



**DIVERSIDADE GENÉTICA DE *Myrcia
splendens* (SW.) DC. (MYRTACEAE) POR
MARCADORES ISSR EM SISTEMA
CORREDOR-FRAGMENTO SEMIDECIDUAIS
NO SUL DE MINAS GERAIS**

MURILO MALVEIRA BRANDÃO

2008

MURILO MALVEIRA BRANDÃO

DIVERSIDADE GENÉTICA DE *Myrcia splendens* (SW.) DC.
(MYRTACEAE) POR MARCADORES ISSR EM SISTEMA CORREDOR-
FRAGMENTO SEMIDECIDUAIS NO SUL DE MINAS GERAIS

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras como parte das exigências do Curso de Mestrado em Engenharia Florestal, área de concentração em Manejo Ambiental, para a obtenção do título de “Mestre”.

APROVADA em 09 de Maio de 2008.

Profa. Dr. Maria Bernadete Lovato	UFMG
Prof. Dr. Marcelo Passamani	UFLA
Profa. Dr. Rosângela Alves Tristão Borém	UFLA

Profa. Dra. Dulcinéia de Carvalho
(Orientadora)

LAVRAS
MINAS GERAIS – BRASIL
2008

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

Brandão, Murilo Malveira.

Diversidade genética de *Myrcia splendens* (SW.) DC. (Myrtaceae) por marcadores ISSR em sistema corredor-fragmento semidecíduais no Sul de Minas Gerais / Murilo Malveira Brandão. -- Lavras : UFLA, 2008.

80 p. : il.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Lavras, 2008.

Orientador: Dulcinéia de Carvalho.

Bibliografia.

1. Diversidade genética. 2. Myrtaceae. 3. *Myrcia splendens*. 4. ISSR. 5. Fragmentos florestais. 6. Corredor de vegetação. I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.

CDD – 634.97342

Agradecimentos

No início era apenas uma célula, com tudo para dar errado, mas já com a vontade de prosseguir, crescer, dividir! E deu certo :-).

O tempo passou e aqui estou! Não imaginava alcançar este degrau tão rápido e, ao final desta etapa, vejo o quanto as pessoas, com as quais me relacionei, foram importantes nesta jornada. Citar nomes talvez seja injusto, pois minha memória, às vezes, me ‘passa a perna’, podendo esquecer alguém. Mas quem me conhece sabe deste meu problema (rsrs...) e desde já peço perdão! E, independente da ordem que aparecem aqui, todos ocupam lugar especial em meu coração. Então, vamos lá!

Primeiramente, agradeço a Deus, pela oportunidade e por ser o primeiro a acreditar em mim! Aos meus pais, Anelito Malveira da Fonseca e Mariana Brandão Malveira, pelo amor, carinho e abrigo, pela força, amizade e fé! E aos meus irmãos, Sandra Malveira e Fernando Brandão Malveira, pelo apoio sempre. Vou esnobar um pouco, mas eu cheguei na melhor família do mundo :-).

A minha querida amada princesa Aline Ferreira Alves, pelo carinho, apoio, paciência, conselhos e pelo grande amor. A distância era grande, mas a lembrança de ti era aconchegante, fazendo desaparecer os quilômetros entre nós! E também sua família, sempre me dando forças!

A todos os meus eternos amigos: Hisaías de Souza (isso mesmo, com H rsrs), Fábio de Almeida (cara doido d+), Rubens (conhece 99% das plantas, outros 1% ainda não foram encontradas rsrs), Evandro (gente boa d+), Elizângela, Fabiana, Priscila, Mariana, Daniele (todas meninas de ouro), Rodrigo (Cotonete), Fernando Guedes, Elton (também concordo com a filosofia Dung Beetle), Camila (não sei não, mas acho que ela deve ser uma *anja* rsrs), Gislene (pelas informações primordiais)... todos companheiros, professores, conselheiros, apoiadores e torcedores! Nossa história está apenas começando!

Flávio Rodrigues e Rogério Carvalho, fundamentais em cada dia que passamos juntos nesta jornada. Conseguimos, amigos! Sem vocês eu não daria conta não, viu?! Serei eternamente grato a vocês e nossa amizade é o maior título que conquistamos!

Aos amigos do Laboratório: Daniele, Daniel, Gabriela, Alisson (Janú), Hugo, Elias, Evânia, Cristiane... o meu muitíssimo obrigado :-).

A minha orientadora, Dulcinéia de Carvalho, pela oportunidade, ensinamentos, dicas e conselhos. Obrigado por acreditar em mim e permitir que eu mostrasse meu trabalho. Formamos uma grande família aqui em Lavras, Dulce. Você como nossa mãe e nós (orientados), seus filhos queridos :-).

Aos meus amigos Afrânio (sempre alegre, amigo em qualquer lugar), Dario (grande chefe), Marcio, Gustavo, Fernanda e a todos do laboratório de biotecnologia da Unimontes. E a todos da Unimontes que contribuíram para que eu alcançasse esta vitória!

Aos professores Eduardo van den Berg e Marcelo Passamani, pelos conselhos e dicas importantes para este trabalho. E aos membros da banca avaliadora, pelas preciosas dicas e correções.

Agradeço ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Florestais, pelo apoio. Em especial, agradeço à nossa secretária, Roseane, amiga para sempre também! E a todos os alunos (da pós e da graduação), funcionários e professores do Departamento de Ciências Florestais. A CAPES, pela concessão da bolsa, fundamental neste ano!

Muitos nomes não foram citados, não por falta de consideração, mas pela fraqueza da memória mesmo, por isso minhas desculpas e meu obrigado!

Bem, agora não sou apenas uma célula, mas continuo prosseguindo, crescendo, e dividindo! Agora divido esta vitória com vocês, amigos! E sou eternamente grato por ter a oportunidade de repartir este momento tão alegre da minha vida com vocês!

Obrigado, obrigado e obrigado!

SUMÁRIO

Resumo	i
Abstract.....	ii
1 INTRODUÇÃO	1
2 REFERENCIAL TEÓRICO.....	4
2.1 Fragmentação florestal	4
2.2 Corredores de vegetação	6
2.3 Diversidade e estrutura genética	8
2.4 Análise da diversidade e estrutura genética utilizando marcadores dominantes	12
2.5 Estrutura espacial dos genótipos.....	14
2.6 Marcadores ISSR	16
2.7 Caracterização da espécie – <i>Myrcia splendens</i> (Myrtaceae)	19
3 MATERIAL E MÉTODOS	23
3.1 Local do estudo	23
3.2 Amostragem	25
3.3 Extração de DNA	26
3.4 Reações de PCR e eletroforese	28
3.5 Teste e seleção de primers ISSR	29
3.6 Análise estatística dos dados	29
3.6.1 Identificação do número ótimo de bandas	29
3.6.2 Diversidade e estrutura genética	30
3.6.3 Estrutura genética espacial	31
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	33
4.1 Teste e seleção de primers de ISSR	33
4.2 Número ótimo de fragmentos polimórficos	35
4.3 Diversidade genética	36
4.4 Estrutura genética	40
4.5 Estrutura genética espacial	50
5 CONCLUSÕES	57
6 CONSIDERAÇÕES FINAIS	59
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	61

RESUMO

BRANDÃO, Murilo Malveira. **Diversidade genética de *Myrcia splendens* (SW.) DC. (Myrtaceae) por marcadores ISSR em sistema corredor-fragmento semidecíduais no Sul de Minas Gerais.** 2008. 80p. Dissertação (Mestrado em Ciências Florestais) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

Em ecossistemas fragmentados, comuns no sul do estado de Minas Gerais, os corredores de vegetação são elementos de grande importância ecológica para o fluxo gênico de plantas e de animais. Os corredores de vegetação na região de Lavras, MG, são estreitos (entre 3 e 6m), de vegetação secundária formada pela colonização de valas usadas em divisas de glebas e interligam fragmentos remanescentes de vegetação primária. Nestes dois ambientes é comum a ocorrência da espécie *Myrcia splendens* (Sw.) DC. (Myrtaceae), conhecida como guamirim ou folha-miúda, que produz frutos de dispersão zoocórica. No intuito de avaliar os fragmentos e suas conexões, este trabalho objetivou caracterizar a variabilidade genética das populações de *M. splendens* nos ambientes de formação primária (fragmentos) e secundária (corredores). Dez *primers* ISSR foram utilizados em 168 indivíduos distribuídos nos cinco fragmentos e 104 em quatro corredores de vegetação e geraram um total de 70 locos polimórficos. Os resultados indicam altos níveis de diversidade genética dentro das populações nos fragmentos e nos corredores. A heterozigosidade esperada (H_e) e o índice de Shannon (I) nos fragmentos foram de 0,37 e 0,53, respectivamente e, nos corredores, de 0,33 e 0,48, respectivamente. A AMOVA mostrou que a maior parte da diversidade genética ocorre dentro das populações (96,49% nos fragmentos e 91,15% nos corredores). O fluxo alélico estimado para o conjunto dos fragmentos foi alto ($Nm = 8,7$). No geral, os fragmentos apresentaram maior fluxo alélico com os corredores vizinhos. Não houve correlação significativa entre distância genética e geográfica ($r = 0,057$; $P = 0,43$) entre fragmentos, confirmando a baixa diferenciação genética entre eles. Nas formações primárias (F1 a F5) e nos corredores C1 e C2 os genótipos estão distribuídos de maneira aleatória. Nos corredores C3 e C4, observou-se estruturação genética espacial, com valores de coancestria positiva na primeira classe de distância, sendo os valores de S_p de 0,012 e 0,014, respectivamente. Na paisagem estudada, os corredores de vegetação são de grande importância para minimizar os efeitos negativos da fragmentação, portanto, sua conservação e ampliação são medidas valiosas para a preservação da espécie e dos fragmentos remanescentes.

ABSTRACT

BRANDÃO, Murilo Malveira. **Genetic diversity of *Myrcia splendens* (SW.) DC. (Myrtaceae) by ISSR markers in a system semideciduous corridor-fragment in the South of Minas Gerais.** 2008. 80p. Dissertation (Masters Degree Forest Science) - Federal University of Lavras, Lavras, MG.

In the South of Minas Gerais State, the landscape is mainly characterized by fragmented ecosystems. So, the presence of vegetation corridors has a great ecological importance gene flow of plants and animals. In the regional the corridors are narrow, between 3 and 6m and resulted from secondary vegetation colonization trenches, built for land division purposes. These corridors interconnect remaining fragment of primary forest. One of the most abundant species in these environments is *Myrcia splendens*, which has zoocoric dispersion, known as guamirim or folha-miúda. Therefore, this work aimed to access the genetic variability of *M. splendens* populations in primary formations (fragments) and in secondary formations (corridors). The genetic variation was assessed with 70 polymorphic loci using ten ISSR primers. The genetic structure of the species was carried out using a sample of 168 individuals distributed in five fragments and 104 individuals distributed in four corridors. The results indicated high genetic diversity of the species in the fragments ($H_e = 0.37$; $I = 0.53$) and in the corridors ($H_e = 0.33$; $I = 0.48$). AMOVA revealed that most of the genetic diversities of *M. splendens* were found within the populations (96.49% in the fragments and 91.15% in the corridors). The gene flow for the set of fragments studied was high ($Nm = 8.7$). In general, the fragments presented higher gene flow with neighboring corridors. Low differentiation among fragments and no significant correlation between genetic and geographic distance ($r = 0.057$; $P = 0.43$) was observed. The primary formations (F1 to F5) and the corridors C1 and C2 revealed that genotypes were randomly distributed. Positive spatial autocorrelation was detected in the corridors C3 and C4 with values of positive coancestry in the first distance class ($Sp = 0.012$ and 0.014 , respectively). In the analyzed landscape, the vegetation corridors had a great importance to minimizing the negative effects of fragmentation. Therefore, maintaining the corridors is a valuable measure for conservation of the species and the forests remnants.

1 INTRODUÇÃO

A perda e a fragmentação de habitats são uma das principais conseqüências da inadequada exploração dos recursos naturais pelo homem. Explorações irracionais dos recursos madeireiros, aliadas aos processos de substituição da cobertura florestal para a expansão das fronteiras agrícolas e pecuárias, além do crescimento urbano, têm acarretado a fragmentação dos ecossistemas florestais. Áreas anteriormente de vegetação contínuas foram reduzidas a pequenos remanescentes, na grande maioria, isolados uns dos outros, inseridos em uma “paisagem em mosaico”.

Como decorrências dessas subtrações e da fragmentação da paisagem, podem ocorrer perda de variabilidade genética e diminuição da capacidade adaptativa das espécies em ambientes modificados. Processos de fragmentação causam o isolamento reprodutivo de indivíduos, que carregam uma pequena amostra do conjunto gênico da população, podendo levar à perda de alelos (Sebbenn et al., 2000; Jennings et al., 2001).

A fragmentação afeta os processos de dispersão dos organismos entre os remanescentes da vegetação. Segundo Brooker et al. (1999), várias espécies da fauna, relacionadas com os processos de polinização e dispersão de grande parte das espécies vegetais, têm sua migração dificultada entre fragmentos, afetando diretamente as populações vegetais que dependem desses vetores. Nestas paisagens, a conexão de um fragmento com o outro, promovida por corredor de vegetação, é importante para a preservação destes ambientes. Estes corredores possibilitam o movimento da biota entre fragmentos, promovendo a permuta de polinizadores e dispersores de sementes e, com isso, a troca de material genético entre os ambientes (Forman, 1997; Santos, 2002).

Na região do Alto Rio Grande, no município de Lavras, sul de Minas Gerais, é possível observar a conexão de fragmentos florestais a partir de corredores de vegetação de formação secundária. Esses corredores podem ser considerados essenciais para a conservação desses remanescentes devido à sua diversidade florística e à ocorrência de espécies exclusivas nesses ambientes (Castro, 2004). Neste sistema (corredor-fragmento), para o estabelecimento de estratégias eficazes de conservação genética, é importante conhecer os níveis e a distribuição da variabilidade genética nessas populações.

A equipe do Laboratório de Conservação Genética de Espécies Arbóreas, do Departamento de Ciências Florestais da Universidade Federal de Lavras, vem desenvolvendo trabalhos na área de conservação genética de espécies arbóreas desde 1998. São realizadas pesquisas abrangendo tanto análises fenológicas quanto estudos de diversidade genética, no sistema corredor-fragmento e em outros ecossistemas da região, com espécies de valores ecológicos e econômicos, como, por exemplo, *Calophyllum brasiliense*, *Copaifera langsdorffii*, *Eremanthus erythropappus*, *Protium spruceanum*, *Xylopia emarginata*, dentre outras.

Dentre o grande número de espécies arbóreas existentes sistema (corredor-fragmento), *Myrcia splendens* (Sw.) DC. foi escolhida, por ser uma planta perene, abundante na área, de ocorrência tanto no ambiente dos fragmentos quanto dos corredores (Castro, 2004) e por sua importância ecológica. Seus frutos são apreciados pela fauna, que ajuda na dispersão de suas sementes.

Espera-se que as populações de *M. splendens* nos fragmentos apresentem baixa diferenciação genética entre elas, já que estão conectados pelos corredores de vegetação, demonstrando a relevância dos corredores para a manutenção da diversidade genética. Espera-se, também, que ocorra maior fluxo alélico entre os

fragmentos conectados e com corredores vizinhos a eles, uma vez que essas formações secundárias servem como vias para o trânsito da fauna.

Assim, este estudo foi realizado com o objetivo de caracterizar a diversidade genética de *M. splendens* no sistema corredor-fragmento na região do Alto Rio Grande, município de Lavras, MG, no intuito de fornecer informações que possam ser utilizadas para a adoção de estratégias de manutenção e de conservação genética. Especificamente, buscou-se neste trabalho:

- i. delinear os níveis de diversidade genética de *M. splendens*, utilizando marcadores do tipo ISSR;
- ii. verificar a distribuição da variabilidade genética das populações nos ambientes de fragmentos (formação primária) e corredores (formação secundária) e
- iii. estudar a distribuição espacial dos genótipos.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Fragmentação florestal

Fragmentação florestal pode ser conceituada, do ponto de vista da conservação biológica, como sendo a separação ou o desligamento não natural de áreas amplas, com diferentes tamanhos, forma, grau de isolamento, tipos de vizinhança e histórico de perturbações, comprometendo a conservação da biodiversidade (Viana & Tabanez, 1996, Korman, 2003). De forma complementar, os fragmentos florestais podem ser definidos como uma área de vegetação natural interrompida por barreiras. Tais barreiras podem ser naturais como tipos de solos, formações rochosas e vegetais, lagos, dentre outras ou antrópicas, como estradas, hidroelétricas, ocupações urbanas e rurais (Forman, 1997; Castro, 2004).

Young & Boyle (2000) apontam três efeitos principais da fragmentação sobre as espécies: redução do número total de indivíduos, redução do tamanho populacional médio, pois restringe indivíduos em pequenos fragmentos e isolamento espacial de populações remanescentes.

Taxas alarmantes de perda na diversidade biológica estão associadas com a rápida redução das áreas ocupadas por vegetação (Oliveira, 2000). Ehrlich (1988) aponta a destruição, a degradação e a fragmentação dos habitats, resultados da expansão da população humana e suas atividades, como causas maiores do declínio da diversidade biológica.

A fragmentação, dentre várias outras problemáticas que advêm dela, introduz uma quebra na continuidade da distribuição da vegetação original, reduz o habitat disponível para animais silvestres e plantas, além de acrescentar bordas a uma paisagem contínua anteriormente. Este processo de fragmentação

afeta a biota nativa, além do ciclo hidrológico, tanto local quanto regional e as condições sócio-econômicas da população local (Murcia, 1995; Bierregaard Junior & Dale, 1996). Além disso, esses processos podem levar à redução no tamanho efetivo de populações naturais, à perda de hábitat e a alterações nas interações ecológicas e nos processos reprodutivos de várias espécies, resultando, posteriormente, em modificações nos padrões de diversidade e na dinâmica das comunidades (Silva et al., 2007).

Com a fragmentação, uma cadeia de novos elementos é introduzida na história evolutiva de populações naturais, tanto de plantas como de animais. Parâmetros demográficos de natalidade e mortalidade de diversas espécies podem ser modificados, o que pode vir a refletir na estrutura e na dinâmica de ecossistemas (Viana & Pinheiro, 1998). Ressalta-se que a maior parte do fluxo gênico entre as populações de plantas é promovida pela fauna, padrões de troca de alelos entre as populações remanescentes sofrem modificações e, conseqüentemente sua variabilidade e estrutura genética também são alteradas (Ballal et al., 1994). Assim, em decorrência da fragmentação de paisagens naturais e da destruição de hábitats, uma limitação evolutiva pode ocorrer, pela perda de variabilidade genética e pela diminuição da capacidade adaptativa às mudanças ambientais (Young et al., 1996; Young & Boyle, 2000).

Viana & Pinheiro (1998) apontam outros problemas da fragmentação em que, no caso de espécies arbóreas, a alteração na abundância de polinizadores, dispersores, predadores e patógenos altera as taxas de recrutamento de plântulas. Esses autores ainda salientam que os incêndios e as mudanças microclimáticas que atingem mais intensamente as bordas dos fragmentos também alteram as taxas de mortalidade de árvores. Modificações nos padrões de dispersão de sementes e pólen podem promover alterações na estrutura e na diversidade genética (Foré et al., 1992). Outros autores, no entanto, observaram que, em alguns casos, o processo de fragmentação não levou ao aumento da divergência

entre as populações nem alterou o fluxo gênico entre os fragmentos (Young et al., 1993; Sun, 1996; González-Astorga & Núñez-Farfán, 2001; White et al., 2002; Dick et al., 2003). Segundo Lowe et al. (2005), dependendo das alterações ocorridas na paisagem fragmentada e das espécies que ali ocorrem, as respostas à perturbação podem ser diferentes.

Desse modo, para prever o destino de espécies em fragmentos florestais e com vista a adequados programas de manejo dessas paisagens, é essencial avaliar os efeitos da fragmentação e entender a dinâmica das populações nos fragmentos, bem como sua interação com os elementos da paisagem. Esta é uma tarefa complexa, visto que, segundo alguns autores, o efeito da fragmentação pode se estender indiretamente por meio de uma rede de interações interespecíficas e a mais prejudicial, provavelmente, é aquela que afeta o sucesso reprodutivo (Dick et al., 2003; Bacles et al., 2004; Dutech et al., 2005; Ward et al., 2005). Interrupção nos processos de polinização, decorrente da fragmentação florestal, pode resultar em redução e isolamento de populações vegetais e perda da variabilidade (Murcia, 1996). Além disso, estudos relevantes sobre a capacidade desses sistemas fragmentados em conservar ou não a biodiversidade *in situ* e resistir à prolongada intervenção humana devem ser feitos.

2.2 Corredores de vegetação

O Sistema Nacional de Unidade de Conservação da Natureza (SNUC), instituído pela Lei nº. 9.985/2000 (Brasil, 2000a), conceitua corredor de vegetação como sendo conexões entre fragmentos florestais ou unidades de conservação que proporcionam o fluxo de genes entre os ambientes e também facilitam a movimentação da fauna entre os fragmentos. Além disso, é fator importante para a manutenção e a sobrevivência de populações, pois pode

minimizar o isolamento provocado pela fragmentação. Em planos de manejo, os corredores de vegetação são freqüentemente destacados como elementos importantes para a conservação de ecossistemas em paisagens que sofreram fragmentação (Haddad, 2000).

A importância dos corredores de vegetação ligando fragmentos isolados é freqüentemente mencionada em alguns trabalhos e, nas últimas décadas, ganhou notório desenvolvimento nos estudos nesta área (Haas, 1995; Hill, 1995; Mech & Hallett, 2001; Castro, 2004; Vieira, 2005; Vieira & Carvalho, 2008).

Estudos de Debinski & Holt (2000) forneceram algumas informações sobre a importância dos corredores em ambientes fragmentados, sendo estimados elos entre os remanescentes florestais. Segundo os mesmos autores, nenhum resultado aponta eventuais efeitos negativos dos corredores, entretanto, alguns trabalhos indicam corredores como propagadores ocasionais de pragas, fogo e espécies exóticas, além de poder induzir o aumento da caça predatória, pois animais ficam mais expostos e mais vulneráveis nesses ambientes (Simberloff & Cox, 1987; Simberloff et al., 1992).

O Brasil ainda carece de estudos sobre corredores de vegetação, entretanto, iniciativas governamentais, como o projeto “Corredores Ecológicos”, sob coordenação do IBAMA (Brasil, 2002b), buscando a conexão das maiores fitofisionomias do país, são ações muito importantes visando à conservação. Outros estudos e projetos, como o Projeto de Conservação e de Utilização Sustentável da Diversidade Biológica Brasileira, ou PROBIO, apontam a importância dos corredores de vegetação como estimável metodologia para a conservação da diversidade, uma vez que atuam na manutenção do fluxo gênico. É importante ressaltar que muitos dispersores e polinizadores não atravessam matrizes abertas, ou seja, o fluxo gênico de um fragmento com outro próximo, muitas vezes, somente será possível com a presença de um corredor de

vegetação, ligando tais fragmentos. Portanto, os corredores são uma importante alternativa para a conservação da vegetação (Colli et al., 2003).

Para se determinar as funções dos corredores, levam-se em conta, dentre outras, os fatores que influenciam tais funções, como a forma do corredor, a sua largura e extensão, assim como a biologia, a ecologia e a história de vida das espécies. Além disso, devem-se conhecer a necessidade do corredor para a espécie, a pressão antrópica sobre eles, a localização em relação aos fragmentos, a estrutura e a conectividade com os fragmentos (Noss, 1987; Lindenmayer, 1994; Nohlgren & Gustafsson, 1995; Forman, 1997).

Os corredores na região do sul do estado de Minas Gerais, segundo Castro (2004), são estruturas lineares, de largura reduzida, entre 3 e 6 m. Na região do Alto Rio Grande, no município de Lavras, os corredores são originados de valas, antigamente usadas para a divisão de glebas e, com o passar do tempo, foram colonizados por espécies nativas ou, ainda, originados de faixas de vegetação deixadas nos limites das propriedades após desmatamento. Os trabalhos desenvolvidos por Castro (2004) mostram o sucesso da colonização das valas na área do presente estudo. A autora ressalta, ainda, a alta diversidade florística nesses corredores e sua importância na conexão entre fragmentos e na conservação regional. Visando à conservação da diversidade genética, é importante incrementar os corredores de vegetação, pois são elementos importantes na paisagem e ainda pouco estudados.

2.3 Diversidade e estrutura genética

O estudo da diversidade genética em populações compreende a descrição dos níveis de variabilidade genética mantida dentro das populações e como esta se encontra dividida entre e dentro das mesmas (Hamrick, 1983). Fatores evolutivos, como deriva genética e seleção, são afetados pela dinâmica

populacional de plantas, proporcionando modificações na estrutura genética nas populações (Gaiotto et al., 2003). Ao longo do tempo, a estrutura genética é resultante da reprodução, da dispersão e da sobrevivência dos indivíduos de uma população. Portanto, é importante mesclar o conhecimento do sistema de acasalamento e reprodução, a história de vida e os fatores ecológicos, pois os mesmos têm papéis importantes na dinâmica evolutiva e ecológica das populações (Loveless et al., 1998).

Populações fragmentadas têm exposto algumas determinadas espécies aos efeitos da endogamia e da deriva genética, efeitos que comumente ocorrem em pequenas populações, porém, sem prejuízos para grandes populações (Cavallari-Neto, 2004). Tais efeitos genéticos estão relacionados com processos estocásticos associados a populações que tiveram seu tamanho reduzido (Bouzat, 2001). Portanto, paisagens que passaram por processo de fragmentação, formando populações pequenas e isoladas, estão mais sujeitas aos efeitos da endogamia e da deriva genética, apresentando, na maioria das vezes, menor variabilidade genética (Wright, 1931; Hartl & Clark, 1997).

Os estudos da estrutura genética, ou seja, a distribuição dos alelos e dos genótipos no espaço e no tempo, são fundamentados no teorema de Hardy-Weinberg. Este teorema considera que, em uma população de tamanho muito grande (infinito), onde ocorrem cruzamentos ao acaso, as frequências gênicas e genotípicas permanecem constantes de geração a geração, isso na ausência de migração, seleção e deriva. Seguindo este princípio, é possível o cálculo teórico da frequência de um determinado genótipo (Futuyma, 2002).

A variação genética é condição fundamental para que ocorra evolução, pois a seleção natural atua nas diferenças que ocorrem dentro das populações (Torggler et al., 1995). Com maior variabilidade genética na população, maiores serão suas chances de sucesso diante das mudanças ambientais (Fleishman et al., 2001; Jones et al., 2001).

Segundo Hamrick & Godt (1989), espécies de ampla distribuição geográfica, vida longa, reprodução por fecundação cruzada e dispersão de sementes por animais apresentam maiores níveis de variabilidade genética. Pela ótica populacional, a distância geográfica e o sistema de cruzamento contribuem para a maior parte da variabilidade genética dentro das populações. Espécies alógamas possuem maior variação genética, dentro de suas populações, que espécies autógamias.

Em populações naturais, os estudos genéticos têm o objetivo de analisar e quantificar como a variabilidade genética está distribuída no tempo e no espaço, sua distribuição dentro e entre populações, permitindo melhor entendimento de como a seleção está atuando em função da adaptabilidade (Estopa et al., 2006).

Sebbenn & Etori (2001) salientam que a redução contínua no tamanho das populações as submete a perdas de variabilidade genética, por deriva genética. A deriva poderá causar a depressão por endogamia, levando à redução da capacidade adaptativa, da fertilidade, do vigor, do porte e da produtividade (Allard, 1971).

Conhecer os padrões de variabilidade genética entre e dentro de populações é um valioso instrumento que poderá ajudar na adoção de práticas mais eficientes, no tocante à conservação, podendo servir de base para técnicas de manejo adequado de fragmentos e fornecer subsídios para medidas de conservação *in situ* (Frankel et al., 1995; Peakall et al., 2003; Renau-Morata et al., 2005). A base da conservação de espécies é a manutenção da variabilidade genética em populações (Yeoh et al., 1996). Sua descrição e distribuição são fundamentais para o estabelecimento de medidas visando à conservação verdadeiramente eficiente (Moura, 2005).

A caracterização da variabilidade genética pode ser feita a partir de medidas de diversidade genética intrapopulacional e interpopulacional, que

poderão ser estimadas a partir de dados de marcadores moleculares, como a porcentagem de locos polimórficos, o índice de fixação, a heterozigosidade esperada no equilíbrio de Hardy-Weinberg e a heterozigosidade observada (Berg & Hamrick, 1997; Cavallari-Neto, 2004).

A quantificação da diversidade pode ser feita a partir de marcadores morfológicos (os primeiros a serem usados), bioquímicos ou moleculares. No final da década de 1960, os estudos de variação genética foram facilitados pelo desenvolvimento de marcadores isoenzimáticos. Na década de 1980, tais estudos foram impulsionados com o desenvolvimento dos marcadores moleculares em DNA (Vasconcelos, 2002). A técnica da reação de polimerase em cadeia (PCR) foi introduzida, por Saiki et al. (1985), para analisar o polimorfismo genético em DNA. Em estudos populacionais de espécies arbóreas, os marcadores moleculares têm demonstrado ser uma ferramenta muito útil (Sebbenn, 2001; Freitas et al., 2005). Nesta área da biologia molecular, os rápidos avanços têm fornecido uma série de novos métodos para estudos genéticos de plantas e muitas dessas informações são valiosas para programas de conservação genética e melhoramento florestal (Estopa et al., 2006).

São muitos os métodos utilizados para avaliar a estrutura genética de populações e verificar o grau de variabilidade existente em uma dada espécie (Bottino, 2006). Com o avanço em melhorias nas técnicas de biologia molecular, é possível observar polimorfismo diretamente na seqüência gênica de organismos, abrindo novas perspectivas para pesquisa em conservação (Zucchi, 2002). Entre elas, podem ser mencionadas as técnicas de microssatélites, RAPD, AFLP e ISSR, entre outras.

2.4 Análise da diversidade e estrutura genética utilizando marcadores dominantes

A caracterização da estrutura genética entre populações por marcadores dominantes foi facilitada pela introdução da estatística Φ , por Excoffier et al. (1992) e usada pela primeira vez, por Huff et al. (1993), a partir de dados obtidos por RAPD. Excoffier et al. (1992) desenvolveram uma análise de variância que incorporava informações sobre a divergência de DNA de dados provenientes de haplótipos, derivada de uma matriz de distâncias quadradas entre todos os pares de haplótipos. Esta nova abordagem, denominada análise de variância molecular (AMOVA), possibilita produzir estimativas dos componentes de variância das análogas estatísticas F , chamada pelos autores de estatística Φ , refletindo a correlação da diversidade dos haplótipos em diferentes níveis de subdivisão hierárquica. A estatística F de Wright (Wright, 1965) é uma das abordagens possíveis para a caracterização da estrutura genética entre populações, a partir do uso de marcadores codominantes.

O método de AMOVA ajusta variados tipos de matrizes de entrada fornecidas por diversos tipos de marcadores moleculares e diferentes tipos de pressuposições evolutivas, sem modificar a estrutura básica da análise. Para o teste da significância dos componentes da variância e das estatísticas Φ , utilizam-se permutações. A base dessa análise de variância molecular é que as distâncias genéticas são tratadas como desvios da média de um grupo e utiliza os quadrados dos desvios como variância, permitindo a partição da variação genética entre e dentro das populações analisadas. Excoffier et al. (1992) mostraram que as somas de quadrados convencionais (SQ) podem ser escritas na forma de somas de quadrados de diferenças entre pares de observações. Com isso, os autores construíram uma análise de variância molecular hierárquica, partindo diretamente da matriz das distâncias quadradas de todos os pares de

haplótipos. Segundo os autores, a AMOVA é facilmente aplicável em diferentes situações e constitui uma estrutura coerente e flexível para análise de dados moleculares.

Os níveis hierárquicos são mostrados na Tabela 1, sendo:

P = número total de populações

N = número total de dados para dado haplótipo.

TABELA 1: Esquema da análise de variância molecular (AMOVA).

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

$$\sigma^2 = \sigma_b^2 + \sigma_a^2$$

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

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

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

Outro tipo de análise em genética de populações é a utilização do índice de Shannon (Lewontin, 1972), comumente usado em estudos ecológicos para

indicar a diversidade de espécies por área. Este índice é bastante interessante como medida de diversidade populacional, quando se têm em mãos dados dominantes, ou seja, não é possível detectar os genótipos heterozigotos. O índice de Shannon da diversidade é dado pela expressão:

$$H = - \sum Pi . \log_2 Pi$$

em que Pi é a frequência da presença ou ausência de uma dada banda.

O índice de Shannon não se baseia na heterozigosidade da população e, sim, na frequência fenotípica da ocorrência do fragmento amplificado (presença ou ausência da banda) na população (Yeh et al., 1995; Moura, 2003; Goulart et al., 2005).

A estrutura genética é estimada por meio do G_{st} ou pela análise de variância molecular (AMOVA), ambos produzindo resultados semelhantes (Nybom & Bartish, 2000). Outros parâmetros genéticos analisados são número de alelos observados (n_a), número efetivo de alelos (n_e) e porcentagem de locos polimórficos.

2.5 Estrutura espacial dos genótipos

Estudos sobre a distribuição dos genótipos podem ser utilizados para estimar o grau de isolamento de populações ou, em âmbito intrapopulacional, para auxiliar na detecção de agrupamentos de indivíduos aparentados, partindo das frequências gênicas ou genotípicas (Doligez & Joly, 1997; Ng et al., 2004; Gonzales & Hamrick, 2005). Os fatores que determinam a estrutura genética dentro de populações vegetais são limitada dispersão de pólen e sementes, isolamento, mortalidade e seleção. A estruturação espacial dos genótipos é

considerada parte integrante dos processos genéticos populacionais (Sokal & Menozzi, 1982; Epperson & Allard, 1989).

O fato de ocorrer estrutura genética espacial positiva, ou seja, indivíduos aparentados próximos dentro das populações, pode ser um indicativo de cruzamentos endogâmicos (Sebbenn, 1997). Outra via, padrões genéticos não aleatórios podem existir sem distribuição espacial agregada dos indivíduos; por outro lado, uma população pode apresentar distribuição espacial agregada sem qualquer acompanhamento de estrutura genética (Loveless & Hamrick, 1984; Ng et al., 2004). Isso pode ocorrer devido ao fato que padrões espaciais e genéticos resultam, comumente, da heterogeneidade ambiental e de pressões de seleção (Heywood, 1991). Mudanças na densidade e no comportamento dos polinizadores podem levar a modificações na estrutura espacial dos indivíduos de uma população, uma vez que ocorrem alterações nos níveis de cruzamento, como o aumento da autofecundação, levando ao aumento da endogamia (Epperson & Allard, 1989; Bawa & Krugman, 1990; Franceschinelli & Bawa, 2000). Além de fatores ecológicos e genéticos operando nas populações naturais, esta variação pode ser devida também a diferentes amostragens em escala espacial e processos estatísticos (Smouse & Peakall, 1999; Gram & Sork, 2001; Chung et al., 2002).

Outro ponto importante é que a estrutura também pode ser determinada pela dispersão de pólen e de sementes (Loiselle et al., 1995; Ng et al., 2004), pois a frequência alélica na próxima geração será influenciada pelo número de indivíduos que efetivamente trocaram alelos entre si (Neigel, 1997).

A estrutura genética espacial pode ser estudada utilizando análise de autocorrelação espacial, ou seja, a propriedade de variáveis assumirem valores, em pares de localidades, separadas por certa distância, mais similares (correlação positiva) ou menos similares (correlação negativa) do que seriam esperados pela associação aleatória dos pares observados (Legendre, 1993). A

mensuração da autocorrelação espacial, em caráter genético, tem sido feita com o coeficiente I de Moran, lembrando que este coeficiente não é um parâmetro populacional e sim uma estatística de amostragem (Heywood, 1991; Ng et al., 2004; Setsuko et al., 2004; Marquardt & Epperson et al., 2004). Os valores do coeficiente I de Moran podem variar entre -1,0 (máximo para autocorrelações negativas) e +1,0 (máximo para autocorrelações positivas), sendo sua interpretação semelhante à de um coeficiente de correlação, por exemplo, r de Pearson (Legendre, 1993).

Outro tipo de análise sobre a estrutura espacial dos genótipos é feita a partir de estimativas de coeficientes de parentesco, ou coeficientes de coancestralidade, e se baseia na probabilidade de amostrar aleatoriamente dois alelos em dois indivíduos e de eles serem idênticos por descendência (Cockerham, 1969; Ritland, 1996), permitindo a detecção de presença ou de ausência de estruturação e avaliação do grau de parentesco entre os indivíduos.

Com vistas ao manejo e à conservação genética de espécies, conhecer a estrutura genética é importante para populações de plantas que serão selecionadas para conservação ou coleta para programas de melhoramento (Kevin et al., 2004; Moura, 2005; Vieira, 2005). Este conhecimento também é importante em estratégias amostrais em populações naturais para a obtenção de amostra representativas da diversidade populacional ou da espécie. Em manejo sustentável, levando em consideração tais informações, é possível minimizar os impactos desta prática nos recursos genéticos (Gandara, 1996; Myamoto et al., 2002; Ng et al., 2004).

2.6 Marcadores ISSR

Os microssatélites, ou seqüências simples repetidas (SSR), são seqüências pequenas de nucleotídeos (1 a 6 bases) repetidas em *tandem*. Essas

seqüências simples são bastante frequentes e distribuídas ao acaso no genoma dos eucariotas. Os locos de SSR se tornaram uma nova geração de marcadores genéticos, porém, o uso deste marcador requer o conhecimento prévio da seqüência que flanqueia o SSR para que se construam os *primers* que serão usados na reação da PCR (Liu & Wendel, 2001). Descobrir e caracterizar um número grande de SSR é demorado, além de ser um processo oneroso.

Zietjiewicz et al. (1994) desenvolveram um tipo de marcador baseado em SSR, as chamadas *Inter Simple Sequence Repeats* (interseqüências simples repetidas) ou simplesmente ISSR, que foi bastante popularizado com os trabalhos Wolfe et al. (1998). Este marcador contorna a problemática da informação prévia das seqüências que flanqueiam o microssatélite. Em adição, a análise de ISSR é tecnicamente simples em comparação com outros tipos de marcadores. O método proporciona alta reprodutibilidade dos resultados e gera abundante polimorfismo em muitos sistemas (Liu & Wendel, 2001). Semelhante aos RAPDs, marcadores ISSR são rápidos e fáceis de trabalhar, além de gerarem maior número de fragmentos polimórficos e constituírem uma técnica relativamente menos onerosa. Entretanto, para estudos de genética de populações, uma desvantagem dos marcadores ISSR é a sua dominância (Zietjiewicz et al., 1994). Comparação entre diferentes tipos de marcadores é encontrada em Patzak (2001) e Nybom (2004).

A confiabilidade da técnica de marcadores RAPD em estudos de diversidade genética entre populações é questionada (Harris, 1999; Isabel et al., 1999), principalmente devido à baixa especificidade dos *primers* e à repetibilidade dos resultados obtidos. Harris (1999) sugere também que dados obtidos por RAPD, marcador dominante como o ISSR, podem ser inexatos devido ao uso de protocolos diferenciados nos estudos. Além disso, comparações entre diferentes estudos com RAPD tornam-se difíceis, uma vez que a seleção de *primers* é diferente, além da quantidade e da análise de dados

obtidos, a não ser que as análises sejam feitas pelo mesmo pesquisador e sob as mesmas condições. Os *primers* ricos em GC, por exemplo, têm vários sítios de ancoragem no DNA ou ancoragem não específicas em baixas temperaturas de anelamento (Harris, 1999). Os *primers* ISSR são mais robustos porque apresentam maior superfície de ancoragem e possuem maiores temperaturas de anelamento, aumentando a reprodutibilidade dos produtos de ISSR (Tsumura et al., 1996).

O ISSR é considerado um marcador semi-arbitrário, ampliado por PCR em presença de oligonucleotídeos complementares para o microssatélite designado, podendo ser ancorado no final 3' ou 5' com 1 a 4 bases de purina ou pirimidina (Liu & Wendel, 2001; Patzak, 2001; Souza et al., 2005). Por exemplo, os *primers* (CA)₈RY e (CA)₈RG, em que R é uma purina e Y uma pirimidina, têm como alvo o mesmo número de repetições (oito repetições CA). Diferem no final com um dinucleotídeo parcialmente degenerado. Esses segmentos não repetidos no final do *primer* podem variar, possuindo diferentes alvos de repetições CA de diferentes localizações no genoma (Zietjiewicz et al., 1994).

As seqüências-alvo dos ISSRs são abundantes ao longo do genoma de eucariontes e evoluem rapidamente (Fang & Roose, 1997; Esselman et al., 1999). Portanto, ISSR tem provado ser útil em estudos de genética de populações.

Em ISSR, um único *primer* é usado na amplificação do DNA, gerando múltiplos fragmentos de comprimentos variados (Slotta & Porter, 2006). Para separação e visualização dos produtos da amplificação, a partir da técnica de ISSR, pode ser empregada tanto a eletroforese em gel de agarose e detecção com brometo de etídeo (Nagaoka & Ogihara, 1997; Joshi et al., 2000) ou eletroforese em gel de poliacrilamida e coloração com nitrato de prata (Blair et al., 1999).

Marcadores ISSR têm sido usados em diversos estudos para análise de variabilidade entre linhas híbridas de cultivares, complexos híbridos naturais e variabilidade em genética de populações (Wolfe & Liston, 1998; Wolfe et al., 1998; Wolfe & Randle, 2001; Souza et al., 2005; Woods et al., 2005; Slotta & Porter, 2006; Xiao et al., 2006).

2.7 Caracterização da espécie – *Myrcia splendens* (Myrtaceae)

A família Myrtaceae possui cerca de 140 gêneros e, aproximadamente, 3.000 espécies, distribuídas, principalmente, nas regiões tropicais e subtropicais (Barroso, 1984; Silva et al., 2005). Os dois principais centros de dispersão desta família são a América e a Austrália (Joly, 2002). Segundo Arantes & Monteiro (2002), Myrtaceae é uma das mais importantes famílias nas comunidades neotropicais e bastante citada em estudos florísticos e fitossociológicos em diversas formações florestais (Rondon Neto et al., 2000; Myster, 2003; Nunes et al., 2003).

Várias espécies dessa família são muito atrativas para a fauna silvestre. De acordo com Andrade (2003), frutos carnosos de Myrtaceae, na Mata Atlântica, são consumidos por primatas e aves das famílias Cracidae, Cotingidae e Ramphastidae. Tabarelli & Peres (2002), pesquisando também outras florestas neotropicais, sugerem que as sementes desta família são dispersas por frugívoros arbóreos entre médio e grande porte.

O gênero *Myrcia* é um dos maiores na família Myrtaceae, com mais de 300 espécies distribuídas do México até o sul do Brasil (Limberger et al., 2004). Algumas espécies desse gênero são utilizadas na medicina popular como, por exemplo, *M. multiflora*, utilizada como hipoglicemiante na forma de infuso ou decocto (Corrêa, 1984). Hecht (1984) isolou, em folhas desta espécie, mirciatricina I e mirciafenona B, substâncias que apresentaram atividade

antidiabética associada à inibição da atividade das enzimas aldose redutase e α -glicosidase.

A espécie *Myrcia splendens* (Sw.) DC., conhecida popularmente como guamirim e folha-miúda, tem ampla distribuição. Ocorre desde o México até o sul do Brasil (Figura 1) (Oliveira-Filho & Fontes 2000; Morais & Lombardi, 2006). Segundo Oliveira-Filho (2006), algumas sinonímias desta espécie são *M. acutata* DC., *M. rostrata* DC. e *M. communis* Berg, *M. fallax* (Rich.) DC.

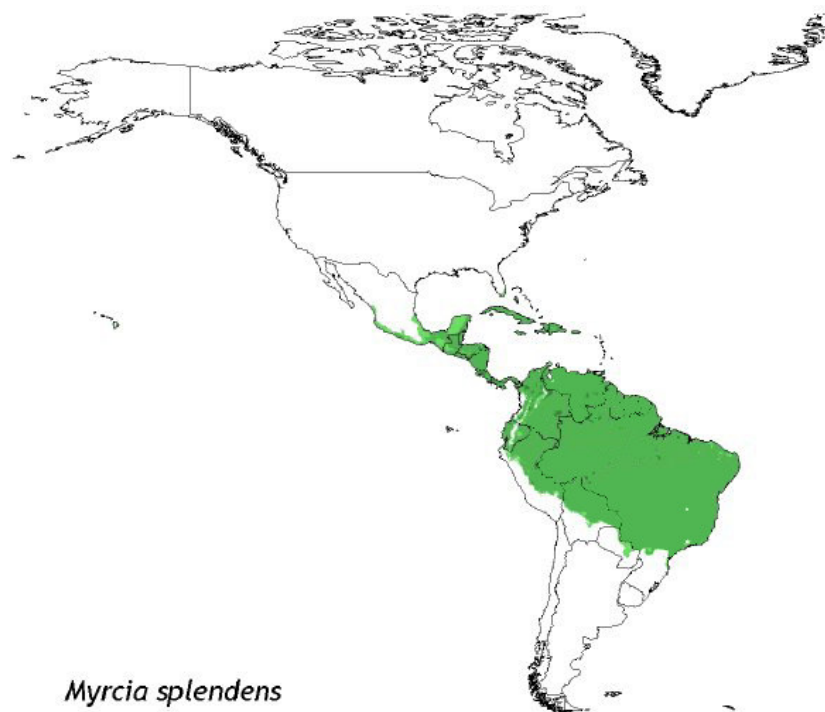


FIGURA 1: Distribuição de *Myrcia splendens* (Sw.) DC. (In: International Plant Genetic Resources Institute 2000).

Myrcia splendens (Sw.) DC. é uma árvore entre 8 e 12 metros de altura. O florescimento ocorre em setembro/outubro e inicia a frutificação em

dezembro. Segundo Lorenzi (1998), trata-se de uma árvore de características pioneira e recomendada para a recuperação de áreas degradadas e para a formação de florestas energéticas. Segundo mesmo autor, é recomendada também para arborização urbana. Apresenta crescimento rápido, podendo chegar a 2 metros de altura em 2 anos; árvores desse porte já produzem flores e frutos (Torenzan-Silingardi, 2002).

Torenzan-Silingardi (2002), estudando a biologia reprodutiva de *M. rostrata* (sinonímia *M. splendens*), relata que as flores desta espécie são hermafroditas, pequenas, com simetria radial de vida curta, antese no início da manhã, odor adocicado e pólen como principal recurso oferecido aos visitantes. Nesta espécie, a alogamia é favorecida pela grande quantidade de anteras com seus numerosos grãos de pólen, o que garante recurso suficiente para vários visitantes numa mesma flor. A autora também observou que os principais visitantes e polinizadores desta Myrtaceae são abelhas Halictidae, *Apis*, *Scaptotrigona* e *Trigona*. A intensa visitação de abelhas por árvore, com vários visitantes por flor, além do seu comportamento de coletar pólen consecutivamente em indivíduos da mesma espécie, sugere xenogamia, ou seja, fecundação entre flores de indivíduos diferentes. A espécie é considerada alógama facultativa, com maior produção de frutos por polinização cruzada do que por autopolinização (Torenzan-Silingardi 2002).

As porções líquida e sólida da polpa dos frutos apresentam efeito inibidor na germinação de sementes de *M. splendens*. A viabilidade das sementes é inferior a 30 dias e a degradação da polpa ocorre lentamente, portanto, a interação com animais dispersores torna-se fundamental para a manutenção dessa espécie vegetal no ambiente (Torenzan-Silingardi, 2002).

Nunes e colaboradores (2003), em estágios regenerativos e do efeito borda das espécies arbóreas da Reserva Florestal da UFLA, Lavras, MG, classificaram a *M. splendens* como heliófila, de extrato médio, entre 8,0 a 17,4m

de altura e dispersão zoocórica. Na região do Alto Rio Grande, no município de Lavras, local do presente estudo, a espécie tem sido mencionada entre aquelas com maior valor de importância (VI), estando presente tanto no ambiente de fragmento quanto nos corredores que os interligam (CASTRO, 2004). Nos fragmentos de vegetação daquela paisagem, *M. splendens* tem maior ocorrência nas bordas (observação pessoal).

Em trabalho desenvolvido no campus da Universidade Federal de Lavras, Andrade (2003) pesquisou algumas árvores com dispersão zoocórica como núcleo de atração de avifauna e dispersão de sementes. *M. rostrata* (sinonímia *M. splendens*) foi uma das espécies que obtiveram os maiores números e frequência de interações envolvendo o consumo de frutos por aves. Segundo o estudo, foram atraídas espécies de aves, como, por exemplo, *Elaenia flavogaster* (guaracava-de-barriga-amarela), *Pitangus sulphuratus* (bem-te-vi), *Tyrannus melancholicus* (suiriri) e *Thraupis sayaca* (sanhaço), para consumir os frutos da planta. No total, *Myrcia rostrata* atraiu 27 espécies de aves, proporcionando uma ‘chuva de sementes’ de grande importância para a dispersão e a distribuição espacial de várias espécies (Herrera & Jordano, 1981). Portanto, a *M. splendens* pode ser indicada para compor programas de recuperação de áreas degradadas e restauração ambiental. Sua importância ecológica é notória e mais estudos sobre *Myrcia splendens* são necessários, buscando sua conservação e a preservação da gama de interações que a envolve.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Local do estudo

A área de estudo localiza-se no município de Lavras, Sul de Minas Gerais, na região do Alto Rio Grande, entre as coordenadas 21°17'33,6"S e 44°59'15,1"W, 21°18'11,9"S e 44°59'18,8"W (Figura 2). Como descrito por Castro (2004), os solos dominantes são Latossolos Vermelho-Amarelos e Vermelhos distróficos e Cambissolo Háplicos Tb distróficos. O clima, segundo classificação de Köppen, é do tipo Cwa. A vegetação pode ser definida como uma disjunção do bioma cerrado inserida dentro da área de distribuição das florestas estacionais semidecíduais do sudeste brasileiro (IBGE, 2004).

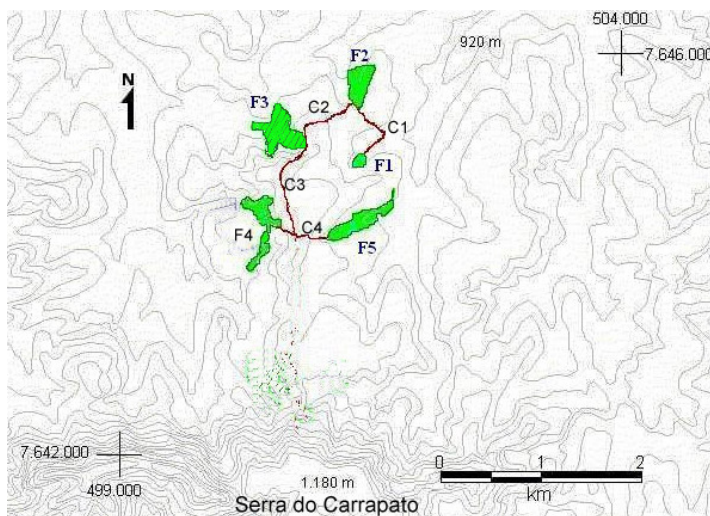


FIGURA 2: Área de estudos (sistema corredor-fragmento), Lavras, MG. Coordenadas em UTM. Em verde, os fragmentos analisados (F1 a F5) e os corredores em marrom (C1 a C4) (modificações de Castro, 2004).

Na paisagem atual da área, nota-se um número reduzido de fragmentos florestais de pequeno porte, circundados, a maioria, por pastagem (*Brachiaria* spp.) para a criação bovina e o plantio de café e de milho. Em alguns fragmentos é possível notar evidências de impactos causados pelo pisoteio do gado que adentra na mata, principalmente no fragmento 5 (F5) estudado, o que prejudica a regeneração em alguns trechos. Os fragmentos estudados apresentam curso d'água em seu interior e são interligados por corredores de vegetação, entre 3 e 6 metros de largura, originados da colonização das valas escavadas para a divisa de glebas. A extensão do corredor C1 é de 367m; o C2, 648m; C3 possui 1.039m de extensão e o C4, 542m.

Neste estudo, foram analisados cinco fragmentos interligados por corredores de vegetação que também foram amostrados. A área somada dos fragmentos amostrados chega a 35,1 ha, com altitude variando de 959m a 981m; a distância geográfica entre os cinco fragmentos variou de 680 m e 1.605 m (Tabela 2).

TABELA 2: Área dos fragmentos (ha), altitude (m), distância geográfica, em metros (acima da diagonal), entre os cinco fragmentos estudados.

Fragmento	Área (ha)	Altitude (m)	F1	F2	F3	F4	F5
F1	1,0	981	–	755	729	1106	680
F2	7,2	959		–	887	1605	1430
F3	11,8	976			–	799	1144
F4	7,3	978				–	923
F5	7,8	971					–

A espécie *Myrcia splendens* ocorre em grande abundância tanto nos fragmentos quanto nos corredores (Castro, 2004), sendo encontrada, preferencialmente, em ambientes com maior incidência de luz.

3.2 Amostragem

A amostragem da *M. splendens* nos fragmentos e nos corredores foi aleatória, abrangendo indivíduos com altura superior a 2 metros, distribuídos nas bordas dos fragmentos e, quando encontrados, no interior deles. Foram amostrados tanto exemplares agrupados como isolados. Nos corredores, a amostragem seguiu o sentido de cada eixo ligando um fragmento ao outro (Figura 3).

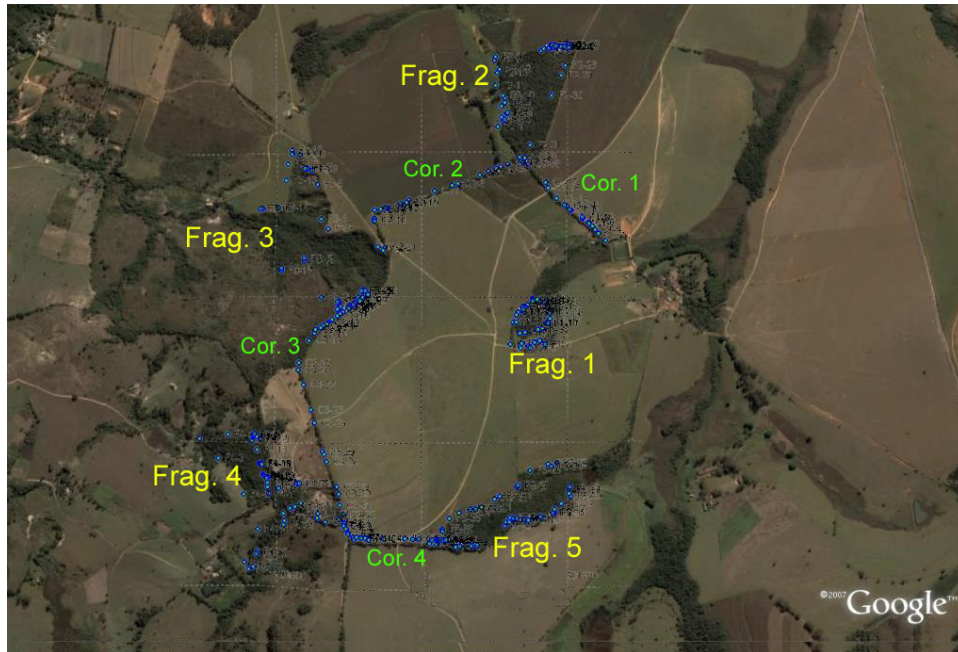


FIGURA 3: Vista aérea do sistema analisado, corredor-fragmento (21°17'S e 44°59'W) e disposição (pontos em azul) dos indivíduos amostrados (Imagem: *Google Earth*™ modificada).

No total, foram amostrados 272 indivíduos para os estudos genéticos de *M. splendens*, sendo 168 indivíduos amostrados nos 5 fragmentos e 104 nos 4

corredores do sistema (Tabela 3). Todos os indivíduos amostrados foram georreferenciados. A posição e a distribuição espacial das plantas dentro dos fragmentos foram obtidas pelo programa GPS-TrackMaker® (versão 13.2 beta) a partir das coordenadas UTM (*Universal Transverse Mercator*) marcadas pelo GPS (*GPS-72 Garmin*) de cada planta coletada.

TABELA 3: Número de indivíduos amostrados (*n*) para as populações de *Myrcia splendens* (Sw.) DC., no sistema corredor-fragmento.

	Fragmentos					Corredores			
	F1	F2	F3	F4	F5	C1	C2	C3	C4
<i>n</i>	33	31	30	38	36	22	21	36	25

A amostragem foi realizada de acordo com o tamanho e o isolamento das populações e a acessibilidade aos indivíduos. De cada indivíduo, coletaram-se amostras foliares que foram acondicionadas em sacos plásticos. Em seguida, tais amostras eram colocadas em caixa de isopor contendo gelo, para o transporte até o Laboratório de Conservação Genética de Espécies Arbóreas, da Universidade Federal de Lavras, Departamento de Ciências Florestais (DCF-UFLA), onde foram armazenadas em freezer, até o momento da extração do DNA.

3.3 Extração de DNA

Para a extração de DNA, entre 150 e 200mg de folhas foram trituradas em almofariz com areia lavada e esterilizada, e polivinilpirrolidona (PVP). Imediatamente, adicionaram-se 900µL de tampão de extração com 0,2% de β-mercaptanol. O tampão de extração constituiu-se de 2% de CTAB (*cationic hexadecyl trimethylammonium bromide*), Tris HCL 1M (pH 8,0), EDTA (*ethylenediaminetetracetate*) 0,2M (pH 8,0), NaCl 1,4M e 1% PVP (40). O

material macerado junto com o tampão foi colocado em microtubos de 2 ml. Estes foram acondicionados em banho-maria, a 65°C, por 40 minutos, sendo agitados, em vórtice, em intervalos de 10 minutos. Nesta etapa, ocorre a solubilização das membranas celulares. Percorrida esta etapa de incubação, as amostras foram retiradas do banho-maria e realizou-se a extração dos ácidos nucléicos com 600 µL de solvente orgânico clorofórmio álcool isoamílico, na proporção de 24 partes de clorofórmio para uma parte de álcool isoamílico (CAI 24:1). Em seguida, os tubos foram agitados manualmente, durante 5 minutos. As amostras foram, então, colocadas em centrifugação (12.000 rpm), por 10 minutos, separando-se as fases orgânica e aquosa. A fase aquosa superior foi retirada cuidadosamente e transferida para um novo tubo. A este foram adicionados 450 µL de isopropanol gelado e deixado para precipitar (*overnight*) no freezer. Após este período, os tubos foram novamente centrifugados, a 12.000 rpm por 10 minutos, em centrífuga refrigerada. Decorrido esse período, formou-se um *pellet* visível contendo o DNA. O sobrenadante foi descartado e o *pellet* lavado com 100µl de etanol a 70%, por 5 minutos, duas vezes e, depois, lavados novamente com etanol, agora a 95%, por 5 minutos. Após a lavagem, as amostras foram secadas ao ar até a completa evaporação do etanol e ressuspensas em 100µl de TE (1% v/v Tris-HCL 1 M pH 8,0 e 0,2% v/v de EDTA 0,5 M pH8,0 em água ultrapura autoclavada). As amostras foram acondicionadas em freezer, a -20°C.

Para a reação de amplificação do DNA foram feitas diluições padronizadas em todas as amostras, pegando-se 1µl do DNA ressuspensado em TE e adicionando-se 200µl de água ultrapura autoclavada (diluição 1:200).

3.4 Reações de PCR e eletroforese

As reações foram preparadas em microplacas para PCR (PCR-96-Axygen Scientific), sendo aplicada, em cada poço, uma alíquota de 2 µl do DNA diluído (1:200). Às amostras de DNA foram acrescentadas 10µl de coquetel de reação contendo: 1,2 µl de tampão PCR 10X (constituído de 500 mM de Tris-HCl pH 8,0; 200 mM de KCl; 2,5 mg/mL de BSA; 200 mM de Tartazine e 1% de Ficol), 1,04 µl de dNTP + MgCl₂ (dNTP a 2,5 mM; MgCl₂ a 25 mM), 0,96 µl de diluente da enzima Taq polimerase, 0,3 µl de Taq polimerase (5 u/µl) e 2 µl de *primer* (2 µM) e completado o volume final com água ultrapura.

As reações de PCR foram feitas em termociclador GeneAmp PCR System 9700, no qual as amostras, inicialmente, sofreram desnaturação a 94°C, por 4 minutos e, em seguida, a 37 ciclos de amplificação, tendo cada ciclo submetido as amostras a 94°C, por 1 minuto, em seguida a 47°C, por 2 minutos e, por fim, a 72°C, por 2 minutos. Após os ciclos, o processo foi finalizado a 72°C, por 7 minutos e, em seguida, resfriado a 4°C.

Os produtos da PCR foram submetidos à eletroforese, em cuba horizontal (*Bio-Rad Sub-Cell*[®], modelo 192), em gel de agarose 1,5% (p/v), contendo brometo de etídeo (0,003% v/v a 5 ng/ml), em tampão TBE 0,5X (Tris-Borato EDTA), a uma voltagem de 120V, por duas horas e meia. Como marcador de peso molecular foi usado *Ladder* de 1Kb (Amresco). Decorrido o tempo de corrida de eletroforese, o gel foi retirado da cuba e levado para aparelho de fotodocumentação (software de análise de imagens *UVP Doc Itls*). Os géis foram fotografados sobre fonte de luz ultravioleta, revelando os fragmentos de DNA corados com brometo de etídeo.

3.5 Teste e seleção de *primers* ISSR

Foram testados 15 *primers* ISSR, dos quais foram selecionados 10 (Tabela 4), sendo verificado o perfil de amplificação de cada *primer* em gel de agarose após eletroforese. A reação de PCR foi feita utilizando-se quatro amostras retiradas aleatoriamente dos 272 indivíduos analisados na pesquisa.

3.6 Análise estatística dos dados

A partir da leitura cuidadosa das fotografias dos géis, foram considerados apenas os fragmentos robustos e inequívocos, sendo descartados aqueles com fraca intensidade ou baixa definição. Assim, os indivíduos foram genotipados quanto à presença (1) e à ausência (0) de fragmentos, gerando uma matriz binária.

3.6.1 Identificação do número ótimo de bandas

Para estimar o número de fragmentos polimórficos necessários para obter associações estáveis entre indivíduos, foi realizada a análise de *bootstrap*. Para cada par de indivíduos, a similaridade genética foi estimada a partir de simulações com reamostragens de diferentes tamanhos, com 10.000 permutações, utilizando-se o programa GENES (Cruz, 2001). Foram obtidas as estimativas de correlação de valores da matriz de similaridade com outras matrizes geradas com diferentes números de fragmentos. Outro índice também foi fornecido: o valor de estresse (E), que indica o ajuste entre a matriz original e a matriz simulada. Quando o valor de estresse assume valor inferior a 0,05, o número de fragmentos é considerado suficiente para as análises (Kruskal, 1964; Dias & Kageyama, 1998).

3.6.2 Diversidade e estrutura genética

O programa computacional PopGene (versão 1.32) (Yeh et al., 1997) foi utilizado para estimar as similaridades genéticas entre as populações, usadas para a construção do dendrograma, pelo método UPGMA (*Unweighted Pair-Group Method with Arithmetic Averages*), adotando a rotina SAHN (*Sequential Agglomerative, Hierarchical and Nested Clustering*), com o auxílio do programa NTSYS, versão 2.11X (Rohlf, 2000). Para verificar a consistência dos agrupamentos, foram utilizadas 1.000 permutações com o programa TFPGA (*Tools for Population Genetic Analysis*) versão 1.3 (Miller, 1997).

Para a análise da diversidade genética intrapopulacional, empregou-se o programa PopGene, em que, para dados dominantes, assume-se que as populações estão em Equilíbrio de Hardy-Weinberg (EHW). Foi feita a análise de variância (ANOVA) *F-teste*, a 95% de probabilidade, complementado com exame *a priori t Boferroni* (Rice, 1989), para a comparação dos índices obtidos entre os cinco fragmentos e os quatro corredores. Foram estimados:

- número de alelos observados (n_a);
- número efetivo de alelos (n_e) (Kimura & Crow, 1964);
- heterozigosidade esperada (H_e) (Nei, 1973);
- porcentagem de locos polimórficos;
- índice de Shannon (Lewontin, 1972);
- heterozigosidade total (H_t);
- heterozigosidade média dentro da população (H_s);
- diversidade entre populações (D_{ST}), dada pela expressão:

$$D_{ST} = H_t - H_s;$$

- coeficiente de diferenciação populacional (G_{ST}), dado pela expressão:

$$G_{ST} = D_{ST} / H_t;$$

- fluxo alélico (cálculo indireto), pela fórmula:

$$Nm = 0,5 (1 - G_{ST}) / G_{ST} \text{ (McDermott \& McDonald, 1993).}$$

A matriz binária também foi utilizada para a divisão da variância entre seus componentes dentro e entre populações (níveis hierárquicos). A análise de variância molecular (AMOVA) foi realizada de acordo com Excoffier et al. (1992), com o auxílio do programa Arlequin, versão 3.11 (Excoffier et al., 2007). Assumindo que os indivíduos dentro das populações possuem o mesmo padrão de cruzamento, calcula-se uma matriz de distância fenotípica para os pares de comparações, utilizando um coeficiente de similaridade genética. Para o cálculo da AMOVA, foi utilizado, como coeficiente, o quadrado das distâncias euclidianas, que é análoga às análises de Excoffier et al. (1992), Huff et al. (1993) e Nybom (2004). A significância dos componentes da variância foi testada com 10.000 permutações.

3.6.3 Estrutura genética espacial

Foi estimado o valor de coancestria, pelo coeficiente de *kinship*, entre os pares de indivíduos para as classes de distância (Hardy, 2003). Foi utilizado o programa SPAGEDI, versão 1.2 (Hardy & Vekemans, 2002), nas estimativas do coeficiente de *kinship*. Na análise, foi considerado coeficiente igual a zero para endogamia. O coeficiente é dado pela fórmula:

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

em que:

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

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

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

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

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

em que:

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

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

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

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Teste e seleção de *primers* de ISSR

Entre os 15 *primers* ISSR testados, 10 mostraram-se adequados, produzindo fragmentos robustos, de boa intensidade, com bom perfil de amplificação. Os *primers* utilizados geraram um total de 70 locos, variando de 3 a 11 locos por *primer*. Na Tabela 4 são mostrados os nomes dos *primers* escolhidos, suas respectivas seqüências e o número de fragmentos produzidos.

TABELA 4: *Primers* utilizados, suas respectivas seqüências e número de bandas produzidas.

Nome do <i>primer</i>	Seqüência (5'–3')	Número de bandas
AW3 (GT)6-RG	GTG TGT GTG TGT RG	7
BECKY (CA)7-YC	CAC ACA CAC ACA CAY C	7
CHRIS (CA)7-YG	CAC ACA CAC ACA CAY G	11
DAT (GA)7-RG	GAG AGA GAG AGA GAR G	3
GOOFY (GT) ₇ -YG	GTG TGT GTG TGT GTY G	5
JOHN (AG)7-YC	AGA GAG AGA GAG AGY C	7
M1 CAA-(GA)5	CAA GAG AGA GAG A	7
MANNY (CAC)4-RC	CAC CAC CAC CAC RC	7
TERRY (GTG)4-RC	GTG GTG GTG GTG RC	10
UBC 843 (CT)8-RA	CTC TCT CTC TCT CTC TRA	6
Total		70

em que: R = purina (A ou G) e Y = pirimidina (C ou T).

Um gel de agarose fotografado sobre luz ultravioleta, com o perfil de amplificação do *primer* AW3, é mostrado na Figura 4. Bandas fracas ou de difícil definição não foram consideradas nas análises.

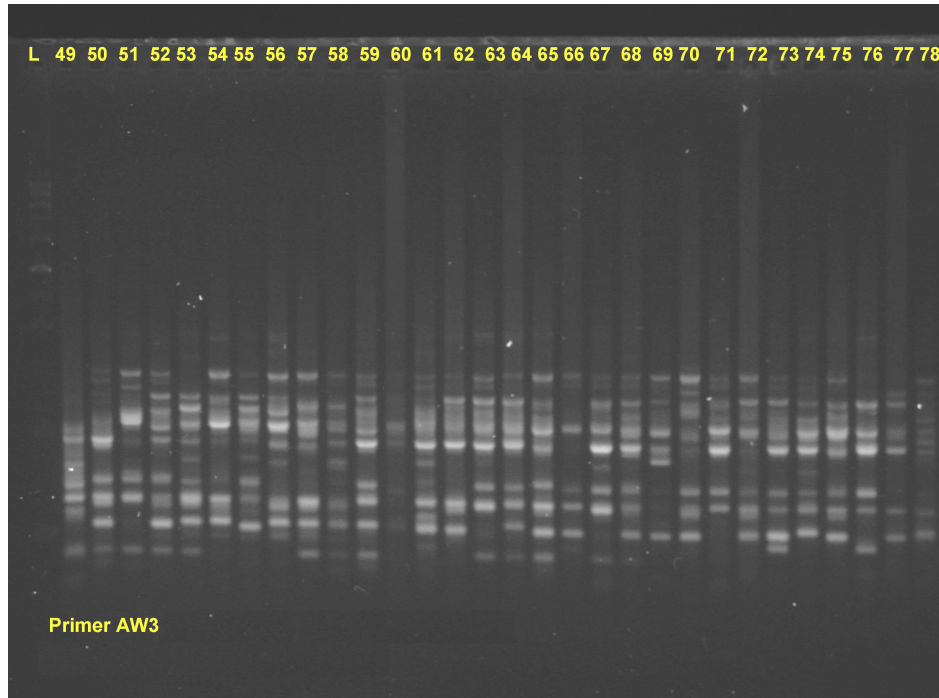


FIGURA 4: Fotografia do gel de agarose, mostrando o perfil dos fragmentos produzidos pelo *primer* AW3 em indivíduos (49 a 78) de *Myrcia splendens*. Ladder: 1Kb

Vijayan et al. (2004), pesquisando cinco espécies de amora (*Morus* sp.), na Ásia, utilizaram 15 *primers* ISSR, obtendo um total de 150 fragmentos. Chen et al. (2006) utilizaram 5 *primers* ISSR em estudos genéticos em populações de *Caldesia grandis* e obtiveram um total de 60 fragmentos. Em estudos de genética espacial de soja selvagem, foram utilizados 15 *primers* ISSR, obtendo-se 182 fragmentos (Jin et al., 2006).

4.2 Número ótimo de fragmentos polimórficos

O número ótimo de fragmentos obtidos pelos *primers* ISSR foi estimado em 55, em que o valor de estresse foi inferior a 0,05 e a correlação de 0,957 (Figura 5), o que representa um número de fragmentos suficientes para obter associações estáveis entre os indivíduos amostrados (Kruskal, 1964; Silveira et al., 2003).

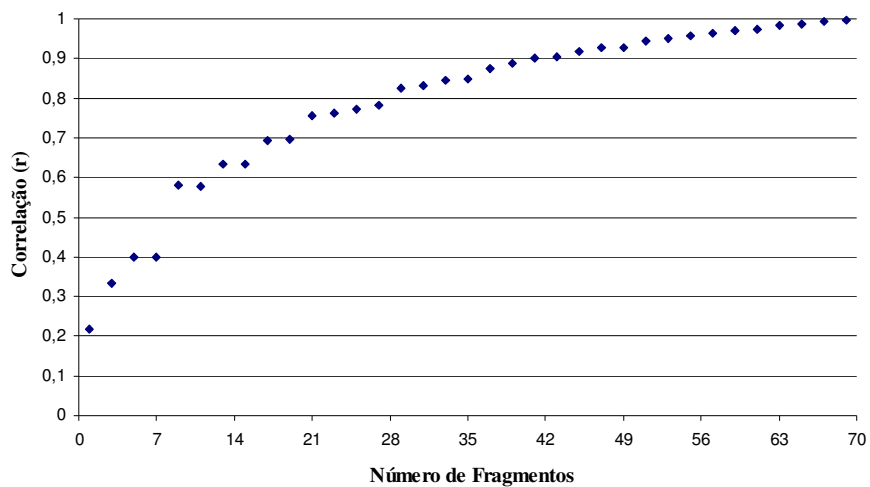


FIGURA 5: Gráfico mostrando o coeficiente de correlação e o número de bandas obtidas para a espécie *Myrcia splendens*.

O gráfico da Figura 5 mostra que, a partir de 55 fragmentos (bandas), a correlação aproximou-se do valor máximo, o que sugere que o número de *primers* utilizado e o número de fragmentos obtidos foram suficientes para as análises. Semelhante análise foi feita utilizando-se marcadores dominantes RAPD. Silveira et al. (2003) estimaram que 70 fragmentos foram suficientes para estabilizar os dendrogramas gerados nas análises feitas para cultivares de

café. Cavallari-Neto (2004), estudando estrutura genética de *Encholirium* (Bromeliácea), por meio da análise de *bootstrap*, realizada pelo programa Dboot (Coelho, 2000), mostraram que acima de 50 fragmentos obtidos foram suficientes para a análise. Tarezan et al. (2005), estudando indivíduos adultos e regenerantes de *Aspidosperma polyneuron*, encontraram resultados semelhantes.

No presente estudo, algumas repetições de *primers* ISSR nos mesmos indivíduos apresentaram padrões idênticos entre as repetições, reforçando a potencialidade deste tipo de marcador nos estudos de diversidade genética.

4.3 Diversidade genética

Os 10 *primers* ISSR utilizados geraram um total de 70 locos, todos polimórficos. Foram considerados polimórficos os locos nos quais a frequência do alelo mais comum foi menor ou igual a 95% (Nei, 1987). Os valores de diversidade genética intrapopulacional de *M. splendens*, estimados nos quatro corredores e nos cinco fragmentos, são mostrados na Tabela 5 e na Tabela 6, respectivamente.

Com base na análise de variância, os resultados obtidos não apresentaram diferenças significativas para os índices de diversidade genética entre os corredores (Tabela 5), entre os fragmentos (Tabela 6) e entre os dois ambientes. O número de alelos observados (N_a) e o número efetivo de alelos (N_e) nos corredores variaram de 1,76 (C1) a 1,91 (C3) e 1,54 (C1) e 1,63 (C3), respectivamente. Nos fragmentos, N_a variou de 1,84 (F5) a 1,94 (F2), com média de 1,89 e N_e de 1,6 (F1 e F5) e 1,71 (F3), com média de 1,66.

A porcentagem de locos polimórficos (P) foi alta, variando, nos corredores, de 75,7% (C1) a 91,4% (C3). Nos fragmentos, a amplitude foi ainda maior: de 84,2% (F5) a 94,2% (F2). As médias de locos polimórficos nos corredores e nos fragmentos foram de 83,2% e 89,7%, respectivamente. Os

fragmentos F1 (87,1%) e F5 (84,2%) foram os que apresentaram menores valores de locos polimórficos, sendo o primeiro o menor dos fragmentos (1,0 ha) e o segundo, um dos mais perturbados. Estes fragmentos são os dois únicos que recebem apenas um corredor. Em alguns trabalhos com populações naturais (Ge & Sun, 2001; Alexander et al., 2004; Xia et al., 2007), a porcentagem de locos polimórficos tem sido utilizada como medida de diversidade genética. Utilizando marcadores dominantes, Lacerda et al. (2001) encontraram 71% de locos polimórficos para *Plathymenia reticulata* e, para *P. foliolosa*, encontraram 64,9% (Lacerda et al., 2002). Para *Hymenaea courbaril* e *Hymenaea stigonocarpa*, Brandão (2002) encontrou 77% e 65%, respectivamente. Em *Eremanthus erythropappus*, Moura (2005) encontrou 75% de locos polimórficos, utilizando 8 *primers* RAPD.

TABELA 5: Estimativas de diversidade de *Myrcia splendens* em quatro corredores de vegetação (C1 a C4). N_a : número de alelos observados; N_e : número de alelos efetivos; H_e : diversidade genética de Nei; I : índice de Shannon e P : porcentagem de locos polimórficos.

Populações	N_a	N_e	H_e	I	P
C1	1,76 (0,43)	1,54 (0,37)	0,30 (0,19)	0,44 (0,27)	75,71
C2	1,81 (0,39)	1,59 (0,35)	0,33 (0,18)	0,48 (0,25)	81,43
C3	1,91 (0,28)	1,63 (0,30)	0,36 (0,14)	0,53 (0,19)	91,43
C4	1,84 (0,36)	1,62 (0,36)	0,34 (0,18)	0,50 (0,24)	84,29
F_{ANOVA}	2,16 ^{NS}	1,05 ^{NS}	1,28 ^{NS}	1,48 ^{NS}	–
Média	1,83	1,59	0,33	0,48	83,21

(): desvio padrão. ^{NS}: não significativo

TABELA 6: Estimativas de diversidade de *Myrcia splendens* em cinco fragmentos de vegetação (F1 a F5). N_a : número de alelos observados; N_e : número de alelos efetivos; H_e : diversidade genética de Nei; I : índice de Shannon e P : porcentagem de locos polimórficos.

Populações	N_a	N_e	H_e	I	P
F1	1,87 (0,33)	1,61 (0,33)	0,35 (0,16)	0,50 (0,22)	87,14
F2	1,94 (0,23)	1,69 (0,28)	0,39 (0,13)	0,56 (0,17)	94,29
F3	1,91 (0,28)	1,71 (0,31)	0,39 (0,15)	0,56 (0,20)	91,43
F4	1,91 (0,28)	1,69 (0,31)	0,38 (0,15)	0,55 (0,19)	91,43
F5	1,84 (0,37)	1,60 (0,35)	0,34 (0,17)	0,49 (0,24)	84,29
F_{ANOVA}	1,19 ^{NS}	1,86 ^{NS}	1,82 ^{NS}	1,76 ^{NS}	–
Média	1,89	1,66	0,37	0,53	89,71

(): desvio padrão. ^{NS}: não significativo

Em relação à heterozigidade esperada (H_e), também não foi observada diferença significativa entre as populações dos fragmentos e dos corredores. Este índice variou de 0,34 (F5) a 0,39 (F2 e F3) nos fragmentos. Nos corredores, H_e variou de 0,30 (C1) a 0,36 (C3). Para o índice de Shannon (I), também não houve diferença significativa na diversidade genética de *M. splendens* nos fragmentos e nos corredores, tendo os valores estimados variado de 0,44 a 0,53, nos corredores C1 e C3, respectivamente; nos fragmentos, este índice variou de 0,49 (F5) a 0,56 (F2 e F3).

Os índices apresentados mostram altos níveis de diversidade genética dentro das populações de *M. splendens* nos fragmentos e nos corredores, que pode ser reflexo da eficiência dos corredores em manter tais níveis de diversidade. Deve-se lembrar que estes parâmetros são estimativas históricas, ou seja, para se ter uma real idéia dos efeitos da fragmentação atual nos índices de

diversidade genética, estudos sobre progênies ou utilizando tipos de marcadores mais adequados para este tipo de abordagem seriam mais adequados.

Em comparação com marcadores codominantes, em geral, marcadores dominantes apresentam maiores níveis de diversidade genética (Ge & Sun, 2001). Moura (2005), utilizando tanto marcadores codominantes (isoenzimas) quanto dominantes (RAPD), encontrou altos níveis de diversidade genética na espécie *Eremanthus erythropappus*, em cinco populações estudadas. Entretanto, de acordo com Smith & Pham (1996), estimativas genéticas por meio de marcadores dominantes são algumas vezes menores do que por marcadores codominantes. Tarezan et al. (2005) encontraram baixos níveis de diversidade genética, tanto em indivíduos adulto quanto regenerantes, de *Aspidosperma polyneuron*, utilizando marcadores dominantes (RAPD). Vieira (2005), realizando estudos na mesma área do presente trabalho, encontrou altos níveis de diversidade genética, utilizando marcadores codominantes (isoenzimas).

O processo de fragmentação da área estudada tem idade aproximada de 200 anos; talvez o efeito deste processo não esteja ainda refletido nos parâmetros estudados. Por outro lado, os corredores de vegetação, inseridos na paisagem, interligando as populações, são de grande importância para a manutenção dos níveis de diversidade. Neste mesmo sistema corredor-fragmento analisado, Vieira (2005) e Vieira & Carvalho (2008), pesquisando a diversidade genética de *Protium spruceanum* a partir de marcadores aloenzimáticos, encontraram níveis semelhantes de diversidade, tendo os ambientes de fragmentos apresentado níveis um pouco maiores do que os encontrados nos corredores. Os autores consideraram, ainda, que os fragmentos, por apresentarem grande número de indivíduos reprodutivos, provavelmente, permitem maior número de recombinações e múltiplas paternidades nas progênies de *P. spruceanum*, o que favorece o aumento dos níveis de diversidade genética em função do aumento

das taxas de cruzamento, como discutido em Treuren et al. (1993) e Franceschinelli & Bawa (2000).

Estudos com populações de *M. splendens* que não estão conectadas por corredores e também estudos com progênes ou regenerantes desta espécie são interessantes. Informações sobre a biologia reprodutiva e a fenologia de *M. splendens* nesta área, somadas aos parâmetros de diversidade genética, podem resultar em conhecimento importante para a conservação da espécie e do sistema corredor-fragmento.

4.4 Estrutura genética

Os valores da heterozigosidade genética total (H_t), heterozigosidade média dentro de populações (H_s) e fluxo alélico (Nm), pela análise de variância entre fragmentos (formação primária) e corredores (formação secundária), não apresentaram diferenças entre si (Tabela 7). O H_t para os fragmentos foi de 0,390 e de 0,370, para os corredores. Os valores da heterozigosidade média da população dos fragmentos e dos corredores foram de 0,369 e 0,336, respectivamente. Os valores de H_t foram superiores aos observados para espécies nativas arbóreas (0,22) (Nybom, 2004). Em relação ao fluxo alélico (Nm), o valor foi de 8,72 para os fragmentos estudados e de 4,93 para os corredores. Em princípio, fluxo alélico maior do que 4 migrantes por geração é suficiente para contrapor os efeitos da deriva genética (Wright, 1951; Slatkin, 1987). Segundo Mills & Allendorf (1996) e Wang (2004), de 1 a 10 migrantes por geração entre fragmentos pode evitar os efeitos do acasalamento de indivíduos aparentados.

TABELA 7: Dados da estrutura genética de *Myrcia splendens* nos fragmentos e nos corredores. H_t = heterozigosidade genética total; H_s = heterozigosidade média dentro da população; D_{ST} = diversidade entre populações; G_{ST} = coeficiente de diferenciação populacional e Nm = fluxo alélico.

	H_t	H_s	D_{ST}	G_{ST}	Nm
Fragmentos	0,390 (0,016)	0,369 (0,016)	0,021	0,054	8,72
Corredores	0,370 (0,015)	0,336 (0,016)	0,034	0,092	4,93
F_{ANOVA}	0,870 ^{NS}	2,367 ^{NS}	7,720*	9,722*	1,28 ^{NS}

^{NS}: não significativo; * $P < 0,025$ teste F complementado pelo exame t Bonferroni (RICE, 1989); (): desvio padrão.

Os valores de diversidade entre populações (D_{ST}) e do coeficiente de diferenciação populacional (G_{ST}) apresentaram diferença significativa entre os dois ambientes. Para os fragmentos, o valor de D_{ST} foi de 0,021 e, nos corredores, este valor foi mais alto, atingindo 0,034. Análogos aos valores de D_{ST} , os valores de G_{ST} foram maiores no ambiente corredor, sendo de 0,092 neste e de 0,054 no ambiente fragmento. Estes valores apontam que a variabilidade entre e dentro das populações, no ambiente fragmento, contribuiu com 5,4% e 94,6% da heterozigosidade total, respectivamente. Nos corredores, a proporção é de 9,2% entre e de 90,8% dentro. O valor de G_{ST} foi abaixo da média esperada para espécies de fecundação cruzada ($G_{ST}=0,22$) (Nybom, 2004). Mesmo não sendo significativa a diferença de Nm entre os dois ambientes, o valor para este índice, que é estimado com base nos valores de G_{ST} , foi maior entre os fragmentos ($Nm = 8,7$), condizente com a baixa diferenciação genética entre os fragmentos (Tabela 7).

Comparações entre o fluxo alélico (Nm) das formações primárias (fragmentos) e secundárias (corredores) também foram realizadas. Os valores de

Nm comparando os cinco fragmentos com os quatro corredores da paisagem estudada e a porcentagem de contribuição de fluxo alélico de cada corredor de vegetação são mostrados na Tabela 8.

TABELA 8: Comparação do fluxo alélico (Nm) para *Myrcia splendens* entre os fragmentos e os corredores de vegetação. Entre parênteses, os respectivos fragmentos interligados pelo corredor.

Fragmento	Corredor	Nm	Porcentagem de contribuição
F1	C1 (F1-F2)	5,31	2,20
	C2 (F2-F3)	6,33	26,26
	C3 (F3-F4)	7,09	29,39
	C4 (F4-F5)	10,16	42,14
F2	C1 (F1-F2)	5,98	17,20
	C2 (F2-F3)	8,44	24,26
	C3 (F3-F4)	8,54	24,55
	C4 (F4-F5)	11,82	33,99
F3	C1 (F1-F2)	4,35	15,80
	C2 (F2-F3)	6,13	22,27
	C3 (F3-F4)	7,02	25,47
	C4 (F4-F5)	10,05	36,47
F4	C1 (F1-F2)	6,04	16,47
	C2 (F2-F3)	8,30	22,62
	C3 (F3-F4)	8,84	24,08
	C4 (F4-F5)	13,52	36,83
F5	C1 (F1-F2)	5,95	19,46
	C2 (F2-F3)	6,35	20,78
	C3 (F3-F4)	6,95	22,72
	C4 (F4-F5)	11,33	37,05
F_{ANOVA}		1,05 ^{n.s.}	

^{n.s.}: não significativo

A partir da análise de variância, não foi observada diferença significativa entre os valores de Nm para as combinações fragmento/corredor. Esses dados

são similares aos encontrados por Vieira (2005), para a espécie *Protium spruceanum*, analisada no mesmo sistema.

Na Tabela 9 são mostrados os valores de fluxo alélico entre os cinco fragmentos e a porcentagem de contribuição de cada um com o fluxo alélico.

TABELA 9: Fluxo alélico (Nm) de *Myrcia splendens* entre os cinco fragmentos.

Fragmentos		Nm	Porcentagem de contribuição
F1	F2	11,55	19,05
	F3	9,57*	15,78
	F4	16,50	27,21
	F5	23,03*	37,96
F2	F1	11,55	17,34
	F3	22,14	33,22
	F4	22,58	33,88
	F5	10,38	15,57
F3	F1	9,57	16,52
	F2	22,14	38,22
	F4	17,86	30,82
	F5	8,36	14,44
F4	F1	16,50	22,56
	F2	22,58	30,87
	F3	17,86	24,41
	F5	16,20*	22,15
F5	F1	23,03	39,72
	F2	10,38	17,90
	F3	8,36	14,43
	F4	16,20	27,95
F_{ANOVA}		2,37	

* $P < 0,001$ teste F complementado pelo exame t Bonferroni (RICE, 1989).

O valor de Nm foi maior nos fragmentos F1 com F5 (23,03) do que F1 com F3 (9,57) e F4 com F5 (16,20). Estes valores foram diferentes pela análise de variância, ajustada com o exame t Bonferroni, a $P < 0,001$. Os demais valores

não foram diferentes estatisticamente. Neste caso, também se espera que haja maior fluxo alélico entre fragmentos que são interligados pelos corredores de vegetação e os resultados mostram que, apesar de os fragmentos F1 e F5 não estarem ligados diretamente por corredor, estes não estão completamente isolados. De acordo com Hartl & Clark (1997), quando o fluxo gênico entre populações excede a quatro migrantes por geração, ocorre homogeneização dos alelos entre estas. Focando as duas situações, fluxo alélico entre fragmentos e corredores e fragmentos entre si (Tabela 8 e 9), nota-se que há grande fluxo alélico no sistema como um todo, sendo observadas estimativas superiores a 4.

É importante ressaltar que os valores de fluxo alélico aqui encontrados são reflexos do fluxo ocorrido historicamente, produzindo os padrões atuais observados de estrutura genética (Smouse & Sork, 2004). Outros tipos de amostragens, como, por exemplo, amostragem de progênies e ou utilização de outros tipos de análises, como a análise de paternidade, podem auxiliar na melhor compreensão do fluxo alélico contemporâneo na paisagem estudada. Trabalhos em microescala também são importantes para melhor entender os padrões da atual estrutura genética destas populações.

Enfim, os altos valores de Nm obtidos podem ser reflexos, entre outros fatores, do considerável tamanho populacional da espécie, tanto nas formações primárias quanto nas secundárias e da eficiência dos mecanismos de dispersão de sementes e de pólen. Dada a morfologia dos frutos, a espécie possui dispersão zoocórica (Souza & Lorenzi, 2005). Tais dispersores utilizam, frequentemente, os corredores de vegetação para se movimentarem de um fragmento a outro, em busca de recursos. De fato, é possível notar a movimentação desta biota nestes corredores, o que mostra a importância de estudos voltados também para a fauna do sistema estudado, o que vem sendo feito, recentemente, pela equipe da Ecologia, Departamento de Biologia da UFLA (comunicação pessoal).

Na tabela 10 encontram-se os resultados da análise de variância molecular (AMOVA) para os cinco fragmentos de vegetação primária e, na Tabela 11, os resultados para os corredores de vegetação secundária.

TABELA 10: Análise de variância molecular (AMOVA) em cinco fragmentos de vegetação primária de *Myrcia splendens*. GL = graus de liberdade e SQ = soma do quadrado dos desvios.

Fonte de variação	GL	SQ	Componentes da variância	Varição Total (%)	P
Entre populações	4	88,48	0,36	3,51	< 0,0001
Dentro de populações	163	1623,71	9,96	96,49	< 0,0001
Total	167	1712,20	10,32	100	
F_{ST} :	0.035				

TABELA 11: Análise de variância molecular (AMOVA) em quatro corredores de vegetação secundária de *Myrcia splendens*. GL = graus de liberdade e SQ = soma do quadrado dos desvios.

Fonte de variação	GL	SQ	Componentes da variância	Varição total (%)	P
Entre populações	3	81,72	0,76	8,85	< 0,0001
Dentro de populações	100	782,45	7,82	91,15	< 0,0001
Total	103	864,18	8,58	100	
F_{ST} :	0,088				

Os resultados obtidos são condizentes com os valores estimados de G_{ST} , ou seja, a maior parte da diversidade genética de *M. splendens* encontra-se

dentro das populações, tanto nos ambientes de vegetação primária (96,49%) quanto nos ambientes de vegetação secundária (91,15%).

Segundo Nybom & Bartish (2000), estimativas de diferenciação genética entre populações, cuja fecundação é cruzada, são, em média, 28%, obtidas a partir de dados de marcadores dominantes e calculadas pela AMOVA. Em *Plathymenia reticulata*, Lacerda et al. (2001) encontraram 12,3% de diferenciação entre populações. Goulart et al. (2005), em estudo realizado em duas populações de *Mabea fistulifera*, encontraram 8,97% de diferenciação entre as populações.

Vieira (2005) e Vieira & Carvalho (2008), para a espécie *Protium spruceanum*, neste mesmo sistema, encontraram níveis semelhantes de distribuição da variabilidade genética, com 97% da variabilidade ocorrendo dentro das populações. Estes resultados estão de acordo com os observados em outras espécies arbóreas tropicais de fecundação cruzada e vida longa, ou seja, a maior proporção da variabilidade genética encontra-se dentro das populações (Loveless & Hamrick, 1984; White et al., 1999; Melo Júnior et al., 2004; Nybom, 2004; Apte et al., 2006).

Considerando o tipo de polinização da espécie *M. splendens* (entomofilia), a dispersão dos diásporos (zoocoria), a proximidade dos fragmentos e o fato de eles estarem interligados pelos corredores de vegetação, era esperada baixa divergência genética entre eles. A divergência genética entre populações é reduzida com o aumento do fluxo alélico, via pólen e/ou sementes. Estudos em fragmentos semelhantes a estes analisados, mas que não estão conectados com corredores, podem ajudar a avaliar a eficiência dos corredores para intercambiar alelos de um local a outro, de forma que não ocorra divergência genética entre eles e confirmando sua importância ecológica e genética na paisagem regional.

As estimativas de identidade e de distância genética de Nei (1978) para a espécie *M. splendens*, nos corredores e nos fragmentos, são mostradas na Tabela 12.

TABELA 12: Estimativas de identidade (acima da diagonal) e distância genética (abaixo da diagonal) de Nei (1978), entre corredores e fragmentos de *M. splendens*.

Populações	C1	C2	C3	C4	F1	F2	F3	F4	F5
C1	****	0,965	0,959	0,898	0,918	0,922	0,889	0,923	0,928
C2	0,035	****	0,983	0,917	0,928	0,944	0,919	0,943	0,929
C3	0,041	0,016	****	0,926	0,930	0,938	0,923	0,941	0,929
C4	0,106	0,086	0,076	****	0,957	0,961	0,953	0,967	0,962
F1	0,085	0,074	0,072	0,043	****	0,959	0,948	0,973	0,985
F2	0,080	0,056	0,063	0,038	0,041	****	0,981	0,981	0,954
F3	0,117	0,084	0,079	0,047	0,052	0,018	****	0,974	0,940
F4	0,079	0,058	0,060	0,033	0,026	0,018	0,026	****	0,973
F5	0,074	0,073	0,072	0,037	0,015	0,047	0,061	0,027	****

A distância genética média entre os corredores foi de 0,060 e, entre os fragmentos, foi de 0,033. A menor distância genética nas formações secundárias (corredores) foi entre os corredores C2 e C3 (0,016), que interligam os fragmentos F2 com F3 e F3 com F4, respectivamente; a maior distância entre os corredores foi de 0,106 entre os corredores C1 e C4, que interligam F1 com F2 e F4 com F5, respectivamente. Nas formações primárias, ou seja, nos fragmentos, a maior distância genética entre eles foi de 0,061 entre os fragmentos F3 e F5 e a menor foi entre F1 e F5 (0,015).

Em geral, os corredores apresentaram menor distância genética com os fragmentos aos quais estão interligados, com exceção do corredor C1, que apresentou menor distância genética com o fragmento F5 (0,074). O corredor C2, que interliga os fragmentos F2 com F3, apresentou menor distância com o

fragmento F2 (0,056). Já o corredor C3, que faz conexão com os fragmentos F3 com F4, apresentou menor distância com F4 (0,060). O corredor C4 apresentou as menores distâncias genéticas com os fragmentos aos quais estão ligados por meio dele, no caso F4 (0,033) e F5 (0,037). Esses resultados indicam que a colonização das valas, que hoje formam os corredores, possivelmente, ocorreu a partir da dispersão de diásporos oriundos dos fragmentos mais próximos.

A partir da matriz de identidade genética de Nei (1978) entre as populações amostradas (corredores e fragmentos), construiu-se um dendrograma pelo método UPGMA (Figura 6).

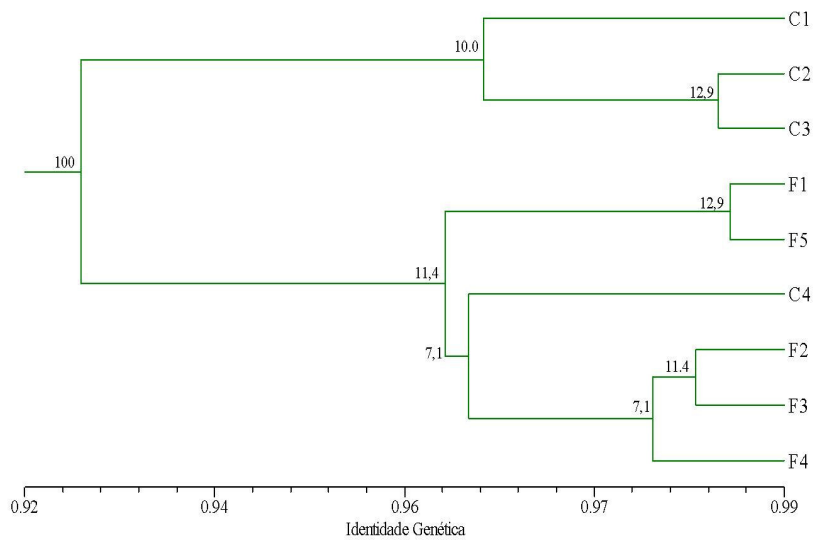


FIGURA 6: Dendrograma UPGMA das populações de *Myrcia splendens* amostradas nos sistema corredor-fragmento, calculado de acordo com a identidade genética de Nei (1978). Os números acima dos nós indicam a consistência dos mesmos, após 1.000 permutações.

O dendrograma mostrado na Figura 6 apresenta uma faixa de similaridade de 92,5% a 98,5% entre as populações (corredores e fragmentos). Acima de 96% de similaridade, observa-se a formação de dois grupos: o primeiro formado por três corredores (C1, C2 e C3) e o segundo grupo formado pelos cinco fragmentos (F1 a F5) e pelo corredor C4, o que mostra uma tendência de agrupamento em função da origem das populações (formações primárias e secundárias). Os corredores de vegetação, que são formações secundárias, se agruparam separadamente dos fragmentos, formação primária, com exceção do corredor C4. Este corredor apresentou altos índices de fluxo alélico entre os cinco fragmentos (Tabela 8). Como já mencionado, fluxo gênico acima de quatro migrantes por geração permite uma homogeneização dos alelos entre as populações, que passam a funcionar como populações panmíticas (Hartl & Clark, 1997).

O Teste de Mantel apontou não haver correlação significativa entre as distâncias geográfica e as distâncias genéticas estimadas ($r = 0,057$; $P = 0,436$) para *M. splendens* entre os fragmentos de vegetação. Este resultado pode ser devido à baixa divergência genética entre os fragmentos, que apresentam altos valores de fluxo alélico entre eles (Tabela 9). Entretanto, para melhor análise da variabilidade genética e sua distribuição entre as populações de *M. splendens*, é interessante que se faça uma amostragem de maior número de populações e de localidades e, se possível, de populações que não estejam interligadas por corredores, uma vez que os fragmentos aqui estudados são relativamente próximos e estão interligados. Tais informações são importantes em programas de conservação *in situ*.

São poucas as informações sobre o histórico de fragmentação da área estudada e da colonização das valas, que constituem, hoje, os corredores de vegetação, para se fazer algumas inferências sobre a paisagem. Entretanto, é de grande importância a interligação dos fragmentos remanescentes pelos

corredores de vegetação na paisagem em questão, o que pode explicar a baixa diferenciação entre as populações.

4.5 Estrutura genética espacial

Os indivíduos amostrados estão representados na Figura 7. Os pontos em amarelo mostram as plantas coletadas, sobrepostos à imagem aérea do local de estudo obtida pelo *Google Earth*TM (Versão 4.0.2722) a partir das coordenadas UTM, marcadas pelo GPS.

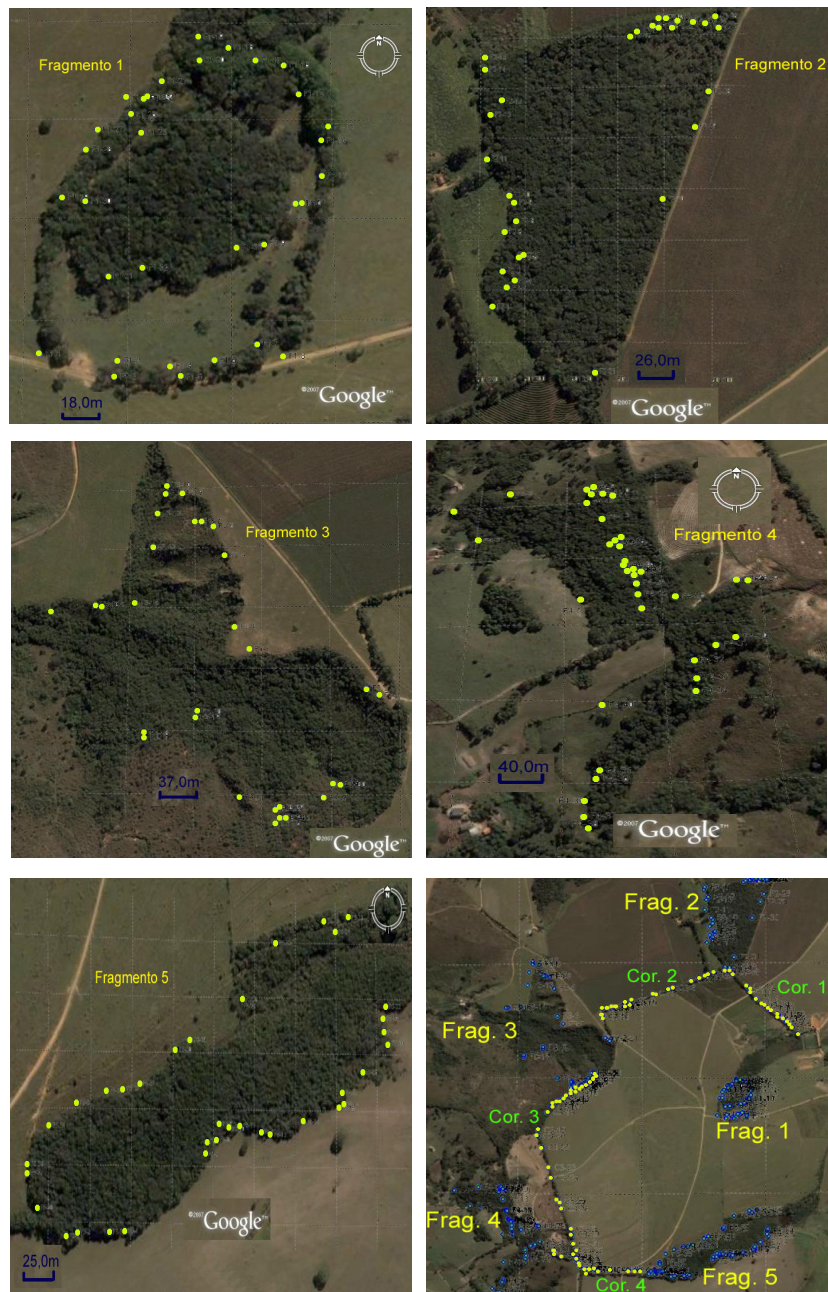


FIGURA 7: Posição e distribuição espacial de árvores de *Myrcia splendens* (pontos em amarelo) em fragmentos e corredores na região do Alto Rio Grande, em Lavras, sul de Minas Gerais.

Na Tabela 13 são mostrados os valores da estatística S_p da estrutura genética para as amostras de *M. splendens* analisadas nos cinco fragmentos de formação primária, nos quatro corredores de formação secundária e para o conjunto dos corredores. Os valores de S_p são medidas da magnitude da estruturação genética. Nesta tabela também são mostrados os valores de significância (P) dos testes de permutação, o coeficiente de *kinship* para a primeira classe de distância e os valores da inclinação da curva de regressão do coeficiente de coancestria (B_{log}).

TABELA 13: Caracterização da estrutura espacial de *M. splendens* nos 5 fragmentos, em 4 corredores de vegetação e nos corredores como um todo, incluindo para cada população o coeficiente de *kinship* (F_{ij}) para primeira classe de distância, B_{log} , estatística S_p e valor de significância (P).

Populações	F_{ij}	B_{log}	S_p	P
Fragmento 1	-0,0031	-0,0004	0,0004	0,956 ^{ns}
Fragmento 2	0,0183	-0,0041	0,0042	0,440 ^{ns}
Fragmento 3	0,0063	-0,0104	0,0104	0,126 ^{ns}
Fragmento 4	-0,0040	-0,0003	0,0003	0,878 ^{ns}
Fragmento 5	-0,0106	-0,0070	0,0069	0,212 ^{ns}
Corredor 1	0,0017	-0,0024	0,0024	0,732 ^{ns}
Corredor 2	-0,0019	-0,0097	0,0097	0,170 ^{ns}
Corredor 3	0,0150	-0,0123	0,0125	0,009*
Corredor 4	0,0502	-0,0140	0,0148	0,029*
Corredor total	0,0364	-0,0205	0,0213	0,000*

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

A distribuição espacial dos genótipos de *M. splendens*, nos cinco fragmentos e nos quatro corredores de vegetação, foi obtida por meio do coeficiente de *Kinship* entre plantas para cada classe de distância e está representada nos correlogramas da Figura 8.

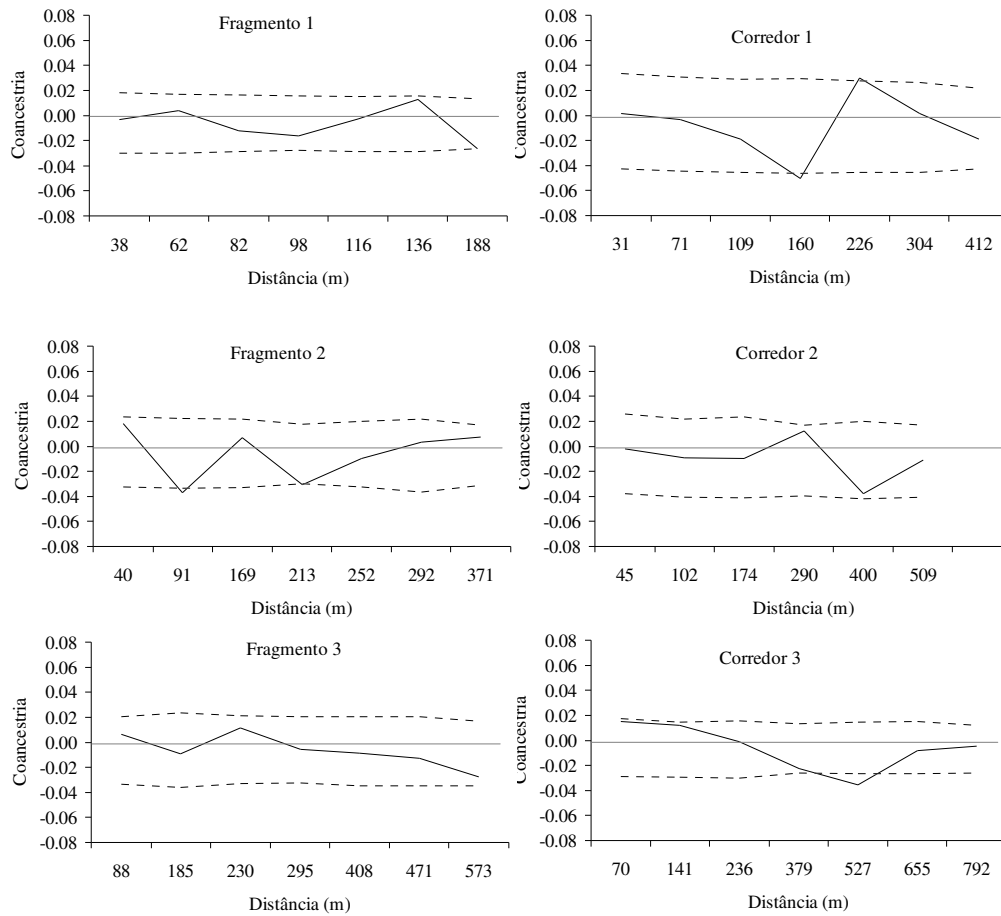
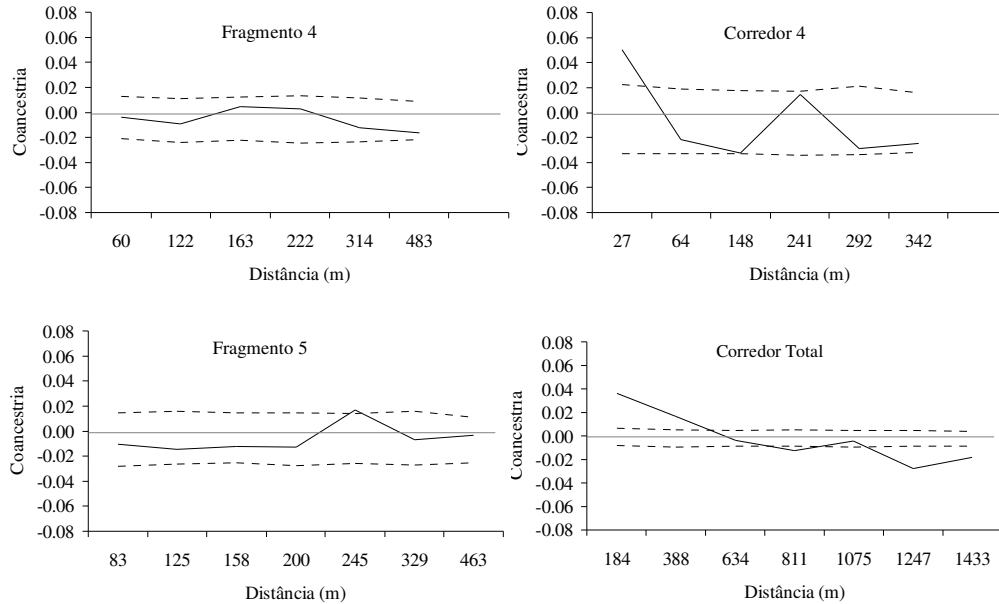


FIGURA 8: Correlogramas do coeficiente de coancestria (*kinship*), por classes de distância, para indivíduos de *Myrcia splendens* nos fragmentos e nos corredores de vegetação; ---- intervalo de confiança, a 95% de probabilidade. (...continua...)

FIGURA 8, cont.



Diante dos resultados da estatística S_p da estrutura genética (Tabela 13) para as formações primárias (fragmentos), não foi observada estruturação genética, com uma distribuição aleatória dos indivíduos dentro dos fragmentos. Resultados similares foram observados para os corredores C1 e C2. Entretanto, os corredores C3 e C4 apresentaram estruturação genética na primeira classe de distância. O corredor de vegetação C3 apresentou valor de coancestria positiva ($F_{ij}=0,015$; $P=0,009$) na primeira classe de distância (70m). O corredor C4 apresentou resultado similar, sendo positivo e significativo ($F_{ij}=0,050$; $P=0,029$) para a primeira classe de distância (27m). Avaliando o sistema corredor como um todo, ou seja, formações secundárias em conjunto, observa-se que há estruturação genética nestes ambientes. Neste caso, foi encontrado valor positivo ($F_{ij}=0,036$) e significativo ($P=0,000$) para coancestria na primeira classe (184m).

Os resultados dos correlogramas (Figura 8), em uma visão geral, indicam a ocorrência de distribuição aleatória dos genótipos de *M. splendens* nas formações primárias (fragmentos), devido, possivelmente, ao fato de o fluxo alélico ocorrer em quantidade suficiente para evitar o agrupamento de indivíduos aparentados (Tabelas 8 e 9). No fragmento dois (F2), observa-se valor de coancestria negativo (-0,03) e significativo ($P=0,03$), na segunda classe de distância (91m).

Por outro lado, a observação da estruturação genética para as formações secundárias pode ser um indicativo de colonização agregada dos indivíduos, ou seja, pode ter ocorrido uma dispersão limitada de sementes na colonização das valas. Nos corredores C1 e C3, os valores de coancestria foram negativos e significativos, na quarta (160m) e quinta classe (527m), respectivamente (C1=-0,05; $P=0,02$; e C3=-0,03; $P=0,005$). Já o corredor quatro (C4) e a análise feita com os corredores em conjunto apresentaram valores positivos de coancestria nas primeiras classes de distância. Para C4, o valor de coancestria foi de 0,05 ($P=0,00$) na classe de 27m. Na análise dos corredores, no total, os valores de coancestria nas duas primeiras classes foram, respectivamente, de 0,03 ($P=0,000$), na primeira classe, de 184m e, na segunda classe (388m), o valor foi de 0,01 ($P=0,00$), mostrando que indivíduos mais próximos são mais semelhantes entre si. Esta última análise ainda mostrou que, da sexta classe de distância em diante (1247m,) os valores de coancestria foram negativos e significativos (-0,02; $P=0,00$), mostrando que, a partir dessa distância, os indivíduos são mais diferentes geneticamente.

A dispersão limitada de pólen e sementes tem sido reportada como as maiores causas de estruturação genética espacial dentro das populações (Latta et al., 1998; Smouse & Peakall, 1999). É possível que os dispersores de sementes nos ambientes corredores não foram muito eficientes para dispersar os diásporos, sendo as sementes dispersas nas vizinhanças das árvores maternas, o

que pode ter originado a estruturação genética espacial, ou seja, indivíduos mais próximos nestes ambientes são mais semelhantes entre si do que indivíduos espacialmente distantes (Vieira, 2005).

As classes de distâncias representadas nos correlogramas (Figura 8), além de informação importante para o manejo, seria uma indicação do distanciamento mínimo entre indivíduos a serem amostrados para programas de melhoramento genético da espécie e para a coleta de sementes em recuperação de áreas degradadas, pois, assim, a amostragem seria maximizada, visando à obtenção de maior variabilidade genética (Jin et al., 2003; Kelly et al., 2004; Vieira, 2005; Cloutier et al., 2007).

A média dos valores de S_p (0,0068) para a espécie estudada (Tabela 13) foi semelhante à de espécies cuja dispersão de sementes é feita por animais ($S_p=0,0088$) (Vekemans & Hardy, 2004). Este valor também foi semelhante ao encontrado para a espécie *Sextonia rubra* (Mez) van der Werff (Lauraceae) ($S_p=0,006$), que é uma espécie hermafrodita, com polinização por insetos e dispersão de sementes por pássaros (Hardy et al., 2006).

Contudo, estudos com distribuição espacial dos genótipos de *M. splendens* em microescala, com amostragem de indivíduos regenerantes, associados a estudos da biologia reprodutiva, podem auxiliar na compreensão da estrutura genética da espécie neste sistema corredor-fragmento. Tais dados são importantes para a comparação com outras espécies de hábitos semelhantes.

5 CONCLUSÕES

- A espécie *Myrcia splendens* apresenta altos níveis de diversidade genética dentro das populações analisadas, sendo superior à média relatada para espécies arbóreas tropicais.
- Foi observada baixa diferenciação genética entre os fragmentos (formação primária), o que pode ser explicada pelo elevado fluxo alélico entre eles, sendo este associado ao fato de estes remanescentes estarem ligados pelos corredores de vegetação.
- Os corredores de vegetação apresentaram menor distância genética com os fragmentos por ele conectados e apresentaram elevados índices de fluxo alélico entre eles.
- Não foi observada correlação entre distância genética e distância geográfica, o que pode ser reflexo dos altos valores de fluxo alélico encontrados entre os fragmentos, configurando baixa diferenciação genética entre essas formações primárias.
- O dendrograma construído pelo método UPGMA a partir da matriz de identidade genética de Nei (1978) sugere a existência de um padrão hierárquico de semelhança genética entre os ambientes de formação secundária (corredores de vegetação) e entre os remanescentes primários (fragmentos), com exceção do corredor C4, que apresentou maior semelhança com as formações primárias. Este corredor apresentou altos índices de fluxo alélico entre os cinco fragmentos.
- Para as formações primárias (fragmentos), não foi observada estruturação genética espacial, indicando que os genótipos de *M. splendens* estavam distribuídos de maneira aleatória. Nas formações secundárias, o mesmo padrão foi observado para os corredores C1 e C2.

Os corredores C3 e C4 apresentaram valores de coancestria positiva na primeira classe de distância, 70m e 20m, respectivamente, mostrando que indivíduos de *M. splendens* agrupados a distâncias menores que estas são semelhantes geneticamente.

- Os fragmentos e os corredores estudados mostraram-se potenciais para conservação *in situ* e para a coleta de sementes, caso sejam destinadas à recuperação de áreas.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Estudos em genética de populações são uma ferramenta importante para medidas de conservação de remanescentes florestais. Estes estudos focam a conservação genética de espécies e, como os processos de fragmentação e isolamento de populações, podem afetar a diversidade genética.

Para prever o destino de espécies em fragmentos florestais é importante a avaliação das consequências do isolamento e a redução das populações, medidas valiosas em programas de manejo e conservação (Young & Clarke, 2000).

O processo de fragmentação, sendo relativamente recente na região, pode não ter afetado ainda os índices de diversidade genética observados para as populações de *M. splendens*. Por outro lado, os corredores de vegetação formados, interligando esses remanescentes, são elementos de grande importância na paisagem, devido à sua função como vias de troca gênica entre os fragmentos, minimizando os impactos da fragmentação.

A visão dos corredores de vegetação da região como facilitadores de movimento de fauna, da dispersão de propágulos e do intercâmbio genético é uma linha de estudos que está sendo desenvolvida. Como visto neste estudo, a conservação desses elementos na paisagem é uma medida importante para a conservação da espécie e do sistema como um todo, pois visa à manutenção do número de migrantes e das populações das espécies nos fragmentos.

Sendo assim, a manutenção e a preservação dos corredores e fragmentos na paisagem estudada são medidas fundamentais para a preservação da *M. splendens* e do sistema corredor-fragmento. Diante destas perspectivas, novos estudos referentes à biologia reprodutiva desta espécie, além de trabalhos sobre a diversidade genética de outras espécies, com mecanismos diferentes de

polinização e/ou dispersão, são de grande valia para a melhor compreensão da dinâmica entre os remanescentes desta paisagem e farão parte da continuidade do trabalho. O manejo eficaz desses fragmentos está vinculado com o acúmulo de informações sobre diferentes grupos de espécies.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALEXANDER, J. A.; LISTON, A.; POPOVICH, S. J. Genetic diversity of the narrow endemic astragalus oniciformis (Fabaceae). **American Journal of Botany**, Columbus, v. 91, n. 12, p. 2004-2012, 2004.
- ALLARD, R. A. **Princípios do melhoramento genético das plantas**. São Paulo: E. Blucher, 1971. 381 p.
- ANDRADE, M. A. **Árvores zoocóricas como núcleos de avifauna e dispersão de sementes**. 2003. 91 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Florestal) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.
- APTE, G. S.; BAHULIKAR, R. A.; KULKARNI, R. S.; LAGU, M. D.; KULKARNI, B. G.; SURESH, H. S.; RAO, P. S. N.; GUPTA, V. S. Genetic diversity analysis in *Gaultheria fragrantissima* Wall. (Ericaceae) from the two biodiversity hotspots in India using ISSR markers. **Current Science**, Bangalore, v. 91, n. 12, 2006.
- ARANTES, A. A.; MONTEIRO, R. A família Myrtaceae na estação ecológica do Panga, Uberlândia, Minas Gerais. **Lundiana**, Belo Horizonte, v. 3, n. 2, p. 111-127, jul. 2002.
- BACLES, C. F. E.; LOWE, A. J.; ENNOS, R. A. Genetic effects of chronic habitat fragmentation on tree species: the case of *Sorbus aucuparia* in a deforested Scottish landscape. **Molecular Ecology**, Oxford, v. 13, p. 573-584, 2004.
- BALLAL, S. R.; FORÉ, S. A.; GUITTMEN, S. I. Apparent gene flow and genetics structure of *Acer saccharum* subpopulations in fores fragments. **Canadian Journal of Botany**, Ottawa, v. 72, p. 1311-1315, 1994.
- BARROSO, G. M. **Sistemática de angiospermas do Brasil**. Viçosa: UFV, 1984. v. 2.
- BAWA, K. S.; KRUGMAN, S. L. Reproductive biology and genetics of tropical trees in relation to conservation and manegement. In: GOMES-POMPA, A.; WHITMORE, T. C.; HADLEY, M. **Rain forest regeneration and manegement**. Paris: Unesco, 1990. p. 119-136.

BERG, E. E.; HAMRICK, J. L. Quantification of genetic diversity at allozyme loci. **Canadian Journal Forest Research**, Ottawa, v. 27, n. 3, p. 415-424, Mar. 1997.

BIERREGAARD JUNIOR, R. O.; DALE, V. H. Islands in an ever-changing sea: the ecological and socioeconomic dynamics of Amazonian rainforest. In: SCHELLAS, J.; GREENBERG, R. (Ed.). **Forest patches in tropical landscapes**. Washington: Island, 1996. p. 187-204.

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

BOTTINO, M. C. **Análise da diversidade genética de populações de *Calophyllum brasiliense* Camb (Clusiaceae) utilizando marcadores AFLP**. 2006. 88 f. Dissertação (Mestrado em Genética) – Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, RJ.

BOUZAT, J. L. The population genetic structure of the Greater Rhea (*Rhea americana*) in an agricultural landscape. **Biological Conservation**, Essex, v. 99, p. 277-284, 2001.

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

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. **SNUC - Sistema Nacional de Unidades de Conservação Lei n. 9985**, de 18 de julho de 2000. Decreto de Lei n. 4340, de 22 de agosto de 2002. Brasília, DF, 2002a.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. **Corredores ecológicos**. Brasília, DF, 2002b.

BROOKER, L.; BROOKER, M.; CALE, P. Animal dispersal in fragmented habitat: measuring habitat connectivity, corridor use, and dispersal mortality. **Conservation Ecology**, Malden, v. 14, n. 1, p. 4, 1999.

CASTRO, G. C. **Análise da estrutura, diversidade florística e variações espaciais do componente arbóreo de corredores de vegetação na região do Alto Rio Grande, MG.** 2004. 83 p. Dissertação (Mestrado em Genética) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

CAVALLARI-NETO, M. M. **Estrutura genética de populações de *Encholirium* (Bromeliaceae) e implicações para sua conservação.** 2004. 92 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba.

CHEN, J. M.; GITURU, W. R.; WANG, Y. H.; WANG, Q. F. The extent of clonality and genetic diversity in the rare *Caldesia grandis* (Alismataceae): comparative results for RAPD and ISSR markers. **Aquatic Botany**, v. 84, p. 301-307, 2006.

CHUNG, M. Y.; NASON, J.; CHUNG, M. G.; KIM, K. J.; PARK, C. W.; SUN, B. Y.; PAK, J. H. Landscape-level spatial genetic structure in *Quercus acutissima* (Fagaceae). **American Journal of Botany**, Columbus, v. 89, n. 8, p. 1229-1236, 2002.

CLOUTIER, D.; KANASHIRO, M.; CIAMPI, A. Y.; SCHOEN, D. J. Impact of selective logging on inbreeding and gene dispersal in an Amazonian tree population of *Carapa guianensis* Aubl. **Molecular Ecology**, v. 16, p. 797-809, 2007.

COCKERHAM, C. C. Variance of gene frequencies. **Evolution**, Washington, v. 23, n. 1, p. 72-84, Feb. 1969.

COELHO, A. S. G. **Dboot**: avaliação dos erros associados a estimativas de distâncias/similaridades genéticas através do procedimento de bootstrap com número variável de marcadores. Goiânia: UFG, 2000. Software.

COLLI, G. R.; ACCACIO, G. M.; ANTONINI, Y.; CONSTANTINO, R.; FRANCESCHINELLI, E. V.; LAPS, R. R.; SCARIOT, A.; VIEIRA, M. V.; WIEDERHECKER, H. C. Fragmentação dos ecossistemas e a biodiversidade brasileira: uma síntese. In: RAMBALDI, D. M.; OLIVEIRA, D. A. S. (Org.). **Fragmentação de ecossistemas**: causas, efeitos sobre a biodiversidade e recomendações de políticas públicas. Brasília, DF: MMA/SBF, 2003. p. 319-345.

CORRÊA, M. P. **Dicionário das plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas.** Rio de Janeiro: MA/IBDF, 1984. 747 p.

CRUZ, C. D. **Programa GENES**: versão Windows. Viçosa: UFV, 2001. 642 p.

DEBINSKI, D. E. R.; HOLT, D. A survey and overview of habitat fragmentation experiments. **Conservation Biology**, Malden, v. 14, n. 2, p. 342-355, Apr. 2000.

DIAS, L. A. S.; KAGEYAMA, P. Y. Multivariate genetic distance and hybrid performance of cacao (*Thebroma cacao*). **Brazilian Journal of Genetic**, Ribeirão Preto, v. 20, n. 1, p. 63-70, Mar. 1998.

DICK, C. W.; ETCHELECU, G.; AUSTERLITZ, F. Pollen dispersal of tropical trees (*Dinizia excelsa*: Fabaceae) by native insects and African honeybees in pristine and fragmented Amazonian rainforest. **Molecular Ecology**, Oxford, v. 12, n. 3, p. 753-764, Mar. 2003.

DOLIGEZ, A.; JOLY, H. I. Genetic diversity and spatial structure within a natural stand of a tropical forest tree species, *Carapa procera* (Meliaceae), in French Guiana. **Heredity**, London, v. 79, n. 2, p. 72-82, Feb. 1997.

DUTECH, C.; SORK, V. L.; IRWIN, A. J.; SMOUSE, P. E.; DAVIS, F. W. Gene flow and fine-scale genetic structure in a wind-pollinated tree species, *Quercus lobata* (Fagaceae). **American Journal of Botany**, Columbus, v. 92, n. 2, p. 252-261, Feb. 2005.

EHRlich, P. R. The loss of diversity: causes and consequences. In: WILSON, E. O. (Ed.). **Biodiversity**. Washington, DC: Academy, 1988. p. 29-35.

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

ESSELMAN, E. J.; JIANQIANG, L.; CRAWFORD, D. J.; WINDUSS, J. L.; WOLFE, A. D. Clonal diversity in the rare *Calamagrostis porteri* ssp. *Insperrata* (*Poaceae*): comparative results for allozymes and random amplified polymorphic DNA (RAPD) and inter simple sequence repeat (ISSR) markers. **Molecular Ecology**, Edinburgh, v. 8, p. 443-451, 1999.

ESTOPA, R. A.; SOUZA, A. M. de; MOURA, M. C. de; BOTREL, M. C. G.; MENDONÇA, E. G.; CARVAVLHO, D. Diversidade genética em populações naturais de candeia (*Eremanthus erythropappus* (DC.) MacLeish). **Scientia Forestalis**, Piracicaba, n. 70, p. 97-106, abr. 2006.

EXCOFFIER, L.; LAVAL, G.; SCHNEIDER, S. **Arlequin**: a software for population data analysis. Version 3.1. Geneva: University of Geneva, 2007. Disponível em: <<http://cmpg.unibe.ch/software/arlequin3>>. Acesso em: 10 fev. 2007.

EXCOFFIER, L.; SMOUSE, P. E.; QUATTRO, J. M. Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: application to human mitochondrial DNA restriction data. **Genetics**, Baltimore, v. 131, p. 179-191, 1992.

FANG, D. Q.; ROOSE, M. L. Identification of closely related citrus cultivars with inter-simple sequence repeat markers. **Theoretical and Applied Genetics**, New York, v. 95, p. 408-417, 1997.

FLEISHMAN, E.; LAUNER, A. E.; SWITKY, K. R. Rules and exceptions in conservation genetics: genetic assessment of the endangered plant *Cordylanthus palmatus* and its implications for management planning. **Biological Conservation**, Essex, v. 98, p. 45-53, 2001.

FORÉ, S. A.; HICKEY, R. J.; VANKAT, J. L.; GUTTMAN, S. J.; SCHAEFER, R. L. Genetic structure after forest fragmentation: an landscape ecology perspective on *Acer saccharum*. **Canadian Journal of Botany**, Ottawa, v. 70, n. 8, p. 1659-1668, Aug. 1992.

FORMAN, R. T. T. **Land mosaics**: the ecology of landscapes and regions. Cambridge: Cambridge University, 1997. 605 p.

FRANCESCHINELLI, E. V.; BAWA, K. S. The effect of ecological factors on the mating system of a South American shrub species (*Helicteres brevispira*). **Heredity**, London, v. 84, n. 1, p. 116-123, Jan. 2000.

FRANKEL, O. H.; BROWN, A. H. D.; BURDON, J. J. **The conservation of plant biodiversity**. Cambridge: Cambridge University, 1995. 299 p.

FREITAS, M. L. M.; AUKAR, A. P. A.; SEBBENN, A. M.; MORAES, M. L. T.; LEMOS, E. G. M. Variabilidade genética intrapopulacional em *Myracrodruon urundeuva* Fr. All. por marcador AFLP. **Scientia Forestalis**, Piracicaba, n. 68, p. 21-28, ago. 2005.

FUTUYMA, D. J. **Biologia evolutiva**. 2. ed. Ribeirão Preto: Sociedade Brasileira de Genética, 2002. 631 p.

GAIOTTO, F. A.; GRATTAPAGLIA, D. E.; VENKOVSKY, R. Genetic structure, mating system and long distance gene flow in Heart of Palm (*Euterpe edulis* Mart.). **Journal of Heredity**, Essex, v. 94, n. 5, p. 399-406, 2003.

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

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

GONZALES, E.; HAMRICK, J. L. Distribution of genetic diversity among disjunct populations of the rare forest understory herb, *Trillium reliquum*. **Heredity**, London, v. 95, n. 4, p. 306-314, Oct. 2005.

GONZÁLEZ-ASTORGA, J.; NÚÑES-FARFÁN, J. Effect of habitat fragmentation on the genetic structure of the narrow endemic *Brongniartia vazquezii*. **Evolution Ecology Research**, Tucson, v. 3, n. 7, p. 961-872, Nov. 2001.

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

GRAM, W. K.; SORK, V. L. Association between environmental and genetic heterogeneity in forest tree populations. **Ecology**, Durham, v. 82, p. 2012-2021, 2001.

HAAS, C. A. Dispersal and use of corridors by birds in wooded patches on an agricultural landscape. **Conservation Biology**, Essex, v. 9, p. 845-854, 1995.

HADDAD, N. Corridor length and patch colonization by a butterfly, *Junonia coenia*. **Conservation Biology**, Essex, v. 14, p. 738-745, 2000.

HAMRICK, J. L. The distribution of Genetic Variation within and among Natural plant population. In: SCHONE-WALD-COX, C. M.; CAHAMBERS, S. H.; MacBYDE, B.; THOMAS, L. **Genetic and conservation**. Menlo Park: Benjamin Cummings, 1983. p. 335-348.

HAMRICK, J. L.; GODT, M. J. W. Allozyme diversity in plant species. In: BROWN, A. H. D.; CLEGG, M. T.; KAHLER, A. L. E. (Ed.). **Plant population genetics, breeding and genetic resources**. Sunderland: Sinauer, 1989. p. 43-63.

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

HARDY, O. J.; MAGGIA, L.; BANDOU, E.; BREYNE, P.; CARON, H.; CHEVALLIER, M. H.; DOLIGEZ, A.; DUTECH, C.; KREMER, A.; LATOUCHE-HALLÉ, C.; TROISPOUX, V.; VERON, V.; DEGEN, B. Fine-scale genetic structure and gene dispersal inferences in 10 Neotropical tree species. **Molecular Ecology**, Dordrecht, v. 15, p. 559-571, 2006.

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

HARRIS, J. RAPDs in systematic: a useful methodology? In: HOLLINGSWORTH, P. M.; BATEMAN, R. M.; GORNALL, R. J. (Ed.). **Molecular systematics and plant evolution**. London: Taylor and Francis, 1999. p. 221-228.

HARTL, D. L.; CLARK, A. G. **Principles of population genetics**. Sunderland: Sinauer Associates, 1997. 542 p.

HECHT, S. M. **Biologically active extracts from *Myrcia fallax* (Myrtaceae) Peru and method of obtaining same**. US n. 4451459. 23 July 1982, 29 May 1984. Disponível em: <<http://www.freepatentsonline.com/4451459.html>>. Acesso em: 15 Feb. 2006.

HERRERA, C. M.; JORDANO, P. *Prunus mahaleb* and birds: the high-efficiency seed dispersal system of a temperate fruiting tree. **Ecological Monographs**, Washington, v. 51, n. 2, p. 203-218, 1981.

HEYWOOD, J. S. Spatial analysis of genetic variation in plant populations. **Annual Review of Ecology and Systematics**, Palo Alto, v. 22, p. 335-355, 1991.

HILL, C. J. Linear strips of rain forest vegetation as potential dispersal corridors for rain forest insects. **Conservation Biology**, Essex, v. 9, n. 6, p. 1559-1566, Dec. 1995.

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

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA ESTATÍSTICA. **Mapa de vegetação do Brasil**. Rio de Janeiro, 2004.

ISABEL, N.; BEAULIEU, J.; THERIAULT, P.; BOUSQUET, J. Direct evidence for biased gene diversity estimates from dominant random amplified polymorphic DNA (RAPD) fingerprints. **Molecular Ecology**, Dordrecht, v. 8, p. 477-483, 1999.

JENNINGS, S. B.; BROWN, N. D.; BOSHIER, D. H.; WHITMORE, T. C.; LOPES, J. do C. A. Ecology provides a pragmatic solution to the maintenance of genetic diversity in sustainably managed tropical rain forests. **Forest Ecology and Management**, Amsterdam, v. 154, p. 1-10, 2001.

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

JIN, Y.; HE, T.; LU, B. Genetic spatial clustering: significant implications for conservation of wild soybean (*Glycine soja*: Fabaceae). **Genetica**, v. 128, p. 41-49, 2006

JOLY, A. B. **Botânica**: introdução à taxonomia vegetal. 13. ed. São Paulo: Nacional, 2002. 777 p.

JONES, B.; GLIDDON, C.; GOOD, J. E. G. The conservation of variation in geographically peripheral populations: *Lloydia serotina* (Liliaceae) in Britain. **Biological Conservation**, Essex, v. 101, p. 147-156, 2001.

JOSHI, S. P.; GUPTA, V. S.; AGGARWAL, R. K.; RANJEKAR, P. K.; BRAR, D. S. Genetic diversity and phylogenetic relationship as revealed by inter simple sequence repeat (ISSR) polymorphism in the genus *Oryza*. **Theoretical and Applied Genetics**, New York, v. 100, p. 1311-1320, 2000.

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

KEVIN, K.; NG, S.; LEE, L.; KOH, L. Spatial structure and genetic diversity of two tropical tree species with contrasting breeding systems and different ploidy levels. **Molecular Ecology**, Oxford, v. 13, n. 5, p. 657-669, May 2004.

KIMURA, M.; CROW, J. F. The number of alleles that can be maintained in a finite population. **Genetics**, Baltimore, v. 49, p. 725-738, 1964.

KORMAN, V. **Proposta de integração das glebas do Parque Estadual de Vassununga (Santa Rita do Passa Quatro, SP)**. 2003. 131 f. Dissertação (Mestrado em Ecologia de Agroecossistemas) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Piracicaba.

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

LACERDA, D. R.; ACEDO, M. D. P.; LEMOS FILHO, J. P.; LOVATO, M. B. Genetic diversity and structure of natural populations of *Plathymenia reticulata* (Mimosoideae), a tropical tree from the Brazilian Cerrado. **Molecular Ecology**, Dordrecht, v. 10, n. 5, p. 1143-1152, 2001.

LACERDA, D. R.; LEMOS FILHO, J. P.; ACEDO, M. D. P.; LOVATO, M. B. Molecular differentiation of two vicariant neotropical tree species, *Plathymenia foliolosa* and *P. reticulata* (Mimosoideae), inferred using RAPD markers. **Plant Systematics and Evolution**, v. 235, p. 67-77, 2002.

LATTA, R. G.; LINHART, Y. B.; FLECK, D.; ELLIOT, M. Direct and indirect estimates of seed versus pollen movement within a population of ponderosa pine. **Evolution**, Washington, v. 52, n. 1, p. 61-67, Feb. 1998.

LEGENDRE, P. Spatial autocorrelation: trouble or new paradigm? **Ecology**, Washington, v. 74, n. 6, p. 1659-1673, Sept. 1993.

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

LIMBERGER, R. P.; SOBRAL, M.; HENRIQUES, A. T. Óleos voláteis de espécies de *myrcia* nativas do rio grande do sul. **Química Nova**, São Paulo, v. 27, n. 6, p. 916-919, 2004.

LINDENMAYER, D. B. Wildlife corridors and the mitigation of logging impacts on fauna in wood-production forests in south-eastern Australia: a review. **Wildlife-Research**, Collingwood, v. 21, n. 3, p. 323-340, July 1994.

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

LOISELLE, B. A.; SORK, V. L.; NASON, J.; GRAHAM, C. Spatial genetic structure of a tropical understory shrub, *Psychotria officinalis* (Rubiaceae). **American Journal of Botany**, Columbus, v. 82, n. 11, p. 1420-1425, Nov. 1995.

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

LOVELESS, M. D.; HAMRICK, J. L. Ecological determinants of genetic structure in plant populations. **Annual Review of Ecology and Systematics**, Palo Alto, v. 15, p. 65-95, 1984.

LOVELESS, M. D.; HAMRICK, J. L.; FOSTER, R. B. Population structure and mating system in *Tachigali versicolor*, a monocarpic neotropical tree. **Heredity**, Essex, v. 81, p. 134-143, 1998.

LOWE, A. J.; BOSHIER, D.; WARD, M.; BACLES, C. F. E.; NAVARRO, C. Genetic resource loss following habitat fragmentation and degradation: reconciling predicted theory with empirical evidence. **Heredity**, v. 95, p. 255-273, 2005.

MARQUARDT, P. E.; EPPERSON, B. K. Spatial and population genetic structure of microsatellites in white pine. **Molecular Ecology**, Oxford, v. 13, n. 11, p. 3305-3315, Nov. 2004.

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

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

- MECH, S. G.; HALLETT, J. G. Evaluating the effectiveness of corridors: a genetic approach. **Conservation Biology**, Malden, v. 15, n. 2, p. 467-474, Apr. 2001.
- MELO JÚNIOR, A. F.; CARVALHO, D.; PÓVOA, J. S. R.; BEAZORTI, E. Estrutura genética de populações naturais de pequiheiro (*Caryocar brasiliense* Camb.). **Scientia Forestalis**, Piracicaba, v. 66, p. 56-65, dez. 2004.
- MILLER, M. P. **Tools for population genetic analysis**. Version 1.3. Flagstaff: Northern Arizona University, 1997.
- MILLS, L. S.; ALLENDORF, F. W. The one-migrant-pergeneration rule in conservation and management. **Conservation Biology**, Essex, v. 10, p. 1509-1518, 1996.
- MORAIS, P. O.; LOMBARDI, J. A. A família Myrtaceae na reserva particular do patrimônio natural da Serra do Caraça, Catas Altas, Minas Gerais, Brasil. **Lundiana**, Belo Horizonte, v. 7, n. 1, p. 3-32, 2006.
- MOURA, E. F. **Divergência genética entre acessos de jaborandi (*Pilocarpus microphyllus*)**. 2003. 75 p. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.
- MOURA, M. C. O. **Distribuição da variabilidade genética em populações naturais de *Eremanthus erythropappus* (DC) MacLeish por isoenzimas e RAPD**. 2005. 165 p. Tese (Doutorado em Ciências Florestais) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.
- MURCIA, C. Edge effects in fragmented forest: implications for conservation. **Tree**, v. 10, n. 2, p. 58-62, 1995.
- MURCIA, C. Forest fragmentation and the pollination of neotropical plants. In: SCHELLAS, J.; GREENBERG, R. (Ed.). **Forest patches in tropical landscapes**. Washington, DC: Island, 1996. p. 19-36.
- MYAMOTO, M.; KURAMOTO, N.; YAMADA, H. Differences in spatial autocorrelation between four sub-populations of *Alnus trabeculosa* Hand. Mazz. (Betulaceae). **Heredity**, Essex, v. 89, n. 4, p. 273-279, Oct. 2002.
- MYSTER, R. W. Vegetation dynamics of a permanent pasture plot in Puerto Rico. **Biotropica**, v. 35, n. 3, p. 422-428, 2003.

NAGAOKA, T.; OGIHARA, Y. Applicability of inter-simple sequence repeat polymorphisms in wheat for use as DNA markers in comparison to RFLP and RAPD markers. **Theoretical and Applied Genetics**, New York, v. 94, p. 597-602, 1997.

NEI, M. Analysis of gene diversity in subdivided populations. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, Washington, v. 70, p. 3321-3323, 1973.

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

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

NEIGEL, J. E. A comparison of alternative strategies for estimating gene flow from genetic markers. **Annual Review Ecology Systematics**, Palo Alto, v. 28, p. 105-128, 1997.

NG, K. K. S.; LEE, S. L.; KOH, C. L. Spatial structure and genetic diversity of two tropical tree species with contrasting breeding systems and different ploidy levels. **Molecular Ecology**, Oxford, v. 13, n. 3, p. 657-669, Mar. 2004.

NOHLGREN, E.; GUSTAFSSON, L. **Vegetation corridors**: a literature review with comments from a Swedish forest perspective. Skog Forsk: Report, 1995. v. 1.

NOSS, R. F. Corridors in real landscape: a reply to Simberloff e Cox. **Conservation Biology**, Oxford, v. 1, p. 159-164, 1987.

NUNES, Y. R. F.; MENDONÇA, A. V. R.; BOTEZELLI, L.; MACHADO, E. L. M.; OLIVEIRA-FILHO, A. T. Variações da fisionomia, diversidade e composição de guildas da comunidade arbórea em um fragmento de floresta semidecidual em Lavras, MG. **Acta Botânica Brasílica**, Porto Alegre, v. 17, n. 2, p. 213-229, 2003.

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

NYBOM, H.; BARTISH, I. Effects of life history traits and sampling strategies on genetic diversity estimates obtained with RAPD markers in plants.

Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics, v. 3/2, p. 93-114, 2000.

OLIVEIRA, A. F. **Estrutura genética de populações naturais de *Copaifera langsdorffii* Desf. a partir de isoenzimas**. 2000. 114 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Florestal) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

OLIVEIRA-FILHO, A. T. **Catálogo das árvores nativas de Minas Gerais: mapeamento e inventário da flora nativa e dos reflorestamentos de Minas Gerais**. Lavras: UFLA, 2006. 423 p.

OLIVEIRA-FILHO, A. T.; FONTES, M. A. L. Patterns of floristic differentiation among Atlantic Forests in southeastern Brazil and the influence of climate. **Biotropica**, v. 32, n. 4b, p. 793-810, 2000.

PATZAK, J. Comparison of RAPD, STS, ISSR and AFLP molecular methods used for assessment of genetic diversity in hop (*Humulus lupulus* L.). **Euphytica**, Wageningen, v. 121, p. 9-18, 2001.

PEAKALL, R.; EBERT, D.; SCOTT, L. J.; MEAGHER, P. F.; OFFORD, C. A. Comparative genetic study confirms exceptionally low genetic variation in the ancient and endangered relictual conifer, *Wollemia nobilis* (Araucariaceae). **Molecular Ecology**, Dordrecht, v. 12, p. 2331-2343, 2003.

RENAU-MORATA, B.; NEBAUER, S. G.; SALES, E.; ALLAINGUILLAUME, J.; CALIGARI, P.; SEGURA, J. Genetic diversity and structure of natural and managed populations of *Cedrus atlantica* (Pinaceae) assessed using random amplified polymorphic DNA). **American Journal of Botany**, Columbus, v. 92, n. 5, p. 875-884, 2005.

RICE, W. R. Analyzing tables of statistical tests. **Evolution**, Washington, v. 43, p. 223-225, 1989.

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

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

ROSDON NETO, R. M.; BOTELHO, S. A.; FONTES, M. A. L.; DAVIDE, A. C.; FARIA, J. M. R. Estrutura e composição florística da comunidade arbustivo-arbórea de uma clareira de origem antrópica, em uma floresta estacional semidecídua montana, lavras-mg, Brasil. **Cerne**, Lavras, v. 6, n. 2, p. 79-94, 2000.

SAIKI, R. K.; SCHARF, S.; FALOONA, F.; MULLIS, K. B.; HORN, G. T.; ERLICH, H. A.; ARNHEIN, N. Enzymatic amplification of beta-globin genomic sequences and restriction site analysis for diagnosis of sickle cell anemia. **Science**, v. 230, p. 1350-1354, 1985.

SANTOS, J. S. M. **Análise da paisagem de um corredor ecológico na Serra da Mantiqueira Janaina Sant` Ana Maia Santos**. 2002. Dissertação (Mestrado em Sensoriamento Remoto) – Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais, São José dos Campos.

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

SEBBENN, A. M. **Distribuição da variação genética de populações de jequitibá-rosa [*Cariniana legalis* (Mart.) O. Ktze] por caracteres quantitativos e isoenzimas**. 2001. 210 p. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba.

SEBBENN, A. M.; ETTORI, L. C. Conservação genética *ex situ* de *Esenbeckia leiocarpa*, *Myracrodruon urundeuva* e *Peltophorum dubium* em teste de progênies misto. **Revista do Instituto Florestal**, São Paulo, v. 13, n. 22, p. 201-211, 2001.

SEBBENN, A. M.; SEOANE, C. E. S.; KAGEYAMA, P. Y.; VENCOVSKY, R. Efeitos do manejo na estrutura genética de populações de caixeta (*Tabebuia cassinoides*). **Scientia Forestalis**, Piracicaba, v. 58, p. 127-143, dez. 2000.

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

- SILVA, A. C. da; BERG, E. van den; RIBEIRO, A. P.; HIGUCHI, P.; CARVALHO, L. M. T. de; LIMA, A.; ACERBI JUNIOR, F. W. Influência da estrutura da paisagem sobre a diversidade de fragmentos de floresta aluvial no Sul de Minas Gerais. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE SENSORIAMENTO REMOTO, 2007, Florianópolis. **Anais...** Florianópolis: INPE, 2007. p. 1855-1862.
- SILVA, C. V.; CAMARGO, D. A.; BARBEDO, C. J. Fracionamento e germinação de sementes de eugenia. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 27, n. 1, p. 86-92, 2005.
- SILVEIRA, S. R.; RUAS, P. M.; RUAS, C. F. Assessment of genetic variability within and among coffee progênies and cultivars using RAPD markers. **Genetics and Molecular Biology**, São Paulo, v. 26, p. 329-336, 2003.
- SIMBERLOFF, D.; COX, J. Consequences and costs of conservation corridors. **Conservation Biology**, Cambridge, v. 1, n. 1, p. 63-71, 1987.
- SIMBERLOFF, D.; FARR, J. A.; COX, J.; MEHLMAN, D. W. Movement corridors: conservation bargains or poor investments? **Conservation Biology**, Cambridge, v. 6, n. 4, p. 493-504, Dec. 1992.
- SLATKIN, M. The average number of sites separating DNA sequences drawn from a subdivided population. **Theoretical Populations Biology**, v. 32, p. 42-49, 1987.
- SLOTTA, T. A. B.; PORTER, D. M. Genetic variation within and between *Iliamna corei* and *I. remota* (Malvaceae): implications for species delimitation. **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 151, p. 345-354, 2006.
- SMITH, J. F.; PHAM, T. V. Genetic diversity of the narrow endemic *Allium aaseae* (Alliaceae). **American Journal of Botany**, Colombus, v. 83, p. 717-726, 1996.
- SMOUSE, P. E.; PEAKALL, R. Spatial autocorrelation analysis of individual multiallele and multilocus genetic structure. **Heredity**, London, v. 82, n. 5, p. 561-573, May 1999.
- SMOUSE, P. E.; SORK, V. L. Measuring pollen flow in forest trees: an exposition of alternative approaches. **Forest Ecology and Management**, Amsterdam, v. 197, n. 1/3, p. 21-38, Aug. 2004.

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

SOUZA, V. C.; LORENZI, H. **Botânica Sistemática**: guia ilustrado para identificação das famílias de angiospermas da flora brasileira, baseado em APG II. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2005.

SOUZA, V. Q.; PEREIRA, A. S.; KOPP, M. M.; COIMBRA, J. L. M.; CARVALHO, F. I. F.; LUZ, V. K.; OLIVEIRA, A. C. Dissimilaridade genética em mutantes de aveia tolerantes e sensíveis a ácidos orgânicos. **Bragantia**, Campinas, v. 64, n. 4, p. 569-575, 2005.

SUN, M. Effects of population size, mating system, and evolutionary origin on genetic diversity in *Spiranthes sinensis* and *S. hongkongensis*. **Conservation Biology**, Cambridge, v. 10, n. 3, p. 785-795, June 1996.

TABARELLI, M.; PERES, C. A. Abiotic and vertebrate seed dispersal in the Brazilian Atlantic Forest: implications for forest regeneration. **Biological Conservation**, Oxford, v. 106, n. 2, p. 165-176, Aug. 2002.

TAREZAN, J. M. D.; SOUZA, R. F.; RUAS, P. M.; RUAS, C. F.; CAMARGO, E. H.; VANZELA, A. L. L. Genetic variability of pre and post-fragmentation cohorts of *Aspidosperma polyneuron* Muell. Arg. (Apocynaceae). **Brazilian Archives of Biology and Technology**, Curitiba, v. 48, n. 2, p. 171-180, Mar. 2005.

TOREZAN-SILINGARDI, H. M. **Ecologia da reprodução de Myrcia rostrata DC e Myrcia tomentosa (Aubl.) DC (Myrtaceae) em Uberlândia, Minas Gerais**. 2002. 87 f. Dissertação (Mestrado em Ecologia) – Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia.

TORGGLER, M. G. F.; CONTEL, E. P. B.; TORGGLER, S. P. **Isoenzimas**: variabilidade genética em plantas. Ribeirão Preto: SBG, 1995. 186 p.

TREUREN, R. van; BIJLSMA, R.; OUBORG, N. J.; DELDEN, W. van. The effects of population size and plant density on outcrossing rates in locally endangered *Salvia pratensis*. **Evolution**, Washington, v. 47, n. 6, p. 1094-1104, Dec. 1993.

TSUMURA, Y.; OHBA, K.; STRAUSS, S. H. Diversity and inheritance of inter-simple sequence repeat polymorphisms in Douglas-fir (*Pseudotsuga menziesii*) and sugi (*Cryptomeria japonica*). **Theoretical and Applied Genetics**, New York, v. 92, p. 40-45, 1996.

VASCONCELOS, G. M. P. **Diversidade genética de *Myrciaria floribunda* (West ex Wildenow) Berg (Cambuí) em paisagem fragmentada da serra da Mantiqueira, MG.** 2002. 72 f. Dissertação (Mestrado em Recursos Florestais) – Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Piracicaba.

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

VIANA, V. M.; PINHEIRO, L. A. F. V. Conservação da biodiversidade em fragmentos florestais ESALQ/USP. **Série técnica IPEF**, v. 12, n. 32, p. 25-42, dez. 1998.

VIANA, V. M.; TABANEZ, A. J. A. Biology and conservation of forest fragments in Brazilian Atlantic moist forest. In: SHELLAS, J.; GREENBERG, R. (Ed.). **Forest patches in tropical landscapes**. Washington, DC: Island, 1996. p. 151-167.

VIEIRA, F. de A. **Diversidade e estrutura genética de *Protium spruceanum* (Benth.) Engler em remanescentes e corredores de vegetação na região do Alto Rio Grande-MG.** 2005. 100 p. Dissertação (Mestrado Ciências Florestais) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

VIEIRA, F. de A.; CARVALHO, D. Genetic structure of an insect-pollinated and bird-dispersed tropical tree in vegetation fragments and corridors: implications for conservation. **Biodiversity and Conservation**, 2008. No prelo.

VIJAYAN, K.; SRIVASTAVA, P. P.; AWASTHI, A. K. Analysis of phylogenetic relationship among five mulberry (*Morus*) species using molecular markers. **Genome**, Ottawa, v. 47, p. 439-448, 2004.

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

WARD, M.; DICK, C. W.; GRIBEL, R.; LEMES, M.; CARON, H.; LOWE, A. J. To self, or not to selfy: a review of outcrossing and pollen-mediated gene flow in neotropical trees. **Heredity**, London, v. 95, n. 4, p. 246-254, Oct. 2005.

WHITE, G. M.; BOSHIER, D. H.; POWELL, W. Genetic variation within a fragmented population of *Swietenia humilis* Zucc. **Molecular Ecology**, Oxford, v. 8, n. 11, p. 1899-1909, Nov. 1999.

WHITE, G. M.; BOSHIER, D. H.; POWELL, W. Increased pollen flow counteracts fragmentation in a tropical dry forest: an example from *Swietenia humilis* Zuccarini. **Proceedings of the National Academy Science of the United State of America**, Washington, v. 99, n. 4, p. 2038-2042, Feb. 2002.

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

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

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

WOODS, K.; HILU, K. W.; WIERSEMA, J. H.; BORSCH, T. Pattern of variation and systematics of *Nymphaea odorata*: I. evidence from morphology and inter-simple sequence repeats (ISSRs). **Systematic Botany**, v. 30, p. 471-480, 2005.

WRIGHT, S. Evolution in Mendelian populations. **Genetics**, Baltimore, v. 16, p. 97-159, 1931.

WRIGHT, S. The genetical structure of population. **Annals of Eugenic**, New York, v. 15, p. 395-420, 1951.

WRIGTH, S. The interpretation of population structure by F-statistic with special regard to systems of mating. **Evolution**, Washington, v. 19, p. 395-420, 1965.

XIA, T.; CHEN, S.; CHEN, S.; ZHANG, D.; ZHANG, D.; GAO, Q.; GE, X. ISSR analysis of genetic diversity of the Qinghai-Tibet Plateau endemic *Rhodiola chrysanthemifolia* (Crassulaceae). **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 35, p. 209-214, 2007.

XIAO, M.; LI, Q.; WANG, L.; GUO, L.; LI, J.; TANG, L.; CHEN, F. ISSR analysis of the genetic diversity of the endangered species *Sinopodophyllum hexandrum* (Royle) ying from Western Sichuan Province, China. **Journal of Integrative Plant Biology**, v. 48, n. 10, p. 1140-1146, 2006.

YEEH, Y.; KANG, S. S.; CHUNG, M. G. Evaluation of the natural monument populations of *Camellia japonica* (Thearaceae) in Korea based on allozyme studies. **Botanical Bulletin of Academia Sinica**, Shanghai, v. 37, n. 1, p. 141-146, 1996.

YEH, F. C.; CHONG, D. K. X.; YANG, R. C. RAPD variation within and among natural populations of trembling aspen (*Populus tremuloides* Michx.) from Alberta. **Journal Heredity**, London, v. 86, p. 45-46, 1995.

YEH, F. C.; YANG, R. C.; BOYLE, T. B. J.; YE, Z. H.; MAO, J. X. **POPGENE, the user-friendly shareware for population genetic analysis molecular biology and biotechnology centre**. Edmonton: University of Alberta, 1997. Available at: <<http://www.ualberta.ca/~fyeh/>>. Access at: 10 Feb. 2006.

YOUNG, A.; BOYLE, T. Forest fragmentation. In: YOUNG, A.; BOYLE, T.; BOSHIER, D. (Ed.). **Forest conservation genetics**. Melbourne: CISRO, 2000. p. 123-132.

YOUNG, A.; BOYLE, T.; BROWN, T. The population genetic consequences of habitat fragmentation for plants. **Trends Ecology Evolutionary**, Oxford, v. 11, n. 10, p. 413-418, Oct. 1996.

YOUNG, A. G.; CLARKE, G. M. **Genetics, demography and viability of fragmented populations**. Cambridge: Cambridge University, 2000.

YOUNG, A. G.; MERRIAN, H. G.; WARWICK, S. I. The effects of forest fragmentation on genetic variation in *Acer saccharum* Marsh. (sugar maple) populations. **Heredity**, London, v. 71, n. 4, p. 277-289, 1993.

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

ZUCCHI, M. I. **Análise da estrutura genética de *Eugenia dysenterica* DC utilizando marcadores RAPD e SSR**. 2000. 130 f. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Piracicaba.