRANKHAM et al., 2004). É, portanto, essencial compreender essas forças e seu papel no direcionamento evolutivo dos organismos. Podemos destacar o fluxo gênico como sendo um processo que pode rapidamente restaurar a diversidade genética com seu potencial de mistura dos alelos de duas ou mais populações geneticamente diferenciadas. Sabe-se que a variação nas características dos organismos de uma população surge por meio de mutação aleatória de sequências de DNA e essas podem gerar consequências significativas na sobrevivência ou na reprodução dos organismos. Uma mutação num gene gera potencialmente um novo alelo e o movimento de organismos ou gametas seguido de cruzamento (fluxo gênico) distribui esse novo alelo entre as populações (FUTUYMA, 2002).

A perda do fluxo gênico por isolamento geográfico e reprodutivo, por exemplo, pode levar à especiação, uma vez que as populações isoladas passam por histórias diferentes de deriva, seleção natural e mutação (COYNE & ORR AH., 2004; WIDMER et al., 2009; JEWELL et al., 2012). Segundo Futuyma (2002), os diversos mecanismos evolutivos interagem de maneiras complexas. Portanto, quando eventos de perturbação, como a fragmentação de hábitat, influenciam ou modificam os processos naturais de evolução, torna-se necessária compreensão das possíveis respostas biológicas.

Dentre as várias consequências da fragmentação, merecem destaque a diminuição do fluxo gênico, causada pelo impedimento da dispersão de animais, pólen, esporos, sementes e propágulos, e o consequente isolamento de populações; a redução na taxa de heterozigose por diminuição da diversidade genética e endogamia e a erosão genética das espécies (NOSS, 1987). Em termos de Florestas Tropicais, a fragmentação de hábitat também é a causa principal da perda acentuada da biodiversidade (TABARELLI et al., 1999). Árvores tropicais são particularmente vulneráveis aos efeitos das perturbações do hábitat devido às suas características demográficas e reprodutivas, incluindo baixa densidade de ocorrência, complexos sistemas de acasalamento, as altas taxas de fecundação cruzada (CASCANTE et al., 2002) e as interações íntimas com polinizadores e dispersores de sementes (DIDHAM et al., 1996; DICK et al., 2003; WARD et al., 2005). Esse fato dificulta a viabilidade do fluxo gênico entre populações, podendo atuar em conjunto com a deriva genética e levar à perda de diversidade em populações pequenas (FRANKHAM et al., 2004).

2.5 GENÉTICA DA CONSERVAÇÃO

Nesse contexto, teve início da década de 1980 uma ciência conhecida atualmente como biologia da conservação (SOULÉ & WILCOX, 1980). Inserido intimamente no contexto da biologia da conservação está o campo da genética da conservação, ligado diretamente à genética de populações e à biologia molecular. Assim, a genética da conservação tem como objetivo principal ter acesso a dados de diversidade genética de populações que sofreram impacto antrópico, servindo como base para a compreensão dos processos populacionais e evolutivos relevantes para a conservação dessas espécies ameaçadas (SCHONEWALD-COX et al., 1983; AVISE et al., 1996; SOLÉ-CAVA, 2001). Dessa forma, é uma sub-disciplina da ecologia molecular, que revolucionou os estudos ecológicos através de ferramentas de biologia molecular. Os métodos para caracterizar geneticamente os indivíduos, as populações e espécies se tornaram quase uma rotina e têm fornecido uma riqueza de novos dados sobre a ecologia e evolução de plantas, animais, fungos, algas e bactérias (FREELAND, 2005). As aplicações práticas da ecologia molecular são amplas e variadas (FREELAND et al., 2011), como a utilização de dados genéticos na filogeografia a fim de determinar a origem e possíveis rotas de organismos bioinvasores que têm causado estragos ecológicos e financeiros (VERNIÈRE et al., 2013), o fluxo de pólen a longas distâncias em espécies arbóreas tropicais (WARD et al., 2005), a influência das perturbações antrópicas sobre as mudanças genéticas de árvores tropicais (LOWE et al., 2005), a capacidade de plantas hospedeiras levarem insetos fitófagos à especiação (JOUSSELIN et al., 2013), ou até mesmo os padrões de dispersão e o fluxo gênico em mosquitos e outros vetores de doenças como a malária e dengue (TRIPET et al., 2005).

Apesar da evolução dos marcadores moleculares que auxiliam nos estudos ecológicos, muito ainda se espera das interpretações e análises dos dados gerados. Segundo Karl et al. (2012), ao mesmo tempo que a ecologia molecular cresce, equívocos são publicados na literatura e são perpetuados pela rotina das citações de artigos. Esses equívocos dificultam uma melhor compreensão dos processos que influenciam a variação genética em populações naturais e, por vezes, levam a conclusões errôneas. Em um artigo de revisão, Kramer et al. (2008) afirmaram que a teoria de genética de populações pode ser mal aplicada à luz da realidade ecológica. Como exemplo, destacam que embora teoricamente a fragmentação de hábitat leve a uma grande perda de diversidade genética devido à deriva genética e endogamia, a fragmentação pode não ser uma barreira significativa para espécies arbóreas que se beneficiam de polinização e dispersão de sementes a longa distância. Esse é o caso de

Cercidiphyllum japonicum, árvore dióica que cresce naturalmente em baixas densidades, mas que, devido à longa distância de polinização e dispersão de sementes, pode ser bastante resistente à fragmentação (SATO et al., 2006). Desta forma, são necessários estudos integrados envolvendo análises genéticas e ecológicas para se gerar conclusões mais concretas e definitivas (KARL et al., 2012).

2.5.1 MARCADORES MOLECULARES

Os marcadores moleculares são baseados em polimorfismos na cadeia de DNA com herança mendeliana simples e fácil reconhecimento, não sendo influenciados pelo ambiente e podendo ser usados para avaliar as diferenças genéticas entre indivíduos (BERED et al., 1997). São amplamente utilizados para estudos de genética populacional (LAST et al., 2013), mapeamento genético, e análises de similaridade e distância genética (NEELY et al., 2010; ALVES et al., 2013). Além disso, são úteis para identificar a variabilidade genética de acessos de plantas ou em estudos de sistemática filogenética (GAMA et al., 2013; RABEY et al., 2013). As técnicas de detecção de polimorfismos no DNA tiveram impulso após o surgimento da tecnologia do DNA recombinante e da amplificação da molécula de DNA por PCR (*Polymerase Chain Reaction*), sendo que ambas ajudaram a tornar o uso dos marcadores moleculares potencialmente ilimitado.

Os marcadores moleculares são ferramentas importantes em estudos de estrutura populacional, podendo subsidiar estratégias de conservação visando maximizar a diversidade genética e delimitar adequadamente as unidades de manejo de espécies ameaçadas ou vulneráveis (EDMANDS, 2007). Dentre as variações da técnica de análise de polimorfismos no DNA, as mais utilizadas, estão: *Random Amplified Polymorphic DNA* (RAPD), *Single Nucleotide Polymorphism* (SNP), *Amplified Fragment Length Polymorphism* (AFLP), *Restriction Fragment Length Polymorphism DNA* (RFLP), *Minissatélites ou Variable Number of Tandem Repeats* (VNTR), Microssatélites ou *Short Tandem Repeats* (STRs). O último marcador, também conhecido como SSRs (do inglês, *Simple Sequence Repeats*), tem se tornado um dos marcadores genéticos mais populares nas últimas décadas e desde os primeiros estudos utilizando a PCR já se apresentava bastante versátil (LITT & LUTY, 1989; TAUTZ, 1989; WEBER & MAIO, 1989). É tido como um marcador codominante por permitir distinguir os padrões de bandas dos homozigotos em relação ao padrão do heterozigoto, possibilitando estimativas das frequências alélicas (ELLEGREN, 2004; SOLÉ-CAVA, 2004). São multialélicos, com alto polimorfismo intraespecífico, além de possuírem

uma distribuição aleatória no genoma, apresentando o maior conteúdo informativo por loco entre todas as classes de marcadores moleculares (FERREIRA & GRATTAPAGLIA, 1996; GOLDSTEIN & SCHLOTTERER, 1999; SELKOE & TOONEN, 2006).

Os microssatélites são pequenos trechos de sequência de DNA em que um motivo de um a seis nucleotídeos é repetido em tandem diversas vezes, como (ATG)n (NYBOM, 2004). Essas sequências podem diferir em número de repetições entre os indivíduos, sendo, portanto, usadas para a identificação de indivíduos e testes de paternidade (SCHLÖTTERER, 2000). Para análise desses marcadores, utilizam-se oligonucleotídeos iniciadores (*primer*s) complementares às regiões que flanqueiam o motivo repetido. Por isso é necessário conhecimento parcial da sequência genômica de uma espécie de modo a estabelecer locos SSR para análises genéticas. Vários locos de microssatélites têm sido publicados para espécies de plantas e inseridos no GenBank, banco de dados internacional de sequência de nucleotídeos, fato que facilita a utilização dos mesmos em ecologia molecular em todo o mundo. Desta forma, esses marcadores têm sido utilizados na comparação de padrões genéticos entre ambientes perturbados e não perturbados para entender de que forma a distribuição espacial da variabilidade genética tem sido alterada em ambientes que sofreram com a fragmentação de hábitat.

2.5.2 PERDA DE DIVERSIDADE GENÉTICA

Os marcadores moleculares são bastante informativos em estudos sobre a diversidade genética dos organismos. A diversidade genética, um dos parâmetros da biodiversidade, influencia a adaptabilidade dos indivíduos, a viabilidade das populações e a evolução das espécies frente às mudanças ambientais, podendo estar relacionada à origem de novas espécies, à estrutura das comunidades e à função dos ecossistemas (YOUNG et al., 1996). Muitos estudos sobre as consequências da fragmentação de paisagens de florestas contínuas apontam para a redução do tamanho populacional e aumento do isolamento como potenciais alteradores da estrutura demográfica, do sistema de cruzamento, da diversidade genética e da viabilidade das espécies (BANKS et al., 2013). Segundo Frankham et al. (2004), o fato de muitas espécies terem sofrido gargalos populacionais ou passado longos períodos em tamanhos populacionais pequenos tem como consequência a perda da diversidade genética e perda de potencial evolutivo.

Populações que passaram por eventos de deriva genética, como gargalo genético, ou depressão endogâmica apresentaram perda de diversidade genética, diminuição da taxa de

heterozigose, baixo vigor reprodutivo e baixa habilidade para evoluir (CHARLESWORTH & WILLIS, 2009; QIU et al., 2013; ZHAO et al., 2014). No entanto, tem sido muito difícil provar a existência de associação direta entre a diminuição da diversidade genética e as perturbações antrópicas (KRAMER et al., 2008; NOREEN & WEBB, 2013). Kramer et al. (2008) argumentaram que um fragmento pode não representar o limite para cruzamento de algumas populações e que, portanto, a teoria da genética de populações pode ser mal aplicada se não forem considerados determinados aspectos ecológicos. Desse modo, os fragmentos podem não constituir populações isoladas e, portanto, nesse caso, não há justificativa para esperar rápida perda de variabilidade genética em espécies encontradas em fragmentos florestais. Dessa forma, é imprescindível que a análise da diversidade genética nos níveis intra e interespecíficos, levem em consideração as relações ecológicas para o conhecimento e o monitoramento da biodiversidade.

2.6 *SIMAROUBA AMARA*

Simarouba amara é uma espécie pioneira, dióica, com polinização feita por pequenos insetos generalistas e síndrome de dispersão zoocórica, realizada por alguns vertebrados (BAWA, 1990; HARDESTY, 2005). É uma espécie neotropical, podendo ser encontrada em florestas tropicais e savanas das America Central, America do Sul e Caribe. Mais precisamente seus limites são: para norte, a Guatemala, para sul, a Bolívia, para oeste, o Equador e para leste, o Brasil (FRANCESCHINELLI et al., 1998). Já foi utilizada com espécie modelo em estudos ecológicos que envolveram análises com marcadores moleculares, uma vez que 14 locos de microssatélites foram desenvolvidos para a espécie (RODRIGUEZ et al., 2000).

Um dos estudos mostrou que a distância de dispersão média das sementes é subestimada quando se utiliza dados de armadilha de sementes, uma vez que, por não se saber de qual indivíduo a semente foi gerada, o adulto fértil mais próximo é apontado como provável parental (HARDESTY et al., 2005). Num estudo seguinte, os autores conseguiram atribuir a paternidade para a maioria das plântulas com a análise de cinco regiões microssatélites, mostrando a eficácia do método. Seus resultados sugeriram que efeitos previstos no modelo de Janzen-Connell influenciam a distribuição de plântulas de *S. amara* na área de estudo, ou seja, sementes e mudas tiveram menos chance de sobreviver sob as árvores-mãe. O estudo ainda sugeriu um efeito genético não previsto por Janzen-Connell, pois a distância entre indivíduos geneticamente relacionados foi significativamente maior do que

as distâncias entre os indivíduos não aparentados. Ou seja, os indivíduos próximos a uma planta adulta não eram de sua progênie, evidenciando uma possível mortalidade não apenas denso-dependente, mas também genótipo-dependente (HARDESTY et al., 2006).

Em outro estudo mais recente, Hardesty et al. (2010) analisaram a estruturação genética de *S. amara* em escala local, regional e continental utilizando os mesmo locos microssatélites do estudo anterior. Avaliaram 478 indivíduos distribuídos em 14 populações e detectaram uma moderada diferenciação genética geral, estando 94% da variação genética entre regiões (America Central, Oeste do Equador e Bacia Amazônica). Não houve evidência de isolamento por distância dentro de regiões, mas entre as regiões foi destacada a importante barreira geográfica que é a Cordilheiras dos Andes para a espécie. Desta forma, as características e as ferramentas disponíveis para a espécie a torna um bom modelo para um estudo que pretende aprofundar o entendimento dos mecanismos de mortalidade dependente de densidade e dispersão em ambientes de floresta tropical que sofreram com a fragmentação de hábitat.

3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGUILAR, R.; QUESADA, M.; ASHWORTH, L.; HERRERIAS, D.Y. & LOBO, J. 2008. Genetic consequences of hábitat fragmentation in plant populations: susceptible signals in plant traits and methodological approaches. Molecular Ecology 17:5177–5188.

ALDRICH, P.R. & HAMRICK, J.L. 1998. Reproductive dominance of pasture trees in a fragmented tropical forest mosaic. Science 281:103–105.

ARMSTRONG, R.A. 1989. Competition, seed predation, and species coexistence. Journal of Theoretical Biology 141:191–195.

ASHLEY, M.V. 2010. Plant Parentage, Pollination, and Dispersal: How DNA Microsatellites Have Altered the Landscape. Critical Reviews in Plant Sciences 29:148–161.

AVISE, J.C. 1996. Introduction: the scope of conservation genetics. In: Avise, J.C. & Hamrick, J.L. (eds.). Conservation Genetics: Case Histories from Nature. Chapman e Hall, New York.

BANKS, S.C.; CARY, G.J. ANNABEL L. SMITH, A.L.; DAVIES, I.D. DRISCOLL, GILL, A.M.; LINDENMAYER, D.B & PEAKALL R. How does ecological disturbance influence genetic diversity? Trends in Ecology & Evolution 28(11):670–679.

BARBOSA, K.C. & PIZO, M.A. 2006. Seed Rain and Seed Limitation in a Planted Gallery Forest in Brazil. Restoration Ecology 14(4):504–515.

BAWA, K.S. 1990. Plant–pollinator interactions in tropical rain forests. Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematic 21:399–422.

BAZZAZ, T.A. 1991. Regeneration of tropical Forest; physiological responses of pioneer and

secondary species. pp. 91–118. In: Pomp, G.A.; Whitmore, T.C. & Hadley. M. Rain Forest Regeneration and Management. Man and biosphere Series.

BELL, T.; FRECKLETON. R.P. & LEWIS, O.T. 2006. Plant pathogens drive density-dependent seedling mortality in a tropical tree. Ecology Letters 9(5): 569–74.

BERED, F.; BARBOSA, J.F.N. & CARVALHO, F.I.F. 1997. DNA markers and their application in plant breeding. Ciência Rural, Santa Maria 27(3):513–520.

BIERREGAARD, R.O.; GASCON, C.; LOVEJOY, T.E. & MESQUITA, R. 2001. Lessons from Amazonia: The Ecology and Conservation of a Fragmented Forest. Yale University Press, New Haven.

BODARE, S.; TSUDA, Y.; RAVIKANTH, G.; UMA SHAANKER, R. & LASCOUX M. 2013. Genetic structure and demographic history of the endangered tree species *Dysoxylum malabaricum* (Meliaceae) in Western Ghats, India: implications for conservation in a biodiversity hotspot. Ecology and Evolution 3(10):3233–3248.

CARON, G.E. & LEBLANC, R. 1992. Pollen contamination in a small black spruce seedling seed orchard for three consecutive years. Forest Ecology and Management 53:245–261.

CASCANTE, A.; QUESADA, M.; LOBO, J.J. & FUCHS, E.A. 2002. Effects of dry tropical forest fragmentation on the reproductive success and genetic structure of the tree *Samanea saman*. Conservation Biology 16:137–147.

CASTRO, G.C. 2004. Análise da estrutura, diversidade florística e variações espaciais do componente arbóreo de corredores de vegetação na região do Alto Rio Grande. Dissertação de Mestrado em Engenharia Florestal. Universidade Federal de Lavras, Lavras.

CEBALLOS, G. & EHRLICH, R. 2002. Mammal population losses and the extinction crisis. Science 296:904–907.

CHARLESWORTH, D. & WILLIS, J.H. 2009. The genetics of inbreeding depression. Nature Reviews Genetics 10:783–796.

CLARK, D.A. & CLARK, D.B. 1984. Spacing dynamics of a tropical rain forest tree: Evaluation of the Janzen-Connell Model. American Naturalist 124:769–788.

CLARK, J.S.; SILMAN, M.; KERN, R.; MACKLIN, E. & HILLERISLAMBERS, J. 1999. Seed dispersal near and far: generalized patterns across temperate and tropical forests. Ecology 80:1475–1494.

COLLINS, S.L. & KLAHR, S.C. 1991. Tree dispersion in oak-dominated forest along an environmental gradient. Oecologia 86:471–477.

COMITA, L.S. & HUBBELL, S.P. 2009. Local neighborhood and species shade tolerance influence survival in a diverse seedling bank. Ecology 90(2):328–334.

CONDIT, R.; ASHTON, P.S.; BAKER, P.; BUNYAVEJCHEWIN, S.; GUNATILLEKE, S.; GUNATILLEKE, N.; HUBBELL, S.P.; FOSTER, R.B.; ITOH, A.; LAFRANKIE, J.V.; LEE, G.S.; LOSOS, E.; MANOKARAN, N.; SUKUMAR, R. & YAMAKURA, T. 2000. Spatial Patterns in the Distribution of Tropical Tree Species Richard. Science 288: 1414–1418.

CONNELL, J.H. & SLATYER, R.O. 1977. Mechanims of Succession in Natural Communities and Their Role in Community Stability and Organization. The American Naturalist 111(982):1119–1144.

CONNELL, J.H. 1971. On the role o natural enemies in preventing competitive exclusion in some marine animals and in rain forest trees. pp.298–312. In: Den Boer, P.J. & Gradwell, G.R. (eds.). Dynamics of number in populations. Centre for Agricultural Publishing and Documentation, Wageningen, The Netherlands.

CONNELL, J.H.; TRACEY, J.G. & WEBB, L.J. 1984. Compensatory recruitment, growth, and mortality as factors maintaining rain-forest tree diversity. Ecological Monographs 54:141–164.

CONSERVATION INTERNATIONAL DO BRASIL, FUNDAÇÃO SOS MATA ATLÂNTICA, FUNDAÇÃO BIODIVERSITAS, INSTITUTO DE PESQUISAS ECOLÓGICAS, SECRETARIA DO MEIO AMBIENTE DO ESTADO DE SÃO PAULO. 2000. Avaliação e ações prioritárias para a conservação da biodiversidade da Mata Atlântica e Campos Sulinos. Ministério do Meio Ambiente. Brasília.

COOMES, D.A.; REES, M. & TURNBULL, L. 1999. Identifying aggregation and association in fully mapped spatial data. Ecology 80:554–565.

COYNE, J.A. & ORR, H.A. 2004. Speciation. MA: Sinauer Associates, Sunderland.

CRAWLEY, M.J. 1986. Plant Ecology. Blackwell Scientific Publications, Oxford.

DEAN, W. A ferro e fogo: a história e a devastação da Mata Atlântica brasileira. Companhia das Letras, São Paulo.

DICK, C.W.; ETCHELECU, G. & AUSTERLITZ, F. 2003. Pollen dispersal of tropical trees (*Dinizia excelsa*: Fabaceae) by native insects and African honeybees in pristine and fragmented Amazonian rainforest. Molecular Ecology 12:753–764.

DIDHAM, R.K.; GHAZOUL, J.; STORK, N.E. & DAVIS. A.J. 1996. Insects in fragmented forest: a functional approach. Trends in Ecology & Evolution 11:255–260.

DOBZHANSKY, T. 1950. Evolution in the tropics. American Scientist 38:209–221.

DUNCAN, R.D. 1991. Competition and the coexistence of species in a mixed podocarp stand. Journal of Ecology 79:1073–1084.

EDMANDS, S. 2007. Between a rock and a hard place: evaluating the relative risks of inbreeding and outbreeding for conservation and management. Molecular ecology 16:463–475.

EHRLICH, P.R. & HOLDREN, J.P. 1971. Impact of population growth. Science 171:1212–1217.

EHRLICH, P.R. 1971. The Population Bomb. Ballantine Books, New York.

ELLEGREN, H. 2004. Microsatellites: simple sequences with complex evolution. Nature Reviews Genetics 5:435–445.

EL-RABEY, H.; ABDELLATIF, K.F.; EBRAHIM, M.K.; ABBAS, N.; KHAN, J.A. & KOMOR,

E. 2013. Phylogenetic relationships between Mediterranean and middle-Asian wild species of the genus *Hordeum* L. as revealed by biochemical and molecular markers. Pakistan journal of biological sciences 16(4):168–174.

EWERS, R.M. & DIDHAM, R.K. 2006. Confounding factors in the detection of species responses to hábitat fragmentation. Biological Reviews 81:117–142.

FAHRIG, L. 2003. Effects of hábitat fragmentation on biodiversity. Annual Review of Ecology, Evolution and Systematic 34:487–515.

FERREIRA, M.E. & GRATTAPAGLIA, D. 1996. Introdução ao Uso de Marcadores Moleculares em Análise Genética. 2ª. ed. EMBRAPA/CENARGEN.

FISCHER, A.G. 1960. Latitudinal variation in organic diversity. Evolution 14:64–81.

FLANNIGAN, M.D. et al. 2009. Implications of changing climate for global wildland fire. International Journal of Wildland Fire 18:483–507.

FLANNIGAN, M.D.; KRAWCHUK, M.A.; GROOT, W. J.; WOTTON, B.M. & GOWMAN, L.M. 2009. Implications of changing climate for global wildland fire. International Journal of Wildland Fire 18:483–507.

FORGET, P.M. & WENNY, D. 2005. How to elucidate seed fate? A review of methods used to study seed removal and secondary seed dispersal. pp. 379–393. Forget, P.M.; Lambert, J.; Hulme, P.E. & Vander Wall, S.B. (eds.). In: Seed Fate: Seed Predation, Seed Dispersal and Seedling Establishment. CABI, Publishing, Wallingford.

FRANCESCHINELLI, E.V.; YAMAMOTO, K.& SHEPHERD, G.J.1998. Distinctions among Three *Simarouba* Species. In: Systematic Botany. American Society of Plant Taxonomists (ASPT), Laramie, 23(4):479–488

FRANKHAM, R.; BALLOU, J.D. & BRISCOE, D.A. 2004. A *primer* of conservation genetics. Cambridge University Press, Cambridge.

FREELAND, J.R. 2005. Molecular Ecology. John Wiley & Sons, Chichester.

FREELAND, J.R.; H. KIRK, S.; PETERSEN. 2011. Molecular Ecology, 2nd edição. John Wiley & Sons, Chichester.

FUTUYMA, D. J. 2002. Biologia evolutiva. 2 ed. FUNPEC–RP, Ribeirão Preto.

GALINDO-LEAL, C. & CÂMARA, I.G. 2003. The Atlantic Forest of South America: biodiversity status, threats, and outlook. Island Press, Washington.

GAMA, R.N.C.S.; SANTOS, C.A.F. & DIAS, R.C.S. 2013. Genetic variability of watermelon accessions based on microsatellite markers. Genetics and Molecular Research 12(1):747–754.

GASCON, C.; LOVEJOY, T.E.; BIERREGAARD, R.O.; MALCOLM, J.R.; STOUFFER, P.C.; VASCONCELOS, H.L.; LAURANCE, W.F.; ZIMMERMAN, B.; TOCHER, M. & BORGES, S. 1999. Matrix hábitat and species richness in tropical forest remnants. Biological Conservation 91:223–229.

GHAZOUL, J. 2005. Pollen and seed dispersal among dispersed plants. Biological Reviews 80:413–443.

GILL, A.M. & BRADSTOCK, R. 1995. Extinction of biota by fires. pp. 309-322. In: BRADSTOCK, R.A.; AULD, T.D.; KEITH, D.A.; KINGSFORD, R.T.; LUNNEY, D. & SIVERTSEN, D.P. (eds.). Conserving biodiversity: threats and solutions. Chipping Norton, Australia, Surrey Beatty and Sons.

GILL, A.M. 1975. Fire and the Australian flora: a review. Australian Forestry 38:4–25.

GIRÃO L.C.; LOPES, A.V.; TABARELLI, M. & BRUNA, E.M. 2007. Changes in tree reproductive traits reduce functional diversity in a fragmented Atlantic forest landscape. Plos One 2:e980.

GOLDSTEIN, D.B. & SCHLÖTTERER, C. 1999. Microsatellites: evolution and applications. Oxford University Press, Oxford

GREENWOOD, M.S. 1986. Gene exchange in loblolly pine: the relation between pollination mechanism, female receptivity and pollen availability. American Journal of Botany 73:1443–1451.

HAMILTON, M.B. 1999. Tropical tree gene flow and dispersal. Nature 401:129–130.

HARDESTY, B.D.; DICK, C.W.; HAMRICK, J.L.; DEGEN, B.; HUBBELL, S.P. & BERMINGHAM, E. 2010. Geographic Influence on Genetic Structure in the Widespread Neotropical Tree *Simarouba amara* (Simaroubaceae). Tropical Plant Biology 3:28–39

HARDESTY, B.D.; DICK, C.W.; KREMER, A.; HUBBELL, S. & BERMINGHAM, E. 2005. Spatial genetic structure of Simarouba amara Aubl. (Simaroubaceae), a dioecious, animal-dispersed Neotropical tree, on Barro Colorado Island, Panama. Heredity 95:290–297.

HARDESTY, B.D.; HUBBELL, S. & BERMINGHAM, E. 2006. Genetic evidence of frequent long-distance recruitment in a vertebrate-dispersed tree. Ecological Letters 9:516–525.

HARMS, K.E.; WRIGHT, S.J.; CALDERON, O.; HARNANDEZ, A. & HERRE, E.A. 2000. Pervasive density-dependent recruitment enhances seedling diversity in a tropical forest. Nature 404:493–495.

HUTCHINGS, M.J. 1997. The structure of the plant populations. pp. 325-358. In: Crawley, M.J. (ed.). Plant Ecology. Blackwell Scientific, Oxford.

JANZEN, D.H. 1970. Herbivores and the number of tree species in tropical forests. American Naturalist 104:501–526.

JEWELL, C.; PAPINEAU, A.D.; FREYRE, R. & MOYLE, L.C. 2012. Patterns of reproductive isolation in Nolana (*Chilean bellflower*). Evolution 66(8):2628–2636.

JOHNSON, D.J.; BEAULIEU, W.T.; BEVER, J.D. & CLAY, K. 2012. Conspecific negative density dependence and forest diversity. Science 336:904–907.

JOUSSELIN, E.; CRUAUD, A.; GENSON, G.; CHEVENET, F.; FOOTTIT, R.G & ARMELLE COEUR D‟ACIER, A. 2013. Is ecological speciation a major trend in aphids? Insights from a

molecular phylogeny of the conifer-feeding genus *Cinara*. Frontiers in Zoology 10(56):1–18.

KARL, S.A.; TOONEN, R.J.; GRANT, W.S. & BOWEN, B.W. 2012. Common misconceptions in molecular ecology: echoes of the modern synthesis. Molecular Ecology 21:4171–4189.

KATTAN, G. & ALVAREZ-LÓPEZ, H. 1996. Preservation and management of biodiversity in fragmented landscapes in the Colombian Andes. pp. 3–18. In: SCHELLAS, J.; GREENBERG, R. (eds.). Forest patches in tropical landscapes. University Island Press, London.

KEELEY, J.E. & ZEDLER, P.H. 2009. Large, high-intensity fire events in southern California shrublands: debunking the fine-grain age patch model. Ecological Applications 19:69–94.

KELLMAN, M.; TACKABERRY, R.; MEAVE, J. 1996. The consequences of prolonged fragmentation: lessons from tropical gallery forests. pp.37–58. In: SCHELLAS, J. & GREENBERG, R. (eds.). Forest patches in tropical landscapes. University Island Press, Washington.

KRAMER, A.T.; ISON, J.L.; ASHLEY, M.V. & HOWE, H.F. 2008. The paradox of forest fragmentation genetics. Conservation Biology 22:878–885.

LEIGH, E.G.J.R.; DAVIDA. R.P.; DICK, C.W.; PUYRAVAUD, J.P.; TERBORGH, J.; TER STEEGE, H.; WRIGHT, S.J. 2004. Why do some tropical forests have so many species of trees? Biotropica 36:447–473.

LIEBHOLD, A.M. & GUREVITCH, J. 2002. Integrating the statistical analysis of spatial data in ecology. Ecography 25: 553–557.

LITT, M. & LUTY J.A. 1989. A hypervariable microsatellite revealed by in vitro amplification of a dinucleotide repeat within the cardiac muscle actin gene. The American Journal of Human Genetics 44:397–401.

LOVEJOY, T.E.; BIERREGAARD, R.O.; RYLANDS, A.B.; MALCOLM, J.R.; QUINTELA, C.E.; HARPER, L.H.; BROWN, K.S.; POWELL, A.H.; POWELL, G.V.N.; SCHUBART, H.O.R. & HAYS, M.B. 1986. Edge and other effects of isolation on Amazon forest fragments pp.257–285. In: Soulé, M.E. (ed.). Conservation Biology: The Science of Scarcity and Diversity. Sinauer, Sunderland, Massachusetts.

LOWE, A.J.; BOSHIER, D.; WARD, M.; BACLES, C.F.E. & NAVARRO, C. 2005. Genetic resource impacts of hábitat loss and degradation; reconciling empirical evidence and predicted theory for neotropical trees. Heredity 95:255–273.

LUCK, G.W. 2007. A review of the relationships between human population density and biodiversity. Biological Reviews 82:607–645.

LYTLE, D.A. 2001. Disturbance regimes and life-history evolution. The American Naturalist 157:525–536.

MACARTHUR, R.H.; MACARTHUR, J.W. 1961. On bird species diversity. Ecology 42:594–598.

MCKEE, J.K. 2003. Sparing Nature: The Conflict between Human Population Growth and Earth‟s Biodiversity. Rutgers University Press, Piscataway.

MEYER, W.B. & TURNER, B.L. 1992. Human population growth and global land–use/cover change. Annual Review of Ecology and Systematics 23:39–61.

MILLER, A.D.; ROXBURGH, S.H & SHEA, K. 2011. How frequency and intensity shape diversity disturbance relationships. Proceedings of the National Academy of Sciences108(14):5643–5648.

MITTERMEIER, R.A.; GIL, P.R.; HOFFMAN, M.; PILGRIM, J.; BROOKS, T.; MITTERMEIER, C.G.; LAMOREUX J. & DA FONSECA G.A.B. 2005. Hotspots Revisited: Earth‟s Biologically Richest and Most Threatened Terrestrial Ecoregions. Cemex, Conservation International and Agrupacion Sierra Madre, Monterrey, Mexico.

MITTERMEIER, R.A.; MYERS, N.; GILL, P.C. & MITTERMEIER, C.G. 2000. *Hotspots*: Earth‟s Richest and Most Endangered Terrestrrial Ecoregions. CEMEX, Mexico City.

MURCIA, C. 1995. Edge effects in fragmented forests: implications for conservation. Trends in Ecology and Evolution 10:58–62.

MYERS, N. 1988. Threatened biotas: "*Hot spots*" in tropical forests. The Environmentalist 8:1–20.

MYERS, N. 1990. The biodiversity challenge: Expanded hot spots analysis. The Environmentalist 10:243–256.

MYERS, N. 2003. Biodiversity Hotspots Revisited. BioScience 53(10):916–917.

MYERS, N.; MITTERMEIER, R.A.; MITTERMEIER, C.G.; DA FONSECA, G.A.B. & KENT J. 2000. Biodiversity hotspots for conservation priorities. Nature 403:853–858

NAITO, Y.; KANZAKI, M.; IWATA, H.; OBAYASHI, K.; LEE, S.L.; MUHAMMAD, N. OKUDA, T. & TSUMURA, Y. 2008. Density-dependent selfing and its effects on seed performance in a tropical canopy tree species, *Shorea acuminata* (Dipterocarpaceae). Forest Ecology and Management 256:375–383.

NEELY, R.K.; DEEN, J. & HOFKENS, J. 2011. Optical Mapping of DNA: Single-Molecule-Based Methods for Mapping Genomes. Biopolymers 95(5):298–311.

NOREEN, A.M.E. & WEBB, E.L. 2013. High genetic diversity in a potentially vulnerable tropical tree species despite extreme hábitat loss. PLOS One 8(12):e82632.

NORGHAUER, J.M.; MALCOLM, J.R. & ZIMMERMAN, B.L. 2006. Juvenile mortality and attacks by a specialist herbivore increase with coespecific adult basal area of Amazonian *Swietenia macrophylla* (Meliaceae). Journal of Tropical Ecology 22:451–460.

NOSS, R.F. 1987. From plant communities to landscapes in conservation inventories: a look at the Nature Conservancy (USA). Biological Conservation 41:11–37.

NYBOM, H. 2004. Comparison of different nuclear DNA markers for estimating intraspecific genetic diversity in plants. Molecular Ecology 13:1143–1155.

O'BRIEN, S.J. 1994. A role for molecular genetics in biological conservation. Proceedings of the National Academy of Sciences 91:5748–5755.

PERRY, G.L.W. 2002. Landscapes, space and equilibrium: shifting viewpoints. Progress in Physical Geography 26:339–359.

PETERS, H.A. 2003. Neighbour-regulated mortality: the influence of positive and negative density dependence on tree populations in species-rich tropical forests. Ecology Letters 6:757–765.

PINTO, L.P. & BRITO, M.C.W. 2005. Dinâmica da perda da biodiversidade na Mata Atlântica brasileira: uma introdução. pp.27–30. In: Galindo-Leal, C.; Câmara, I.G. (eds.). Mata Atlântica: biodiversidade, ameaças e perspectivas Fundação SOS Mata Atlântica, Belo Horizonte.

PINTO, L.P.; BEDÊ, L.; PAESE, A.; FONSECA, M.; PAGLIA, A. & LAMAS, I. 2006. Mata Atlântica Brasileira: os desafios para conservação da biodiversidade de um *hotspot* mundial. pp. 91–118. In: ROCHA, C.F.D.; BERGALLO, H.G.; SLUYS, M.V. & ALVES, M.A.S. (eds.). Biologia da Conservação: Essências. Rima Editora, Rio de Janeiro.

POFF, N.L. 1992. Why disturbances can be predictable: a perspective on the definition of disturbance in streams. Journal of the North American Benthological Society 11:86–92.

PRIMACK, R. 2006. Essentials of conservation biology. 4th Edition, Sinauer Associates

QIU, Y.; LIU, Y.; KANG, M.; YI, G. & HUAN, H. 2013. Spatial and temporal population genetic variation and structure of *Nothotsuga longibracteata* (Pinaceae), a relic conifer species endemic to subtropical China. Genetics and Molecular Biology 36(4): 598–607.

RODRIGUES, R.R. & GANDOLFI, S. 2004. Conceitos, tendências e ações para recuperação de florestas ciliares. pp. 235–247. In: RODRIGUES, R.R. & LEITÃO-FILHO, H.F. (eds.). Matas ciliares: conservação e recuperação. EDUSP, São Paulo.

RODRIGUEZ, P.H.; GEISTLINGER, J.; BERLYN, G.; KAHL, G. & WEISING, K. 2000. Characterization of novel microsatellite loci isolated from the tropical dioecious tree *Simarouba amara*. Molecular Ecology Primer Notes 9:498–500.

SANDERS, H.L. 1969. Benthic marine diversity and the stability-time hypothesis. Brook haven Symposium of Biology 22:71–81.

SATO, T.; ISAGI, Y.; SAKIO, H.; OSUMI, K. & GOTO S. 2006. Effect of gene flow on spatial genetic structure in the riparian canopy tree *Cercidiphyllum japonicum* revealed by microsatellite analysis. Heredity 96:79–84.

SAUNDERS, D.A.; HOBBS, R.J. & MARGULES, C.R. 1991. Biological consequences of ecosystem fragmentation: a review. Conservation Biology 5:18–32.

SCHLÖTTERER, C. 2000. Evolutionary dynamics of microsatellite DNA. Chromossoma 109:365–371.

SCHONEWALD-COX, C.M.; CHAMBERS, S.M.; MACBRYDE, B. & THOMAS, W.L. 1983. Genetics and Conservation: a reference for managing wild animal and plant populations.

Benjamin/Cummings, Menlo Park, California.

SELKOE, K.A & TOONEN, R.J. 2006. Microsatellites for ecologists: a practical guide to using and evaluating microsatellite markers. Ecology Letters 9(5):615–29.

SILVA, J.M.C. & M. TABARELLI. 2000. Tree species impoverishment and the future flora of the Atlantic forest of northeast Brazil. Nature 404:72–74.

SOLÉ-CAVA, A.M. 2004. Biodiversidade molecular e genética da conservação. In: Matioli, S.R. (ed.). Biologia Molecular e Evolução. Holos Editora, Ribeirão Preto.

SOULÉ, M.E. & KOHM, K.A.1989. Research priorities for conservation biology. Washington: Island Press.

SOULÉ, M.E. & WILCOX, B.A. 1980. Conservation biology: an evolutionary-ecological perspective . Sinauer, Sunderland, Massachusetts.

STEFFAN-DEWENTER, I. & TSCHARNTKE, T. 1997. Early succession of butterfly and plant communities on set-aside fields. Oecologia 109:294–302.

SWANSON, M.E.; FRANKLIN, J.F.; BESCHTA, R.L.; CRISAFULLI, C.M.; DELLASALA, D.A.; HUTTO, R.L.; LINDENMAYER, D.B. & SWANSON, F.J. 2011. The forgotten stage of forest succession: early-successional ecosystems on forest sites. Front. Ecol. Environ. 9:117–125.

TABARELLI, M.; MANTOVANI, W. & PERES, C.A. 1999. Effects of hábitat fragmentation on plant guild structure in the montane Atlantic forest of southeastern Brazil. Biological Conservation 91:119–127.

TAUTZ, D. 1989. Hypervariability of simple sequences as a general source for polymorphic DNA markers. Nucleic Acids Res. 17: 6463–6471.

TEMPLETON, A.R.; ROBERTSON, R.J.; JENNIFER BRISSON, J. & JARED STRASBURG, J. 2001. Disrupting evolutionary processes: the effect of hábitat fragmentation on collared lizards in the Missouri Ozarks. Proceedings of the National Academy of Sciences 98:5426–5432.

THOMAS, C.D.; CAMERON, A.; GREEN, R.E.; BAKKENES, M.; BEAUMONT, L.J.; COLLINGHAM, Y.C.; BAREND F.N. SIQUEIRA, M.H.; GRAINGER, A.; HANNAH, L.; HUGHES, L.; HUNTLEY, B.; JAARSVELD A.S.;. MIDGLEY, G.F.; MILES, L.; ORTEGA-HUERTA, M.A.; PETERSON A.T.; PHILLIPS O.L. & WILLIAMS S.E. 2004. Extinction risk from climate change letters to nature 427:145–148.

TRIPET, F.; DOLO, G. & LANZARO, G.C. 2005. Multilevel analyses of genetic differentiation in *Anopheles gambiae* s.s. reveal patterns of gene flow important for malaria-fighting mosquito projects. Genetics 169:313–324.

TURNER, M.G. 2005. Landscape Ecology: what is the state of the science? Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics 36:319–344.

TURNER, M.G. 2010. Disturbance and landscape dynamics in a changing world. Ecology 91(10):2833–2849.

Turner, M.G. 2010. Disturbance and landscape dynamics in a changing world. Ecology 91(10):2833–2849.

VACEK, S. & LEP, J. 1996. Spatial dynamics of forest decline: the role of neighbouring trees. Journal of Vegetation Science 7:789–798.

VERNIÈRE, C.; NGOC, L.B.T.; JARNE, P.; RAVIGNÉ V.; GUÉRIN F.; GAGNEVIN, L.; MAI, B.L.; CHAU N.M. & PRUVOST O. 2013. Highly polymorphic markers reveal the establishment of an invasive lineage of the citrus bacterial pathogen *Xanthomonas citri* pv. citri in its area of origin. Environmental Microbiology. DOI: 101111/1462–2920.12369.

WARD, M.; DICK, C.W.; GRIBEL, R. & LOWE, A.J. 2005. To self or not to self… a review of outcrossing and pollen-mediated gene flow in neotropical trees. Heredity 95:246–254.

WARREN, R.J. & BRADFORD, M.A. 2014. Mutualism fails when climate response differs between interacting species. Primary Research Article 20(2):466–474.

WEBER, J.L. & MAY, P.E. 1989. Abundant class of human DNA polymorphisms which can be typed using the polymerase chain reaction. Am. J. Hum. Genet. 44: 388–396.

WHITE, P.S. & PICKETT, S.T.A. 1985. Natural disturbance and patch dynamics: an introduction. pp 3–13. In: PICKETT, S.T.A. & WHITE, P.S. (eds.). The ecology of natural disturbance and patch dynamics. Academic, New York.

WIDMER, A.; LEXER, C.; COZZOLINO, S. 2009. Evolution of reproductive isolation in plants. Heredity Edinb 102:31–38.

WILLIAMS, A.A.J.; KAROLY, D.J. & TAPPER, N. 2001. The sensitivity of Australian fire danger to climate change. Climatic Change 49:171–191.

WILSON, E.O. 1999. The Diversity of Life. W.W. Norton and Company Incorporated, New York.

XIAO, Z.S.; JANSEN, P.A. & ZHANG, Z.B. 2006. Using seed-tagging methods for assessing post-dispersal seed fate in rodent-dispersed trees. Forest Ecology and Management 223:18–23.

YOUNG, A.G.; BOYLE, T. & BROWN, T. 1996. The population genetic consequences of hábitat fragmentation for plants. Trends in Ecology & Evolution 11:413–418.

ZHAO, D.W.; YANG, J.B.; YANG, S.X.; KATO,K. & LUO, J.P. 2014. Genetic diversity and domestication origin of tea plant *Camellia taliensis* (Theaceae) as revealed by microsatellite markers. Plant Biology 14:1–14.

ZWOLAK, R. 2009. A meta-analysis of the effects of wildfire, clearcutting, and partial harvest on the abundance of North American small mammals. Forest Ecology and Management 258:539–545.

4. ***Manuscrito a ser submetido à revista Biodiversity and Conservation***

Baixa diversidade, estruturação genética e alto recrutamento em populações de *Simarouba amara* Aubl. (Simaroubaceae) numa paisagem fragmentada da Floresta Atlântica

Tiago Esposito; Felipe Melo; Marcelo Tabarelli; Andrea Pedrosa Harand*

Universidade Federal de Pernambuco, Departamento de Botânica, Av. Prof. Moraes Rêgo, s/n, Cidade Universitária, 50670-910, Recife-PE, Brasil.

*Autor para correspondência
Tel: + 55 81 2126-8846
Cel: + 55 81 9217-7914
e-mail: andrea.pedrosaharand@pesquisador.cnpq.br

RESUMO

O Efeito Jansen-Connel, ou mortalidade dependente de densidade, prevê o menor sucesso de recrutamento de plântulas, quanto mais próximo esteja de um adulto coespecífico, sendo um dos modelos mais aceitos para explicar a manutenção da diversidade de árvores nos trópicos. Entretanto, diversas florestas tropicais têm sofrido perda e fragmentação de hábitat devido a perturbações antrópicas, e possivelmente tais efeitos podem estar sendo relaxados ou até mesmo perdidos nessas áreas. Para avaliar o impacto da perda de habitat sobre a estruturação populacional numa floresta tropical, foi estudada a dinâmica espacial, demográfica e genética de *Simarouba amara*, uma espécie arbórea, pioneira e dióica, numa paisagem de Floresta Atlântica. Esperava-se que, em áreas fragmentadas, fosse observada uma redução nas distâncias de recrutamento e aumento na estruturação genética, quando comparadas a áreas conservadas. Os dados demográficos apontaram para um maior recrutamento de indivíduos nas áreas fragmentadas, apesar destes indivíduos não apresentarem redução na distância para os coespecíficos adultos. A diversidade genética das populações investigadas utilizando microssatélites foi bastante reduzida quando comparadas à de populações da América Central e da Floresta Amazônica. Entretanto, foi encontrada uma baixa estruturação genética entre as populações (F_{ST} = 0,077), possivelmente devido à manutenção do fluxo gênico na escala da paisagem.. Foi observada, entretanto, correlação positiva entre distâncias genéticas e geográficas (r = 0,14; P = 0,01). Embora não tenha sido detectada perda de diversidade genética recente na comparação entre jovens e adultos, e tenha sido observado recrutamento numeroso de *S. amara* na área de estudo, a baixa diversidade geral e a insipiente estruturação podem ser ameaças à espécie se a fragmentação e defaunação continuarem.

Palavra chave: perda de habitat, fragmentação, demografia, diversidade genética, conservação

INTRODUÇÃO

A origem e a manutenção de uma elevada diversidade de plantas nos trópicos tem sido alvo de inúmeros estudos ecológicos e dado origem a diversas hipóteses. Dentre as mais relevantes estão a hipótese do tempo (Fischer 1960), da heterogeneidade espacial (MacArthur and MacArthur, 1961) e da estabilidade climática (Sanders 1969), além de duas hipóteses contraditórias e, portanto, foco de muitos estudos empíricos (Johnson et al. 2012; Bagchi et al. 2014), que seriam a hipótese da competição, formulada por Dobzhansky (1950), e a da predação, formulada por Janzen (1970) e Connel (1971). A primeira pressupõe que nos trópicos haveria uma maior competição entre os organismos favorecendo uma crescente especialização na utilização dos recursos. Já a segunda afirma que, devido à elevada predação nas regiões tropicais, a competição seria mantida em níveis muito baixos e, desta forma, permitiria uma maior convivência de indivíduos interespecíficos, sendo também conhecida como mortalidade dependente de densidade (MDD).

A MDD está baseada na menor probabilidade de sobrevivência de sementes e plântulas que estiverem adensadas ou próximas ao parental, devido, basicamente, a predadores de sementes, herbívoros e patógenos espécie-específicos (Augspurger and Wilkinson, 2007; Hautier et al. 2010; Swamy and Terborgh 2010; Bagchi et al. 2014). Portanto, a alta coexistência de espécies nos trópicos dependeria de espaços não ocupados por indivíduos coespecíficos devido à MDD e que agora poderiam ser ocupados por recrutantes heteroespecíficos. Muitos estudos têm demonstrado a ocorrência de MDD tanto em florestas tropicais como em florestas subtropicais e temperadas (Hammond and Brown 1998; Packer and Clay 2000; Lambers et al. 2002; Zhu et al. 2010). No entanto, Johnson et al. (2012), ao compilarem dados de 151 espécies distribuídas em um gradiente latitudinal, sugerem um maior efeito da MDDD quanto menor a latitude, justificando a maior coexistência de espécies nos trópicos.

As regiões tropicais, entretanto, têm sofrido alteração frente à crescente perturbação antrópica (Myers 1988; Myers 1990). Assim como as demais perturbações ambientais, estas modificam a dinâmica e a diversidade dos ecossistemas no mundo (Ewers and Didham 2006). Dentre outros processos de perturbação, a perda e fragmentação florestal se destacam por causar efeitos negativos capazes de controlar a diversidade biológica, afetando de forma direta a riqueza de espécies (Santos et al. 2008; Kattan and Alvarez-López 1996; Kellman et al. 1996), a abundância e distribuição das populações (Steffan-Dewenter and Tscharntke 1997; Fahrig 2003) e a diversidade genética das mesmas (Aguilar et al. 2008). Portanto, se os

inimigos naturais espécie-específicos e os agentes dispersores de sementes são de extrema importância para a manutenção da biodiversidade, é de se esperar que florestas que sofreram com as perturbações antrópicas, alterando a sua composição faunística, possam também ter modificados os padrões de recrutamento e distribuição das espécies (Terborgh 2013; Herrera and García, 2010).

Segundo Silva and Tabarelli (2000), aproximadamente 30% das espécies de plantas lenhosas da Floresta Atlântica do Nordeste brasileiro poderão se tornar extintas em nível regional, por consequência da interrupção do processo de dispersão de seus diásporos. A perda de agentes dispersores pode levar ao aumento da densidade de sementes que caem próximos aos adultos coespecíficos e assim reduzir a possibilidade de sobrevivência das sementes e plântulas. No entanto, vale ressaltar que fungos e insetos predadores de sementes e herbívoros são os elementos chave causadores da mortalidade de sementes e plântulas (Bell et al. 2006; Bagchi et al. 2014) e estão também sendo reduzidos com a defaunação. Chiarello (1999) aponta que a redução de hábitat potencializa a defaunação, resultando na diminuição de vários grupos de vertebrados, incluindo roedores. A composição de insetos em áreas fragmentadas também pode ser alterada, havendo uma substituição de insetos especialistas por generalistas (Tscharntke et al. 2002). Wirth et al. (2008) também relacionam a fragmentação com o aumento do número de herbívoros generalistas em áreas de borda. Dessa forma, o fato de existir mais predadores generalistas deve interferir no processo de MDDD, tornando-o menos eficaz. Em conjunto, essas alterações resultariam numa maior taxa de sobrevivência de sementes e plântulas próximas a adultos coespecíficos e, dessa forma, áreas que sofreram com a degradação ambiental e possivelmente a perda de alguns agentes dispersores de diásporos, predadores e patógenos especializados podem consequentemente estar perdendo ou atenuando os efeitos da MDDD sobre a probabilidade de recrutamento.

Após o processo de fragmentação, as espécies ficam restritas em pequenas áreas potencialmente isoladas. Somando a isso a redução da distância de recrutamento de indivíduos aparentados é de se esperar que a probabilidade de cruzamentos com aparentados aumente. Dessa forma, poderia ocorrer redução do número de alelos devido à deriva genética e endogamia, inevitável devido ao pequeno tamanho efetivo e ao baixo fluxo gênico entre populações isoladas (Frankham 2003; Gilpin and Soule 1986). Assim, a consequente perda de variabilidade genética poderia conduzir a uma redução na aptidão individual e no potencial reprodutivo e evolutivo da população (Lovejoy 1986; Golden and Crist 1999; Bacles et al. 2006; Lande 1988; Young et al. 1996; Reed and Frankham 2003). Vale ressaltar que muitos estudos genéticos de espécies arbóreas tropicais em áreas fragmentadas parecem

contraditórios (Kramer et al. 2008), destacando a importância de considerar aspectos ecológicos e genéticos em conjunto para compreender o impacto da fragmentação sobre a estrutura genética das populações (Alvarez-Buylla et al. 1996; Aguilar et al. 2008).

Uma espécie modelo que se destaca entre as espécies tropicais arbóreas por ter sido alvo de estudos ecológicos e genéticos é *Simarouba amara* (Hardesty et al. 2005; Hardesty et al. 2006). Essa é uma espécie pioneira, dióica, polinizada por pequenos insetos generalistas e com síndrome de dispersão zoocórica, realizada por alguns vertebrados (Bawa 1990; Hardesty et al. 2005). Uma vez que 14 locos de microssatélites estão disponíveis para a espécie (Rodriguez et al. 2000), Hardesty et al. (2006) conseguiram atribuir a paternidade para a maioria das plântulas de um plote permanente de 50 hectares no Panamá, analisando para isso cinco desses locos. Além de demonstrar frequente dispersão à longa distância, com média de 392 m e chegando a mais de 1 km, seus resultados indicaram que a MDD influenciou a distribuição de plântulas de *S. amara* na área de estudo. O estudo ainda sugeriu que existe um efeito genético não previsto por Janzen e Connell, pois a distância entre indivíduos geneticamente relacionados foi significativamente maior do que as distâncias entre indivíduos não aparentados (Hardesty et al. 2006). Desta forma, as características e as ferramentas disponíveis para a espécie a torna um excelente modelo para um estudo que pretende investigar o efeito da fragmentação sobre os mecanismos de MDD e dispersão.

Sendo assim, o presente trabalho teve como objetivo testar se a perda de hábitat está alterando as interações ecológicas das populações locais, reduzindo a dispersão de sementes e amenizando a MDD. Isso porque a perda de dispersores, herbívoros e patógenos espécie-específicos deve levar à uma redução das distâncias de recrutamento e à estruturação genética de *S. amara*. Para tanto, foi analisada a estrutura demográfica, espacial e genética de indivíduos da espécie em uma área que sofreu severamente com a perda de hábitat e fragmentação devido à implantação da monocultura canavieira.

MATERIAIS E MÉTODOS

Área de estudo

A área de estudo integra o Corredor de Biodiversidade do Nordeste, região da Floresta Atlântica brasileira localizada na zona costeira entre os estados de Alagoas e Rio Grande do Norte. Está localizada mais precisamente na paisagem do Corredor Ecológico Pacatuba-Gargaú (CEPG), onde estão situadas as Reservas Particulares do Patrimônio Natural (RPPN)

Pacatuba e Gargaú (Fig. 1). Este corredor compreende os municípios de Santa Rita, Sapé, Cruz do Espírito Santo, Capim e Rio Tinto, todos no estado da Paraíba, nordeste do Brasil. A vegetação remanescente na paisagem de estudo totaliza cerca de 12.000 hectares, distribuídos em dois tipos de vegetação segundo o IBGE (2008): Floresta Estacional Semidecidual e Área de Tensão Ecológica. A área é pertencente às destilarias Miriri e Japungu, onde a cultura canavieira é predominante e forma a matriz entre os fragmentos florestais. O histórico de uso inclui desde a intensa utilização do solo e uso de herbicidas a frequentes queimadas para o corte da cana-de-açúcar. A área consiste predominantemente de terrenos planos ou suave-ondulados, com altitudes inferiores a 230 metros, situadas nas bacias dos rios Miriri e Paraíba (Leão 2012). E a geomorfologia é composta principalmente por tabuleiros costeiros da Formação Barreira (AESA 2006).

Espécie de estudo

Simarouba amara Aubl. (Simaroubaceae) é uma espécie dióica, diploide e pioneira que pode chegar a 35 m de altura e DAP (diâmetro a altura do peito) de 70 cm. Possui uma casca externa dura, com muitas lenticelas pequenas e a madeira tem uma seiva amarga (Croat 1978). As folhas são compostas, imparipinadas, contendo pecíolos que variam de 4-8 cm de comprimento e folíolos oblongo-elípticos que podem chegar a 15 cm de comprimento e seis centímetros de largura. As flores unissexuais ocorrem em panículas terminais compostas de numerosas flores amareladas que apresentam menos de um centímetro de comprimento (Hardesty 2010). A síndrome floral de *S. amara* é típica de polinização por pequenos insetos generalistas (Bawa 1990). Seu fruto é do tipo drupa e quando maduro pode variar de roxo a preto. São produzidos dentro de 1 a 3 meses após a polinização e são dispersos por vários vertebrados incluindo primatas e aves frugívoras (Hardesty 2010). Segundo Loureiro (1979), a madeira é leve (0, 435 a 0,55 g/cm3), fácil de trabalhar e muito resistente ao ataque de insetos. É recomendada tanto para a utilização em ambientes externos, como na construção civil e naval (IBDF 1983; Souza 1997), como também para a construção de instrumentos musicais de corda, tubos de órgãos e teclas de piano (Slooten e Souza, 1993; Marques et al., 2006). Alguns estudos ecológicos têm demonstrado a fraca estruturação genética em várias classes de tamanho (Hardesty et al., 2005; Hardesty et al. 2006).

Mapeamento e coleta de amostras vegetais em campo

Tendo como base o levantamento feito por Leão (2012) e observações na área de estudo, seis fragmentos florestais foram inicialmente selecionados. A fim de viabilizar a comparação da demografia, distribuição espacial e estruturação genética das populações da espécie de estudo entre áreas que sofreram maior ou menor impacto da perturbação antrópica, três fragmentos foram considerados mais conservados, pois apresentaram características de floresta madura, e os outros três foram considerados mais perturbados, por apresentarem sinais de corte seletivo e histórico de uso (Leão 2012). A distância geográfica entre as populações variou de 2,3 km (Moita Verde e Mata das Grotas) a 20,7 km (Pacatuba e Gargau).

Em cada fragmento foi montada uma parcela quadrada de 10.000 m^2. Uma varredura completa foi realizada em cada parcela e todos os indivíduos de *S. amara* que havia na localidade foram mapeados e classificados quanto ao tamanho de seu CAP (circunferência a altura do peito). Na primeira classe, ou classe 1, foram incluídos os indivíduos com CAP $\geq$ 20 cm (considerados adultos), para a classe 2 foram considerados os indivíduos com CAP entre 3 e 20 cm (considerados jovens) e na classe 3 foram incluídos os indivíduos com CAP $\leq$ 3, os que não foram possível coletar o CAP, mas excluindo os que não possuíam altura maior que 40 cm (considerados jovens mais novos). Cada indivíduo foi mapeado através de coordenada geográfica e o programa Geographic Distance Matrix Generator (Ersts 2013) foi usado para calcular as matrizes de distância geográfica entre cada par de indivíduos de cada população. Para todos os indivíduos encontrados nas parcelas, amostras do tecido foliar jovem ou o câmbio da casca foram coletados para posterior extração do DNA. Ambos foram dessecados em sílica gel (Chase and Hills 1991) e posteriormente armazenados em freezer a -20ºC.

Análises moleculares

A extração de DNA foi realizada de acordo com o protocolo descrito em Ferreira e Grattapaglia (1995), exceto pelo fato de a maceração de 0,50 g de tecido foliar ou câmbio da casca ter sido realizada utilizando o TissueLyser (Qiagen) com quatro esferas de 3 mm por amostra e nitrogênio líquido durante X minutos a Y rpm. Primeiramente um teste foi realizado com os cinco pares de *primers* de microssatélites já utilizados nos estudos ecológicos prévios (Hardesty et al. 2006; Hardesty et al. 2010) em 40 indivíduos adultos (CAP > 63 cm). Devido ao baixo polimorfismo dos locos analisados, os demais nove locos desenvolvidos por Rodriguez et al. (2000) foram testados na mesma subamostra de 40 indivíduos adultos.

Os cinco locos mais polimórficos foram usados para genotipar 15 indivíduos de cada

população, totalizando 90 amostras. Para cada população foram selecionados dez indivíduos adultos (os dez que possuíam os maiores CAPs da classe 1 e eventualmente classe 2) e cinco indivíduos jovens (os cinco que possuíam os menores CAPs da classe 3, eventualmente 2).

Todas as amplificações foram feitas segundo protocolo de Hardesty et al. (2005). O volume final da PCR (10 µl) continha 0,4 ng/µl de DNA tampão da Taq polimerase 1×, 25mM de MgCl2, 2,5mM de dNTP, 10µM de cada *primer* e 5 U/µl de Taq polimerase (Invitrogen). As reações PCR foram realizadas num termociclador Veriti™ (Applied Biosystems), seguindo o seguinte programa: 5 min a 94°C; 30 ciclos de 45 s a 94°C, 1 min a 53–55°C, e 30 s a 72°C; finalizando com 15 min a 72°C. O produto foi analisado, primeiramente, por eletroforese horizontal num gel de agorase 3%, corado com Gel Red, em um transiluminador com UV acoplado ao sistema de fotodocumentação Doc-Print-II (Vilber Lourmat). Posteriormente os produtos da reação foram separados por eletroforese vertical em gel de poliacrilamida 6% utilizando tampão 1× TBE e coloração com nitrato de prata 0,2% (Creste et al. 2001).

Análise de dados demográficos

A análise da estrutura demográfica das populações foi baseada nos dados de CAP de cada indivíduo. Para testar a existência de diferentes padrões demográficos nas áreas perturbadas e conservadas foi aplicado o teste de qui-quadrado.

Foram geradas matrizes de distâncias geográficas intraclasses e interclasses entre todos os indivíduos de cada população, a fim de detectar os padrões de distribuição dos mesmos dentro das populações. A população de Moita verde não foi incluída nestas analises devido à diferença no formato da parcela. Com as matrizes de distância geradas foram calculadas médias das distâncias e utilizado o teste-t de amostras independentes para verificar possíveis variações nas distribuições dos indivíduos entre áreas conservadas e perturbadas. Para detectar a existência da redução das distâncias de recrutamento entre indivíduos jovens e adultos coespecíficos em áreas perturbadas também foi utilizado o teste-t para amostras independentes. Para realização dos testes foi utilizado o software BioEstat 5.3 (Ayres et al. 2007). Em todos os testes consideramos a variável resposta como sendo o *status* da população.

Análise de dados genéticos

O programa Microsatellite Toolkit (Park 2001) foi usado para estimar as frequências alélicas, a heterozigosidade média observada e esperada (Nei 1987) e um parâmetro utilizado para determinar o poder discriminatório de cada *primer*, o PIC (*Polymorphism Information* Content – conteúdo da informação de polimorfismo). Os valores de *F*is de acordo com Weir and Cockerham (1984) e o teste do equilíbrio de Hardy-Weinberg, utilizando o método de Monte Carlo via cadeias de Markov com 10.000 iterações para a determinação do valor de P, foram realizados com o programa Genepop versão 4.2.1.

Para avaliar a possível perda de variabilidade genética em áreas consideradas perturbadas foram relacionados o número de alelos e heterozigosidade por *status* da população. Além disso, foram comparados indivíduos mais jovens e adultos para observar a possível perda recente de diversidade genética em áreas perturbadas em relação às conservadas. Para tanto foi utilizado teste-t de amostras pareadas, onde a variável resposta sempre foi representada pelo *status* das populações.

Os valores de *F*st, a análise de variância molecular (AMOVA) e o teste de Mantel foram realizados no software Arlequim 3.01 (Excoffier et al. 2010). Estes testes indicam o grau de diferenciação genética entre as populações, como a diversidade genética está distribuída entre e dentro das populações, e se a distância geográfica entre as unidades amostrais explica a diferenciação genética. Para as análises foi realizado um teste de significância dos resultados com 1.000 permutações.

Um fenograma baseado em *Neighbor-joining* (NJ), foi gerado no software DARwin 5.0 (Perrier et al. 2003) a fim de analisar as distâncias genéticas entre os indivíduos das seis populações. O algorítimo *Simple Matching* foi utilizado para gerar a matriz de dissimilaridade para os dados alélicos.

RESULTADOS

Análises demográficas

As seis parcelas analisadas apresentaram entre 19 e 59 indivíduos de *S. amara*, totalizando 195 indivíduos. Destes, 91 (46,6 %) foram da classe 1 (com CAP variando de 20 a 180), 55 (28,2 %) foram da classe 3 e 49 (25 %) foram da classe 2 (Fig. 2). Entre as populações, Buxaxá (BU) apresentou o maior numero de indivíduos da classe 1, nenhum indivíduo da classe 2 e apenas dois indivíduos da classe 3. A população de Pacatuba (PC) apresentou o maior número de indivíduos da classe 3 (24). Já população de Pau Brasil (PB)

apresentou o maior número de indivíduos no total e na classe 2 (33) (Fig. 2).

Considerando o *status* de conservação das áreas, foram observados 66 indivíduos nas áreas conservadas e 129 nas áreas consideradas perturbadas. O tamanho médio do CAP dos indivíduos das populações fragmentadas variou entre 15 e 31 (média = 24,56) e nas populações consideradas conservadas entre 59 e 88 (média = 74,48). O maior número de indivíduos da classe 1 foi encontrado nas áreas mais conservadas (56; GA, MG, BU), o que correspondeu a 61,54 % do total de indivíduos dessa classe. Por outro lado, 51 (92,73 %) dos indivíduos da classe 3 e 43 (87,76 %) da classe 2 estavam presentes nas áreas mais degradadas. Portanto, quando se compara a distribuição das classes dos indivíduos nas áreas conservadas e perturbadas é possível ver diferença significativa (X^2 = 80,727, gl = 2, P = 0,0001).

As distâncias médias entre indivíduos das mesmas classes e de classes diferentes se apresentaram bastante similares (Tabela 1) e para tanto, o teste apontou que não existem diferenças significativas (t = 0,4368, gl = 22, P = 0,1610). Da mesma forma, não foi possível detectar diferenças significativas na distância média entre os indivíduos adultos e jovens mais novos entre áreas conservadas e perturbadas, ou seja, não houve uma redução dessa distância média nas populações perturbadas (t = 0,4339, gl = 3, P = 0,1812; Fig. 3).

Análises genéticas

Quarenta indivíduos da classe 1 foram analisados usando, a princípio, os cinco locos de microssatélites (SaSSR02, SaSSR05, SaSSR06, SaSSR27, SaSSR29) utilizados para estabelecimento de paternidade no estudo de Hardesty et al. (2005). Como não foi possível obter uma quantidade de polimorfismo e números de alelos informativos, outros nove marcadores microssatélites desenvolvidos por Rodriguez et al. (2000) foram testados. Portanto, de um total de 14 marcadores testados os cinco locos (SaSSR02, SaSSR03, SaSSR10, SaSSR12 e SaSSR27) com o maior número de alelos para os 40 indivíduos coletados na paisagem do Corredor Ecológico Pacatuba-Gargau foram selecionados (Tabela 2). O número de alelos nos cinco locos mais polimórficos variou entre 4 e 7 nas seis populações amostradas, com uma média de 5,8 alelos por loco (Tabela 2). Apenas SaSSR10 e SaSSR27 não exibiram excesso significativo de heterozigotos e o loco SaSSR02 apresentou uma alta probabilidade de estar em Equilíbrio de Hardy-Weinberg. Os valores médios de PIC variaram entre os locos de 0,29 a 0,65 (média = 0,48). O loco mais informativo foi o SaSSR03 e o menos informativo foi o SaSSR10 (Tabela 2). Os alelos de diferentes locos não

demonstram desequilíbrio de ligação significativo.

A riqueza alélica dentro de cada população variou entre 5,1-7,0 (PC, GA e BU, respectivamente; média = 6,1; Tabela 3). O alelo mais frequente foi observado no loco SaSSR10, tendo este a frequência de 96,67% na população de BU. Dos 29 alelos detectados em todos os locos, cinco (17,2%) eram "alelos privados", ou seja, que ocorreram numa única população (Tabela 3). Entre as seis populações, dois alelos privativos estavam presentes na população MG e um alelo privativo ocorreu em PC, PB e BU. Apenas MV e GA não apresentaram alelos privativos (Tabela 3).

A heterozigosidade média esperada (H_E) foi de 0,56 e variou entre as populações de 0,45 em BU a 0,6 em MV (Tabela 3). Embora a H_E tenha sido mais baixa do que a heterozigosidade observada (H_O) em todas as populações, só PC não exibiu excesso significativo de heterozigotos e possuía uma alta probabilidade de estar em Equilíbrio de Hardy-Weinberg. Uma média de -0,28 de F_{IS} foi encontrado para as populações, com todos os cinco locos exibindo F_{IS} negativos, indicando um excesso geral de heterozigotos. O F_{IS} variou de -0,43 a -0,1 para BU e PC, respectivamente (Tabela 3).

A população BU apresentou o menor nível de variabilidade genética (A = 3,2, H_E = 0,452, Tabela3), enquanto o maior nível foi observado na população PC (Tabela 3). Para verificar se havia diferença na variabilidade genética fruto da fragmentação, as três áreas consideradas mais conservadas e as três mais degradadas foram comparadas. Comparando o número médio de alelos por locos para ambos os grupos não foi detectada diferenças significativas (t = 1,6678, gl = 2, P = 0,85). Quando se comparou as médias de H_E se observou diferença significativa entre os dois grupos (t = 2.8942, gl = 4, P = 0,02), entretanto, com uma média maior para as áreas mais degradadas (média de H_E = 0,588). Comparando mais detalhadamente os dois grupos de populações por classe de indivíduos, observou-se que para a média de alelos por locos entre os indivíduos mais jovens não houve diferença significativa (t = 1,8708, gl = 4, P = 0,067). Já para os indivíduos adultos foi detectada diferença significativa (t = 2,1381, gl = 4, P = 0,04), com a média de alelos por locos dos indivíduos das áreas conservadas maior (A = 4,8). Para a média da H_E, entretanto, não houve diferenças significativas entre jovens de áreas conservadas e perturbadas, assim como não houve para os adultos (t = 0,134, gl = 4, P = 0,44; t = 0,1135, gl = 4, P = 0,45; respectivamente).

Quando todos os locos foram analisados em conjunto, um baixo nível de diferenciação genética foi encontrado entre as seis populações (7,7 %), sendo a maior parte da variabilidade genética encontrada dentro das populações (92,3 %). O valor de F_{ST} global foi de 0,077, sugerindo uma baixa estruturação genética e um elevado fluxo gênico entre as populações. Ao

analisar os valores de F_{ST} par-a-par, observou-se o maior valor entre GA e BU (0,18) e o menor valor entre PC e MV (0,023), representando uma diferença de oito vezes. As populações mais distantes geograficamente não apresentaram os maiores valores para o F_{ST}, assim como, as com menores distâncias não apresentaram menores valores de F_{ST}, no entanto, houve uma correlação significativa, porém fraca, entre a distância geográfica e distância genética observada pelo teste de Mantel (r = 0,14; gl = 4, P = 0,01; Tabela 4).

A análise de *Neighbor-joining* (NJ), que revela a distância genética entre todos os indivíduos das populações, corroborou a falta de estruturação genética entre as populações estudadas (Fig. 4).

DISCUSSÃO

As análises demográficas apontaram diferenças significativas para a distribuição das classes de indivíduos entre as populações consideradas mais conservadas e mais degradadas. As áreas mais fragmentadas possuíram uma distribuição mais homogênea dos indivíduos e uma maior proporção de indivíduos mais jovens que as áreas mais conservadas, onde a maior parte dos indivíduos tinha os CAPs maiores. Embora a distância média entre os indivíduos das classes 1 e 3 não tenha apresentado diferenças significativas entre áreas conservadas e degradadas, duas causas para este padrão podem ser hipotetizadas. A primeira estaria relacionada com o relaxamento da mortalidade denso-dependente, levando a um maior recrutamento nas áreas mais degradadas. No estudo de Hardesty et al. (2006), a população de *S. amara* encontrada numa área conservada no Panamá, mostrou-se sobre a influência do efeito de Janzen-Connell, sugerindo que a distribuição espacial da espécie diferia do acaso. Tendo em vista que os inimigos naturais, insetos herbívoros e patógenos, regulam muitas populações de plantas nos trópicos (Bell et al. 2006; Mangan et al. 2010; Bagchi et al. 2014) e que as interações planta-animal, tais como polinização, produção de frutos e sementes (Cascante et al. 2002; Fuchs et al. 2003) e dispersão de sementes (Cordeiro and Hall 2003) podem estar sendo perdidas em ambientes fragmentados, é possível que a interação com os inimigos espécie-específicos também esteja sendo perdida, levando a esse maior recrutamento de indivíduos em áreas perturbadas.

A segunda hipótese está relacionada com as características fisiológicas e de plasticidade de uma espécie pioneira. A fragmentação florestal altera o ambiente físico e favorece mudanças microclimáticas, tais como a redução da umidade, aumento da luminosidade e maior variabilidade diária na temperatura do ar e do solo (Didham and

Lawton 1999; Kapos 1989). Isso acarreta no declínio de árvores tolerantes à sombra e de vida longa, e, contrariamente, favorece o recrutamento das espécies demandante de luz ao longo das bordas florestais e em fragmentos pequenos (Hill and Curran 2001; Laurance et al. 2006; Oliveira et al. 2004; Tabarelli et al. 1999). Espécies pioneiras que regeneram em áreas abertas e em clareiras possuem maior plasticidade do que aquelas espécies tolerantes à sombra,e podem se estabelecer e crescer em locais com maior variabilidade ambiental (Bazzaz and Wayne 1994; Grubb 1998). Dessa forma a diversidade local estaria sendo perdida devido ao favorecimento de algumas poucas espécies com tais características (Robinson et al. 1995; Burke and Grime 1996; Girão et al. 2007). Segundo Tabarelli et al. (2012) as espécies arbóreas tolerante à sombra e com sementes grandes estão sendo substituídas por espécies pioneiras com sementes pequenas em ambientes fragmentados. Sendo assim, essa perda não aleatória de espécies tem aumentado a similaridade florística em escala regional, levado a uma homogeneização biótica (Lobo et al. 2011). Portanto, sendo a *S. amara* uma espécie pioneira, sua resposta à fragmentação parece em parte positiva, pois, apesar da mortalidade relativamente elevada dos indivíduos adultos em áreas fragmentadas, a alta densidade de indivíduos jovens poderia repor parte da população perdida.

Entretanto, uma grande diferença na diversidade genética foi observada entre as populações de *S. amara* encontradas na Paraíba, Brasil, e as populações estudadas no Panamá, Equador e Guiana Francesa. Hardesty et al. (2010) observaram um elevado nível de diversidade genética para as populações de *S. amara* desses países, sugerindo que as mesmas, historicamente, têm experimentado o fluxo gênico de longa distância e mutação suficiente para neutralizar possíveis efeitos da deriva genética. No entanto, quando se compara a diversidade genética das populações da Paraíba a partir dos mesmos locos de microssatélite, observa-se uma drástica redução no número de alelos. Por isso, outros locos mais polimórficos foram selecionados para as análises. Mesmo assim, essa diferença na diversidade genética ainda foi evidente, considerando que os locos mais polimórficos geraram em média 13 alelos por loco numa área de apenas 50 hectares (Hardesty et al. 2006), enquanto os cinco locos mais polimórficos analisados na paisagem de 12.000 hectares da Paraíba geraram em média 5,8 alelos. Esses resultados apontam para diferenças genéticas significativas entre as populações da Floresta Atlântica analisadas e as demais populações, sugerindo que essas diferenças ao longo da sua distribuição possam ter causas históricas ou recentes.

Em geral foi possível observar uma maior similaridade genética entre populações espacialmente mais próximas, o que indica um importante papel do fluxo gênico na falta de estruturação genética da espécie. De fato, numa floresta contínua na Ilha de Barro Colorado,

no Panamá, os animais que polinizam e dispersam *S. amara* mostraram uma movimentação bastante significativa com média de 345 e 392 m, respectivamente, podendo atingir 1.000 m de distância (Hardesty et al. 2006). Comparando essa e outras populações do Panamá, foi possível observar grande conectividade entre as populações, embora uma limitação do fluxo gênico tenha sido detectada separando as populações do Equador devido a barreira geográfica imposta pela Cordilheira dos Andes. As populações à oeste dos Andes, eram geneticamente mais próximas a populações da Guiana Francesa e do Panamá que estão a milhares de quilômetros (Hardesty et al. 2010). É possível que a fragmentação de hábitat que ocorreu na paisagem do Corredor Ecológico de Pacatuba-Gargau ainda não tenha surtido efeitos drásticos na estruturação genética dos remanescentes estudados devido, principalmente, a seus dispersores e polinizadores que ainda são encontrados na localidade. Uma barreira, possivelmente ecológica, separa, entretanto, essas populações das populações amazônicas previamente estudadas, resultando na diferenciação observada.

Embora não tenha sido observada diferença na diversidade genética entre jovens de áreas conservadas e degradadas, o fato de ter sido encontrada maior riqueza alélica nos adultos nas áreas conservadas que nas áreas degradadas pode ser um indicativo que a diversidade genética em áreas mais fragmentadas tenha sido reduzida devido ao corte seletivo. O outro fato relevante é que mesmo tendo um maior número de indivíduos na classe 3, as populações degradadas não apresentaram maior riqueza alélica para os mesmos. Isso pode ser um resultado da redução, embora ainda pequena, do conjunto gênico dos adultos nessas localidades. Muitos estudos apontam a perda e fragmentação de hábitat como principais preditores da perda de diversidade genética de populações de plantas (Aguilar et al. 2008). Esses processos podem levar ao aumento de interações entre indivíduos aparentados, à perda de diversidade alélica e ao aumento da endogamia (Young et al. 1996). No entanto, apesar do que foi observado, os níveis de endogamia (F_{IS}) foram extremamente baixo para todos os locos analisados, inclusive tendo valores negativos na sua totalidade. Segundo Stoeckel et al. (2006), o excesso de heterozigotos revelado por F_{IS} negativos podem ter várias causas. É possível que nas populações de estudo F_{IS} negativos estejam sendo resultado de poucos indivíduos contribuindo para a geração seguinte (Rasmussen 1979; Pudovkin et al. 1996) e, por se tratar de uma planta auto-incompatível (dióica), há uma menor probabilidade de gerar homozigotos (Balloux 2004). Além do mais, esses valores podem ser reforçados negativamente devido à quantidade de alelos raros por locos (Stoeckel et al. 2006). No estudo realizado por Leite et al.(2013) em *Dalbergia nigra*, não foi detectada uma perda de diversidade no fragmento perturbado quando comparado a uma área de floresta primária

conservada. A manutenção de uma alta diversidade genética na espécie foi atribuída a um possível aumento do fluxo gênico que estaria compensando os efeitos deletérios da deriva.

A falta de uma redução recente mais significativa na diversidade genética nas populações mais degradadas da Paraíba é evidência do paradoxo discutido por Kramer et al. (2008). Esses autores argumentam que os fragmentos podem não representar limites para cruzamento entre as populações de árvores, se o fluxo gênico for mantido. As expectativas das consequências da fragmentação sobre a genética são baseadas nas teorias de biogeografia de ilhas e metapopulações (MacArthur and Wilson 1967; Levins 1969), onde seria esperado um aumento da probabilidade da deriva genética e endocruzamento, uma erosão da diversidade genética, uma redução de fluxo gênico e aumento da divergência genética entre as populações de plantas (Young et al. 1996; Sork et al. 1999). Entretanto, considerando as características de dispersão de sementes e pólen a longas distâncias de *S. amara* (Hardesty et al. 2006), os resultados genéticos do isolamento populacional podem não ser tão imediatos enquanto esses processos ainda estejam sendo mantidos (Kramer et al. 2008). Trocas genéticas devido ao movimento de sementes e pólen a longas distâncias são bastante comuns em espécies que ocorrem em baixas densidades por hectare (Losos and Leigh 2004; Hardesty et al. 2010) e também foram demonstrados em espécies dos gêneros *Quercus* (Dow and Ashley 1996, 1998; Streiff et al. 1999; Craft and Ashley 2007) e *Ficus* (Nazareno et al. 2013).

Os dados do presente estudo corroboram a baixa estruturação genética encontrada entre as populações de *S. amara* em escala local (Hardesty et al. 2010) e sugere a manutenção do fluxo gênico mesmo após a perturbação antrópica. Embora a floresta do CEPG não seja mais contínua, a maioria dos valores de F_{ST} par a par foram bastante reduzidos, com exceção de duas populações quando comparadas à BU (GA e MG). A população de GA apresenta uma distância 15.161 m para BU e a relação de F_{ST} é de 0,18, sugerindo que outro fator que não a distância esteja interferindo no fluxo gênico entre essas populações. A maior distância foi entre as populações de GA e PC (20.734 m), duas RPPNs incluídas no estudo, mas o valor de F_{ST} não foi um dos mais altos (0,086). É possível que, particularmente, nesta paisagem fragmentada, o fluxo gênico tenha rotas de dispersão preferenciais (Guevara and Laborde 1993), que estão minimizando a diferenciação genética entre algumas populações geograficamente mais distantes. Os resultados sugerem, portanto, que a capacidade de dispersão e/ou polinização dos animais codependentes ainda pode estar evitado ou reduzido a diferenciação genética mesmo após os processos de perda e fragmentação florestal.

Implicações para conservação

Os resultados do presente estudo sugerem a manutenção da dispersão e polinização da

espécie, apesar dos distúrbios que o processo de fragmentação ocasionou na área de estudo. No entanto, é importante a conservação do maior número de fragmentos, pois uma redução poderia levar à perda de importantes rotas de dispersão. Na paisagem existem duas RPPNs que foram incluídas no estudo. Mesmo assim, é possível observar cortes recentes, armadilhas e cabanas para caçadores. Portanto, além da criação de outras áreas de proteção, maior fiscalização e ações socioambientais são necessárias para a conservação da diversidade existente. Tendo em vista que o macaco guariba (*Alouatta belzebu*) é um dos dispersores de sementes da *S. amara* e que sua ocorrência já está restrita a alguns fragmentos, também seria recomendada a implementação de corredores ecológicos, a fim de aumentar a conectividade e minimizar o isolamento dos fragmentos a médio e longo prazos.

Embora não tenha sido detectada perda de diversidade genética recente e tenha sido observado recrutamento numeroso de *S. amara* na área de estudo, a baixa diversidade geral e a insipiente estruturação (presença de alelos exclusivos em algumas populações) podem ser ameaças à espécie se a defaunação continuar. Isso poderia contribuir para as alterações observadas em comunidades florestais em locais de acentuada fragmentação (Laurance et al. 2006a,b), onde pode haver a exclusão de algumas espécies, principalmente aquelas tolerantes a sombra (Laurance et al. 2006a,b; Laurance et al.1998), restritas ao subosque (Tabarelli et al. 1999), as que possuem grandes sementes (Terborgh et al., 2001; Melo el al., 2006), ou que são dispersas por vertebrados (Laurance et al. 2006b; Galetti et al. 2006; Oliveira et al. 2004). Portanto, é essencial compreender como atuam os diferentes mecanismos que contribuem para a manutenção da diversidade em áreas fragmentadas. Adicionalmente, os resultados destacam a importância de preservar pequenos fragmentos perturbados, pois a regeneração da *S. amara* parece bem sucedida e mantendo a da diversidade genética. Deste modo, enfatizamos que a descrição dos elementos e processos ocorrentes nesses remanescentes florestais precisam ainda ser incentivada, priorizando os processos reguladores da dinâmica florestal e dos mecanismos de resiliência dos habitats.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a Liliane Dantas, Santelmo Selmo, Artur Maia, Luiz Gustavo Sousa e Ana Benko-Iseppon pelo apoio no desenvolvimento da parte genéticadas análises genéticas do projeto; a Bruno Ximenes, Maria Fabíola Barros e Tatiane Calaça pela disposição e auxílio nas coletas de campo; à usina Miriri pelo incentivo às pesquisas em seu patrimônio; à REBIO Guaribas do Estado da Paraíba pela hospedagem e ao CEPAN pela

logística de campo. Os autores agradecem ainda aos órgãos de fomento CAPES, CNPQ e FACEPE pelo suporte financeiro.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

AESA (2006) Plano Estadual de Recursos Hídricos do estado da Paraíba. Agência Executiva de Gestão das Águas do Estado da Paraíba, João Pessoa.

Aguilar R, Quesada M, Ashworth L, Herrerias DY, Lobo J (2008) Genetic consequences of hábitat fragmentation in plant populations: susceptible signals in plant traits and methodological approaches. Molecular Ecology 17:5177–5188.

Aguilar R, Quesada M, Ashworth L, Herrerias DY, Lobo J (2008) Genetic consequences of hábitat fragmentation in plant populations: susceptible signals in plant traits and methodological approaches. Molecular Ecology 17:5177–5188.

Alvarez-Buylla ER, Garcia-Barrios R, Lara-Moreno C, Martinez-Ramos M (1996) Demographic and genetic models in conservation biology: applications and perspectives for tropical rain forest tree species. Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics 27:387–421.

Augspurger CK, Wilkinson HT (2007) Host Specificity of Pathogenic Pythium Species: Implications for Tree Species Diversity. Biotropica 39:702–708.

Ayres M, Ayres Jr M, Ayres DL, Santos AS (2007) Bioestat: 5.0 Aplicações Estatísticas nas áreas das ciências biológicas e médicas. Sociedade Civil Mamirauá e MCT– CNPq.

Bacles CFE, Lowe AJ, Ennos RA (2006) Effective seed dispersal across a fragmented landscape. Science 311:628.

Bagchi R, Gallery RE, Gripenberg S, Gurr SJ, Narayan L, Addis CE,Freckleton RP, Lewis OT (2014) Pathogens and insect herbivores drive rainforest plant diversity and composition. Nature 000:1–4.

Balloux F (2004) Heterozygote excess in small populations and the heterozygote-excess effective population size. Evolution 58:1891–1900.

Bawa KS (1990) Plant-pollinator interactions in tropical rain-forests. Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics 21:399–422.

Bazzaz FA, Wayne PM (1994) Coping with environmental heterogeneity: the physiological ecology of tree seedling regeneration across the gap-understory continuum. In: Caldwell MM, Pearcy RW (eds.). Exploitation of environmental heterogeneity by plants: ecophysiological processes above and belowground, Academic Press, New York, pp349–390.

Bell T, Freckleton RP, Lewis OT (2006) Plant pathogens drive density-dependent seedling mortality in a tropical tree. Ecology Letters 9:569–574.

Burke MJW, Grime JP (1996) An experimental study of plant community invasibility. Ecology 77:776–790.

Cascante A, Quesada M, Lobo JJ, Fuchs EA (2002) Effects of dry tropical forest fragmentation on the reproductive success and genetic structure of the tree *Samanea saman*. Conservation Biology 16:137–147.

Chase MW, Hills HH (1991) Silica Gel: an ideal material for field preservation of leaf samples for DNA studies. Taxon 40:215–220.

Chiarello AG (1999) Effects of fragmentation of the Atlantic forest on mammal communities in south-eastern Brazil. Biological Conservation 89:71-82.

Connell JH (1971) On the role o natural enemies in preventing competitive exclusion in some marine animals and in rain forest trees. In: Den Boer PJ, Gradwell GR (eds.). Dynamics of number in populations. Centre for Agricultural Publishing and Documentation, Wageningen, The Netherlands, pp 298–312.

Cordeiro NJ, Howe HF (2003) Forest fragmentation severs mutualism between seed dispersers and an endemic African tree. Proceedings of the National Academy of Sciences 100:14052–14056.

Craft K J, Ashley MV (2007) Landscape genetic structure of bur oak (*Quercus macrocarpa*) savannas in Illinois. Forest Ecology and Management 239:13–20

Creste, S, Tulmann Neto A, Figueira A (2001) Detection of single sequence repeat polymorphisms in denaturing polyacrylamide sequencing gels by silver staining. Plant Molecular Biology Reporter 19:299–306.

Croat T (1978) Flora of Barro Colorado Island. Stanford University, Stanford.

Didham RK, Lawton JH (1999) Edge structure determines the magnitude of changes in microclimate and vegetation structure in tropical forest fragments. Biotropica 31:17–30.

Dobzhansky T (1950) Evolution in the tropics. American Scientist 38:209–221.

Dow BD, Ashley MV (1996) Microsatellite analysis of seed dispersal and parentage of saplings in bur oak, *Quercus macrocarpa*. Molecular Ecolology 5:615–627.

Dow BD, Ashley MV (1998) Factors influencing male mating success in bur oak, *Quercus macrocarpa*. New Forests 15:161–181.

Ersts PJ (2013) Geographic Distance Matrix Generator (version 1.2.3). American Museum of Natural History, Center for Biodiversity and Conservation. Disponivel em: http://biodiversityinformatics.amnh.org/open_sour-ce/gdmg. Acessado em: 20.08.2013.

Ewers RM, Didham RK (2006) Confounding factors in the detection of species responses to hábitat fragmentation. Biological Reviews 81:117–142.

Excoffier L, Lischer HEL (2010) Arlequin suite ver 3.5: a new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. Molecular Ecology Resources 10:564–567

Fahrig L (2003) Effects of hábitat fragmentation on biodiversity. Annual Review of Ecology, Evolution and Systematics 34:487–515.

Ferreira ME, Grattapaglia D (1996) Introdução ao Uso de Marcadores Moleculares em Análise Genética. 2ª. ed. EMBRAPA/CENARGEN.

Fischer AG (1960) Latitudinal variation in organic diversity. Evolution 14:64–81.

Fuchs EJ, Lobo JA, Quesada M (2003) Effects of forest fragmentation and flowering phenology on the reproductive success and mating patterns of the tropical dry forest tree *Pachira quinata*. Conservation Biology 17:149–157.

Galetti M, Donatti CI, Pires AS, Guimarães PR, Jordano P (2006) Seed survival and dispersal of an endemic Atlantic forest palm: the combined effects to defaunation and forest fragmentation. Botanical Journal of the Linnean Society 151:141–149.

Gilpin ME, Soulé ME (1986) Minimum viable populations: processes of species extinction. In: Soulé ME (ed.). Conservation Biology: The science of scarcity and diversity. Sinauer Associates Inc, Sunderland, pp. 19–34.

Girão LC, Lopes AV, Tabarelli M, Bruna E (2007) Changes in tree reproductive traits reduce functional diversity in a fragmented Atlantic Forest landscape. Plos One 9:1–12.

Golden DM, Crist PO (1999) Experimental effects of hábitat fragmentation on old-field canopy insects: community, guild and species responses. Oecologia 118:371–380.

Grubb PJ (1998) Seed mass and light-demand: the need to control for soil–type and plant stature. New Phytologist, 138:169–170.

Hardesty BD (2007) How far do offspring recruit from parent plants? A molecular approach to understanding effective dispersal. In: Dennis AJ, Schupp RJ, Green EW, Westcott DA (eds.). Seed dispersal: theory and its application in a changing world. CAB International, Wallingford, pp 277–299.

Hardesty BD, Dick CW, Hamrick JL, Degen B, Hubbell SP, Bermingham E (2010) Geographic influence on genetic structure in the widespread neotropical tree *Simarouba amara* (Simaroubaceae). Tropical Plant Biolgy 3:28–39.

Hardesty BD, Dick CW, Kremer A, Hubbell S, Bermingham E (2005) Spatial genetic structure of *Simarouba amara* Aubl. (Simaroubaceae), a dioecious, animal-dispersed Neotropical tree, on Barro Colorado Island, Panama. Heredity 95:290–297.

Hardesty BD, Hubbell S, Bermingham E (2006) Genetic evidence of frequent long-distance recruitment in a vertebrate-dispersed tree. Ecological Letters 9:516–525.

Hautier L, Grégoire JC, Schauwers J, Callier P, San Martin G, Jansen JP, Biseau JC (2010). Monitoring *Harmonia axyridis* intraguild predation on native coccinellids in the field. Chemoecology 18:191–196.

Herrera JM, García D (2010) Effects of Forest Fragmentation on Seed Dispersal and Seedling Establishment in Ornithochorous Trees. Conservation biology 24:1089–1098.

Hill JL, Curran PJ (2001) Species composition in fragmented forests: conservation implications of changing forest area. Applied Geography 21:157–174.

IBGE (2008) Mapa da área de aplicação da Lei nº 11.428 de 2006. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, Rio de Janeiro.

Instituto Brasileiro de Desenvolvimento Florestal - IBDF (1983) Potencial madeireiro do Grande Carajás. IBDF/LPF, Brasília, pp 134.

Janzen DH (1970) Herbivores and the number of tree species in tropical forests. American Naturalist 104:501–526.

Johnson DJ, Beaulieu WT, Bever JD, Clay K (2012) Conspecific negative density dependence and forest diversity. Science 336:904–907.

Kapos V (1989) Effects of isolation on the water status of tropical patches in the Brazilian Amazon. Journal of Tropical Ecology 5:173–185.

Kattan G, Álvarez-López H (1996) Preservation and management of biodiversity in fragmented landscape in the Colombian Andes. In: Schelhas J, Greenberg R (eds.). Forest Patches in Tropical Landscapes. Island Press, Washington, pp 3–18.

Kellman M, Tackaberry R, Meave J (1996) The consequences of prolonged fragmentation: lessons from tropical gallery forests. In: Schellas J, Greenberg R (eds.). Forest patches in tropical landscapes. Washington: University Island Press, pp.37–58.

Kramer AT, Ison JL, Ashley MV, Howe HF (2008) The paradox of forest fragmentation genetics. Conservation Biology 22:878–885,

Lande R (1988) Genetics and demography in biological conservation. Science 241:1455–1460.

Laurance WF, Alonso A, Lee M, Campbell P (2006) Challenges for forest conservation in Gabon, central Africa. Futures 38:454– 470.

Laurance WF, Nascimento HEM, Laurance SG, Andrade A, Fearnside PM, Ribeiro JELS (2006b) Rain forest fragmentation and the proliferation of successional trees. Ecology 87:469–482

Laurance WF, Nascimento HEM, Laurance SG, Andrade A, Ribeiro JELS, Giraldo JP, Lovejoy TE, Condit R, Chave J, Angelo SD (2006a). Rapid decay of tree-community composition in Amazonian forest fragments. Proceedings of the National Academy of Sciences USA 103:19010–19014.

Laurance, WF, Ferreira LV, Rankin-de Merona JM. Laurance SG, Hutchings R, Lovejoy TE (1998) Effects of forest fragmentation on recruitment patterns in Amazonian tree communities. Conservation Biology 12:460–464.

Levins R (1969) Some demographic and genetic consequences of environmental heterogeneity for biological control. Bulletin of the Entomological Society of America 15:237–240.

Lôbo D, Leão T, Melo FPL, Santos AMM, Tabarelli1 M (2011) Forest fragmentation drives Atlantic forest of northeastern Brazil to biotic homogenization. Diversity and Distributions 17:287–296.

Losos EC, Leigh EG (2004) Tropical forest diversity and dynamism: Findings from a large-scale plot network. Chicago: University of Chicago Press.

Loureiro AA, Silva MF, Alencar JC (1979) Essências madeireiras da Amazônia. Instituto Nacional de Pesquisas da Amzônia, INPA/SUFRAMA-MA, Manaus, v.I, pp 245.

Lovejoy TE, Bierregaard RO, Rylands AB, Malcolm JR, Quintela CE, Harper LH, Brown KS, Powell AH, Powell GVN, Schubart HOR, Hays MB (1986) Edge and other effects of isolation on Amazon forest fragments. In: Soulé, M.E. (ed.). Conservation Biology: The Science of Scarcity and Diversity. Sinauer, Sunderland, Massachusetts. pp.257–285.

Macarthur RH, Macarthur JW (1961) On bird species diversity. Ecology 42:594–598.

MacArthur RH, Wilson EO (1967) The theory of island biogeography. Princeton University Press, New Jersey.

Mangan SA, Schnitzer SA, Herre EA, Mack K, Valencia M, Sanchez E, Bever JD (2010) Negative plantsoil feedback predicts tree-species relative species abundance in a tropical forest. Nature 466:752–755.

Marques MHB, Martins VA, Souza MR, Marcus VSA (2006) Efeito da secagem nas propriedades acústicas da madeira de marupá (*Simarouba amara* Aubl.). Floresta & Ambiente 12:57–64.

Melo FPL, Dirzo R, Tabarelli M (2006). Biased seed rain in forest edges: evidence from the Brazilian Atlantic forest. Biological Conservation 132:50–60

Myers N (1988) Threatened biotas: "*Hotspots*" in tropical forests. The Environmentalist 8:1–20.

Myers N (1990) The biodiversity challenge: Expanded hot spots analysis. The Environmentalist 10:243–256.

Nazareno AG, Alzate-Marin AL, Pereira RA (2013) Dioecy, more than monoecy, affects plant spatial genetic structure: the case study of *Ficus*. Ecol Evol. 3:3495–508.

Nei M (1987) Molecular Euolutionary Genetics. Columbia University Press, New York.

Oliveira MA, Grillo AS, Tabarelli M (2004) Forest edge in the Brazilian Atlantic forest: drastic changes in tree species assemblages. Oryx 38:1–6.

Park SDE (2001) The excel microsatellite toolkit: Trypanotolerance in west African cattle and the population genetic effects of selection (tese de Ph.D.), University of Dublin.

Perrier X, Flori A, Bonnot F (2003) Data Analysis Methods. In: Hamon P, Seguin M, Perrier X, Glasmann JC (Eds.). Genetic diversity of cultivated tropical plants. Montpellier: Enfield Science Publishers, pp.43–76.

Perrier X, Flori A, Bonnot F (2003) Data analysis methods. In: P Hamon, M Seguin, X.Perrier, and JC Glaszmann (eds.). Genetic diversity of cultivated tropical plants. Enfield, Science Publishers, Montpellier, pp 43–76.

Pudovkin AI, Zaykinand DV, Hedgecock D (1996) On the potential for estimating the effective number of breeders from heterozygote-excess in progeny. Genetics 144:383–387.

Rasmussen DI (1979) Sibling clusters and genotypic frequencies. Am Nat. 113:948–951.

Robinson GR, Quinn JF, Stanton ML (1995) Invasibility of experimental hábitat islands in a California winter annual grassland. Ecology 76:786–794.

Rodriguez PH, Geistlinger J, Berlyn G, Kahl G, Weising K (2000) Characterization of novel microsatellite loci isolated from the tropical dioecious tree *Simarouba amara*. Molecular Ecology Primer Notes 9:498–500.

Roldán-Ruiz, Calsyn E; Gilliland TJ, Coll R, Eijk MJT, Loose M (2000) Estimating genetic conformity between related ryegrass (Lolium) varieties. AFLP characterization. Molecular Breeding 6:593–602.

Sanders, HL (1969) Benthic marine diversity and the stability-time hypothesis. Brook haven Symposium of Biology 22:71–81.

Santos BA, Peres CA, Oliveira MA, Grillo A, Alves-Costa CP, Tabarelli M (2008) Drastic erosion in functional attributes of tree assemblages in Atlantic forest fragments of northeastern Brazil. Biological Conservation 141:249–260.

Silva JMC, Tabarelli M (2000) Tree species impoverishment and the future flora of the Atlantic forest of northeast Brazil. Nature 404:72–74.

Slooten HJ, Souza MR (1993) Avaliação das espécies madeireiras da Amazônia selecionadas para a manufatura de instrumentos musicais. Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Manaus, pp 123.

Sork VLJ, Nason DR, Campbell J, Fernandez F (1999) Landscape appoaches to historical and contemporary gene flow in plants. Trends in Evolution and Ecology 14:219–224.

Souza MH (1997) Madeiras tropicais brasileiras. IBAMA/LPF, Brasília, pp 152.

Steffan-Dewenter I, Tscharntke T (1997) Bee diversity and seed set in fragmented hábitats. Acta Horticulturae 437:231–234.

Stoeckel S, Grange J, Fernández-Manjarres JF, Bilger I, Frascaria-Lacoste N, Mariette S (2006) Heterozygote excess in a self-incompatible and partially clonal forest tree species–*Prunus avium* L. Molecular Ecology 15:2109–2118.

Streiff R, Ducousso A, Lexer C, Steinkellner H, Gloessl J, Kremer A (1999) Pollen dispersal inferred from paternity analysis in a mixed oak stand of *Quercus robur* L. and *Q. petraea* Matt. Liebl. Molecular Ecology 8:831–841.

Swamy V, Terborgh JW (2010) Distance-responsive natural enemies strongly influence seedling establishment patterns of multiple species in an Amazonian rain forest. Journal of Ecology 98:1096–1107.

Tabarelli M, Mantovani W, Peres CA (1999) Effects of hábitat fragmentation on plant guild structure in the montane Atlantic forest of southeastern Brazil. Biological Conservation 91:119–127.

Tabarelli M, Peres CA, Melo FPL (2012) The „few winners and many losers‟ paradigm revisited: Emerging prospects for tropical forest biodiversity. Biological Conservation 155:136–140.

Terborgh J (2012) Using Janzes-Connell to predisct the consequences of defaunation and other disturbances of tropical forest. Biological Conservation 163:7–12.

Tscharntke T, Steffan-Dewenter I, Kruess A, Thies C (2002) Characteristics of insect populations on hábitat fragments: a mini review. Ecology Research 17:229–239.

Weir BS, Cockerham CC (1984) Estimating F-Statistics for the Analysis of Population Structure. Evolution 38:1358.

Wirth T, Meyer ST, Leal IR, Tabarelli M (2008) Plant Herbivore Interactions at the Forest Edge. In: Luttge U, Beyschlag W, Murata J (eds.). Progress in Botany, pp 423–448.

Young A, Boyle T, Brown T (1996) The population genetic consequences of hábitat fragmentation for plants. Trends Ecology Evolution 11:413–418.

Tabela 1. Distâncias médias entre indivíduos dentro (1, 2 e 3) entre (1-2, 2-3 e 1-3) as classes de tamanho de CAP (Classe 1, CAP ≥ 20 cm; classe 2, 3 > CAP ≤ 20 cm; classe 3, CAP ≤ 3), por população.

Relação de distância	Populações					
	Buxaxá	Gargau	Mata das Grotas	Moita Verde	Pau Brasil	Pacatuba
Classe 1 - Classe 1	45,52	59.15	56.20	73.06	30.40	61.72
Classe 2 - Classe 2	0.00	0.00	22.74	152.14	53.32	35.77
Classe 3 - Classe 3	77.09	0.00	0.00	35.54	48.79	47.34
Classe 1 - Classe 2	0.00	56.32	50.71	106.84	46.70	52.07
Classe 2 - Classe 3	0.00	38.60	23.95	131.01	52.28	63.44
Classe 1 - Classe 3	45.25	43.67	58.44	167.99	48.63	62.22

Tabela 2. Resumo das principais estatísticas para os cinco locos microssatélites de *S. amara* selecionados no presente estudo: N_A, número de alelos; H_O, heterozigosidade observada; H_E, heterozigosidade esperada; F_{IS}, coeficiente de endogamia de Wright; e PIC, conteúdo de informação de polimorfismo. Desvios significativos do Equilíbrio de Hardy-Weinberg estão indicados (**, P,0,01).

Pop.	N_A	H_O	H_E	F_{IS}	PIC
SaSSR02**	7	0.93333	0.63065	-0.4492	0.53251
SaSSR03**	7	1	0.73097	-0.3692	0.65539
SaSSR10	6	0.25953	0.33421	-0.0821	0.29568
SaSSR12**	4	0.78889	0.60766	-0.3316	0.51625
SasSSR27	5	0.44701	0.52209	-0.0251	0.43809
Total	29				
Média	5.8	0.68575	0.56512	-0.25144	0.48758

Tabela 3. Diversidade genética intrapopulacional de *S. amara* em fragmentos do Corredor Ecológico Pacatuba-Gargaú (CEPG) utilizando cinco locos SSR. A_R, média do número de alelos por locos, com valores máximo e mínimo entre parênteses; P_A, número de alelos privados; H_O, heterozigosidade observada; H_E, heterozigosidade esperada para cada população; e F_{IS}, coeficiente de endogamia.

População	A_R	P_A	H_O	H_E	F_{IS}
Perturbadas					
Moita Verde	3.8 (2-5)	0	0.82667	0.60184	-0.3921
Pacatuba	4.4 (3-6)	1	0.64784	0.58848	-0.107
Pau Brasil	4.2 (2-7)	1	0.70667	0.57471	-0.2398
Conservadas					
Gargau	3.2 (2-4)	0	0.76	0.57575	-0.3323
Mata das Grotas	3.8 (3-6)	2	0.72	0.59705	-0.2133
Buxaxa	3.2 (2-4)	1	0.64	0.45287	-0.4344
Média	3.7666	0.8333	0.716863	0.56512	-0.2865

Tabela 4. Matriz de distâncias genética (F_{ST}, diagonal superior) e geográfica (m, diagonal inferior) entre as populações estudadas de *S. amara*.

Populações	Moita Verde	Pacatuba	Pau Brasil	Gargau	Mata das Grotas	Buxaxá
Moita Verde	-	0,02368	0,05725	0,08991	0,07031	0,0458
Pacatuba	6604,8	-	0,05011	0,08682	0,05873	0,11755
Pau Brasil	4327,95	6919,43	-	0,05099	0,04094	0,07295
Gargau	15550,06	20734,58	19418,01	-	0,03941	0,18046
Mata das Grotas	2304,92	4481,71	5042,35	16691,77	-	0,16285
Buxaxá	7432,06	7222,33	10998,3	15161,47	5956,12	-

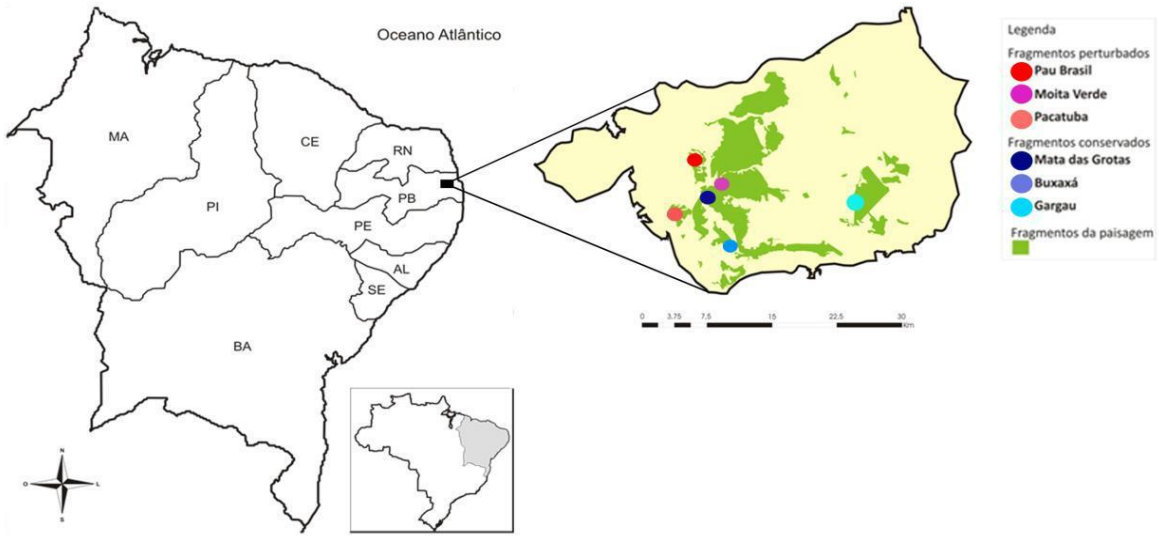

Figura 1. Localização da paisagem do Corredor Ecológico Pacatuca-Gargau (CEPG), mostrando a localização das populações amostradas.

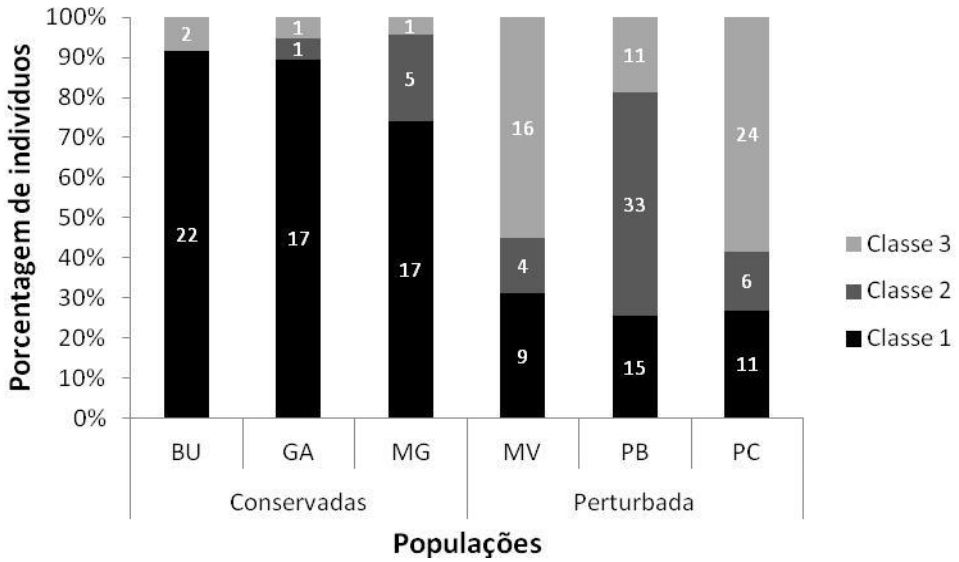

Figura 2. Distribuição dos indivíduos das populações analisadas de *S. amara* por classe de CAP (Classe 1, CAP ≥ 20 cm; classe 2, 3 > CAP ≤ 20 cm; classe 3, CAP ≤ 3). O número absoluto de indivíduos está indicado para cada classe. MV, Moita Verde; PC, Pacatuba; PB, Pau Brasil; GA, Gargau; MG, Mata das Grotas; BU, Buxaxá**.**

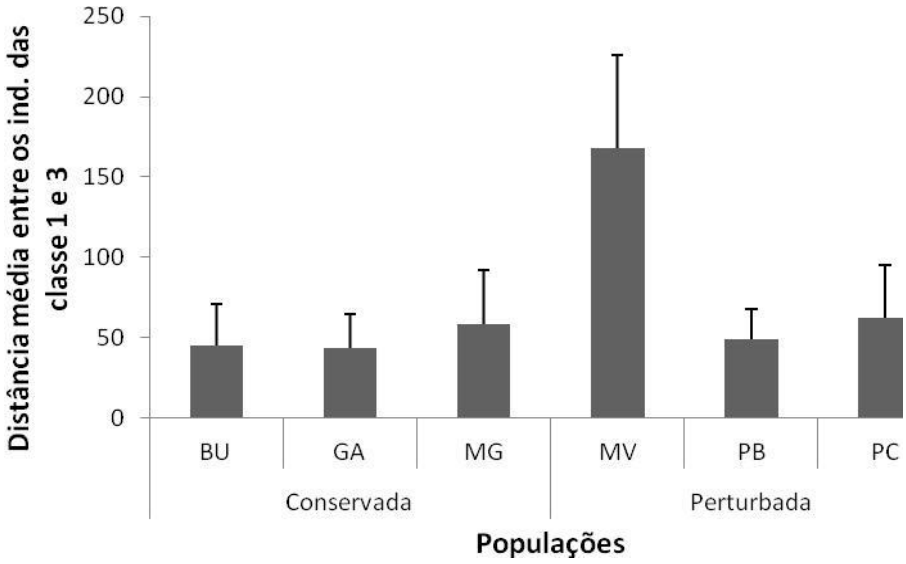

Figura 3. Distâncias médias (em metros) entre os indivíduos da classe 1 e 3, por população de *S. amara*. MV, Moita Verde; PC, Pacatuba; PB, Pau Brasil; GA, Gargau; MG, Mata das Grotas; BU, Buxaxá.

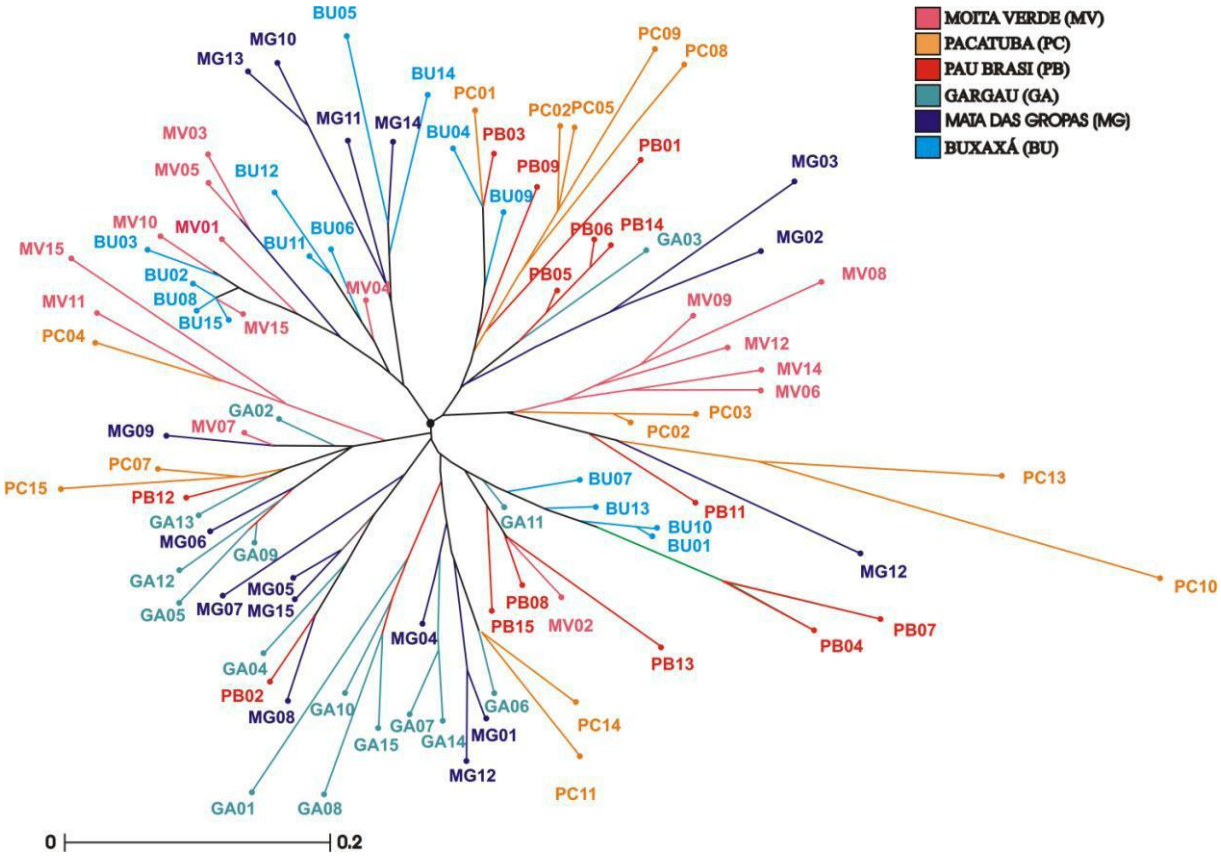

Figura 4. Fenograma representando as distâncias genéticas entre os indivíduos de *S. amara* gerado a partir do método de *Neighbor-joining*.

5. CONCLUSÕES

1. A perturbação antrópica na área de estudo levou a uma alteração na estrutura demográfica das populações de *S. amara*, com as áreas mais perturbadas apresentando maior proporção de indivíduos recrutantes e menor proporção de adultos que as áreas mais conservadas, sem alteração, entretanto, nas distâncias médias entre indivíduos.

2. As populações da *S. amara* do Corredor Ecológico Pacatuca-Gargau (CEPG) apresentaram uma menor diversidade genética que as populações previamente investigadas da espécie na América Central e do Sul, talvez resultado de processos históricos.

3. A insipiente estruturação genética observada tanto entre jovens como entre adultos, sugere manutenção do fluxo gênico na área, apesar da perturbação.

5. CONCLUSÕES

1. A perturbação antrópica na área de estudo levou a uma alteração na estrutura demográfica das populações de *S. amara*, com as áreas mais perturbadas apresentando maior proporção de indivíduos recrutantes e menor proporção de adultos que as áreas mais conservadas, sem alteração, entretanto, nas distâncias médias entre indivíduos.

2. As populações da *S. amara* do Corredor Ecológico Pacatuca-Gargau (CEPG) apresentaram uma menor diversidade genética que as populações previamente investigadas da espécie na América Central e do Sul, talvez resultado de processos históricos.

3. A insipiente estruturação genética observada tanto entre jovens como entre adultos, sugere manutenção do fluxo gênico na área, apesar da perturbação.

6. ANEXO

Instructions for Authors

Biodiversity and Conservation

General

Language

The journal,,s language is English. British English or American English spelling and terminology may be used, but either one should be followed consistently throughout the article. Authors are responsible for ensuring the language quality prior to submission.

Is there an existing module for this? It should probably be made clear on submission to all journals. Spacing Please double−space all material, including notes and references.

Nomenclature

This is not a taxonomic journal and does not publish new scientific names of species or other ranks except in exceptional circumstances. The correct names of organisms conforming with the international rules of nomenclature must be used. Descriptions of new taxa should not be submitted unless a specimen has been deposited in a recognized collection and it is designated as a type strain in the paper. Biodiversity and Conservation uses the same conventions for the genetics nomenclature of bacteria, viruses, transposable elements, plasmids and restriction enzymes as the American Society for Microbiology journals.

Manuscript submission

Manuscript Submission

Submission of a manuscript implies: that the work described has not been published before; that it is not under consideration for publication anywhere else; that its publication has been approved by all co-authors, if any, as well as by the responsible authorities – tacitly or explicitly – at the institute where the work has been carried out. The publisher will not be held legally responsible should there be any claims for compensation.

Permissions

Authors wishing to include figures, tables, or text passages that have already been published elsewhere are required to obtain permission from the copyright owner(s) for both the print and online format and to include evidence that such permission has been granted when submitting their papers. Any material received without such evidence will be assumed to originate from the authors.