**Universidade de São Paulo
Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”**

**Diversidade genética, estrutura genética espacial,
sistema de reprodução e fluxo gênico em uma população de
Copaifera langsdorffii Desf. no cerrado**

Roberto Tarazi

**Tese apresentada para obtenção do título de Doutor em
Agronomia. Área de concentração: Genética e
Melhoramento de Plantas**

**Piracicaba
2009**

Roberto Tarazi
Bacharel em Ciências Biológicas

**Diversidade genética, estrutura genética espacial,
sistema de reprodução e fluxo gênico em uma população de
Copaifera langsdorffii Desf. no cerrado**

Orientador:
Prof. Dr.: **ROLAND VENCOVSKY**

Tese apresentada para obtenção do título de Doutor em
Agronomia. Área de concentração: Genética e
Melhoramento de Plantas

**Piracicaba
2009**

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
DIVISÃO DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - ESALQ/USP**

Tarazi, Roberto

Diversidade genética, estrutura genética espacial, sistema de reprodução e fluxo gênico em uma população de *Copaifera langsdorffii* Desf. no cerrado / Roberto Tarazi. - - Piracicaba, 2009.
139 p. : il.

Tese (Doutorado) - - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", 2009.
Bibliografia.

1. Árvores florestais 2. Conservação biológica 3. Genética de populações
Leguminosae 5. Marcador molecular I. Título

CDD 634.97323
T178d

"Permitida a cópia total ou parcial deste documento, desde que citada a fonte – O autor"

*Dedico à todos que me acompanharam nesta jornada,
à todos que se mantiveram presentes,
aos meus pais, irmãos e sogros,
em especial, à minha esposa Monita Fiori de Abreu Tarazi*

AGRADECIMENTOS

Ao orientador e amigo, Prof. Dr. Roland Vencovsky pelo exemplo de vida; pelos ensinamentos acadêmicos, profissionais e pessoais; pelas aulas magnas de genética de populações e melhoramento genético a cada questionamento meu; pela humildade em responder “não sei, vou estudar”; por ter formado um grande grupo de pesquisadores e professores que, por coincidência, me orientaram, me incentivaram e me possibilitaram cumprir as minhas metas acadêmicas e pessoais, à exemplo do Prof. Dr. Paulo Yoshio Kageyama, Prof. Dr. Alexandre Magno Sebbenn e Prof. Dr. Maurício Sedrez dos Reis.

Ao Prof. Dr. Paulo Yoshio Kageyama pela orientação e grande amizade; por ter me trazido à ESALQ; por abrir as portas do LARGEA; por abrir a minha mente para a conservação da biodiversidade; por me mostrar a necessidade de políticas públicas; por compartilhar sua experiência de vida na FAO, no MMA e na CTNBio; por incentivar sempre o meu crescimento pessoal e profissional, mas principalmente por ter acreditado em mim desde o início.

Ao Prof. Dr. Alexandre Magno Sebbenn pela orientação e grande amizade; pelos ensinamentos que foram muito além da academia; por sempre me receber bem na sua casa; pela paciência em me ensinar e me fazer construir um senso crítico; pela ajuda e incorporação das análises e no estado da arte desta tese e pelo apoio incondicional.

À minha esposa, Monita Fiori de Abreu Tarazi, pelas inúmeras correções de grafia; pelas discussões desta tese; por acompanhar todos os meus passos durante meu doutoramento; por orientar minhas decisões; por me amparar quando eu necessitava; pelo maravilhoso brilho nos seus olhos quando voltava das coletas em campo; por ser minha companheira amada.

À técnica e amiga, Msc. Maria Andréia Moreno pelo auxílio em todas as etapas laboratoriais; pela simbiose durante a elaboração de sua dissertação e da minha tese; por ser literalmente meu braço direito no laboratório; pelo seu perfeccionismo e habilidade na elaboração dos géis, que transformaram minha jornada num caminho agradável.

À equipe do laboratório LARGEA do Dep. de Ciências Florestais, que me acompanhou diretamente ou indiretamente, seja pela amizade, ajuda ou espírito de equipe – Elza, Bruna, Andréia, Gabriela, Guilherme, Pedro, Daniela Talora, Maria Carolina, Renata, João, Lia, Sybelle, Moira, Lais, Giulia, Rebeca, Flávio e Paulo.

Aos meus companheiros de campo Francisco Carlos Antonioli “Chico” e Edivaldo Furlan pela eficiência, determinação e momentos sempre divertidos.

Ao meu amigo Marcelo Molinari pelas análises no programa R que abrilhantaram minha tese.

Ao Prof. Dr. Ricardo Ribeiro Rodrigues e Prof. Dr. João Luis Ferreira Batista do projeto BIOTA/FAPESP (Projeto: ‘Diversidade, dinâmica e conservação em florestas do Estado de São Paulo: 40 ha de parcelas permanentes’) por disponibilizarem os dados de *Copaifera langsdorffii* para compor este trabalho.

Ao Instituto Florestal do Estado de São Paulo pela licença de coleta na área da Estação Ecológica de Assis (Proc. 44.184/2006); pela estrutura de alojamento e acompanhamento técnico durante a visita da área. Em especial a Dr. Giselda Durigan pelos ensinamentos relativos ao cerrado.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq – pela concessão inicial da bolsa de doutorado (Proc. 140990/2006-2).

À Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de São Paulo – FAPESP – pela bolsa de doutorado e financiamento do projeto (Proc. 2006/04490-9).

Aos revisores anônimos da FAPESP por acreditarem e acompanharem o projeto.

"Se vi mais longe foi por estar de pé sobre ombros de gigantes."

Issac Newton (1676)

SUMÁRIO

RESUMO	9
ABSTRACT	11
LISTA DE FIGURAS	13
LISTA DE TABELAS	15
1 INTRODUÇÃO.....	17
1.1 Objetivos.....	18
1.2 Hipóteses	19
2 DESENVOLVIMENTO.....	21
2.1 Revisão bibliográfica.....	21
2.1.1 <i>Copaifera langsdorffii</i>	21
2.1.2 O cerrado	24
2.1.3 Conseqüências ecológicas e genéticas da fragmentação florestal	27
2.1.4 Diversidade genética.....	29
2.1.5 Estrutura genética	33
2.1.6 Sistema de reprodução.....	36
2.1.7 Fluxo gênico em espécies arbóreas tropicais.....	40
2.2 Material e métodos	43
2.2.1 Estação Ecológica de Assis	43
2.2.2 População amostrada na EEA.....	45
2.2.3 Análise de marcadores microsatélites	48
2.3 Análises dos dados	51
2.3.1. Análise da distribuição espacial	51
2.3.2 Análise da herança, ligação e de desequilíbrio de ligação dos locos.	52
2.3.3 Análise da diversidade genética e índice de fixação	53
2.3.4 Análise de gargalo genético.....	54
2.3.5 Análise de estrutura genética espacial	54
2.3.6 Correções do índice de fixação para o efeito Wahlund	55
2.3.7 Estimativa do tamanho efetivo populacional e área mínima viável para conservação	55
2.3.8 Análise do sistema de reprodução	56

2.3.9 Análise de paternidade	57
2.3.9.1 Análise da distância de dispersão de pólen	57
2.3.9.2 Análise da distância de dispersão de sementes.....	58
2.3.10 Análise TWOGENER da heterogeneidade de pólen	58
2.3.11 Estimativa do número mínimo de matrizes para coleta de sementes	59
2.4 Resultados.....	61
2.4.1 Distribuição espacial.....	61
2.4.2 Herança, ligação e de desequilíbrio de ligação dos locos.....	62
2.4.3 Diversidade genética e índice de fixação	65
2.4.4 Gargalos genéticos populacionais	67
2.4.5 Estrutura genética espacial	68
2.4.6 Correções do índice de fixação para o efeito Wahlund	69
2.4.7 Tamanho efetivo populacional e área mínima viável para conservação	69
2.4.8 Sistema de reprodução.....	71
2.4.9 Análise de paternidade	72
2.4.9.1 Distância de dispersão de pólen	73
2.4.9.2 Associação entre distância espacial dos genitores, coancestria e DAP em relação ao número de descendentes gerados.....	75
2.4.9.3 Distância de dispersão de sementes.....	75
2.4.10 Heterogeneidade do pólen	76
2.4.11 Estimativa do número mínimo de matrizes para coleta de sementes	77
2.5 Discussão	79
2.5.1 Distribuição espacial, estrutura genética espacial intrapopulacional e dispersão realizada de sementes	79
2.5.2 Diversidade genética e endogamia	84
2.5.3 Sistema de reprodução.....	86
2.5.4 Padrões e distância de dispersão de pólen	89
2.5.5 Implicações para conservação	89
3. CONCLUSÕES	93
REFERÊNCIAS	95
ANEXOS	113

RESUMO

Diversidade genética, estrutura genética espacial, sistema de reprodução e fluxo gênico em uma população de *Copaifera langsdorffii* Desf. no cerrado

Visando contribuir para estratégias efetivas de conservação e manejo de espécies arbóreas do cerrado, cuja paisagem encontra-se altamente fragmentada, este trabalho objetivou estudar, por meio de oito locos microsatélites nucleares, a diversidade genética, a estrutura genética espacial intrapopulacional, o sistema de reprodução e o fluxo gênico em uma população de *Copaifera langsdorffii* Desf localizada na Estação Ecológica de Assis (EEA), oeste do Estado São Paulo. *Copaifera langsdorffii* é hermafrodita, polinizada por insetos e dispersa por barocoria e ornitocoria, com potencial econômico e de utilização na restauração florestal, além de apresentar ampla distribuição no cerrado. Neste estudo, o seguinte desenho amostral foi adotado: em uma parcela de 10,24 ha, estabelecida no interior da EEA foram mapeadas, amostradas e genotipadas todas as 57 árvores adultas. Para estudar a dispersão realizada de sementes, no centro da parcela foi estabelecida uma subparcela de 1,44 ha, onde todos os 147 jovens existentes também foram mapeados, amostrados e genotipados. Para comparar a diversidade genética, a endogamia e o sistema de reprodução entre árvores da parcela com árvores da borda do fragmento foram coletadas sementes de polinização aberta de 17 matrizes na parcela (340 sementes) e de 11 matrizes na borda (220 sementes). Os resultados mostraram que os adultos da parcela tinham maior heterozigosidade e menor endogamia do que a observada nos jovens e nas sementes, sugerindo mecanismos seletivos que favorecem indivíduos heterozigóticos. A população de jovens apresentou fraca estrutura genética espacial, porém significativa até 102 m de distância, indicando uma dispersão moderada de sementes, gerada provavelmente por ornitocoria. Em concordância, a análise de maternidade nos jovens mostrou alta frequência de dispersão acima de 100 m e um padrão tendendo à normalidade, sugerindo o fenômeno de escape previsto na hipótese Janzen-Connell. Também foi detectada uma alta taxa de imigração de sementes (15%) e pólen (64%) na parcela, sugerindo intenso movimento de genes na população. Por outro lado, o pólen foi disperso em alta frequência em distâncias relativamente curtas (~65% até 150 m), embora tenha também atingido longas distâncias dentro da parcela (300 m). De acordo com a estimativa da taxa de cruzamento, a população apresentou um sistema misto de reprodução, com predominância de cruzamentos. Comparando-se matrizes da parcela com as da borda foi observada maior taxa de autofecundação e heterogeneidade no conjunto de pólen naquelas localizadas na borda, evidenciando um nítido efeito de borda no cerradão. A estimativa do tamanho efetivo dos adultos na parcela sugere que EEA tem área mínima viável para a conservação *in situ* da respectiva população. Contudo, é fundamental que a conectividade genética (fluxo gênico) entre esse fragmento e outros no entorno, seja mantida para a manutenção do potencial evolutivo da espécie no longo prazo. Visando a coleta de sementes na EEA para estratégias de conservação *ex situ* e restauração florestal, os resultados indicam que a coleta deve ser realizada preferencialmente no interior do fragmento, em matrizes distantes pelo menos 300 m entre si e em, no mínimo, 19 matrizes para reter um tamanho efetivo de aproximadamente 50.

Palavras-chave: Copaíba; Conservação; Microsatélites; Análise de paternidade

ABSTRACT

Genetic diversity, spatial genetic structure, mating system and gene flow in a population of *Copaifera langsdorffii* Desf. in the savanna

Aiming to contribute to effective strategies for conservation and management of Savanna “cerrado” tree species, whose landscape is highly fragmented, this study investigated, through eight microsatellite nuclear loci, the genetic diversity, the intrapopulation spatial genetic structure, the mating system and gene flow in a population of *Copaifera langsdorffii* Desf located in the Ecological Station of Assis (ESA), west of São Paulo State. *Copaifera langsdorffii* is hermaphroditic, pollinated by insects and its seed dispersal is carried out by gravity and birds; it has economic potential and forest restoration use, while it has a wide distribution in the cerrado. In this study, the following sampling design was adopted: in a plot of 10.24 ha, established within the ESA all 57 adult trees were mapped, sampled and genotyped. To study seed dispersal in the center of the plot a subplot of 1.44 ha was established, where all 147 young trees also were mapped, sampled and genotyped. To compare the genetic diversity, inbreeding and the mating system of trees from the plot and the edge of the remnant, open-pollinated seed arrays were collected from 17 seed-trees in the plot (340 seeds) and 11 seed-trees at the edge (220 seeds). The results showed that adults had a higher proportion of heterozygosity and lower inbreeding levels than that observed in young trees and seeds, suggesting that selective mechanisms are favoring heterozygous individuals. The population of young trees revealed a weak, but significant spatial genetic structure up to 102 m of distance, indicating a moderate seed dispersal, probably due to bird dispersal. In agreement, the analysis of maternity in the young trees showed a high frequency dispersion over 100 m with a pattern tending to normality, suggesting the escape phenomenon according to Janzen-Connell hypothesis. A high rate of immigration of seeds (15%) and pollen (64%) in the plot was also detected, suggesting intense movement of genes in the population. Furthermore, the pollen was dispersed with high frequency at relatively short distances ($\approx 65\%$ up to 150 m), but it also achieved long distances within the plot (300 m). According to the estimate of the outcrossing rate, the population had a mixed mating system, with predominance of outcrosses. In the comparison of seed-trees from the plot with the ones on the edge, higher rate of selfing and pollen heterogeneity were detected on the edge, showing a clear edge effect on the dry forest “cerradão”. Estimates of the effective size of adults in the plot suggests that ESA has a minimum viable area for *in situ* conservation. However, the maintenance of genetic connectivity (gene flow) between this fragment and others in the neighborhood, is essential to assure the evolutionary potential of this species in the long-term. Aiming seed collection in the EEA for *ex situ* conservation and forest restoration strategies, the results indicate that the collection should be done preferably within the fragment, in seed-trees at least 300 m distant from each other and from at least 19 seed-trees to retain an effective size of about 50.

Keywords: Copaiva; Conservation; Microsatellite; Paternity analysis

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Ocorrência natural de <i>Copaifera langsdorffii</i> no Brasil (em cinza).....	21
Figura 2 – <i>Copaifera langsdorffii</i> a) plântulas; b) árvore adulta; c) flores; d) fruto	23
Figura 3 – Abrangência do cerrado brasileiro	24
Figura 4 – Gradiente fisionômico de cerrado e fatores condicionantes	26
Figura 5 – Mapa da localização geográfica do município de Assis, SP	44
Figura 6 – Área da Estação Ecológica de Assis (verde), Assis, SP.....	44
Figura 7 – Evolução fisionômica do cerrado na Estação Ecológica de Assis, Assis, SP	45
Figura 8 – Representação gráfica da localização de todos os indivíduos de <i>C. langsdorffii</i> com DAP ≥ 5 cm em uma parcela de 10,24 ha (320 x 320 m) localizada no cerrado da Estação Ecológica de Assis, Assis, SP	46
Figura 9 – Distribuição diamétrica de todos os indivíduos de <i>C. langsdorffii</i> com DAP ≥ 5 cm em uma parcela de 10,24 ha (320 x 320 m) localizada no cerrado da Estação Ecológica de Assis, SP	46
Figura 10 – Representação gráfica da parcela de 10,24 ha (320 x 320 m) com uma subparcela 1,44 ha (120 x 120 m) localizada no cerrado da Estação Ecológica de Assis, Assis, SP	47
Figura 11 – Localização das matrizes dentro da parcela de 10,24ha ($\circ$) e na borda (Δ) no cerrado da Estação Ecológica de Assis, Assis, SP	48
Figura 12 – Distribuição espacial de indivíduos adultos ($\square$) em 10,24 ha e jovens ($\circ$) em 1,44 ha de <i>C. langsdorffii</i> , em uma parcela permanente no cerrado da Estação Ecológica de Assis, Assis, SP	61
Figura 13 – Análise da estrutura genética espacial em indivíduos adultos (a) e jovens (b) em uma população natural de <i>C. langsdorffii</i> do cerrado, na Estação Ecológica de Assis, Assis, SP, ano base 2007	69
Figura 14 – Frequência de $\hat{\theta}_{xy}$ entre pares de indivíduos adultos (a) e jovens (b) de <i>C. langsdorffii</i> do cerrado, na Estação Ecológica de Assis, Assis, SP, ano base 2007 ...	70

- Figura 15 – Frequência da dispersão contemporânea de pólen (■) e doadores de pólen (□) dentro de uma parcela de 10,24 ha na Estação Ecológica de Assis, Assis, SP, ano base 200774
- Figura 16 – Frequência da dispersão realizada de pólen dentro de uma parcela de 10,24 ha na Estação Ecológica de Assis, Assis, SP, ano base 200774
- Figura 17 – Frequência da dispersão realizada de sementes dentro de uma parcela de 10,24 ha na Estação Ecológica de Assis, Assis, SP, considerando quatro modelos: AUTO (branco); BAG (cinza claro); BDG (cinza escuro); JCDG (preto), ano base 2007.....76
- Figura 18 – Distribuição de sementes por área, segundo a hipótese de escape de Janzen-Connell; curva de recrutamento (CR), dispersão de sementes (DS) e probabilidade de sobrevivência (PS). Fonte: Adaptado de Janzen (1970).....80

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Locos de microssatélites de <i>C. langsdorffii</i> com a respectiva temperatura de anelamento (T_a) e sequência de nucleotídeos.....	50
Tabela 2 – Análise de distribuição espacial de indivíduos adultos e jovens de <i>C. langsdorffii</i> , numa parcela permanente no cerrado da Estação Ecológica de Assis, Assis, SP	61
Tabela 3 – Resumo da análise da herança de cada loco SSR de <i>C. langsdorffii</i> utilizando o método descrito por Gillet e Hattemer (1989)	62
Tabela 4 – Resumo da análise da herança de cada loco SSR de <i>C. langsdorffii</i> utilizando o método de agrupamento descrito por Gillet e Hattemer (1989).....	62
Tabela 5 – Resumo do teste de independência para oito locos SSR de <i>C. langsdorffii</i> para uma população da Estação Ecológica de Assis, Assis, SP.....	63
Tabela 6 – Teste de desequilíbrio de ligação para oito locos SSR de <i>C. langsdorffii</i> em uma população da Estação Ecológica de Assis, Assis, SP.....	64
Tabela 7 – Diversidade genética e índice de fixação de árvores adultas, jovens e progênes de <i>C. langsdorffii</i> na Estação Ecológica de Assis, Assis, SP	66
Tabela 8 – Análise de reduções recentes no tamanho efetivo populacional para indivíduos adultos de <i>C. langsdorffii</i> , na Estação Ecológica de Assis, Assis, SP	68
Tabela 9 – Análise de reduções recentes no tamanho efetivo populacional para indivíduos jovens de <i>C. langsdorffii</i> do cerrado, na Estação Ecológica de Assis, Assis, SP.....	68
Tabela 10 – Estimativa do tamanho efetivo populacional e da área mínima viável para uma população natural de <i>C. langsdorffii</i> do cerrado, na Estação Ecológica de Assis, Assis, SP.....	70
Tabela 11 – Estimativas do sistema reprodutivo de <i>C. langsdorffii</i> a partir de oito locos SSR, para progênes da parcela de 10,24 ha e da borda da Estação Ecológica de Assis, Assis, SP.....	72
Tabela 12 – Estimativa da dispersão efetiva de sementes considerando quatro modelos para uma população natural de <i>C. langsdorffii</i> do cerrado na Estação Ecológica de Assis, Assis, SP	75

Tabela 13 – Estimativa da divergência global do reservatório gênico do pólen entre árvores matrizes de <i>C. langsdorffii</i> dentro da parcela e entre árvores matrizes da borda do, na Estação Ecológica de Assis, Assis, SP	76
Tabela 14 – Estimativa do número mínimo de matrizes para coleta de sementes para <i>C. langsdorffii</i> do cerrado, na Estação Ecológica de Assis, Assis, SP	77
Tabela 15 – Estimativa da divergência global do reservatório gênico do pólen entre árvores matrizes de <i>C. langsdorffii</i> dentro da parcela e entre árvores matrizes da borda do, na Estação Ecológica de Assis, Assis, SP	78

1 INTRODUÇÃO

O cerrado é o segundo maior bioma brasileiro, localizado em uma grande área do Brasil central. Por fazer fronteira com outros importantes biomas, a fauna e flora do cerrado são extremamente ricas e endêmicas (KLINK; MACHADO, 2005). Apesar da sua grande extensão e importância biológica e cultural, o cerrado é um dos biomas mais ameaçados do mundo e corre o risco de desaparecer até 2030 (CONSERVATION INTERNATIONAL BRASIL, 2004). Dos 204 milhões de hectares originais, 39% já foram completamente destruídos e apenas 3,18% dos remanescentes estão protegidos e distribuídos entre 48 unidades de conservação federais, estaduais e municipais (MMA, 2006). No Estado de São Paulo a situação é ainda mais alarmante, pois o cerrado cobria 14% do território e hoje restam menos de 260.000 hectares ou 0,74%, distribuídos em pequenos fragmentos (KRONKA et al., 2005).

As consequências imediatas do processo de fragmentação florestal são demográficas e incluem a perda de habitat, a formação de manchas remanescentes com variadas formas e tamanhos, uma redução no tamanho das populações e um aumento no grau de isolamento dos remanescentes imersos em uma matriz antropogênica (RIBEIRO et al., 2009; VIEIRA et al., 2009). Outras consequências da fragmentação estão relacionadas com redução da diversidade genética, devido à redução do fluxo gênico, seleção, deriva e ao aumento da endogamia (TARAZI; MANTOVANI; REIS, 2009; YOUNG; BOYLE; BROWN, 1996). Em populações de polinização cruzada, a endogamia pode acarretar no aumento de alelos deletérios recessivos e, por consequência, tem-se a diminuição da fecundidade, aumento da mortalidade de sementes e plântulas, redução da taxa de crescimento dos indivíduos, eventualmente conduzindo as populações à extinção (REED, 2005; YOUNG; BOYLE; BROWN, 1996).

Nas últimas décadas houve um crescente interesse em avaliar as consequências genéticas da fragmentação de habitats em espécies vegetais (BITTENCOURT; SEBBENN, 2008; GAIOTTO et al., 2003; TARAZI; MANTOVANI; REIS, 2009; YOUNG; BOYLE; BROWN, 1996). Essa preocupação tem levantado questões sobre a redução da diversidade genética e conseqüentemente sobre a redução da adaptabilidade de populações, estratégias de conservação e manejo de espécies, as quais demandam informações sobre a variabilidade genética de populações naturais (BITTENCOURT; SEBBENN, 2008; KAGEYAMA et al., 2003; KRAMER et al., 2008; TARAZI; MANTOVANI; REIS, 2009). O elemento chave para prever os efeitos gerados pela fragmentação na estrutura genética das populações é o conhecimento do nível de

fluxo gênico dentro e entre populações (BITTENCOURT; SEBBENN, 2008). Ou seja, com dados sobre a estrutura genética e fluxo gênico são favorecidas as decisões sobre os meios efetivos para a preservação e o uso sustentável do cerrado e de outros biomas.

Nesse contexto, torna-se imprescindível gerar informações relacionadas com a variabilidade genética dos poucos núcleos restantes do cerrado, principalmente no Estado de São Paulo. Para isso, a escolha de espécies prioritárias para a conservação, o conhecimento da biologia nas espécies, da dinâmica e estrutura de suas populações são fatores importantes que visam a promoção de uma conservação genética efetiva, proporcionando à espécie e ao ecossistema a expressão de seu potencial evolutivo (KAGEYAMA et al., 2003; KAGEYAMA, GANDARA; OLIVEIRA, 2008). Assim, o presente trabalho visou conhecer a diversidade genética, a estrutura genética, o sistema de reprodução e o fluxo gênico de *Copaifera langsdorffii* Desf. (Caesalpinioideae, Leguminosae), espécie arbórea hermafrodita, nativa e comum do cerrado, para o estabelecimento de um programa eficiente de conservação. No intuito de investigar os fatores que interferem na diversidade e estrutura genética da espécie foi realizada a avaliação de uma população *in situ* na Estação Ecológica de Assis, Assis, SP, utilizando oito locos microssatélites nucleares (SSR) específicos para a espécie.

1.1 Objetivos

Os objetivos deste estudo foram estimar com auxílio de marcadores SSR a diversidade genética, a estrutura genética espacial intrapopulacional, o sistema de reprodução, o fluxo gênico e a área mínima viável para conservação de uma população natural de *C. langsdorffii*, na Estação Ecológica de Assis, Assis, SP. Além disso, visa estabelecer estratégias para projetos de conservação *ex situ* e *in situ* da espécie no cerrado brasileiro. Foram investigadas as seguintes questões:

- i) As árvores adultas apresentam maior diversidade genética e menor endogamia do que os jovens e as sementes de polinização aberta?
- ii) Existe estrutura genética espacial intrapopulacional na geração adulta e nos jovens?
- iii) As taxas de autofecundação, cruzamentos correlacionados e cruzamentos endogâmicos são maiores na borda ou no interior do fragmento?

- iv) A diversidade genética, a endogamia e o tamanho efetivo são maiores em sementes coletadas na borda ou no interior do fragmento?
- v) Qual é a taxa de imigração de sementes e pólen dentro da parcela no interior do fragmento?
- vi) Quais são as distâncias e quais são os padrões de dispersão de sementes e pólen dentro da parcela no interior do fragmento?
- vii) Qual é o número necessário de árvores matrizes para a coleta de sementes visando à conservação, o melhoramento genético, a restauração e o reflorestamento?

1.2 Hipóteses

- a) As árvores adultas ($DAP \geq 25$ cm) de *C. langsdorffii* devem apresentar uma maior diversidade genética e menor endogamia do que os jovens (DAP entre 5 e 10 cm) e as sementes de polinização aberta, como resultado de cruzamentos correlacionados e entre aparentados, além de autofecundações.
- b) A população estudada por apresentar alta densidade populacional e cujo habitat apresenta alta densidade vegetal, deve apresentar uma dispersão de pólen a curta e média distância (≤ 300 m).
- c) A barocoria ocasiona uma dispersão restrita de sementes em *C. langsdorffii* e deve resultar em uma estrutura genética espacial para indivíduos jovens e adultos.
- d) Por apresentar flores hermafroditas, árvores de *C. langsdorffii* devem apresentar variação na sua taxa de cruzamento, dependendo de sua localização no fragmento florestal.
- e) A Estação Ecológica de Assis, Assis, SP, por conter um grande número de indivíduos de *C. langsdorffii* deve apresentar uma área mínima viável para conservação da população.

2 DESENVOLVIMENTO

2.1 Revisão bibliográfica

2.1.1 *Copaifera langsdorffii*

Copaifera langsdorffii Desf. pertence à família Caesalpiniaceae (Caesalpinioideae, Leguminosae) e é popularmente conhecida como copaíba ou pau-óleo (CARVALHO, 2003). O gênero *Copaifera* L. encontra-se distribuído na África Ocidental e, na América Latina, do México à Argentina. Ocorrem 28 espécies de *Copaifera* no continente americano, dessas, dezesseis têm ocorrência exclusiva no Brasil (DWYER, 1951; 1954). *C. langsdorffii* é a espécie de maior ocorrência do gênero no Brasil, abrangendo latitudes de 2°32'S (Maranhão) a 24°50'S (Paraná) com uma ampla variação altitudinal (Figura 1). A *C. langsdorffii* é uma árvore semicaducifólia, longa, de crescimento lento a moderado e com grande plasticidade fenotípica (Figura 2 a, b). Na Floresta Ombrófila Densa, na idade adulta, pode atingir 35 m de altura e 100 cm de diâmetro à altura do peito (DAP), e no Cerrado e na Caatinga, apresenta porte menor, variando de 1,80 a 10 m de altura (CARVALHO, 2003).

Figura 1 – Ocorrência natural de *Copaifera langsdorffii* no Brasil (em cinza)

Árvore hermafrodita com flores bissexuais e hercogâmicas (Figura 2 c), a *C. langsdorffii* apresenta um sistema misto de reprodução com até 8% de autofecundação (OLIVEIRA;

CARVALHO; ROSADO, 2002). A estratégia de florescimento é a cornucópia, padrão que produz uma grande quantidade de flores durante várias semanas, atraindo um amplo espectro de polinizadores. A melitofilia é a principal síndrome de polinização e os visitantes mais freqüentes são *Apis mellifera*, *Scaptotrigona cf. depiles* e *Trigona spinipes* (FREITAS; OLIVEIRA, 2002). Em populações naturais, o processo reprodutivo se inicia entre 20 e 30 anos de idade (DURIGAN *et al.*, 1997), mas em plantios há relatos de florescimento a partir dos cinco anos (CARVALHO, 2003). O florescimento pode ser anual a supra-anual, com intervalos de até quatro anos (CARVALHO, 2003).

Em *C. langsdorffii* a maturação e dispersão dos frutos ocorrem na estação seca, enquanto a germinação e o crescimento das plântulas ocorrem logo em seguida, durante o período chuvoso. Essa estratégia beneficia as plântulas de *C. langsdorffii* devido à umidade e abundância temporária de nutrientes, esta última, ocasionada pela decomposição da serrapilheira acumulada na estação seca (FREITAS; OLIVEIRA, 2002). O fruto é um legume seco, deiscente, com uma única semente de cor preta envolvida por um arilo de cor laranja e rico em lipídeos (Figura 2 d). *C. langsdorffii* produz uma grande quantidade de frutos, porém com baixo teor nutricional e por um curto período, caracterizando-a como uma espécie típica para a síndrome de superabundância (PEDRONI, 1995; PEDRONI; SANCHEZ; SANTOS, 2002).

A semente é dispersa principalmente por aves, mas essa dispersão pode ser ainda realizada por primatas, pela gravidade e pela água (PEDRONI; SANCHEZ; SANTOS, 2002). As principais famílias de aves dispersoras de sementes de *C. langsdorffii* são Corvidae (*Cyanocorax cristatellus*), Mimidae (*Mimus saturninus*), Rhamphastidae (*Ramphastos toco*), Thraupidae (*Thraupis sayaca*, *Dacnis cayana*), Turdidae (*Turdus rufiventris*) e Tyrannidae (*Pitangus sulphuratus*, *Tyrannus melancholicus*), que engolem o arilo e regurgitam a semente (MOTTA-JÚNIOR; LOMBARDI, 1990; PEDRONI, 1995). Entretanto, aves da família Psittacidae (*Pionus maximiliani*) foram consideradas predadoras, pois trituram os cotilédones, inviabilizando o embrião (PEDRONI, 1995).

Primatas como o muriqui (*Brachyteles arachnoides*), o macaco-prego (*Cebus apella*) e o bugio (*Alouatta fusca*) abrem os frutos para retirar o arilo das sementes, que muitas vezes são engolidas e liberadas nas fezes, representando um tipo de dispersão endozoocórica (PEDRONI, 1995; PEDRONI; GALETTI, 1995). Além desses, existem os dispersores secundários como pequenos mamíferos (MOTTA-JÚNIOR; LOMBARDI, 1990) e formigas da tribo Attini (*Atta* e

Acromyrmex) que consomem o arilo de *C. langsdorffii* aumentando em até 40% a viabilidade e germinação das sementes, e sendo capazes de carregá-las por dezenas de metros (LEAL; OLIVEIRA, 1998). Apesar da grande quantidade de dispersores, a maior parte dos frutos de *C. langsdorffii* são dispersos de forma restrita, próximos à copa, distantes até 14 m do tronco com ausência de distribuição leptocúrtica e assimétrica (PEDRONI, 1995).

Figura 2 – *Copaifera langsdorffii* a) plântulas; b) árvore adulta; c) flores; d) fruto

Trabalhos sobre a estrutura genética de *C. langsdorffii* estão restritos aos estados de Goiás, Minas Gerais e São Paulo e independentemente do tipo de marcador genético utilizado, os estudos indicam que a espécie apresenta alta diversidade genética, seja por marcadores alozímicos (OLIVEIRA; CARVALHO; ROSADO, 2002; PINTO; SOUZA; CARVALHO, 2004) ou microssatélites nucleares (CIAMPI; BRONDANI; GRATTAPAGLIA, 2000; MARTINS et al., 2008). Apesar da alta diversidade genética encontrada, da importância ecológica e da utilidade da espécie na produção de madeira serrada ou roliça, óleos essenciais e na restauração florestal; a *C. langsdorffii* está na lista das espécies que correm perigo de extinção no Estado de São Paulo (CARVALHO, 2003).

2.1.2 O cerrado

As savanas recobrem um quinto da superfície terrestre e representam uma comunidade vegetal associadas às zonas tropicais, caracterizada pela codominância de plantas lenhosas e herbáceas que variam na densidade e cobertura (SANKARAN et al., 2005). Considerado o segundo maior bioma brasileiro, o cerrado, como é conhecida a savana no Brasil, ocupa cerca de 2 milhões de km², ou 24% do território nacional (RATTER; BRIDGEWATER; RIBEIRO, 2006).

O cerrado apresenta uma área nuclear distribuída principalmente pelo Planalto Central Brasileiro, nos Estados de Goiás, Tocantins, na região sul de Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, no oeste e norte de Minas Gerais, oeste da Bahia e Distrito Federal, e em áreas consideradas periféricas, que abrangem os Estados do Maranhão, Piauí, Tocantins, São Paulo e Paraná (Figura 3). O cerrado apresenta diversas zonas de tensão ecológica com os demais biomas de terras baixas da América do Sul (Amazônia, Pantanal, Caatinga, Mata Atlântica), resultando em ambientes contrastantes, como as interfaces entre cerrado e caatinga e aquelas entre cerrado e florestas tropicais úmidas (FELFILI; SCARIOT; SILVA, 2005).

Figura 3 – Abrangência do cerrado brasileiro (em cinza). Fonte: World Wildlife Fund - WWF

O clima do cerrado é predominantemente tropical estacional com um regime de chuvas no verão. A precipitação anual varia entre 750 e 2000 mm, com uma média de 1500 mm (BIZERRIL, 2004). As temperaturas médias são de 22°C para a porção Sul e de 27°C para a porção Norte. O cerrado encontra-se sobre um relevo suave, com menos de 300 m, mas apresenta

chapadas com até 2030 m (RIBEIRO; SILVA, 1996). Os solos são bem drenados, profundos e na sua maioria distróficos, ou seja, ácidos, ricos em ferro e alumínio e de baixa fertilidade (KLINK; MACHADO, 2005). Do ponto de vista hidrológico, no cerrado encontram-se três das maiores bacias hidrográficas da América do Sul (Tocantins-Araguaia, São Francisco e Paraná). Por conter zonas de planalto, a região possui diversas nascentes de rios e, conseqüentemente, importantes áreas de recarga hídrica, que contribuem para grande parte das bacias hidrográficas brasileiras. Sendo assim, o cerrado é fundamental para a manutenção do equilíbrio hidrológico do país, contribuindo com 14% do total da produção hídrica superficial brasileira (LIMA; SILVA, 2005).

Considerada uma das 34 regiões prioritárias para o estudo e conservação da biodiversidade no mundo (MITTERMEIER et al., 2005), o cerrado possui a mais rica e endêmica flora dentre as savanas do mundo (KLINK; MACHADO, 2005). A flora vascular nativa catalogada chega a 11.627 espécies, representada principalmente pela família Fabaceae (Faboideae, Mimosoideae, Caesalpinioideae), com 108 gêneros e 1.174 espécies (MENDONÇA et al., 2008). Essa diversidade de flora vascular está distribuída nas diferentes fisionomias do cerrado, desde o campo limpo até o cerradão (OLIVEIRA-FILHO; RATTER, 2002). As formas fisionômicas do cerrado dependem de quatro aspectos: a disponibilidade hídrica, a saturação de alumínio, a acidez e a fertilidade do solo (DURIGAN, 2008; Figura 4). O cerrado *stricto sensu* corresponde à fisionomia “cerrado”, ocupa aproximadamente 70% do bioma, e tem paisagem composta por um estrato herbáceo dominado principalmente por gramíneas e um estrato de árvores e arbustos variando em cobertura de 10% a 60% (EITEN, 1972). O cerrado *lato sensu* agrupa as fisionomias de “campo limpo”, “campo sujo”, “campo cerrado”, “cerrado” e “cerradão” (COUTINHO, 1978). A área núcleo no Brasil central, com predominância da fisionomia “cerrado”, refere-se ao bioma cerrado (RIBEIRO; WALTER, 1998).

Figura 4 – Gradiente fisionômico de cerrado e fatores condicionantes. Fonte: Adaptado de Durigan (2008)

O cerrado apresenta grande potencial como fonte de recursos naturais nos setores madeireiro, de combustíveis, ornamental, forrageiro, alimentício e farmacêutico (ROEL; ARRUDA, 2003). O número catalogado de espécies vegetais do cerrado utilizadas na medicina popular e que apresentam princípios ativos, caracterizados com potencial farmacológicos chega a 561. Concomitante com a riqueza natural, o cerrado abriga uma ampla diversidade cultural e social, cuja história remonta há no mínimo 11 mil anos com os povos caçadores e coletores que se aproveitavam da diversidade de ecossistemas e de espécies, transformando e diversificando a paisagem no que conhecemos como o cerrado atual (DEAN, 2004). Mais do que 84.000 autóctones americanos “índios”, divididos nas diversas tribos, ainda dependem e estão estabelecidos pelo bioma (FUNAI, 2009).

Apesar da diversidade biológica e cultural do cerrado, a Constituição Federal ou Carta Magna brasileira de 1988 pelo artigo 225 § 4º, não considera o cerrado como patrimônio nacional, a exemplo do que foi feito com a Floresta Amazônica, Mata Atlântica, Pantanal, Serra do Mar e Zona Costeira (CONSTITUIÇÃO DA REPÚBLICA FEDERATIVA DO BRASIL, 1988). Nas últimas décadas, o cerrado vem cedendo lugar para extensas monoculturas de soja, algodão, milho, cana-de-açúcar, eucalipto, pinus e para pastagens (DURIGAN, 2008; KLINK; MACHADO, 2005; SILVA; BATES, 2002; SILVA et al., 2006), fazendo com que 26% da área original do cerrado fosse transformada em áreas de pastagem e 10% em áreas de agricultura (SANO et al., 2008). Dessa forma, dos 204 milhões de hectares originais, 39% já foram completamente destruídos, tornando o cerrado uma paisagem fragmentada, composta por ilhas inseridas numa matriz agrícola (MMA, 2006). Atualmente apenas 3,18%, ou 6.233.193,73 ha, do cerrado estão protegidos e distribuídos entre 48 unidades de conservação federais, estaduais e

municipais (MMA, 2006). Pelo menos 20% das espécies endêmicas e ameaçadas permanecem fora dos parques e reservas existentes (MACHADO et al., 2004).

No Estado de São Paulo, o cerrado correspondia a cerca de 3,5 milhões de ha, ou 14% do território (KRONKA et al., 2005). A principal diferença do Estado de São Paulo em relação ao cenário nacional de destruição desse bioma tem sido a expansão dos plantios de cana-de-açúcar que vêm avançando sobre as áreas remanescentes (DURIGAN; FRANCO; SIQUEIRA, 2004; KRONKA et al., 2005). Ainda assim, em São Paulo, o uso mais freqüente da terra no cerrado foi relacionado às pastagens com 78%, seguida pela cana-de-açúcar (26%), rodovias (19%), reflorestamento (14%) e culturas anuais (14%) (DURIGAN; SIQUEIRA; FRANCO, 2007). Hoje, o cerrado do Estado de São Paulo ocorre sob a forma de fragmentos isolados totalizando 270.000 ha, o que corresponde apenas a 0,74% da superfície estadual (KRONKA et al., 2005).

2.1.3 Conseqüências ecológicas e genéticas da fragmentação florestal

Fragmentos florestais são remanescentes de florestas contínuas que foram reduzidas e isoladas espacialmente pela ação antrópica (YOUNG; BOYLE, 2000). A fragmentação florestal altera o tamanho e a conectividade dos remanescentes florestais dentro de uma paisagem, aumentando a área da borda em relação ao interior do fragmento (SMITH-RAMÍREZ et al., 2007). A borda de um fragmento pode ser caracterizada como uma zona marginal que apresenta condições microclimáticas e ecológicas diferentes daquelas encontradas no interior de um fragmento (MATLACK, 1993). Sendo assim, o “efeito de borda” refere-se às mudanças nas condições físicas e biológicas que ocorrem na margem de um ecossistema e dentro de ecossistemas contíguos (KREMSATER; BUNNEL, 1999). As conseqüências diretas do efeito de borda incluem dano estrutural à vegetação, destruição do solo, alteração no ciclo de nutrientes e decomposição, mudanças na evaporação e alteração na dispersão de pólen e sementes. As conseqüências indiretas incluem mudanças nos padrões de crescimento, regeneração, reprodução e mortalidade de plantas (HARPER et al., 2005; LÓPEZ-BARRERA et al., 2007). O efeito de borda usualmente ocorre nas bordas de um fragmento, mas pode ter influência até no interior, dependendo da matriz antropogênica na qual se insere o fragmento (LAURANCE, 2000; SIITONEN; LEHTINEN; SIITONEN, 2005).

Além das conseqüências demográficas e ecológicas geradas pela fragmentação florestal, há conseqüências genéticas que contribuem para o risco de extinção de populações e espécies

(FRANKHAM, 1995; JAQUIÉRY; GUILLAUME; PERRIN, 2008; REED, 2005). A fragmentação produz uma redução imediata no número de alelos que está associada a uma redução no tamanho populacional (CASCANTE et al., 2002; WHITE; BOSHIER; POWELL, 1999). Flutuações populacionais ou populações pequenas resultam em deriva genética, que por sua vez leva à fixação de alelos e, conseqüentemente, à perda de diversidade genética (BARRETT; KOHN, 1991).

Populações de plantas em ambientes fragmentados tendem a apresentar um aumento na taxa de autofecundação e de cruzamentos correlacionados, conseqüentemente elevando a endogamia e a divergência genética interpopulacional (HANSON et al., 2008). A endogamia impacta negativamente plantas que apresentam fecundação cruzada, pois com o aumento da endogamia, aumenta a probabilidade de alelos deletérios estarem em homozigose, contribuindo para a depressão por endogamia (CHEPTOU; SHOEN, 2007). A endogamia também reduz a heterozigosidade e a adaptabilidade das espécies, aumentando a probabilidade de extinção (MATTHIES et al., 2004; REED; FRANKHAM, 2003; REED, 2005).

Pequenos fragmentos, isolados e com acentuado efeito de borda, podem influenciar diretamente ou indiretamente na dispersão de pólen e sementes (AIZEN; FEINSIGER, 1994a, b). Mudanças microclimáticas causadas pela fragmentação, como exposição ao vento, à chuva e ao sol podem afetar diretamente o sistema reprodutivo das plantas, causando danos ou mudanças metabólicas (LOVEJOY et al., 1986). A fragmentação também pode influenciar na visita de polinizadores e reduzir a quantidade de frutos produzidos em comparação com ambientes não fragmentados (JENNERSTEN, 1988; AIZEN; FEINSIGER, 1994a). Plantas isoladas, mas na presença de seus polinizadores, tendem a apresentar um aumento na distância de dispersão de pólen, porém este aumento está atrelado a uma dominância de poucos doadores de pólen, o que leva a futuros gargalos genéticos (HANSON et al., 2008). A matriz antropogênica que cerca os fragmentos tende a reduzir a mobilidade de pólen e sementes pela paisagem (SMITH-RAMÍREZ et al., 2007). Independentemente do mecanismo de dispersão de pólen ou sementes, o isolamento e a impossibilidade de colonização de novas áreas aumentam a estrutura genética espacial intrapopulacional, o que pode acarretar, no futuro, em um aumento na probabilidade de cruzamentos entre indivíduos aparentados (TARAZI; MANTOVANI; REIS, 2009).

2.1.4 Diversidade genética

A diversidade genética assegura às espécies e populações um alto potencial adaptativo para contrapor os efeitos gerados pelas estocasticidades ambientais, como as mudanças climáticas, poluição e doenças (GEBUREK, 2000). O conceito de diversidade genética refere-se ao nível de heterozigosidade observada (H_o) obtida a partir das frequências genotípicas e heterozigosidade esperada (H_e) obtida a partir das frequências alélicas de uma população. O valor de H_e permite mensurar o nível de variação genética em uma população de uma determinada espécie, independentemente do sistema de reprodução (NEI, 1973). Além de H_o e H_e , têm sido empregadas também a percentagem de locos polimórficos (P), o número de alelos por loco (A) e o número efetivo de alelos por loco (A_e) (FRANKHAM; BALLOU; BRISCOE, 2002).

Atuam sobre a diversidade genética, o modo e o sistema de reprodução, a segregação cromossômica e os fatores evolutivos (deriva genética, mutação, migração e seleção natural), em um processo dinâmico espaço-temporal. Para caracterizar a dinâmica e a forma como essa diversidade genética é estruturada, utiliza-se a análise das frequências alélicas e genotípicas sob as pressuposições do Princípio de Hardy-Weinberg (FRANKHAM; BALLOU; BRISCOE, 2002). Segundo esse princípio, em populações grandes (tamanho infinito), de cruzamentos aleatórios (panmítica) e sem sobreposição de gerações, as frequências alélicas e genotípicas irão manter-se constantes de geração em geração quando a mutação, a migração e a seleção natural estiverem ausentes (HARDY, 1908; WEINBERG, 1908). O Equilíbrio de Hardy-Weinberg (EHW) é a manutenção das frequências alélicas e genotípicas indicando a ausência de mutação, migração e seleção natural, em populações grandes e panmíticas (FRANKHAM; BALLOU; BRISCOE, 2002).

A migração e mutação aumentam a diversidade genética das populações e são dois fatores evolutivos que contrapõe os efeitos gerados pela deriva genética e seleção. A migração insere novos alelos em uma população a partir de outros existentes em populações vizinhas. Por outro lado, a mutação insere novos alelos em uma população pelo efeito do acaso durante a replicação do DNA. A taxa de mutação é muito pequena em organismos multicelulares e varia de 10^{-6} a 10^{-4} por geração por loco (YEH, 2000). Além disso, a probabilidade de uma mutação seletivamente neutra sobreviver na primeira geração é de 0,6321 ou $(1 - e^{-1})$. Nas demais gerações, a

probabilidade de uma mutação seletivamente neutra sobreviver é de $e^{-(1-PS_{t-1})}$, em que, PS_{t-1} é a probabilidade de sobrevivência da geração anterior (FISHER, 1930). Desta forma, uma única mutação provavelmente não sobreviva e contribua para a diversidade genética da população, a não ser que a mesma seja seletivamente vantajosa (YEH, 2000).

Para locos seletivamente neutros, o número e a frequência de distribuição de alelos resultam do equilíbrio entre as mutações e a deriva genética. No equilíbrio mutação-deriva, são contabilizados dois parâmetros: 1) a taxa de mutação e 2) o tamanho efetivo populacional. Ao considerar a taxa de mutação, dependendo do marcador genético, faz-se necessária a pressuposição de um modelo de mutação. Entre os três modelos de mutação mais conhecidos estão o modelo de alelos infinitos (MAI), utilizado em marcadores alozímicos, de passos de mutação (MPM) e de duas fases (MDF), ambos utilizados em marcadores satélites de DNA (CORNUET; LUIKART, 1996).

O MAI considera que cada mutação produz um novo alelo, diferente de todos os alelos existentes (KIMURA; CROW, 1964). No MPM, as mutações mudam o estado de um alelo através de deleção ou acréscimo de uma unidade repetitiva de DNA com a mesma probabilidade (OHTA; KIMURA, 1973). Assim, o MPM permite mutação para um estado alélico existente, o que é chamado de homoplasia, e resulta em uma menor quantidade de alelos distintos do que as mutações geradas por MAI. Como MAI e MPM são considerados modelos opostos, o MDF surge como um modelo ponderado do MPM, o qual permite a existência de uma porção de múltiplas deleções ou adições de unidades repetitivas do DNA (DI RIENZO et al., 1994). Através do estudo do equilíbrio mutação-deriva é possível detectar com rigor estatístico se uma população passou por recentes gargalos genéticos causada pela deriva genética (CORNUET; LUIKART, 1996).

Em populações pequenas (tamanho finito) há uma maior probabilidade de oscilação das frequências alélicas, o que é denominado de deriva genética. A deriva genética pode afetar as frequências alélicas de várias formas. Uma delas é através do “efeito fundador ou gargalo genético”, no qual a oscilação da frequência alélica de uma nova população, originada pela subdivisão, depende do tamanho da fração derivada da população original. Outra forma é pelo reduzido tamanho amostral de alelos existentes. O tamanho amostral de alelos pode ser reduzido diante de uma diminuição na quantidade de gametas de genitores afetando a frequência alélica da próxima geração. Além disso, diferenças no sucesso reprodutivo reduzem a probabilidade de

encontro dos gametas existentes na população reduzindo seu tamanho amostral. Independentemente da forma como ocorre a deriva genética, a principal consequência é a redução do tamanho efetivo (YEH, 2000).

O tamanho efetivo populacional (N_e) é o tamanho de uma população idealizada cuja composição genética é influenciada por fatores estocásticos, da mesma maneira que uma população real de tamanho N (WRIGHT, 1931). Em outras palavras, N_e é o tamanho de uma população idealizada que apresenta o mesmo montante de deriva genética na frequência alélica, ou o mesmo decréscimo na heterozigosidade que uma população real. Dessa forma, o parâmetro N_e permite a distinção entre o número amostral e a representatividade genética da amostra (VENCOVSKY; CROSSA, 2003). Existe uma complexa relação entre N_e e N devido a diversos fatores, entre eles estão a oscilação do tamanho populacional, modo e sistema de reprodução, o número de genitores, o desvio da razão sexual de 1:1, as variações no sucesso reprodutivo, sobreposição de gerações, presença de estrutura genética e endogamia (NUNNEY, 1993; VENCOVSKY; CROSSA, 2003).

O conhecimento de N_e é relevante para o desenho e análise de programas de melhoramento, para o entendimento da evolução em populações naturais e para o planejamento de programas de conservação *in situ* e *ex situ* (LANDE; BARROWCLOUGH, 1996). Em programas de conservação *ex situ*, o conhecimento de N_e pode ser utilizado para a coleta de germoplasma, ou na regeneração de acessos, contudo, cada situação obedece a modelos teóricos diferentes que estabelecem o valor limite de N_e . No caso de diversas populações, N_e é influenciado pela subdivisão das populações. Ao lidar com uma população de tamanho finito, como sementes de um acesso ou de uma árvore genitora, o valor limite de N_e é influenciado diretamente pelo tamanho amostral e o sistema de reprodução. Em uma única população de tamanho infinito e sem estrutura familiar, N_e é influenciado pelo índice de fixação ou coeficiente de endogamia (F ou f). Entretanto, em uma população com estrutura familiar este parâmetro é influenciado por f e pelo coeficiente de coancestria (θ) (VENCOVSKY; CROSSA, 2003).

A endogamia (F ou f) é a probabilidade de dois alelos serem idênticos por descendência em um loco de um determinado indivíduo x . A endogamia depende do sistema de reprodução e da coancestria entre os genitores. Por sua vez, a coancestria (θ) é a probabilidade

de dois indivíduos (x e y) apresentarem alelos homólogos idênticos por descendência (LYNCH; WALSH, 1998). Em populações panmíticas, a coancestria equivale à endogamia na descendência ($\theta_{xy} = F$). Em geral, a autocoancestria θ_{xx} equivale à endogamia na descendência após autofecundação. Outra medida relacionada com a endogamia e a coancestria é o parentesco (r_{xy}), que mede a proporção de alelos entre dois indivíduos que são idênticos por descendência. Na ausência de endogamia, o parentesco é duas vezes a coancestria ($r_{xy} = 2\theta_{xy}$) (SEBBENN; SEONE, 2005).

Em populações naturais torna-se difícil ou impossível mensurar o nível de endogamia porque não se conhecem os pedigrees (LANDE; BARROWCLOUGH, 1996), contudo, a endogamia de uma população pode ser inferida pelo índice de fixação (F) de Wright (WRIGHT; 1922; 1931). Ao contrário da endogamia que representa uma probabilidade e varia de 0 a +1, a estatística F , ou índice de fixação, baseia-se em correlações que variam de -1 a +1 (WRIGHT; 1965). Este índice de fixação é uma estatística que mensura desvios das frequências genotípicas em relação ao esperado sob panmixia [$F = (H_e - H_o)/H_e$]. Quando F é usado para medir desvios da panmixia este pode variar entre um mínimo de $[-p_u/(1-p_u)]$ e um máximo de 1,0 (WEIR, 1996). Em que, p é a frequência de um alelo qualquer (u). Desvios da panmixia podem ser provocados por vários fatores, entre eles estão o modo e sistema de reprodução, cruzamentos entre aparentados e as forças evolutivas (FRANKHAM; BALLOU; BRISCOE, 2002).

Para manter estável a endogamia e a deriva genética, faz-se necessária a manutenção de um tamanho efetivo populacional adequado, com isso diminuindo o risco de extinção de populações e espécies (FRANKHAM, 1995; REED, 2005). O tamanho efetivo mínimo de 50 seria suficiente para manter estável a endogamia e a deriva em uma população panmítica por poucas gerações (FRANKEL; SOULÉ, 1981). Mas, para manter a endogamia e deriva estáveis em médio prazo seria necessário um $N_e = 500$ (FRANKEL; SOULÉ, 1981; NUNNEY; CAMPBELL, 1993). À medida que N_e aumenta, a deriva genética torna-se menos significativa como força evolutiva, até que em populações grandes, o equilíbrio da variância genética torna-se estritamente dependente do balanço entre mutação e seleção (LYNCH, 1996).

Apenas a manutenção de um tamanho efetivo adequado não garante a persistência de populações ao longo de várias gerações. Para isso, foi criado o conceito de população mínima

viável (*PMV*), que representa o número mínimo de indivíduos para permanência de uma população ao longo de 40 gerações, associado a uma probabilidade estatística de 0,99. O cálculo de *PMV* associa a probabilidade de extinção de uma população gerada por efeitos demográficos estocásticos e aqueles gerados pela deriva genética. Dessa forma, uma *PMV* equivale no mínimo a cinco vezes o valor de $N_e = 50$ (EWENS et al., 1996; NUNNEY; CAMPBELL, 1993). Para manutenção de uma *PMV* tem-se a necessidade de manter uma área mínima viável (*AMV*), cuja relação baseia-se num tamanho efetivo de referência pela densidade da população (WHITTAKER; FERNÁNDEZ-PALACIOS, 2007).

2.1.5 Estrutura genética

A estrutura genética refere-se à distribuição de alelos e genótipos no tempo e no espaço. A estrutura genética pode manifestar-se entre populações geograficamente distintas, dentro de uma população ou grupo de indivíduos, e entre e dentro de progênies. A estrutura e a diversidade genética são influenciadas por fatores como o modo e sistema de reprodução, a distribuição espacial, as síndromes de polinização e dispersão e as forças evolutivas (LOVELESS; HAMRICK, 1984). Além disso, o desequilíbrio de ligação, ou associações não aleatórias de alelos, em locos independentes pode causar estrutura genética (HEDRICK, 2005).

A distribuição de alelos e genótipos no espaço refere-se a estrutura genética espacial (EGE). A EGE pode ser identificada em macro (interpopulacional) e micro (intrapopulacional) escala. Para a caracterização da EGE em macro escala são geralmente utilizadas as estatísticas propostas por Wright (WRIGHT, 1951; 1965), Nei (NEI, 1973; 1977) e Cockerham (WEIR; COCKERHAM, 1984). Em macro escala, as subdivisões das populações são usualmente causadas pela heterogeneidade espacial, devido principalmente a fragmentação natural e antrópica (FISCHER; LINDENMAYER, 2007). Três modelos descrevem a subdivisão das populações de acordo com o grau de conectividade e estrutura espacial (MAYER; SCHIEGG; PASINELLI, 2009). O primeiro modelo refere-se às populações agregadas (PA), nas quais as subpopulações apresentam alto grau de conectividade com baixo risco de extinção dentro do agregado (HARRISON, 1991). O segundo modelo refere-se às metapopulações (M), ou seja, uma coleção de subpopulações parcialmente isoladas, onde a extinção e a colonização das subpopulações são recorrentes. Nesse modelo, a metapopulação é mais resistente à extinção do que cada subpopulação que a compõe (LEVINS, 1970). O último modelo caracteriza-se pelo

isolamento completo das subpopulações em fragmentos (F), e uma vez que uma subpopulação for extinta, esta não será novamente colonizada (FRANKHAM; BALLOU; BRISCOE, 2002).

Os três modelos permitem previsões quanto aos padrões de fluxo gênico e a distribuição da variação genética dentro e entre subpopulações. O modelo PA prevê um alto nível de dispersão de alelos entre subpopulações e imigração para a população agregada. Dessa forma, espera-se uma baixa divergência genética entre as subpopulações, ausência de EGE e aderência das frequências genotípicas da população às proporções do modelo de EHW (MAYER; SCHIEGG; PASINELLI, 2009). O desequilíbrio de ligação entre locos independentes pode causar subdivisão na população agregada devido à deriva genética (HEDRICK, 2005). Contudo, devido ao alto fluxo gênico entre as subpopulações, o desequilíbrio de ligação deve estar relacionado com o efeito de deriva na população agregada como um todo, e não especificamente nas subpopulações, dessa forma tornando-se um fator desprezível para a existência de EGE do agregado (MAYER; SCHIEGG; PASINELLI, 2009).

No modelo MP, devido a constantes extinções e colonizações, a estrutura genética é afetada pelo efeito fundador das subpopulações colonizadas e pela dispersão restrita de alelos, usualmente entre populações próximas (MAYER; SCHIEGG; PASINELLI, 2009). Assim, espera-se para o modelo MP um baixo fluxo gênico entre subpopulações, alta divergência genética e EGE devido ao isolamento genético gerado pela distância (SLATKIN, 1993). Como a metapopulação é composta por subpopulações geneticamente diferentes, deve haver na metapopulação desvios nas proporções esperadas do modelo de EHW devido ao efeito Wahlund. Além disso, a magnitude da EGE deve aumentar como resultado do aumento no desequilíbrio de ligação gerado pela deriva genética nas subpopulações (HEDRICK, 2005).

Pela inexistência de imigração e dispersão de alelos entre subpopulações no modelo F, esperam-se desvios nas proporções do modelo de EHW, alta divergência genética, efeitos gerados pela deriva genética e altos níveis de desequilíbrio de ligação (MAYER; SCHIEGG; PASINELLI, 2009). A divergência genética entre as populações isoladas não é resultado do efeito do isolamento pela distância, mas sim, em virtude da magnitude de deriva genética dentro das subpopulações, face ao reduzido tamanho populacional (HEDRICK, 2005).

Em relação à EGE em micro escala, ou fina escala, esta pode ser definida como a distribuição espacial de genótipos dentro de uma população. A EGE intrapopulacional pode ser resultado de diferentes processos, como seleção, distúrbios demográficos ou heterogeneidade

ambiental. Mas, a causa mais provável é a formação de estruturas familiares locais ('pedigrees') originadas de um fluxo gênico restrito via semente. Neste contexto, há uma maior similaridade genética entre os indivíduos vizinhos do que entre os indivíduos mais distantes, levando ao modelo de isolamento por distância proposto por Wright (1943) (VEKEMANS; HARDY, 2004). Para detecção da EGE intrapopulacional, usualmente são utilizadas as análises de autocorrelação espacial, utilizando o índice I de Moran, os coeficientes de coancestria (θ_{xy}), os coeficientes de parentesco (r_{xy}), os coeficientes de fraternidade (Δ_{xy}), a distância genética entre indivíduos (α_{xy}) e as estatísticas Sp (HARDY; VEKEMANS, 2002; HARDY et al., 2006; VEKEMANS; HARDY, 2004).

Para um melhor entendimento da existência da EGE intrapopulacional, outras causas necessitam ser citadas, como o número, a densidade, a distribuição e o parentesco de indivíduos genitores, a escala espacial da dispersão de alelos, os mecanismos e comportamentos dos polinizadores e dispersores e o sistema de reprodução das espécies (JONES et al., 2006). Espécies que apresentam dispersão barocórica, diferentemente daquelas com dispersão zoocórica, tendem a uma maior EGE intrapopulacional (HAMRICK; NASON, 1996; HARDY et al., 2006). Contudo, o forrageamento de animais dispersores em poucas plantas e a deposição agregada de sementes pode levar à EGE. A EGE intrapopulacional também aumenta diante da presença de poucos genitores colonizando uma área, pois estes tendem a deixar um maior número de alelos idênticos na população (HAMRICK; NASON, 1996; SEZEN; CHAZDON; HOLSINGER, 2005).

Os diferentes padrões de distribuição espacial de indivíduos (agregado, aleatório ou uniforme) usualmente alteram a EGE (LOVELESS; HAMRICK, 1984). Plantas agregadas tendem a ter cruzamentos correlacionados e endogâmicos, o que leva a gargalos genéticos e ao aumento da EGE (EPPERSON, 2003). Entretanto, indivíduos agregados podem não apresentar EGE, ou ainda, a EGE pode existir em um padrão de distribuição espacial aleatório de indivíduos. Isso se deve porque a heterogeneidade ambiental e a seleção alteram as frequências alélicas e genotípicas, contrabalanceando outros processos que geram EGE (LOVELESS; HAMRICK, 1984).

A presença de uma EGE intrapopulacional pode afetar as estimativas de diversidade genética e, por isso, tem importante aplicação nos programas de conservação (ENNOS; CLEGG, 1982). O conhecimento da EGE auxilia nas estratégias de coleta de sementes e propágulos para

projetos de conservação *in situ* e *ex situ*, uma vez que possibilita evitar a coleta de genótipos similares numa população (VEKEMANS; HARDY, 2004). O conhecimento da EGE também auxilia no manejo de populações naturais, nas quais os padrões de exploração tendem a afetar a diversidade genética (DOLIGEZ; JOLY, 1997). É importante ressaltar que, caso a EGE seja ignorada, pode haver uma interpretação errônea da endogamia e da seleção de genótipos (SHAPCOTT, 1995), pois a EGE usualmente resulta no efeito Wahlund (BITTENCOURT; SEBBENN, 2008).

Estudos da EGE têm levado em consideração a diferença de idade entre plantas de uma mesma população, demonstrando diferenças significativas quanto à EGE. Essas diferenças são causadas por mudanças na dinâmica populacional (p.ex. mudança de densidade) e eventos reprodutivos que ocorreram no passado. Contudo, ainda há poucos estudos correlacionando a diferença de idade com a EGE em espécies arbóreas, o que resulta na falta de compreensão de muitos fatores associados a estes processos (CHUNG et al., 2003; TARAIZI; MANTOVANI; REIS, 2009). No entanto, sabe-se que a existência da EGE em plantas adultas pode contribuir para a distribuição não aleatória do conjunto de pólen. Dessa forma, violando os pressupostos básicos do modelo de Ritland e Jain (1981) e ocasionando desvios na estimativa da taxa de cruzamento multilocos que determina o sistema de reprodução (SEBBENN; KAGEYAMA; VENCOSKY, 1998).

2.1.6 Sistema de reprodução

O sistema e modo de reprodução têm influência predominante na estrutura genética de espécies vegetais (HOLSINGER, 2000; LOVELESS; HAMRICK, 1984; SILVERTOWN, 2008), visto que determina como as informações genéticas são transferidas de uma geração à outra (HOLSINGER, 2000; SILVERTOWN, 2008; WRIGHT, 1921). O modo de reprodução assexual em plantas ocorre de duas formas, por meio da propagação vegetativa e da agamospermia. A propagação vegetativa produz clones através de estruturas somáticas, sendo esses chamados de rametes, que podem tornar-se independentes da planta genitora em qualquer estágio ontogenético. Por sua vez, a agamospermia é a produção partenogenética de sementes, também chamada de apomixia. Sementes apomíticas são clones da planta genitora e dependem de estruturas reprodutivas, como as plantas de reprodução sexual, para seu desenvolvimento e dispersão (HOLSINGER, 2000; SILVERTOWN, 2008).

O modo de reprodução sexual envolve meiose e a união de gametas, e é controlada pelo sistema sexual, sistema de reprodução, mecanismos de auto-incompatibilidade, padrões de florescimento e síndromes de polinização (BOSHIER, 2000; HOLSINGER, 2000). Os três principais sistemas sexuais são a dioícia, a monoícia e o hermafroditismo (BOSHIER, 2000). A dioícia é quando a planta tem flores unissexuais (diclinas) em indivíduos diferentes. A monoícia é quando a planta é hermafrodita, apresentando flores unissexuais no mesmo indivíduo. Já o hermafroditismo é quando a planta apresenta flores bissexuais (monoclinas) no mesmo indivíduo (BAWA, 1980; CRAWFORD; JESSON; GARNOCK-JONES, 2009), sendo esse sistema sexual o predominante em aproximadamente 90% nas plantas (CHARLESWORTH, 2002).

Os sistemas sexuais podem afetar o percentual de autofecundação como, por exemplo, na dioícia, quando este fenômeno não ocorre. Ou, ainda, aumentar a probabilidade de união de gametas gerados pelo mesmo indivíduo, como na monoícia e no hermafroditismo (BAWA, 1980; BOSHIER, 2000). Conhecer as probabilidades de união de gametas e as formas de combinação entre eles numa população refere-se ao sistema de reprodução (BOSHIER, 2000; COATES; SAMPSON; YATES, 2007). Mais especificamente, o sistema de reprodução refere-se a autofecundação (s) e cruzamentos (t). O sistema de reprodução de uma espécie ou população pode ser classificado de acordo com a taxa de cruzamento ($t = 1 - s$). Existem três tipos de sistema de reprodução: 1) sistema de cruzamentos ($t > 0,80$); 2) sistema misto de reprodução ($0,20 < t \leq 0,80$) ou; 3) sistema de autofecundação ($t \leq 0,20$) (GOODWILLIE; KALISZ; ECKERT, 2005; SCHEMSKE; LANDE, 1985). Do total de 345 espécies em 78 famílias de plantas estudadas, 44% apresentaram predominância de cruzamentos, 42% o sistema misto de reprodução e 14% o sistema de autofecundação (GOODWILLIE; KALISZ; ECKERT, 2005).

Dentre os três tipos de sistema de reprodução, o pólen pode se movimentar de diferentes maneiras, afetando a taxa de cruzamento. O termo alogamia significa polinização entre flores, que pode ser de um mesmo indivíduo ou entre indivíduos. Por sua vez, a xenogamia é o termo utilizado para caracterizar a transferência de pólen entre flores de indivíduos diferentes, ou seja, refere-se a cruzamentos. Ao se tratar de autofecundação, o pólen pode se movimentar de duas formas: primeiro através da transferência de pólen dentro de uma única flor, o que é denominado autogamia; a segunda refere-se à transferência de pólen entre flores diferentes de um mesmo indivíduo, fenômeno denominado de geitonogamia. Para garantir a autogamia é necessário que a flor se autofecunde antes da antese (cleistogamia), porém a fecundação durante a antese

(casmogamia) não exclui a autogamia e geitonogamia, há menos que haja formas de preveni-las (ENDRESS, 1994).

Para prevenir a autofecundação existem barreiras mecânicas, fisiológicas ou genéticas (BARRET, 2003; ENDRESS, 1994). A dicogamia em flores bissexuais pode elevar a taxa de fecundação cruzada, já que há uma separação temporal entre a liberação do pólen e a receptividade do estigma. Além disso, a hercogamia ou a forma como as anteras e o estigma estão arranjadas para impedir a autofecundação, também auxilia a fecundação cruzada. Muitas espécies que apresentam hercogamia, também apresentam mecanismos de auto-incompatibilidade (BARRET, 2003). Esses mecanismos podem ser pré ou pós-zigóticos. O mecanismo pré-zigótico mais comum nas angiospermas é o da inibição do crescimento do tubo polínico no estigma ou pistilo, controlado por um ou vários locos com alelos múltiplos. Os mecanismos pós-zigóticos, usualmente relacionados com o aborto, manifestam-se em qualquer estágio de desenvolvimento do embrião. Entretanto, os mecanismos pós-zigóticos confundem-se com os efeitos gerados pela depressão endogâmica (BOSHIER, 2000; GOODWILLIE; KALISZ; ECKERT, 2005).

Outros mecanismos que alteram a taxa de cruzamento são os padrões de florescimento. Variações no período de florescimento em nível de inflorescência, de indivíduo, população ou comunidade podem representar uma importante maneira pela qual as espécies adaptam-se fisiologicamente e ecologicamente ao ambiente. Dessa forma, promovendo competição por serviços dos polinizadores e, eventualmente, aumentando a fecundação cruzada (BOSHIER, 2000). Os padrões de florescimento estão relacionados ao sincronismo, a abundância de flores, e aos intervalos e a duração do florescimento (BOSHIER, 2000; GENTRY, 1974; NEWSTROM; FRANKIE; BAKER, 1994).

Diferentes populações de uma mesma espécie podem apresentar assincronismo ou sincronismo no florescimento. Usualmente, o sincronismo tende a ser vantajoso para a competição por serviços dos polinizadores, e permite maior troca de pólen entre indivíduos (BAWA, 1983; BOSHIER, 2000). Além disso, espécies que apresentam sincronismo e superabundância de flores tendem a uma melhor e maior dispersão de pólen, do que aquelas classificadas como “estáveis”, espécies que produzem poucas flores diariamente por semanas (AUGSPURGER, 1983; GENTRY, 1974). Outra estratégia para atrair os polinizadores e dificultar a predação de frutos é a variação do intervalo de florescimento, no qual as plantas

podem apresentar florescimento contínuo, sub-anual, anual e supra-anual (NEWSTROM; FRANKIE; BAKER, 1994).

A polinização apresenta um importante fator que altera a taxa de cruzamento e influencia a dispersão de pólen em plantas (BOSHIER, 2000; HOLSINGER, 2000). Em uma revisão realizada por Goodwillie, Kalisz e Eckert (2005) foi constatado que a maioria das espécies vegetais (80% de 345 espécies) apresentaram polinização realizada por algum agente biótico. Acredita-se que a estabilidade e evolução do sistema misto de reprodução estejam relacionadas com a predominância da polinização biótica (BARRETT; HARDER; WORLEY, 1996; VOGLER; KALIZ, 2001). Isso se deve porque a autofecundação garante o sucesso reprodutivo quando há poucos polinizadores ou baixa densidade de indivíduos reprodutivos. Além disso, a descontinuidade de pólen gerado por falta de polinizadores faz com que o custo da fecundação cruzada seja maior do que de autofecundação, assim promovendo menores taxas de cruzamento (GOODWILLIE; KALISZ; ECKERT, 2005).

As síndromes de polinização variam de acordo com o tipo de ambiente. Espécies que apresentam polinizadores especializados têm um maior risco de falhas no sucesso reprodutivo. Isso ocorre quando há redução no número de polinizadores e de árvores que sustentam a população de polinizadores (GHAZOUL; LISTON; BOYLE, 1998). Por outro lado, espécies com síndrome de polinização generalista apresentam falhas no sucesso reprodutivo quando há redução na fauna como um todo. Determinar o vetor de polinização e os seus efeitos no sistema de reprodução e no fluxo gênico é fundamental para a conservação e manejo de espécies vegetais (BOSHIER, 2000).

O sistema de reprodução pode ser estudado detalhadamente utilizando marcadores genéticos, como isoenzimas ou microssatélites. Existem três abordagens para se estimar os parâmetros do sistema de reprodução. A primeira abordagem pode ser realizada através da análise de paternidade, comparando o genótipo materno com a segregação de sua progênie (COATES; SAMPSON; YATES, 2007). A segunda abordagem baseia-se no Equilíbrio de Wright ou de Endogamia, em que a taxa de cruzamento ($t = 1 - s$) é estimada pelo coeficiente de endogamia ($F = s/(2 - s)$) (DAVID et al., 2007). A última abordagem refere-se ao modelo misto, que separa indivíduos de uma progênie naqueles gerados por autofecundação e polinização cruzada (RITLAND; JAIN, 1981; RITLAND, 2002).

2.1.7 Fluxo gênico em espécies arbóreas tropicais

O estudo do fluxo gênico vem ganhando importância à medida que o desmatamento e a fragmentação vêm causando a redução da diversidade genética e, conseqüentemente, a redução da adaptação de espécies vegetais (DICK et al., 2008; GAIOTTO et al., 2003). A polinização e a dispersão de sementes são dois estágios independentes e críticos do fluxo gênico e do ciclo de recrutamento das plantas. Usualmente, esses dois estágios envolvem a interação de fatores abióticos e de animais que fornecem serviços de dispersão de pólen e de sementes (HAMRICK; NASON, 2000; STEFFAN-DEWENTER; WESTPHAL, 2008). Muitas vezes, os polinizadores e dispersores são capazes de transportar uma grande quantidade de pólen e sementes a longas distâncias (HARDESTY et al., 2006), dessa forma, podendo conectar os fragmentos florestais e favorecer a colonização de novas áreas (TEWKSBUY et al., 2002). O elemento chave para prever os efeitos gerados pela fragmentação na estrutura genética das populações é o conhecimento do nível de fluxo gênico entre e dentro de populações (BITTENCOURT; SEBBENN, 2008).

O fluxo gênico refere-se a um termo coletivo que inclui todos os mecanismos de movimentação gênica entre populações. O termo sinônimo ao fluxo gênico é a migração, mas esta designação deve ser utilizada quando a própria migração é o mecanismo de fluxo gênico entre populações estabelecidas. A migração atua como força evolutiva contrapondo os efeitos gerados pela deriva genética e pela seleção (SLATKIN, 1985). Existem dois métodos para estimar o fluxo gênico: 1) o método indireto que mede o fluxo gênico histórico e baseia-se na distribuição da diversidade genética entre populações; e 2) o método direto que mede o fluxo gênico contemporâneo e baseia-se nas observações da movimentação de genótipos ou alelos imigrantes (HAMRICK; NASON, 2000).

O entendimento da dispersão de pólen e sementes em florestas tropicais é importante para o conhecimento da estrutura genética, padrões demográficos populacionais e formação de comunidades vegetais (HARDY et al., 2006). Como as árvores são organismos sésseis, essas dependem da dispersão de pólen e sementes para colonizar novos habitats (MULLER-LANDAU et al., 2008). Contudo, os padrões de dispersão de pólen e sementes são dependentes da densidade populacional (HARDY et al., 2006; SILVA et al. 2008). Para o pólen espera-se uma distribuição leptocúrtica, que é influenciada pela densidade e pela distribuição espacial dos indivíduos (AUSTERLITZ et al., 2004; ROBLEDO-ARNUNCIO; AUSTERLITZ, 2006). Em ambientes de

baixa densidade populacional, os polinizadores tendem a aumentar a distância de dispersão de pólen (> 500 m) (DICK et al., 2008). Entretanto, esse aumento na distância de dispersão pode ocorrer simultaneamente com um aumento dos cruzamentos correlacionados e endogâmicos, levando a gargalos genéticos (HANSON et al., 2008). Em ambientes florestais de alta densidade populacional, a distância de dispersão raramente ultrapassa 300 m (DICK et al., 2008). Uma distribuição agregada de indivíduos nesse ambiente tende a formar reservatórios gênicos (*pools*) distintos de pólen entre os agregados. Numa distribuição aleatória de indivíduos, os reservatórios gênicos são homogêneos e há uma tendência à distribuição leptocúrtica de pólen (ROBLEDO-ARNUNCIO; AUSTERLITZ, 2006).

A dispersão de sementes depende do tamanho da semente e do fruto e dos mecanismos de dispersão. Existe uma grande relação entre a comunidade frugívora local com a atratividade do fruto. A maneira pela qual a comunidade frugívora lida com o fruto e dispersa as sementes influencia no padrão de distribuição espacial das mesmas, e conseqüentemente da população adulta. Após a dispersão das sementes, que pode ocorrer de forma aleatória ou agregada, mecanismos pós-dispersão passam a atuar. Esses mecanismos são a predação, adequação ambiental para o estabelecimento e sobrevivência dependente da densidade (MULLER-LANDAU et al., 2008).

A análise da densidade de indivíduos combinado com a análise da distribuição diamétrica e espacial permite elucidar os fenômenos dependentes da densidade de plantas, como a interação com patógenos, mortalidade, competição e sucessão de comunidades vegetais (GILBERT, 2002). Entre os fenômenos dependentes de densidade está a hipótese de escape de Janzen-Connell, a qual surge da interação de três componentes: 1) da dispersão de propágulos a partir do genitor; 2) da sobrevivência de propágulos dependente da distância do genitor e 3) da densidade local de indivíduos da mesma espécie. Segundo essa hipótese, quanto maior a distância de dispersão do propágulo a partir do genitor, maior será a probabilidade de sobrevivência do mesmo (CONNELL, 1971; JANZEN, 1970;). Apesar de essa hipótese ser amplamente difundida, a maioria das espécies estudadas com marcadores genéticos, apresenta-se espacialmente agregada e com uma dispersão restrita a partir da planta genitora (DICK et al., 2008; HAMRICK; NASON, 1996; HARDY et al., 2006).

Atualmente, para o estudo preciso de fluxo gênico utilizam-se marcadores altamente polimórficos, como os microsatélites (SSR). A análise de paternidade tem sido o método direto

mais empregado no estudo de dispersão de pólen e sementes (DICK et al., 2008). Métodos indiretos que avaliam a distância de dispersão de pólen podem ser obtidos através da análise TWOGENER (SMOUSE et al., 2001), que se baseia na divergência genética do conjunto de alelos contido no pólen das árvores-mãe (Φ_{jt}). Esse método é útil para estudar o fluxo gênico via pólen quando há dificuldade de se localizar todos os indivíduos potencialmente reprodutivos e para se testar estatisticamente diferenças entre médias de distâncias de dispersão de pólen, entre locais e ambientes (DYER et al., 2004). Outro método indireto de estimar o fluxo gênico é através da estrutura genética espacial (EGE) intrapopulacional. A EGE intrapopulacional avalia principalmente a dispersão restrita de sementes, uma vez que para a existência de um evento de fluxo gênico faz-se necessário o estabelecimento de sementes no habitat (HARDY et al., 2006).

2.2 Material e métodos

2.2.1 Estação Ecológica de Assis

A Estação Ecológica de Assis (EEA) está localizada no município de Assis, no Oeste do Estado de São Paulo, entre as coordenadas 22°33'20" a 22°37'41" latitude Sul e 50°24'4,8" a 50°21'27" longitude Oeste (INSTITUTO FLORESTAL, 2008) (Figura 5). A EEA está inserida no Planalto Ocidental paulista, sua altitude varia de 500 a 590 m e apresenta três tipos de solo predominantes, Latossolo Vermelho Distrófico, que ocupa 93,1% da área, Argissolo Vermelho-Amarelo Distrófico e Argissolo Vermelho-Amarelo Eutrófico (BOGNOLA et al., 1990). Esses solos são tipicamente ácidos e de baixa fertilidade, com elevados teores de alumínio. O clima no município de Assis, segundo classificação de *Köppen*, caracteriza-se como subtropical, numa zona de transição entre *Cwa* e *Cfa*.

A EEA é uma unidade de conservação de uso indireto e foi criada pelo Decreto Estadual de nº 35.687, de 21 de setembro de 1992, com área de 1.312,38 ha a partir do desdobramento da área então denominada Estação Experimental de Assis. Em 2002, a área foi ampliada pelo Decreto Estadual nº 47.097 de 18 de Setembro de 2002, com a incorporação de antigos talhões de *Eucalyptus* spp e *Pinus* spp, passando a ocupar 1.760,64 ha (INSTITUTO FLORESTAL, 2008) (Figura 6). A fitofisionomia dominante é o cerradão, com árvores que chegam a 15 m de altura e formam uma cobertura arbórea fechada, mas apresenta também cerrado *stricto sensu* e é uma das áreas mais ao sul do país a possuir esse tipo de ambiente. Outros tipos florestais ripários também são encontrados na EEA, como brejos e mata-galeria (DURIGAN et al., 1999).

Um estudo da EEA utilizando fotografias aéreas e imagens de satélite entre 1962 a 2006 demonstrou que as áreas abertas de campo cerrado foram ocupadas por fisionomias fechadas de cerrado (PINHEIRO; DURIGAN, 2007), ambiente preferencial de *C. langsdorffii* (CARVALHO, 2003). Em 1962 o cerradão ocupava 53,4% e em 2006 ocupou 91,4% da área (Figura 7), que sugere uma melhor adaptação do cerradão ao clima local e à eliminação do pastejo e fogo (PINHEIRO; DURIGAN, 2007).

Figura 5 – Mapa da localização geográfica do município de Assis, SP

Figura 6 – Área da Estação Ecológica de Assis (verde), Assis, SP

Figura 7 – Evolução fisionômica do cerrado na Estação Ecológica de Assis, Assis, SP. Fonte: Pinheiro e Durigan (2007)

2.2.2 População amostrada na EEA

Uma população de *C. langsdorffii* Desf. foi utilizada para avaliação de aspectos ecológicos e genéticos. Essa população está localizada numa parcela permanente de 10,24 ha (320 x 320 m) do projeto BIOTA/FAPESP (Projeto: ‘Diversidade, dinâmica e conservação em florestas do Estado de São Paulo: 40 ha de parcelas permanentes’) na Estação Ecológica de Assis, Assis, SP. Tal projeto avaliou em 2006 a estrutura demográfica de todas as espécies arbóreo-arbustivas com diâmetro a altura do peito (DAP) ≥ 5 cm dentro da parcela. Os dados brutos de estrutura demográfica de *C. langsdorffii* foram disponibilizados para o presente estudo. Nos 10,24 ha foram encontrados 4009 indivíduos de *C. langsdorffii* com DAP ≥ 5 cm (Figura 8). A população apresentou uma grande quantidade de indivíduos de pequeno diâmetro quando comparada aos de maior diâmetro (Figura 9).

Figura 8 – Representação gráfica da localização de todos os indivíduos de *C. langsdorffii* com $DAP \geq 5$ cm em uma parcela de 10,24 ha (320 x 320 m) localizada no cerrado da Estação Ecológica de Assis, Assis, SP. Fonte: BIOTA/FAPESP (2008); Projeto: 'Diversidade, dinâmica e conservação em florestas do Estado de São Paulo: 40 ha de parcelas permanentes'

Figura 9 – Distribuição diamétrica de todos os indivíduos de *C. langsdorffii* com $DAP \geq 5$ cm em uma parcela de 10,24 ha (320 x 320 m) localizada no cerrado da Estação Ecológica de Assis, SP. Fonte: BIOTA/FAPESP (2008); Projeto: 'Diversidade, dinâmica e conservação em florestas do Estado de São Paulo: 40 ha de parcelas permanentes'

Para estudar a diversidade genética, a estrutura genética espacial, o sistema de reprodução e o fluxo gênico adotou-se o seguinte desenho experimental na parcela de 10,24 ha (Figura 10): foram amostrados todos os indivíduos com DAP ≥ 25 cm dentro da parcela ($n = 57$ indivíduos), ou seja, foi realizado um censo. Além disso, foram coletadas 20 sementes por árvore matriz (DAP ≥ 25 cm) de todas as matrizes reprodutivas em 2007. Para a amostragem dos indivíduos jovens (DAP 5-10 cm), como a densidade populacional era extremamente alta (164 plantas / ha), foram amostrados todos os indivíduos jovens ($n = 147$) em uma subparcela de 1,44 ha (120 x 120 m) no centro da parcela de 10,24 ha (Figura 10).

A adoção deste desenho experimental permitiu que análises robustas fossem realizadas para averiguar a estrutura genética espacial dos jovens, uma vez que todos os indivíduos foram amostrados numa determinada área. Este desenho experimental também auxiliou nas inferências do fluxo gênico local, porque novos alelos encontrados nos jovens significariam uma imigração de pelo menos 100 m. Além disso, 11 matrizes de *C. langsdorffii* com DAP ≥ 25 cm, isoladas na borda da EEA (Figura 11), também foram mapeadas e suas sementes coletadas para análises genéticas. Dessa forma, pôde-se comparar a heterogeneidade no conjunto de pólen e o sistema de reprodução de árvores localizadas na parcela com árvores localizadas na borda do fragmento.

Figura 10 – Representação gráfica da parcela de 10,24 ha (320 x 320 m) com uma subparcela 1,44 ha (120 x 120 m) localizada no cerrado da Estação Ecológica de Assis, Assis, SP

Figura 11 – Localização das matrizes dentro da parcela de 10,24ha (○) e na borda (Δ) no cerrado da Estação Ecológica de Assis, Assis, SP. Fonte: Mapa base Google Earth, 2009

2.2.3 Análise de marcadores microsatélites

Para realização de análises genéticas de *C. langsdorffii*, baseadas em marcadores do tipo microsatélites (ou Sequências Simples Repetidas – SSR), foram genotipados 147 jovens da subparcela e 57 indivíduos adultos da parcela. Também foram genotipadas 340 sementes de 17 matrizes da parcela e 220 sementes de 11 matrizes da borda do fragmento.

A extração do DNA genômico total das amostras foi realizada a partir de 150 mg de tecido vegetal macerado com nitrogênio líquido. O protocolo utilizado foi o CTAB (DOYLE; DOYLE, 1990) com as seguintes etapas: (1) as amostras foram acondicionadas em microtubos (1,7 ml), aos quais foram adicionados 700 µL de tampão de extração (pré-aquecido a 65°C); (2) os microtubos foram levados ao banho-maria (65°C) por 60 minutos e agitados manualmente a cada 10 minutos; (3) após serem retirados do banho-maria, os microtubos foram resfriados até temperatura ambiente, e 600 µL de clorofórmio-álcool isoamílico (24:1) foram adicionados. Os microtubos foram agitados até a formação de uma emulsão homogênea; (4) os microtubos foram centrifugados por 15 minutos a 15.000 rpm; (5) o sobrenadante de cada amostra foi transferido para um novo microtubo; (6) foram adicionados 400 µL de isopropanol e os microtubos foram armazenados em freezer (-20°C) por 60 minutos; (7) posteriormente foram centrifugados durante

15 minutos a 15000 rpm para formação dos *pellets*; (8) foi descartado o sobrenadante invertendo os microtubos; (9) os *pellets* formados foram lavados em 500 μ L de etanol 70% por duas vezes e com 500 μ L de etanol 95% por uma vez; (10) foi retirado o etanol dos microtubos; (11) os microtubos permaneceram à temperatura ambiente sobre bancada por aproximadamente 12 horas para a secagem dos *pellets*; (12) cada *pellet* foi diluído em 50 μ L de tampão TE (10 mM Tris-HCl, 1 mM de EDTA, pH 8,0) acrescido de RNase (15 mg / mL) e incubando a 37°C por uma hora. Após essa etapa, as amostras foram armazenadas a -20°C até sua utilização.

Após a extração, realizou-se a quantificação do DNA por meio da análise comparativa de cada amostra com amostras de DNA de concentração conhecida (DNA λ). O DNA das amostras e λ foram submetidos à eletroforese durante 25 minutos em gel de agarose a 1% corado com brometo de etídio e visualizado sob luz ultravioleta. Posteriormente, foram diluídos em água MiliQ a concentração de 2,5 ng / μ L.

O coquetel (13 μ L) para a realização da PCR foi composto por 7,5 ng de DNA genômico, 250 μ M de dNTPs, 0,5 μ M de $MgCl_2$, tampão para PCR 1X (10 mM de Tris-HCl, 50 mM de KCl, 1,5 mM de $MgCl_2$, pH 8,3), 2,5 μ g / ml de BSA, 0,2 μ M de cada iniciador e 1U de *Taq* DNA polimerase (Phoneutria). As amplificações foram realizadas em termociclador MJ Research PTC-100, utilizando-se o seguinte protocolo: 96°C por 2 minutos; 29 ciclos de 94°C por 1 minuto, temperatura de hibridação específica de cada par de iniciadores por 1 minuto (Tabela 1); 72°C por 1 minuto e 72°C por 7 minutos.

Após a amplificação, os fragmentos de DNA foram separados em gel desnaturante de poliacrilamida a 5%, em eletroforese de uma hora e trinta minutos em tampão TBE 1X em cuba vertical. Os fragmentos foram observados na forma de bandas, após coloração com nitrato de prata, seguindo o protocolo desenvolvido por Creste et al. (2001). O tamanho dos alelos foi determinado por comparação com um marcador de peso molecular padrão (10 pb “ladder” - Invitrogen®). Fragmentos amplificados de diferentes tamanhos foram considerados alelos diferentes.

Foram utilizados oitos pares de iniciadores SSR específicos para *C. langsdorffii* desenvolvidos por Ciampi, Brondani e Grattapaglia (2000) (Tabela 1).

Tabela 1 – Locos de microssatélites de *C. langsdorffii* com a respectiva temperatura de anelamento (T_a) e sequência de nucleotídeos

Locos de SSR	Sequência de nucleotídeos	T_a (°C)
CL 01	F_AGA CTC CAT TCT TCC ACA GC R_CTG TCT TCT CTC TGC AAC CA	56
CL 02	F_CCT CGA TCC TCC TTG TGT TC R_TCA GTT CGG ATA GCG ATG C	56
CL 06	F_GAG CGT TGC AAG GAA TTT CT R_CGA AAC TTG CAT GCG GAT A	54
CL 20	F_ACC AAT CTC AAT CAT CGA GC R_GTG CGG GTG AAT GTA GAG TT	56
CL 27	F_GAA TAT ACA ATG CAC CGC AA R_CTC CAA AAG CCA TGC AAG	54
CL 32	F_GTG AGA GTA TGG AAT GTA AC R_TAG TCA TGA AAA TAG GAG TG	50
CL 34	F_TGT TGA CAT GAC ACT AAT TC R_ACA ACC GAC TTA TTG GA	50
CL 39	F_GCA GCT GTT CTC TTG TGA CT R_CAA GAA TCC GTG ACT TCA TC	56

Nota: F_: forward; R_: reverse.

2.3 Análises dos dados

2.3.1. Análise da distribuição espacial

Para estimar os parâmetros de estrutura demográfica, tais como do índice de dispersão de Clark e Evans (1954) (R), distância média do vizinho mais próximo (R_o), diâmetro à altura do peito (DAP) e densidade em número de indivíduos por hectare (d) foram utilizados os dados de indivíduos com $DAP \geq 25$ cm em 10,24 ha e DAP 5 a 10 cm em 1,44 ha. Foi utilizado o programa computacional SGS (DEGEN; PETIT; KREMER, 2001) para a obtenção de R_o e R conforme Clark e Evans (1954): form. (1)

$$R = \frac{R_o}{R_E}. \quad (1)$$

Nesta quantificação, se $R = 1$ a distribuição é aleatória. Com $R < 1$ a distribuição é agregada (0 = mínimo) e se $R > 1$ a distribuição é uniforme (2,149 = máximo).

R_o = distância média observada do vizinho mais próximo: form. (2)

$$R_o = \frac{\sum r_i}{n}, \quad (2)$$

em que r_i = distância do vizinho mais próximo, n = número de observação e R_E = distância esperada do vizinho mais próximo: form. (3)

$$R_E = \frac{1}{2\sqrt{d}}, \quad (3)$$

dado por d = densidade média de indivíduos / m².

Para a significância estatística foi utilizado o teste Z : form. (4)

$$Z = \frac{|R_o - R_E|}{s}, \quad (4)$$

em que, s = desvio padrão.

2.3.2 Análise da herança, ligação e de desequilíbrio de ligação dos locos.

Apesar de os marcadores SSR de *C. langsdorffii* terem sido desenvolvidos em 2000, não foram encontrados estudos sobre a herança ou ligação dos mesmos. Assim, para estudar a herança desses marcadores SSR foi utilizado o método descrito por Gillet e Hattemer (1989), no qual se comparam os alelos das árvores maternas heterozigóticas com suas progênie de polinização aberta. As pressuposições do modelo de Gillet e Hattemer (1989) são que uma mãe heterozigótica $A_i A_j$, com $i \neq j$ deve produzir indivíduos numa progênie com pelo menos um alelo materno, A_i e / ou A_j . Dessa forma, espera-se uma segregação de 1:1 onde: a) o número de indivíduos heterozigóticos (N_{ij}) deve ser igual à soma do número de indivíduos homozigóticos (N_{ii} e N_{jj}) da mesma progênie, $N_{ij} = N_{ii} + N_{jj}$; b) o número de indivíduos heterozigóticos com o alelo i (N_{ik}) deve ser igual à soma do número de indivíduos heterozigóticos com o alelo j (N_{jk}) da mesma progênie, $N_{ik} = N_{jk}$ ($k \neq i, j$).

A análise foi realizada com 28 progênie de polinização aberta, 17 da parcela e 11 da borda do fragmento. Cada progênie foi composta de 20 indivíduos e um teste G de razões logarítmicas de verossimilhança (SOKAL; ROHLF, 1989) foi utilizado para comparar os valores observados com os esperados pela hipótese de segregação. Além disso, todos os testes individuais foram somados e um teste G total foi obtido ($\sum G_{Total_1:1}$), com n graus de liberdade, sendo n o número total de progênie usadas no teste. Para aumentar o tamanho amostral e conferir maior robustez estatística, genótipos maternos idênticos foram agrupados em cada loco SSR e, posteriormente somados. Foi realizado um teste G agrupado para segregação 1:1 ($\sum G_{Agrupado_1:1}$), com $n = 1$ grau de liberdade (WEIR, 1996). A hipótese de heterogeneidade de segregação entre progênie também foi testada, utilizando-se um teste G de heterogeneidade ($G_{Heterogeneidade}$), obtido pela subtração do valor do teste G agrupado do teste G total. Esses testes são aditivos de forma que $\sum G_{Total_1:1} = \sum G_{Heterogeneidade} + \sum G_{Agrupado_1:1}$, com n , $n - 1$ e 1 graus de liberdade, respectivamente. O P-valor foi obtido para cada teste utilizando-se a correção de Bonferroni para $\alpha = 0,05$. Todos os testes mencionados foram computados utilizando-se o programa R (HORNICK, 2008).

A análise de independência de segregação entre locos SSR foi realizada para verificar se os mesmos encontravam-se ligados dentro de um grupo de ligação. A hipótese nula para a segregação dos genótipos entre dois locos SSR foi de 1:1:1:1. Como as progênies foram de polinização aberta, apenas as combinações de locos em heterozigose foram utilizadas. Um teste G foi utilizado para comparar os valores observados com os esperados pela hipótese de segregação, e o P-valor foi obtido para cada teste utilizando-se a correção de Bonferroni para $\alpha = 0,05$. Esses testes foram computados empregando-se o programa R (HORNICK, 2008).

Outro teste realizado como complementar ao de independência de segregação entre locos SSR foi o de desequilíbrio de ligação. O desequilíbrio de ligação é a associação não aleatória de alelos em dois ou mais locos, não necessariamente no mesmo grupo de ligação. O teste de desequilíbrio de ligação foi realizado entre todos os pares de locos (adultos, jovens e progênies) com base no teste G . A significância estatística foi calculada com base em 1000 permutações utilizando correção de Bonferroni para $\alpha = 0,05$. Esses testes foram computados empregando-se o programa FSTAT 2.9.3.2 (GOUDET, 2002).

2.3.3 Análise da diversidade genética e índice de fixação

As estimativas das frequências alélicas, juntamente com o número de alelos por loco (A), o número efetivo de alelos por loco ($\hat{A}_e = \frac{1}{1 - \hat{H}_e}$; NEI, 1987), das heterozigosidades médias observada (H_o) e esperada (H_e) e dos índices de fixação (F) conforme (WEIR, 1996), foram realizadas com auxílio do programa SPAGEDI (HARDY; VEKEMANS, 2002). Os índices de fixação dos jovens da subparcela e progênies da parcela foram obtidos utilizando-se como referência a frequência alélica da população adulta (HARDY et al., 2004), através do programa SPAGEDI. Para verificar a significância de F foi realizado o procedimento de 10.000 permutações sobre os locos ao nível de 5% de probabilidade, utilizando correção de Bonferroni e empregando-se o programa SPAGEDI. Para comparação das médias de A , A_e , H_o , H_e e F entre adultos, jovens e progênies foi calculado um intervalo de confiança a 95% a partir do erro padrão utilizando o método Jackknife sobre locos. O teste de aderência ao equilíbrio de Hardy-Weinberg foi verificado pelo teste exato de Fisher através do programa CERVUS 3.0 (KALINOWSKI; TAPER; MARSHALL, 2007).

2.3.4 Análise de gargalo genético

Para a detecção de reduções recentes no tamanho efetivo populacional foi utilizado o programa computacional BOTTLENECK (PIRY et al., 1999). Foram utilizados os modelos de passos de mutação (MPM) (OHTA; KIMURA, 1973) e de duas fases (MDF) (DI RIENZO et al., 1994), por serem mais apropriados para locos SSR. Para o MDF considerou-se 10% de variância e 85% das mutações dos alelos inseridos no MPM (CORNUET; LUIKART, 1996). Foi utilizado o teste de significância de Wilcoxon com 5000 iterações para MPM e MDF, uma vez que menos de 20 locos SSR foram empregados (LUIKART; CORNUET, 1998). O programa BOTTLENECK (PIRY et al., 1999) testou a hipótese de $H_e > H_{eq}$ sob MPM e MDF, sendo H_e = heterozigosidade esperada calculada a partir das frequências alélicas e H_{eq} = heterozigosidade esperada no equilíbrio entre mutação e deriva calculada a partir do número de alelos.

2.3.5 Análise de estrutura genética espacial

Para a análise da estrutura genética espacial (EGE) dos adultos da parcela e dos jovens da subparcela foi utilizado o programa SPAGEDI (HARDY; VEKEMANS, 2002). A caracterização da distribuição espacial dos genótipos dentro das populações foi realizada a partir das estimativas dos coeficientes de coancestria recente (θ_{xy}) com base em Loiselle et al. (1995). Essa análise foi realizada entre plantas dentro das classes de distância definida para cada alelo k em cada par de indivíduos, x e y , como: form. (5)

$$\hat{\theta}_{xy} = \frac{\sum_l \sum_k (p_{xlk} - \bar{p}_{lk})(p_{yly} - \bar{p}_{lk})}{\sum_l \sum_k (1 - \bar{p}_{lk})\bar{p}_{lk}} + \left[\sum_l \frac{1}{(2n_l - 1)} \right], \quad (5)$$

em que, p_{xlk} e p_{yly} = frequências do alelo k no loco l nos indivíduos x e y (assumindo valores de 0, 0,5 e 1 em indivíduos homozigóticos para o alelo alternativo, heterozigóticos e homozigóticos para o alelo sob consideração, respectivamente) e $\bar{p}_{lk}$ = média da frequência do alelo k no loco l na subpopulação com n_l (número de possíveis combinações entre todos os indivíduos de uma determinada classe de distância) no loco l . Foram realizadas 10.000 permutações sobre a localização de cada genótipo e sobre locos a fim de se obter intervalos de confiança a 95%. Seguindo Hardy et al. (2004), para a análise da EGE dos jovens foi utilizada a frequência alélica

da população adulta como referência, de forma a se obter uma estimativa aproximada à da frequência alélica média populacional ($\bar{p}_{lk}$).

2.3.6 Correções do índice de fixação para o efeito Wahlund

Na presença de estrutura genética espacial, o valor do índice de fixação pode se elevar dentro da população devido ao efeito Wahlund (BITTENCOURT; SEBBENN, 2007). Este índice de fixação intrapopulacional (F) pode ser corrigido pela eliminação do efeito Wahlund, utilizando uma relação entre estatísticas F , como descrito em Bittencourt e Sebbenn (2007): form. (6)

$$(1 - \hat{F}_{IT}) = (1 - \hat{F}_{IS})(1 - \hat{F}_{ST}), \text{ Wright (1965),} \quad (6)$$

em que, F_{IT} e F_{ST} são substituídos por F e θ_{xy} , respectivamente, para que o novo índice de fixação intrapopulacional (F_N) seja definido por: form. (7)

$$\hat{F}_N = 1 - [(1 - \hat{F}) / (1 - \hat{\theta}_{xy})]. \quad (7)$$

O valor θ_{xy} corresponde à primeira classe de distância da análise da EGE.

2.3.7 Estimativa do tamanho efetivo populacional e área mínima viável para conservação

O tamanho efetivo populacional (N_e) foi estimado na geração adulta e jovem conforme expressão derivada por Cockerham (1969), envolvendo as estimativas do índice de fixação (F) e do coeficiente de coancestria médio (Θ) da geração sob consideração: form. (8)

$$\hat{N}_e = \frac{0,5}{\hat{\Theta} \left(\frac{n-1}{n} \right) + \frac{1 + \hat{F}}{2n}}. \quad (8)$$

Em que, n = tamanho amostral. O índice de fixação foi estimado conforme previamente descrito no item 2.3.3. O coeficiente de coancestria médio dentro das diferentes gerações foi estimado pela expressão: form. (9)

$$\hat{\Theta} = \frac{n \hat{\theta}_{ii} (1 + \hat{F}) + \sum_{i=1}^{n-1} \sum_{j=i+1}^{n-1} \hat{\theta}_{ij} (1 + \hat{F})}{n^2} \quad (\text{LINDGREN; GEA; JEFFERSON, 1996}), \quad (9)$$

em que, θ_{ii} = estimativa da autocoancestria dos indivíduos, $\sum_{i=1}^n \sum_{i \neq j}^n \theta_{ij}$ = soma de todas as estimativas das coancestrias entre os pares de indivíduos de uma população, excluindo a autocoancestria, n = tamanho amostral e F = estimativa do índice de fixação da população.

A área mínima viável ($\hat{AMV}$) para conservação genética *in situ* foi estimada em função do tamanho efetivo de referência ($N_{e(ref)}=50, 500$ e 1000) proposto por Lynch (1996): form. (10)

$$\hat{AMV} = \frac{N_{e(ref)}}{d(\hat{N}_e/n)}. \quad (10)$$

Em que, $\hat{N}_e/n$ = relação entre o tamanho efetivo e o tamanho amostral e d = densidade de indivíduos por hectare.

2.3.8 Análise do sistema de reprodução

O sistema de reprodução de *C. langsdorffii* foi analisado com base no modelo de cruzamento misto de Ritland e Jain (1981) e Ritland (2002), com o auxílio do programa MLTR 3.3 (RITLAND, 2008). Foram utilizadas as plântulas obtidas a partir de 340 sementes de 17 matrizes da parcela e 220 sementes de 11 matrizes na borda do fragmento. Os parâmetros estimados foram: a) índice de fixação das matrizes (F_m); b) taxa de cruzamento multiloco (t_m); c) taxa de cruzamento uniloco (t_s); d) taxa de cruzamento entre indivíduos aparentados ($t_m - t_s$); e) correlação da taxa de cruzamento entre locos (r_i); f) correlação de paternidade uniloco (r_{ps}); g) correlação de paternidade multiloco (r_{pm}); h) taxa de doadores de pólen aparentados ($r_{ps} - r_{pm}$); i) frequência dos pares de irmãos de autofecundação (s^2); j) frequência dos pares de irmãos por autofecundação e cruzamentos ($2st_m$); k) frequência dos pares de irmãos completos ($t_m^2 r_{pm}$); l) frequência dos pares de meios-irmãos [$t_m^2(1 - r_{pm})$]; m) estimativa do número efetivo de polinizadores ($1/r_{pm}$).

Foi calculado um intervalo de confiança a 95% utilizando 10.000 reamostragens bootstrap de indivíduos dentro de família, para verificar diferenças no sistema de reprodução entre progênies da parcela e da borda do fragmento. O algoritmo utilizado para esses cálculos foi o de maximização de expectativa (EM). Esse algoritmo tem uma melhor convergência para um

máximo esperado, do que o algoritmo Newton-Raphson (NR), em caso de falhas de genotipagem ou violação das pressuposições propostas por Ritland e Jain (1981) (RITLAND, 1997).

2.3.9 Análise de paternidade

Para a análise de paternidade utilizaram-se as plântulas originadas a partir das sementes coletadas em cada árvore matriz da parcela e os jovens da subparcela. Para determinar os possíveis genitores dos jovens e das sementes foram utilizados como candidatos todos os indivíduos adultos da parcela ($n = 57$; $DAP \geq 25$ cm). A paternidade foi estimada utilizando o método de alocação categórica (SANCRISTOBAL; CHEVALET, 1997) através do programa CERVUS 3.0 (KALINOWSKI; TAPER; MARSHALL, 2007). A paternidade foi determinada utilizando-se a estatística Δ (MARSHALL et al., 1998). Para encontrar o valor crítico de Δ para cada intervalo de confiança foram realizados três tipos de simulações utilizando-se o programa CERVUS 3.0. Nos jovens foram realizadas duas simulações, uma para alocar os dois genitores mais prováveis de sexo desconhecido e outra para alocar o genitor mais provável. Nas sementes foram realizadas simulações para alocar o genitor mais provável conhecendo-se a mãe. Para essas simulações foram utilizadas 100.000 repetições, com uma proporção de 0,01 de erro de genotipagem por loco e um intervalo de confiança restrito de 95%. A possibilidade de o indivíduo ser gerado por autofecundação também foi considerada nas simulações.

2.3.9.1 Análise da distância de dispersão de pólen

A distância de dispersão contemporânea de pólen foi analisada por meio das sementes e a distância de dispersão realizada de pólen foi analisada por meio dos jovens. A área efetiva média de vizinhança para polinização (A_{ep}) foi calculada para cada árvore matriz a partir da variância da dispersão de pólen (σ^2), assumindo uma área circular central ao redor da árvore matriz (LEVIN, 1988): form. (11)

$$\hat{A}_{ep} = 2\pi\sigma^2. \quad (11)$$

Na expressão (10), a variância de dispersão de pólen (σ^2) foi estimada a partir da distância entre as árvores matrizes, que originaram as sementes, e seus respectivos genitores doadores de pólen alocados pela análise de paternidade.

Após a realização dos testes de paternidade foram realizadas correlações entre a distância espacial, coeficiente de coancestria (θ_{xy}) e diâmetro na altura do peito (DAP) com o número de descendentes de cada doador de pólen. Para isso, foi utilizado o coeficiente de correlação de postos de *Spearman* (SOKAL; ROHLF, 1989).

Para se determinar o sucesso reprodutivo de um doador de pólen foi em função da distância entre doadores e árvores matrizes, foi comparada a frequência de distribuição da distância de dispersão do pólen com a frequência de distribuição da distância entre os adultos ($n = 57$) e as matrizes ($n = 17$). Para essa comparação foi realizada o teste Kolmogorov-Smirnov (D) (SOKAL; ROHLF, 1989).

2.3.9.2 Análise da distância de dispersão de sementes

A taxa de migração efetiva de sementes dentro da subparcela foi calculada pela razão de jovens sem progenitor conhecido pelo total de jovens considerados. Para calcular a dispersão de sementes, com base nos resultados de paternidade dos jovens, foram utilizados quatro modelos: 1) considerando apenas as distâncias dos indivíduos gerados por autofecundação (AUTO). Nesse modelo há a certeza do genitor da semente, uma vez que *C. langsdorffii* apresenta flores hermafroditas; 2) considerando apenas as distâncias dos indivíduos adultos mais próximos e utilizando-se as simulações do genitor mais provável (BAG). Nesse modelo espera-se uma dispersão estritamente barocórica; 3) considerando apenas as distâncias dos indivíduos adultos mais próximos, com base nas simulações dos dois genitores mais prováveis (BDG). Nesse modelo excluem-se os jovens com um único genitor, ou seja, jovens gerados por pólen de indivíduos de dentro da parcela, que tenham fecundado árvores de fora da parcela, e que tenham retornado, via semente; 4) considerando apenas as distâncias dos indivíduos adultos mais distantes com as simulações dos dois genitores mais prováveis (JCDG). Nesse modelo, busca-se adequar a distância de dispersão de sementes à hipótese de escape de Janzen-Connell.

2.3.10 Análise TWOGENER da heterogeneidade de pólen

Utilizando o programa Poldisp 1.0 (ROBLEDO-ARNUCIO et al., 2007) foi realizada a análise TWOGENER (AUSTERLITZ; SMOUSE, 2002). Calculou-se a divergência global do reservatório gênico do pólen (Φ_{ft}) (SMOUSE et al., 2001) entre árvores matrizes da parcela e

entre árvores matrizes da borda do fragmento, através da análise molecular de variância (EXOFFIER et al., 1992): form (12)

$$\hat{\Phi}_{ft} = \frac{\hat{\sigma}_a^2}{\hat{\sigma}_a^2 + \hat{\sigma}_d^2} \quad (12)$$

Em que, σ_a^2 = variação da frequência gênica no pólen entre árvores matrizes e σ_d^2 = variação da frequência gênica no pólen dentro de cada árvore matriz. O intervalo de confiança a 95% para Φ_{ft} entre todas as árvores matrizes foi estimado por 1000 permutações dos gametas masculinos entre matrizes.

O parâmetro Φ_{ft} pode ser superestimado devido à endogamia e autofecundação nas populações parentais. Para corrigir Φ_{ft} foi utilizado o índice de fixação da geração parental (F_p) (AUSTERLITZ; SMOUSE; 2001): form (13)

$$\hat{\Phi}'_{ft} = \frac{\hat{\Phi}_{ft}}{(1 + \hat{F}_p)} \quad (13)$$

Para a correção do parâmetro Φ_{ft} quando na presença de autofecundação foi utilizado o método descrito por Burcyk e Koralewski (2005): form (14)

$$\hat{\Phi}''_{ft} = \frac{(2\hat{\Phi}'_{ft} - \hat{s}^2)}{2(1 - \hat{s})^2} \quad (14)$$

2.3.11 Estimativa do número mínimo de matrizes para coleta de sementes

O número mínimo de matrizes (m) necessário para coleta de sementes visando a conservação genética foi calculado segundo Sebbenn (2002): form. (15)

$$\hat{m} = \hat{N}_{e(referência)} / \hat{N}_{e(v)} \quad (15)$$

em que, 1) $N_{e(referência)}$ = tamanho efetivo mínimo referente a sementes a serem coletadas (50, 500 e 1000) e 2) $N_{e(v)}$ = tamanho efetivo médio dentro de progênies de tamanho n ($n = 100$), estimado por: form. (16)

$$\hat{N}_{e(v)} = \frac{0.5}{\hat{\Theta}_{xy} \left(\frac{n-1}{n} \right) + \frac{1 + \hat{F}_s}{2n}} \quad (\text{COCKERHAM, 1969}). \quad (16)$$

Em que, F_s = índice de fixação das sementes e $\hat{\Theta}_{xy} = \hat{r}_{xy}/2$ = média do coeficiente de coancestria dentro de famílias estimada a partir da metade do coeficiente de parentesco (LYNCH; WALSH, 1998) obtidos com o auxílio do programa MLTR 3.3 (RITLAND, 2008): form. (17)

$$\hat{r}_{xy} = 0.25(1 + \hat{F}_a) \left[4\hat{s} + (\hat{t}_m^2 + \hat{t}_m \hat{s} \hat{r}_{ps}) (1 + \hat{r}_{pm}) \right] \text{ (RITLAND, 1989).} \quad (17)$$

Em que, F_a = índice de fixação das matrizes e s = taxa de autofecundação.

O coeficiente de parentesco foi também estimado pela divergência global do reservatório gênico do pólen (Φ_{ft}), via TWOGENER, com auxílio do programa Poldisp 1.0 (ROBLEDO-ARNUCIO et al., 2007): form. (18)

$$\hat{r}_{xy} = 0.25(1 + \hat{F}_a) \left[4\hat{s} + \hat{t}_m^2 (1 + 2\hat{\Phi}_{ft}) \right] \quad (18)$$

Através do coeficiente de parentesco (r_{xy}) estimado por (Φ_{ft}), calculou-se a média do coeficiente de coancestria dentro de famílias ($\hat{\Theta}_{xy} = \hat{r}_{xy}/2$), o tamanho efetivo ($N_{e(v)}$) e o número mínimo de matrizes necessário para coleta de sementes (m).

2.4 Resultados

2.4.1 Distribuição espacial

A área de 10,24 ha (320 x 320 m) da Estação Ecológica de Assis apresentou 57 indivíduos adultos ($DAP \geq 25$ cm) de *C. langsdorffii*, com uma distribuição agregada tendendo para a aleatoriedade ($R = 0,828$; $P < 0,05$) (Tabela 2; Figura 12). Nesta população, a distância média do vizinho mais próximo (R_o) foi de 16,77 m e a densidade de indivíduos por hectare (d) foi de 5,77 (Tabela 2; Figura 12). Na subparcela de 1,44 ha, a espécie apresentou 147 indivíduos jovens (DAP 5 a 10 cm) com uma distribuição aleatória ($R = 0,941$) (Tabela 2; Figura 12). Os jovens apresentaram R_o de 4,53 m e d de 102,08 (Tabela 2; Figura 12).

Tabela 2 – Análise de distribuição espacial de indivíduos adultos e jovens de *C. langsdorffii*, numa parcela permanente no cerrado da Estação Ecológica de Assis, Assis, SP, ano base 2006

População	n	R	R_o	d
Adultos	57	0,828*	16,77	5,77
Jovens	147	0,941 ^{ns}	4,53	102,08

Nota: n = número de indivíduos; R = índice de dispersão CLARK; EVANS (1954); R_o = distância média do vizinho mais próximo; d = densidade média por hectare; * = significativo $P = 0,05$; ns = não significativo.

Figura 12 – Distribuição espacial de indivíduos adultos ($\square$) em 10,24 ha e jovens ($\circ$) em 1,44 ha de *C. langsdorffii*, em uma parcela permanente no cerrado da Estação Ecológica de Assis, Assis, SP

2.4.2 Herança, ligação e de desequilíbrio de ligação dos locos.

A herança de cada loco SSR mostrou, na sua maioria, uma segregação mendeliana para a hipótese 1:1 (Tabela 3; ANEXO A). O método de agrupamentos também mostrou, na sua maioria, uma segregação mendeliana para a hipótese 1:1 (Tabela 4; ANEXO B). As matrizes agrupadas apresentaram, quase na sua totalidade, homogeneidade na segregação. O rigor estatístico da hipótese esperada pode ter sido afetado pelo pequeno tamanho amostral dentro das progênes ($n = 20$).

Tabela 3 – Resumo da análise da herança de cada loco SSR de *C. langsdorffii* utilizando o método descrito por Gillet e Hattemer (1989)

Loco	Total de testes	Hipótese A ($N_{ij} = N_{ii} + N_{jj}$)			Hipótese B [$N_{ik} = N_{jk}$ ($k \neq i, j$)]		
		Número de testes utilizados	P-valor limite	Número de testes significativos	Número de testes utilizados	P-valor limite	Número de testes significativos
CL01	19	8	0,006	0 (0,0%)	16	0,003	4 (25,0%)
CL02	22	19	0,003	3 (15,7%)	10	0,005	0 (0,0%)
CL06	28	12	0,004	5 (41,7%)	22	0,002	3 (13,6%)
CL20	25	9	0,006	4 (44,4%)	22	0,002	3 (13,6%)
CL27	25	15	0,003	1 (6,7%)	19	0,003	3 (15,8%)
CL32	24	14	0,003	0 (0,0%)	19	0,003	1 (5,3%)
CL34	21	20	0,003	1 (5,0%)	21	0,003	4 (19,0%)
CL39	27	13	0,004	1 (7,7%)	21	0,003	0 (0,0%)

Nota: % = porcentagem obtida pela razão do número de testes significativos pelo número de testes utilizados.

Tabela 4 – Resumo da análise da herança de cada loco SSR de *C. langsdorffii* utilizando o método de agrupamento descrito por Gillet e Hattemer (1989)

Hipótese A ($N_{ij} = N_{ii} + N_{jj}$)							Hipótese B [$N_{ik} = N_{jk}$ ($k \neq i, j$)]				
Loco	TA	NA	P- <i>l</i>	Número de agrupamentos significativos			NA	P- <i>l</i>	Número de agrupamentos significativos		
				<i>G</i> _T	<i>G</i> _A	<i>G</i> _H			<i>G</i> _T	<i>G</i> _A	<i>G</i> _H
CL01	3	3	0,017	0	0	0	3	0,017	1	2	1
CL02	3	3	0,017	2	1	0	3	0,017	0	0	0
CL06	4	4	0,013	0	0	0	4	0,013	1	1	1
CL20	2	2	0,025	0	1	0	2	0,025	0	0	0
CL27	7	6	0,008	3	1	2	6	0,008	1	1	1
CL32	7	7	0,007	0	0	0	7	0,007	0	0	0
CL34	5	5	0,010	1	0	0	5	0,010	2	1	0
CL39	4	3	0,016	0	1	0	4	0,013	1	0	1

Nota: TA = total de agrupamentos; NA = número de agrupamentos utilizados; P-l = P-valor limite; G_T = teste G total; G_A = teste G agrupado; G_H = teste G heterogeneidade.

A análise de independência de segregação entre pares de locos SSR revelou, para a maioria dos testes, uma segregação independente (Tabela 5; ANEXO C). Isso indica que o conjunto de locos pode ser utilizado para estudos do sistema de reprodução e análise de paternidade.

Tabela 5 – Resumo do teste de independência para oito locos SSR de *C. langsdorffii* para uma população da Estação Ecológica de Assis, Assis, SP

Combinação de locos	Número de testes utilizados	P-valor limite	Número de testes significativos
CL01 x CL02	19	0,003	3 (15,8%)
CL01 x CL06	19	0,003	2 (10,5%)
CL01 x CL20	16	0,003	3 (18,8%)
CL01 x CL27	19	0,003	5 (26,3%)
CL01 x CL32	16	0,003	1 (6,3%)
CL01 x CL34	15	0,003	4 (26,7%)
CL01 x CL39	18	0,003	3 (16,7%)
CL02 x CL06	22	0,002	4 (18,2%)
CL02 x CL20	19	0,003	3 (15,8%)
CL02 x CL27	20	0,003	5 (25,0%)
CL02 x CL32	19	0,003	2 (10,5%)
CL02 x CL34	16	0,003	4 (25,0%)
CL02 x CL39	21	0,002	3 (14,3%)
CL06 x CL20	25	0,002	1 (4,0%)
CL06 x CL27	25	0,002	3 (12,0%)
CL06 x CL32	25	0,002	3 (12,0%)
CL06 x CL34	21	0,002	3 (14,3%)
CL06 x CL39	27	0,002	3 (11,1%)
CL20 x CL27	22	0,002	2 (9,1%)
CL20 x CL32	23	0,002	2 (8,7%)
CL20 x CL34	20	0,003	6 (30,0%)
CL20 x CL39	24	0,002	3 (12,5%)
CL27 x CL32	22	0,002	2 (9,1%)
CL27 x CL34	18	0,003	4 (22,2%)
CL27 x CL39	24	0,002	2 (8,3%)
CL32 x CL34	21	0,002	5 (23,8%)
CL32 x CL39	24	0,002	2 (8,3%)
CL34 x CL39	20	0,003	6 (30,0%)

Nota: % = porcentagem obtida pela razão do número de testes significativos pelo número de testes utilizados.

O teste de desequilíbrio de ligação entre pares de locos SSR revelou valores significativos para as progênies da parcela e da borda (Tabela 6). Houve a presença de apenas dois valores significativos nos jovens e ausência de desequilíbrio nos adultos. Isso indica que o desequilíbrio está provavelmente relacionado com o estágio ontogenético da planta.

Tabela 6 – Teste de desequilíbrio de ligação para oito locos SSR de *C. langsdorffii* em uma população da Estação Ecológica de Assis, Assis, SP

Combinação de locos	P-valor limite	P-valor Adultos	P-valor Jovens	P-valor Progênies parcela	P-valor Progênies borda
CL01 X CL02	0,0018	0,51714	0,32857	0,00071	0,00036
CL01 X CL06	0,0018	1	0,06107	0,00036	0,00036
CL01 X CL20	0,0018	0,76500	0,30750	0,00036	0,00036
CL01 X CL27	0,0018	0,71571	0,09571	0,00036	0,00036
CL01 X CL32	0,0018	0,27607	0,60464	0,00429	0,00036
CL01 X CL34	0,0018	0,63429	0,02571	0,00036	0,00036
CL01 X CL39	0,0018	0,01286	0,11107	0,00036	0,00036
CL02 X CL06	0,0018	0,44714	0,11714	0,00036	0,00036
CL02 X CL20	0,0018	1	0,79500	0,00036	0,00036
CL02 X CL27	0,0018	0,12036	0,86536	0,00036	0,00036
CL02 X CL32	0,0018	0,00107	0,04643	0,00036	0,00036
CL02 X CL34	0,0018	0,0575	0,14286	0,00036	0,00036
CL02 X CL39	0,0018	1	0,03893	0,00071	0,00036
CL06 X CL20	0,0018	1	0,00107	0,00036	0,00036
CL06 X CL27	0,0018	0,62250	0,09786	0,00036	0,00036
CL06 X CL32	0,0018	0,18179	0,00036	0,00036	0,00036
CL06 X CL34	0,0018	1	0,21821	0,00036	0,00036
CL06 X CL39	0,0018	1	0,06643	0,00036	0,00036
CL20 X CL27	0,0018	0,70179	0,33143	0,00036	0,00036
CL20 X CL32	0,0018	0,37357	0,19571	0,00036	0,00036
CL20 X CL34	0,0018	0,54679	0,12107	0,00036	0,00143
CL20 X CL39	0,0018	1	0,14964	0,00036	0,00036
CL27 X CL32	0,0018	0,51357	0,25321	0,00036	0,00036
CL27 X CL34	0,0018	0,26107	0,70679	0,00036	0,00036
CL27 X CL39	0,0018	0,48750	0,25857	0,00036	0,00036
CL32 X CL34	0,0018	0,02536	0,01786	0,00036	0,00036
CL32 X CL39	0,0018	0,51964	0,05857	0,00036	0,00036
CL34 X CL39	0,0018	0,27643	0,18536	0,00036	0,00036

2.4.3 Diversidade genética e índice de fixação

O número de alelos (A) foi moderadamente igual entre adultos, jovens e progênies da parcela e borda do fragmento (Tabela 7). Por sua vez, o número efetivo de alelos (A_e) foi praticamente a metade de A (Tabela 7). Isso se deve a uma distribuição não eqüitativa das frequências alélicas dentro dos locos. A_e foi significativamente maior nos adultos e jovens em comparação com as progênies da parcela e borda do fragmento. Houve uma redução significativa da heterozigosidade observado (H_o) entre as gerações e locais, onde os adultos da parcela apresentaram o maior H_o e as progênies da borda do fragmento o menor H_o (Tabela 7). Para todas as gerações e locais, a heterozigosidade esperada (H_e) foi maior do que a observada, indicando deficiência de indivíduos heterozigóticos (Tabela 7).

O índice de fixação (F) foi significativamente menor nos adultos em comparação com os jovens e as progênies da parcela e borda do fragmento (Tabela 7). Em média, o índice de fixação da população adulta apresentou um valor moderado e significativo ($\hat{F} = 0,071$; P-valor = 0,001). Não foi possível realizar o teste de aderência às proporções esperadas sob os princípios de Hardy-Weinberg na população adulta devido ao grande número de alelos, comparado com o número de indivíduos existentes. A população de jovens apresentou, em média, um índice de fixação mais alto e significativo ($\hat{F} = 0,161$; P-valor = 0,001). Nenhum loco aderiu às proporções esperadas sob os princípios de Hardy-Weinberg. As progênies da parcela e da borda do fragmento apresentaram, em média, um índice de fixação alto e significativo ($\hat{F} = 0,130$ e $\hat{F} = 0,120$; P-valor = 0,001, respectivamente).

Tabela 7 – Diversidade genética e índice de fixação de árvores adultas, jovens e progênies de *C. langsdorffii* na Estação Ecológica de Assis, Assis, SP, ano base 2007

(continua)					
Loco	$\hat{A}$	$\hat{A}_e$	$\hat{H}_o$	$\hat{H}_e$	F
Adultos ($n = 57$)					
CL01	10	4,9	0,754	0,795	0,052
CL02	16	8,9	0,789	0,888	0,111
CL06	16	10	0,982	0,900	-0,091
CL20	22	11,9	0,842	0,916	0,081
CL27	13	7,2	0,891	0,862	-0,034
CL32	16	10,4	0,691	0,904	0,236
CL34	18	8,0	0,684	0,875	0,218
CL39	19	7,7	0,875	0,870	-0,006
Média	16,3	8,0	0,814	0,876	0,071*
IC _{95%}	±0,36	±0,02	±0,006	±0,003	±0,011
Total	130	69	..	..	..
Jovens ($n = 147$)					
CL01	10	6,1	0,745	0,837	0,137 ¹
CL02	16	9,9	0,648	0,899	0,300 ¹
CL06	17	10,9	0,966	0,908	-0,062 ¹
CL20	22	8,8	0,822	0,886	0,083 ¹
CL27	13	8,4	0,683	0,881	0,233 ¹
CL32	19	10,0	0,801	0,900	0,133 ¹
CL34	16	5,5	0,597	0,819	0,286 ¹
CL39	19	6,0	0,753	0,815	0,105 ¹
Média	16,5	7,7	0,752	0,870	0,145* ¹
IC _{95%}	±0,36	±0,18	±0,011	±0,003	±0,012
Total	132	65,6	..	..	..
Progênies parcela ($n = 340$)					
CL01	12	5,7	0,770	0,825	0,084 ¹
CL02	18	8,1	0,667	0,877	0,314 ¹
CL06	17	9,1	0,920	0,890	-0,026 ¹
CL20	22	10,5	0,838	0,905	0,095 ¹
CL27	13	9,0	0,847	0,889	0,100 ¹
CL32	21	5,6	0,808	0,820	0,114 ¹
CL34	17	4,9	0,599	0,795	0,341 ¹
CL39	16	8	0,871	0,875	0,016 ¹
Média	17	7,1	0,790	0,860	0,130* ¹
IC _{95%}	±0,27	±0,13	±0,007	±0,002	±0,009
Total	136	60,9	..	..	..

Tabela 7 – Diversidade genética e índice de fixação de árvores adultas, jovens e progênies de *C. langsdorffii* na Estação Ecológica de Assis, Assis, SP, ano base 2007

					(conclusão)
Loco	$\hat{A}$	$\hat{A}_e$	$\hat{H}_o$	$\hat{H}_e$	F
Progênies borda ($n = 220$)					
CL01	12	6,2	0,735	0,839	0,124
CL02	16	3,4	0,564	0,707	0,202
CL06	17	8,2	0,832	0,878	0,052
CL20	22	6,9	0,843	0,855	0,014
CL27	12	6,6	0,704	0,849	0,171
CL32	16	5,0	0,777	0,801	0,031
CL34	15	3,9	0,580	0,745	0,222
CL39	21	8,6	0,725	0,884	0,181
Média	16	6,1	0,720	0,820	0,120*
IC _{95%}	$\pm 0,36$	$\pm 0,19$	$\pm 0,010$	$\pm 0,006$	$\pm 0,008$
Total	131	48,9	..	..	..

Nota: A = número de alelos; A_e = número efetivo de alelos; H_o = heterozigosidade observada; H_e = heterozigosidade esperada; F = índice de fixação; IC_{95%} = intervalo de confiança a 95% calculado a partir do erro padrão por Jackknife; ¹ = índice de fixação calculado utilizando como referência os alelos dos adultos e o programa SPAGED1; .. não se aplica ao resultado.

2.4.4 Gargalos genéticos populacionais

No presente estudo não foram detectadas reduções recentes no tamanho efetivo populacional dos indivíduos adultos e jovens. Foi detectada, para a média dos locos, uma significativa deficiência da heterozigosidade esperada no equilíbrio de mutação-deriva (H_{eq}) para os adultos. O modelo de duas fases (MDF) e de passos de mutação (MPM) convergiram para o mesmo resultado, com P-valor igual a 0,019 e 0,002, respectivamente (Tabela 8). Nos jovens os resultados apontam para um equilíbrio de mutação-deriva, em ambos os modelos (P-valor = 0,320 para MDF e 0,166 para MPM; Tabela 9).

Tabela 8 – Análise de reduções recentes no tamanho efetivo populacional para indivíduos adultos de *C. langsdorffii*, na Estação Ecológica de Assis, Assis, SP, ano base 2007

Loco	$\hat{A}$	$\hat{H}_e$	MDF				MPM			
			$\hat{H}_{eq}$	DP	DH/DP	P-valor	$\hat{H}_{eq}$	DP	DH/DP	P-valor
CL01	10	0,837	0,796	0,054	0,750	0,244	0,829	0,035	0,218	0,507
CL02	16	0,899	0,880	0,028	0,715	0,264	0,899	0,018	0,035	0,462
CL06	16	0,908	0,886	0,026	0,861	0,179	0,905	0,017	0,184	0,527
CL20	22	0,886	0,916	0,016	-1,939	0,047	0,926	0,024	-1,674	0,015
CL27	13	0,881	0,850	0,036	0,876	0,182	0,873	0,024	0,333	0,447
CL32	16	0,900	0,901	0,021	-0,073	0,412	0,914	0,017	-0,866	0,169
CL34	18	0,819	0,881	0,025	-2,431	0,025	0,899	0,019	-4,228	0,007
CL39	19	0,815	0,900	0,022	-3,006	0,014	0,914	0,026	-3,080	0,002

Nota: MDF = Modelo de Duas Fases; MPM = Modelo de Passos de Mutação; $\hat{A}$ = alelos analisados; H_e = heterozigosidade esperada (Nei, 1978); H_{eq} = heterozigosidade esperada no equilíbrio de mutação-deriva; DP = desvio padrão; DH/DP = desvio da H_e pela H_{eq} dividido pelo desvio padrão.

Tabela 9 – Análise de reduções recentes no tamanho efetivo populacional para indivíduos jovens de *C. langsdorffii* do cerrado, na Estação Ecológica de Assis, Assis, SP, ano base 2007

Loco	$\hat{A}$	$\hat{H}_e$	MDF				MPM			
			$\hat{H}_{eq}$	DP	DH/DP	P	$\hat{H}_{eq}$	DP	DH/DP	P
CL01	10	0,849	0,804	0,046	0,955	0,151	0,831	0,036	0,502	0,368
CL02	16	0,900	0,910	0,017	-0,654	0,219	0,920	0,022	-0,968	0,078
CL06	17	0,915	0,918	0,015	-0,216	0,371	0,927	0,021	-0,534	0,157
CL20	22	0,891	0,933	0,013	-3,167	0,009	0,938	0,022	-2,140	0,008
CL27	13	0,891	0,900	0,020	-0,456	0,275	0,911	0,020	-1,008	0,107
CL32	19	0,911	0,922	0,014	-0,809	0,194	0,930	0,018	-1,105	0,075
CL34	16	0,827	0,905	0,019	-4,192	0,004	0,914	0,026	-3,365	0,004
CL39	19	0,851	0,919	0,016	-4,266	0,003	0,927	0,021	-3,633	0,003

Nota: MDF = Modelo de Duas Fases; MPM = Modelo de Passos de Mutação; $\hat{A}$ = alelos analisados; H_e = heterozigosidade esperada (Nei, 1978); H_{eq} = heterozigosidade esperada no equilíbrio de mutação-deriva; DP = desvio padrão; DH/DP = desvio da H_e pela H_{eq} dividido pelo desvio padrão.

2.4.5 Estrutura genética espacial

A análise da estrutura genética espacial utilizando indivíduos adultos da parcela de 10,24 ha demonstrou valores baixos e não significativos de θ_{xy} (Figura 13 a). A análise da EGE utilizando indivíduos jovens da subparcela de 1,44 ha demonstrou valores baixos, porém significativos, de θ_{xy} até 102 m, indicando a formação de estrutura familiar (Figura 13 b).

Figura 13 – Análise da estrutura genética espacial em indivíduos adultos (a) e jovens (b) em uma população natural de *C. langsdorffii* do cerrado, na Estação Ecológica de Assis, Assis, SP, ano base 2007

2.4.6 Correções do índice de fixação para o efeito Wahlund

Utilizando o valor da primeira classe de distância da EGE dos jovens ($\hat{\theta}_{xy} = 0,043$), o índice de fixação corrigido (F_N) foi de 0,107. Demonstrando que 26% do valor do F dos jovens foi devido ao efeito Wahlund.

2.4.7 Tamanho efetivo populacional e área mínima viável para conservação

Sob um contexto intrapopulacional, os 57 indivíduos adultos de *C. langsdorffii* na parcela de 10,24 ha corresponderam a um N_e de 21 (Tabela 10). Nos 147 indivíduos jovens da subparcela de 1,44 ha, obteve-se um N_e de 19 (Tabela 10). Ambos os casos indicaram uma baixa representatividade genética. Esta diferença entre N_e e N está associada ao alto valor de F , mas principalmente à grande quantidade de pares de indivíduos com $\theta_{xy} > 0,0625$ (parentesco

equivalente a primos; Figura 14 a e b). Baseando-se no tamanho efetivo de referência ($N_{e(\text{ref})} = 50$, 500 e 1000), a área mínima viável (AMV) para conservação dos adultos foi de 24, 244 e 488 ha, respectivamente (Tabela 10).

Tabela 10 – Estimativa do tamanho efetivo populacional e da área mínima viável para uma população natural de *C. langsdorffii* do cerrado, na Estação Ecológica de Assis, Assis, SP, ano base 2007

População	n	$\hat{N}_e$	d	$\hat{AMV}_{(50)}$	$\hat{AMV}_{(500)}$	$\hat{AMV}_{(1000)}$
Adultos	57	21	5,57	24	244	488
Jovens	147	19	102,08	..	..	..

Nota: n = número de indivíduos; N_e = tamanho efetivo; d = relação de indivíduo por hectare; $AMV_{(\text{referência})}$ = área mínima viável para conservação em hectares; .. não se aplica ao resultado.

Figura 14 – Frequência de $\hat{\theta}_{xy}$ entre pares de indivíduos adultos (a) e jovens (b) de *C. langsdorffii* do cerrado, na Estação Ecológica de Assis, Assis, SP, ano base 2007

2.4.8 Sistema de reprodução

As estimativas da taxa de cruzamento multiloco ($\hat{t}_m$) e uniloco ($\hat{t}_s$) foram significativamente diferentes entre as árvores localizadas na parcela de 10,24 ha e na borda do fragmento (Tabela 11). As árvores matrizes da parcela e da borda demonstraram um sistema misto de reprodução com predomínio de cruzamentos ($\hat{t}_m = 0,859$; $0,759$, respectivamente). A taxa de cruzamento entre indivíduos aparentados ($t_m - t_s$) foi moderada e significativa para a parcela e a borda (Tabela 11). Da mesma forma, a taxa de doadores de pólen aparentados ($r_{ps} - r_{pm}$) também foi moderada e significativa para ambos os locais (Tabela 11). A probabilidade de dois indivíduos escolhidos ao acaso dentro de progênies pertencerem ao mesmo doador de pólen (r_{pm}) foi baixa, porém significativa para ambos os locais (Tabela 11).

A correlação da taxa de cruzamento entre locos (r_i), que mede a proporção da endogamia gerada pelo cruzamento entre parentes e por autofecundações foi significativa e próxima a 0,5 (Tabela 11). Isso indica que a endogamia nas progênies da parcela e a borda foi gerada em proporções semelhantes por cruzamento entre parentes e por autofecundação. Pode-se inferir que a estrutura familiar das progênies, para ambos os locais, foi composta na sua maioria por pares de meios-irmãos [$t_m^2(1 - r_{pm})$], seguida por pares de irmãos de autofecundação e cruzamentos ($2st_m$) (Tabela 11). Contudo, houve diferença significativa nas frequências dessa estrutura familiar, onde na borda do fragmento a frequência de pares de irmãos de autofecundação (s^2) foi maior do que pares de irmãos-completos ($t_m^2 r_{pm}$) (Tabela 11). A estimativa do número efetivo de polinizadores ($1/r_{pm}$) foi semelhante para a parcela e para a borda (Tabela 11), indicando uma baixa dominância de doadores de pólen.

Tabela 11 – Estimativas do sistema reprodutivo de *C. langsdorffii* a partir de oito locos SSR, para progênies da parcela de 10,24 ha e da borda da Estação Ecológica de Assis, Assis, SP, ano base 2007

Estimativa	Parcela	Borda
Índice de fixação das matrizes: F_m	0,002 (0,001 – 0,002)	0,000 (0,000 – 0,000)
Taxa de cruzamento multiloco: t_m	0,859 (0,829 – 0,888)	0,759 (0,718 – 0,805)
Taxa de cruzamento uniloco: t_s	0,778 (0,752 – 0,805)	0,675 (0,636 – 0,720)
Taxa de cruzamento entre indivíduos aparentados: $t_m - t_s$	0,081 (0,067 – 0,094)	0,083 (0,065 – 0,102)
Correlação da taxa de cruzamento entre locos: r_t	0,517 (0,423 – 0,556)	0,645 (0,573 – 0,700)
Correlação de paternidade multiloco: r_{pm}	0,059 (0,032 – 0,076)	0,056 (0,024 – 0,080)
Correlação de paternidade uniloco: r_{ps}	0,116 (0,090 – 0,129)	0,094 (0,065 – 0,101)
Taxa de doadores de pólen aparentados: $r_{ps} - r_{pm}$	0,057 (0,041 – 0,071)	0,038 (0,012 – 0,056)
Frequência de pares de irmãos de autofecundação: s^2	0,020 (0,013 – 0,029)	0,058 (0,038 – 0,080)
Frequência de pares de irmãos de autofecundação e cruzamentos: $2st_m$	0,242 (0,199 – 0,284)	0,366 (0,314 – 0,405)
Frequência de pares de irmãos completos: $t_m^2 r_{pm}$	0,044 (0,023 – 0,056)	0,032 (0,013 – 0,046)
Frequência de pares de meios-irmãos: $t_m^2 (1 - r_{pm})$	0,694 (0,649 – 0,747)	0,544 (0,488 – 0,617)
Estimativa do número efetivo de polinizadores: $1/r_{pm}$	17 (13 – 31)	18 (13 – 42)

Nota: () = intervalo de confiança a 95% utilizando 10.000 reamostragens bootstrap de indivíduos dentro de famílias.

2.4.9 Análise de paternidade

O alto polimorfismo encontrado na população analisada de *C. langsdorffii* refletiu numa alta probabilidade de exclusão do primeiro genitor – $\text{Pr}(\text{Ex}_1) = 99,9995$, segundo genitor – $\text{Pr}(\text{Ex}_2) = 99,9999$ e combinado – $\text{Pr}(\text{Ex}_C) = 99,9999$, o que confere a utilidade deste conjunto de marcadores específicos para o teste de paternidade.

Entre as 340 sementes da parcela, apenas 121 (36%) tiveram o doador de pólen determinado dentro da parcela, portanto a taxa de imigração de pólen foi de 64%. Estas 121 sementes foram aparentemente originadas de 28 (49%) doadores de pólen da parcela. Ainda, destas 121 sementes, 48 (40%) foram originadas por autofecundações, o que sugere uma taxa de autofecundação (s_m) de 0,141 (48/340). Considerando apenas a parte de cruzamentos ($t_m =$

0,859), em média os 28 doadores de pólen produziram três descendentes (variando de 1 a 8). Além disso, foram detectados 26 irmãos-completos e 47 meios-irmãos distribuídos entre as 17 matrizes. Isso corresponde a uma média de dois irmãos-completos e dois meios-irmãos por matriz, o que sugere uma alta taxa de cruzamento correlacionados.

Entre os 147 jovens existentes na subparcela, 125 (85%) apresentaram pelo menos um genitor entre os 57 adultos dos 10,24 ha da parcela. Isso significa uma taxa de imigração realizada de pelo menos 22 sementes (15%), a uma distância maior do que 100 m (distância entre a borda da subparcela em relação à borda da parcela). Destes 125 jovens, 69 (55%) apresentaram dois genitores na parcela, sendo que 17 (25%) foram gerados por autofecundação. Comparando o total de jovens considerados (147), com o número de sementes originadas por autofecundação (17), a taxa de autofecundação (s) avaliada nessa geração foi de 0,116. Dos 57 adultos existentes na parcela, 42 (74%) foram genitores (pai ou mãe) de pelo menos um jovem (variando de 1 a 13 vezes, com média de 3).

2.4.9.1 Distância de dispersão de pólen

Considerando as autofecundações, com base nas 121 sementes que tiveram o genitor determinado dentro da parcela, a distância de dispersão contemporânea de pólen variou de 0 a 297 m, com média e mediana de 74 e 39 m, respectivamente. Desconsiderando as autofecundações, a distância de dispersão de pólen variou de 7 a 297 m, com média e mediana de 126 e 110 m, respectivamente (Figura 15). Não houve diferença significativa entre a distribuição da frequência da distância de dispersão de pólen com a distribuição da frequência da distância espacial entre doadores de pólen e as matrizes ($D = 0,05$, $P\text{-valor} = 0,11$; Figura 15).

Com base na distância de dispersão contemporânea de pólen, a área efetiva média de vizinhança de polinização (A_{ep}) considerando autofecundação foi de 5,3 ha e, desconsiderando autofecundação foi de 4,9 ha.

Nos 69 jovens que tiveram os dois genitores determinados dentro da parcela, considerando as autofecundações, a distância de dispersão realizada de pólen variou de 0 a 296 m, com média e mediana de 94 e 87 m, respectivamente. Desconsiderando as autofecundações, essa distância variou de 14 a 296 m, com média e mediana de 124 e 117 m, respectivamente

(Figura 16). Com autofecundação, a área efetiva de vizinhança de polinização (A_{ep}) foi estimada em 4,3 ha e sem autofecundação essa área foi de 3,2 ha.

Figura 15 – Frequência da dispersão contemporânea de pólen (■) e doadores de pólen (□) dentro de uma parcela de 10,24 ha na Estação Ecológica de Assis, Assis, SP, ano base 2007

Figura 16 – Frequência da dispersão realizada de pólen dentro de uma parcela de 10,24 ha na Estação Ecológica de Assis, Assis, SP, ano base 2007

2.4.9.2 Associação entre distância espacial dos genitores, coancestria e DAP em relação ao número de descendentes gerados

A correlação entre a distância do doador de pólen com o número de descendentes foi marginalmente significativa ($r = -0,253$; $P = 0,073$), indicando uma tendência maior de cruzamento entre árvores espacialmente próximas, do que entre árvores distantes entre si. Houve uma correlação significativa e positiva entre a coancestria da matriz e seu doador de pólen, com o número de descendentes ($r = 0,400$; $P = 0,004$). Assim, quanto mais aparentado era o casal, maior foi o número de filhos que eles produziram. Além disso, houve uma correlação significativa e negativa entre o DAP do doador de pólen com o número de descendentes ($r = -0,640$; $P = 0,032$), o que indica que árvores doadoras de pólen com DAP próximas a 25 cm produzem mais filhos.

Para os jovens que tiveram o doador de pólen determinado na parcela, a correlação entre a distância do doador de pólen com o número de descendentes foi significativa ($r = -0,715$; $P = 0,009$), evidenciando uma maior tendência de cruzamento entre árvores próximas do que entre árvores distantes.

2.4.9.3 Distância de dispersão de sementes

A dispersão realizada de sementes, considerando os modelos AUTO e JCDG, apresentou valores semelhantes de média, mediana e variação (Tabela 12), além de uma distribuição semelhante nas frequências (Figura 17). Os modelos BAG e BDG apresentaram valores inferiores aos dos modelos AUTO e JCDG, porém BAG e BDG mantiveram valores de média, mediana, variação (Tabela 12) e distribuição semelhante entre si (Figura 17). Independentemente do modelo analisado, a maior frequência de dispersão de sementes estava entre as distâncias de 125 a 200 m (Figura 17).

Tabela 12 – Estimativa da dispersão realizada de sementes considerando quatro modelos para uma população natural de *C. langsdorffii* do cerrado na Estação Ecológica de Assis, Assis, SP, ano base 2007

Modelo	<i>n</i>	Média (m)	Mediana (m)	Variação (m)
AUTO	17	166	171	58-246
BAG	125	135	140	11-246
BDG	69	128	127	11-246
JCDG	69	170	174	58-279

Nota: AUTO = apenas os jovens gerados por autofecundação; BAG = dispersão barocórica considerando jovens com pelo menos um genitor; BDG = dispersão barocórica considerando jovens com dois genitores; JCDG = dispersão considerando jovens com dois genitores e a hipótese de escape de Janzen-Connell; *n* = número de jovens considerados em cada modelo.

Figura 17 – Frequência da dispersão realizada de sementes dentro de uma parcela de 10,24 ha na Estação Ecológica de Assis, Assis, SP, considerando quatro modelos: AUTO (branco); BAG (cinza claro); BDG (cinza escuro); JCDG (preto), ano base 2007

2.4.10 Heterogeneidade do pólen

A divergência global do reservatório gênico do pólen ($\hat{\Phi}_{ft}$) foi significativa entre árvores matrizes da parcela e entre árvores matrizes da borda do fragmento (Tabela 13). A estimativa $\hat{\Phi}'_{ft}$ não foi influenciada pela endogamia da geração parental. Entretanto, as autofecundações influenciaram significativamente o valor de $\hat{\Phi}''_{ft}$, sendo que este também apresentou diferença significativa entre a parcela e a borda do fragmento (Tabela 13).

Tabela 13 – Estimativa da divergência global do reservatório gênico do pólen entre árvores matrizes de *C. langsdorffii* dentro da parcela e entre árvores matrizes da borda do, na Estação Ecológica de Assis, Assis, SP, ano base 2007

Progênes	$\hat{\Phi}_{ft}$	$\hat{\Phi}'_{ft}$	$\hat{\Phi}''_{ft}$
Parcela	0,094 (0,093 – 0,096)	0,094 (0,093 – 0,096)	0,114 (0,113 – 0,142)
Borda	0,118 (0,113 – 0,124)	0,118 (0,113 – 0,124)	0,154 (0,146 – 0,163)

Nota: Φ_{ft} = divergência global do reservatório gênico do pólen; $\hat{\Phi}'_{ft}$ = divergência global do reservatório gênico do pólen corrigido para endogamia da geração parental; $\hat{\Phi}''_{ft}$ = divergência global do reservatório gênico do pólen corrigido para autofecundações.

2.4.11 Estimativa do número mínimo de matrizes para coleta de sementes

Considerando os resultados obtidos a partir da taxa de cruzamento, o número mínimo de matrizes necessárias para coleta de sementes, com a finalidade de reter um tamanho efetivo de referência de 50, 500 e 1000, foi maior a para borda do fragmento do que para a parcela (Tabela 14). O coeficiente de coancestria médio das famílias de progênies da parcela ($\hat{\Theta}_{xy} = 0,170$) e da borda do fragmento ($\hat{\Theta}_{xy} = 0,199$) foram maiores do que o esperado para meios-irmãos sob panmixia ($\hat{\Theta}_{xy} = 0,125$) (Tabela 14). Conseqüentemente, as médias do tamanho efetivo de variância por família, para progênies da parcela e da borda ($\hat{N}_{e(v)} = 2,87$ e $\hat{N}_{e(v)} = 2,47$, respectivamente), foram menores do que o esperado para meios-irmãos ($\hat{N}_{e(v)} = 4$ para $t_m = 1,0$ e $n \geq 100$) (Tabela 8).

As médias de $N_{e(v)}$ calculada a partir de $\hat{\Phi}_{ft}''$, para progênies da parcela e da borda (2,67 e 2,42, respectivamente), foram menores do que o esperado para meios-irmãos sob panmixia ($\hat{N}_{e(v)} = 4$ para $t_m = 1,0$ e $n \geq 100$) (Tabela 15). O número mínimo de matrizes necessárias para coleta de sementes, com a finalidade de reter um tamanho efetivo de referência de 50, 500 e 1000, foi maior para a borda do fragmento do que para a parcela (Tabela 15).

Tabela 14 – Estimativa do número mínimo de matrizes para coleta de sementes para *C. langsdorffii* do cerrado, na Estação Ecológica de Assis, Assis, SP, ano base 2007

Progênies	$\hat{\Theta}_{xy}$	$\hat{N}_{e(v)}$	$\hat{m}_{(50)}$	$\hat{m}_{(500)}$	$\hat{m}_{(1000)}$
Parcela	0,170	2,87	19	173	347
Borda	0,199	2,47	20	192	384

Nota: $\hat{\Theta}_{xy} = \hat{r}_{xy} / 2$ = média do coeficiente de coancestria dentro de famílias estimado a partir da metade do coeficiente de parentesco; $\hat{N}_{e(v)}$ = tamanho efetivo médio dentro de progênies de tamanho n ($n = 100$), $\hat{m}_{(referência)}$ = número mínimo de matrizes para coleta de sementes com base no tamanho efetivo de referência.

Tabela 15 – Estimativa da divergência global do reservatório gênico do pólen entre árvores matrizes de *C. langsdorffii* dentro da parcela e entre árvores matrizes da borda do, na Estação Ecológica de Assis, Assis, SP, ano base 2007

Progênes	$\hat{\Phi}''_{ft}$	$\hat{N}_{e(v)}$	$\hat{m}_{(50)}$	$\hat{m}_{(500)}$	$\hat{m}_{(1000)}$
Parcela	0,114	2,67	19	187	374
Borda	0,154	2,42	21	206	413

Nota: $\hat{\Phi}''_{ft}$ = divergência global do reservatório gênico do pólen corrigido para autofecundações; $N_{e(v)}$ = tamanho efetivo médio dentro de progênes de tamanho n ($n = 100$) utilizando $\hat{\Phi}''_{ft}$; $\hat{m}_{(referência)}$ = número mínimo de matrizes para coleta de sementes com base no tamanho efetivo de referência.

2.5 Discussão

2.5.1 Distribuição espacial, estrutura genética espacial intrapopulacional e dispersão realizada de sementes

Uma grande quantidade de indivíduos jovens e adultos foi encontrada na parcela de 10,24 ha. Isso demonstra um grande potencial para a manutenção da regeneração natural e, conseqüentemente, da estrutura populacional de *C. langsdorffii*. A alta densidade de indivíduos jovens e sua distribuição espacial aleatória devem-se, provavelmente, a síndrome de superabundância de sementes (MCKAY, 1975), a uma dispersão barocórica (RESENDE; KLINK; SCHIAVINI, 2003) e ornitocórica (CLARK; POULSEN; PARKER, 2001; CLARK et al., 2004) e a reduzida escala amostrada (CLARK et al., 2004).

Por outro lado, a distribuição espacial agregada dos indivíduos adultos é uma característica comum para a maioria das espécies arbóreas tropicais (CONDIT et al., 2000; HE; LEGENDRE; LAFRAKIE, 1997; HUBBELL, 1979; PLOTKIN; CHAVE; ASHTON, 2002). Essa distribuição espacial em árvores adultas pode ser conseqüência de muitos fatores abióticos e bióticos, principalmente, da dispersão restrita de sementes gerada pela barocoria ou pela deposição zoocórica agregada, da seleção de determinados genótipos e da heterogeneidade ambiental (CLARK et al., 2004; FRAGOSO; SILVIUS; CORREA, 2003; GARDNER; ENGELHARDT, 2008; MULLER-LANDAU et al., 2008; NG et al., 2006).

Nos jovens a estrutura genética espacial (EGE) intrapopulacional foi significativa, enquanto que nos adultos esta não foi constatada. Isso demonstra que indivíduos espacialmente agregados, neste caso os adultos, podem não apresentar EGE, ou ainda, a EGE pode existir em um padrão de distribuição espacial aleatório de indivíduos (EPPERSON, 2003; LOVELESS; HAMRICK, 1984). A existência de EGE até 102 m de distância na população de jovens sugere que houve uma dispersão moderada de sementes. Esse resultado é coerente com os diferentes modelos de dispersão de sementes analisados neste estudo, nos quais a maior frequência de dispersão encontrava-se até 200 m (Figura 17). Uma vez que as curvas de dispersão realizada de sementes apresentaram medianas variando de 127 a 174 m de distância, a barocoria não pode ser considerada o único agente atuante na dispersão de sementes. Provavelmente, agentes dispersores bióticos primários, como as aves (MOTTA-JÚNIOR; LOMBARDI, 1990; PEDRONI, 1995) e secundários, como pequenos mamíferos (MOTTA-JÚNIOR; LOMBARDI, 1990) e formigas, estejam transportando as sementes por dezenas de metros (LEAL; OLIVEIRA, 1998).

A existência da dispersão realizada de sementes com distâncias médias e medianas superiores a 100 m, e uma distribuição com tendência a normalidade, sugere que mecanismos dependentes de densidade e distância estejam atuando sobre a população. A normalidade é um indicativo da existência do fenômeno de escape previsto na hipótese Janzen-Connell (CLARK; CLARK, 1984; CONNELL, 1971; JANZEN, 1970). Essa normalidade representa a curva de recrutamento (CR) da população (Figura 18), resultado da sobreposição da curva leptocúrtica gerada pela dispersão de sementes (DS) a partir do genitor, com a curva da probabilidade de sobrevivência (PS) da semente (JANZEN, 1970). Deve-se ressaltar que a população de jovens do presente estudo consistiu de indivíduos de 5 a 10 cm de diâmetro, e que esses são resultantes de vários gargalos populacionais, incluindo os dependentes de densidade e distância.

Figura 18 – Distribuição de sementes por área, segundo a hipótese de escape de Janzen-Connell; curva de recrutamento (CR), dispersão de sementes (DS) e probabilidade de sobrevivência (PS). Fonte: Adaptado de Janzen (1970)

Provavelmente, a seleção ou o efeito homogeneizador gerado pelos mecanismos dependentes de densidade e distância tenham reduzido a magnitude da EGE nos jovens. O efeito homogeneizador refere-se à sobreposição e sobrevivência dos indivíduos que constituem a parte final da curva leptocúrtica da chuva de sementes, e que foram originados por vários genitores, provavelmente em diferentes eventos reprodutivos. Essa múltipla origem pode ser confirmada pela análise de paternidade: dos 147 jovens na subparcela de 1,44 ha, 125 apresentaram 42 possíveis genitores presentes em 10,24 ha e, os demais jovens (15%) originaram-se por imigração de sementes.

No presente estudo, diante da constatação de mecanismos dependentes de densidade, de distâncias de dispersão de sementes acima de 100 m, da distribuição espacial aleatória nos jovens e agregada nos adultos e da existência de EGE, sugere-se que a síndrome de dispersão ornitocórica seja a causadora de todos esses fenômenos, associada a sobreposição de gerações. Isso porque a dispersão primária de sementes de *C. langsdorffii* é realizada predominantemente por diversas aves de porte médio e grande (MOTTA-JÚNIOR; LOMBARDI, 1990; PEDRONI, 1995). Além disso, as aves usualmente dispersam frutos de espécies que cobrem o dossel da floresta (CLARK; POULSEN; PARKER, 2001), como a *C. langsdorffii*, que é uma espécie arbórea dominante do dossel da floresta no cerradão da EEA.

Aves de grande porte (p.e. tucanos) contribuem com a maior parte da formação da chuva de sementes e, usualmente, dispersam uma grande quantidade de sementes distante das plantas genitoras (CLARK; POULSEN; PARKER, 2001; CLARK et al., 2004). Esse fato explicaria a distância de dispersão acima de 100 m em *C. langsdorffii*, no cerradão da EEA. As aves tendem a consumir sementes de diferentes espécies em um curto período, defecando ou regurgitando essas sementes, produzindo grandes agregados (HOLBROOK; SMITH, 2000; CLARK et al., 2004; LOISELLE, 1996). Um único agregado de sementes depositado por uma ave pode abranger uma grande área dentro da floresta (CLARK et al., 2004), o que explicaria a distribuição aleatória dos jovens de *C. langsdorffii* na EEA, dentro de um único agregado.

As aves são consideradas dispersores eficientes, pois dispersam as sementes uma a uma, evitando mecanismos dependentes de densidade (CLARK; POULSEN; PARKER, 2001; CLARK et al., 2004) e ainda, reduzindo ou anulando a EGE dentro das populações (CHUNG et al., 2000; 2003; TARAZI; MANTOVANI; REIS, 2009). Apesar de dispersar as sementes de maneira singular, as aves tendem a dispersá-las de maneira a formar latrinas de dispersão sob árvores frutíferas, formando grandes agregados de sementes (CLARK; POULSEN; PARKER, 2001). Essa, pode ser uma das possíveis explicações da existência de uma fraca, porém significativa, EGE até 102 m encontrada nos jovens de *C. langsdorffii* na EEA.

Além disso, as latrinas de dispersão podem aumentar a intensidade dos fenômenos dependentes de densidade resultando em alta mortalidade, mesmo diante da dispersão de sementes distante das plantas genitoras. Nesse cenário, a força dos mecanismos dependentes de densidade causam a repulsão na distribuição de árvores que apresentam dispersão ornitocórica (CLARK et al., 2004). Entretanto, no presente estudo, as árvores adultas encontravam-se num

padrão espacial agregado. De forma alternativa, se os predadores de sementes estiverem ausentes ou saciados, os mecanismos dependentes da distância entrarão em ação. Nesse caso, a dispersão agregada pode conduzir a uma maior sobrevivência das sementes depositadas sob árvores de diferentes espécies, promovendo um padrão de distribuição agregado de indivíduos dentro da floresta (CLARK et al., 2004; FRAGOSO; SILVIUS; CORREA, 2003), como o encontrado nos adultos.

A subparcela de 1,44 ha, pode ser um exemplo de local onde os mecanismos dependentes de distância estejam atuando. Isso deve-se a duas razões: a primeira está relacionada com a baixa densidade de indivíduos adultos dentro da subparcela. A outra, é a curva de dispersão realizada de sementes com tendência à normalidade, que foi encontrada na subparcela, indicando a existência do fenômeno de escape previsto na hipótese Janzen-Connell. Como o cerradão da EEA é uma floresta de formação recente (PINHEIRO; DURIGAN, 2007), provavelmente o primeiro mecanismo a atuar sobre essa população foi um mecanismo dependente de distância, o que levaria ao padrão espacial agregado dos indivíduos adultos. Atualmente, diante da alta densidade de *C. langsdorffii* no cerradão da EEA, os mecanismos dependentes de densidade e de distância devem estar atuando concomitantemente. Dessa forma, como constatado nos indivíduos adultos, o efeito homogeneizador nos genótipos gerados pela dispersão ornitocórica (CHUNG et al., 2003), aliado a um forte processo seletivo resultam na ausência de EGE nos adultos (EPPERSON, 2003; LOVELESS; HAMRICK, 1984; HARDY et al., 2006; TARAZI; MANTOVANI; REIS, 2009; VEKEMANS; HARDY, 2004).

Diante de evidências históricas de expansão do cerradão na EEA (PINHEIRO; DURIGAN, 2007) e das distâncias de dispersão realizada de sementes acima de 100 m, deveria existir uma deficiência de heterozigosidade esperada no equilíbrio de mutação-deriva (H_{eq}) nos jovens e adultos sob MDF e MPM. Essa deficiência de H_{eq} sugeriria uma recente expansão no tamanho populacional, ou imigração de um grande número de alelos raros (LUIKART; CORNEUT, 1998). Entretanto, nos jovens os resultados apontam para um equilíbrio de mutação-deriva e apenas nos adultos foi detectada, para a média dos locos, uma significativa deficiência no valor de H_{eq} . Duas hipóteses podem explicar esses resultados. A primeira hipótese é que os modelos utilizados não consideram que os indivíduos colonizadores possam ser gerados por autofecundação e por cruzamentos correlacionados e endogâmicos, o que reduziria o tamanho

efetivo (N_e). Essa redução contrapõe-se aos efeitos gerados por migração e mutação, resultando em equilíbrio de mutação-deriva, como o encontrado nos jovens. A segunda hipótese é a seleção a favor de heterozigotos, o que aumentaria o valor de N_e nos adultos, gerando uma significativa deficiência no valor de H_{eq} .

As duas hipóteses parecem ser plausíveis. Como constatado, a população adulta de *C. langsdorffii* da parcela, produziu sementes com uma taxa de autofecundação (s) de 0,141 e a população jovem manteve um valor de $s = 0,116$. Ou seja, os jovens ainda apresentavam indivíduos gerados por autofecundação. Além dessas autofecundações, foi constatado que as sementes originadas pelos adultos da parcela apresentaram valores de $t_m - t_s$, r_t , r_{pm} e $r_{ps} - r_{pm}$ significativos. Dessa forma, gerando um alto valor médio de $\hat{\Theta}_{xy}$ dentro das progênes de polinização aberta (0,170), o que reduz significativamente o valor de N_e . Apesar da nítida redução do valor médio da coancestria nos jovens (0,043), quando comparados com o das sementes, esse valor continuou significativo. Isso se deve ao fato que os genitores dos jovens originaram, cada um, em média três indivíduos. Por outro lado, nos adultos o valor médio de coancestria não foi significativo. Além disso, houve uma nítida redução no índice de fixação (F), indicando seleção a favor de heterozigotos, o que aumenta o valor de N_e e, conseqüentemente, gera significativa deficiência no valor de H_{eq} .

Vale ressaltar, que as sementes apresentavam uma alta coancestria, porém essa coancestria foi reduzida significativamente nos jovens até a sua ausência nos adultos, indicando que apesar das autofecundações e cruzamentos correlacionados durante a polinização, os efeitos da dispersão e pós-dispersão de sementes foram os que mais influenciaram a EGE na população de *C. langsdorffii*, na EEA. Dessa forma, a EGE é mais influenciada pela dispersão de sementes e processos seletivos pós-dispersão, do que pela dispersão de pólen (CHUNG et al., 2003; HAMRICK; NASON, 1996; HARDY; VEKEMANS, 2002; HARDY et al., 2006; LOVELESS; HAMRICK, 1984; TARAZI; MANTOVANI; REIS, 2009; VEKEMANS; HARDY, 2004).

Alternativamente, uma explicação para a ausência de EGE nos adultos é o restrito número de indivíduos existentes na parcela (57 adultos). Estudos de Cavers et al. (2005) têm demonstrado que para a garantia de uma apurada detecção ou aumento da sensibilidade estatística na identificação desse fenômeno, são necessárias amostras entre 100 a 200 genótipos e de cinco a

dez locos SSR, respectivamente, dentro de uma parcela. Isso pode ser uma das explicações para a detecção de EGE nos jovens (147 genótipos) e ausência nos adultos. Portanto, não se exclui totalmente a possibilidade de existir EGE na geração adulta, em uma escala maior do que a realizada neste estudo. Sugere-se, desta forma, que futuros estudos realizados em florestas contínuas utilizem parcelas que atinjam amostras entre 100 a 200 genótipos de cada geração, conforme Cavers et al. (2005).

2.5.2 Diversidade genética e endogamia

Existem altos níveis de diversidade genética em todas as gerações (adultos, jovens e progênes) da população de *C. langsdorffii*. Estes altos valores de diversidade genética demonstram que a respectiva população apresenta um grande potencial para a conservação genética *in situ* e para ser utilizada como fonte de material genético (sementes) para a conservação *ex situ*. A alta diversidade genética parece ser uma característica comum para essa espécie (MARTINS et al., 2008; OLIVEIRA; CARVALHO; ROSADO, 2002; PINTO; SOUZA; CARVALHO, 2004). Os fatores que auxiliam no acúmulo de maior diversidade genética dentro de populações são relacionados com a ampla distribuição geográfica, alta densidade populacional, ciclo de vida longo e sistema de reprodução com predominância de cruzamentos (HAMRICK; GODT; SHERMAN-BROYLES, 1992; LEIMU et al., 2006), como no caso de *C. langsdorffii*.

Apesar dos altos valores de diversidade genética encontrados, houve uma nítida estruturação genética entre gerações e locais (parcela e borda). As árvores adultas apresentaram diversidade genética significativamente maior do que os jovens e do que as sementes de polinização aberta, mas apenas para a heterozigosidade observada (H_o). Sabendo-se que o parâmetro H_o influencia diretamente na estimativa do índice de fixação [$\hat{F} = (\hat{H}_e - \hat{H}_o) / \hat{H}_e$], e mesmo que a heterozigosidade esperada (H_e) tenha sido maior do que a observada, independentemente da geração ou do local estudado, as árvores adultas apresentaram um menor índice de fixação. Esse menor valor de F indica uma menor endogamia nos adultos, mesmo diante da correção para o efeito Wahlund ($F_N = 0,107$) nos jovens. Vale ressaltar que o valor de F_N foi muito maior do que o valor esperado do coeficiente de endogamia sob equilíbrio de Wright [$\hat{F} = \hat{s} / (2 - \hat{s}) = 0,062$, em que $s = 0,116$ foi a taxa de autofecundação obtida partir da

análise de paternidade]. Dessa forma, aceita-se a hipótese de que as progênies e jovens apresentam uma maior endogamia devido aos cruzamentos entre aparentados e autofecundações.

O alto valor do índice de fixação condiz com o histórico de expansão da população de *C. langsdorffii* na EEA. Em menos de 60 anos, o cerradão da EEA, ambiente onde *C. langsdorffii* encontrava-se em alta densidade, expandiu sua área de abrangência em 75% (PINHEIRO; DURIGAN, 2007). Desde a criação da EEA, o seu entorno foi dominado por uma paisagem rural com poucos fragmentos florestais que poderiam conter *C. langsdorffii*. Dessa forma, o alto valor do índice de fixação encontrado nas três gerações amostradas na parcela de 10,24 ha foi provavelmente causado pela expansão de uma população isolada e altamente fragmentada. Como a população estava isolada e se expandiu rapidamente, deu origem a novos indivíduos com um relativo alto grau de parentesco entre si, resultado no cruzamento entre parentes, além das autofecundações. Além disso, os altos índices de fixação podem ter sido resultado também de alterações do sistema de reprodução da população em ambientes abertos. Assim, como foi demonstrado neste estudo, no qual árvores na borda apresentaram maior taxa de autofecundação do que árvores da parcela. Isso sugere que árvores desta espécie que ocorre em ambientes abertos, como bordas ou em campos e pastagem, podem apresentar maior taxa de autofecundação. Este fenômeno foi observado em vários estudos com espécies arbóreas tropicais (ALDRICH; HAMRICK, 1998; DICK et al., 2008; HANSON et al., 2008).

Na parcela de 10,24 ha, a seleção e a imigração de alelos estão ocorrendo simultaneamente, o que explicaria o maior número de alelos e índice de fixação nas progênies em relação aos adultos. Este fato é comprovado pela alta taxa de 64% de imigração do pólen na parcela, medida nas progênies e significativa deficiência no valor de H_{eq} nos adultos. As reduções no número de alelos e no índice de fixação acompanham a redução na densidade populacional, à medida que os indivíduos aumentam sua classe diamétrica. Alguns estudos baseados em locos microssatélites têm observado a ocorrência de seleção natural contra indivíduos homozigóticos entre a fase juvenil e adulta. Por exemplo, Conte et al. (2003) observaram o favorecimento de indivíduos heterozigóticos em populações de *Euterpe edulis* Mart., espécie comum que ocorre em alta densidade na mata atlântica. Os autores atribuíram este resultado a possível ligação entre os marcadores SSR à locos seletivos ou a sua ocorrência dentro de genes sob seleção.

As características ecológicas de *E. edulis* (espécie comum e de alta densidade) são similares às encontradas para *C. langsdorffii* na população estudada. Isso sugere que o mesmo fenômeno também pode estar ocorrendo na presente população e os locos estudados podem estar ligados ou localizados dentro locos seletivos. A possível seleção a favor de indivíduos heterozigóticos encontrada neste estudo aumentaria a adaptabilidade da população e manteria a endogamia relativamente baixa, durante as gerações. Contudo, a vantagem seletiva dos indivíduos heterozigóticos constitui apenas uma das razões para o aumento de heterozigosidade no estágio adulto. Numa dada geração o aumento da frequência de heterozigotos pode ser resultado da seleção contra apenas um dos homozigotos (KÄRKKÄINEN; LOE; AGREN, 1999).

O número de alelos nas progênies da parcela foi significativamente maior do que o encontrado nas progênies da borda. Três fenômenos podem explicar este resultado: 1º) menor disponibilidade de doadores de pólen na borda em relação ao interior da floresta. O tamanho amostral de alelos pode ter sido reduzido devido ao menor número de doadores de pólen participando do processo de reprodução na borda (deriva genética), o que afeta a frequência alélica da próxima geração e reduz o tamanho efetivo nas sementes (VENCOVSKY; CROSSA, 2003; YEH, 2000); 2º) mudanças nos padrões de reprodução da espécie na borda do fragmento, como aumento na taxa de autofecundação. Mudanças microclimáticas causadas pela fragmentação podem afetar diretamente o sistema reprodutivo das plantas (LOVEJOY et al., 1986) e aumentar a taxa de autofecundação (CASCANTE et al., 2002; DICK et al., 2008); 3º) os polinizadores estariam com menor nível de atividade na borda quando comparado ao interior do fragmento. A fragmentação pode afetar o comportamento dos polinizadores, influenciar na visitação de polinizadores e, conseqüentemente, reduzir a quantidade de frutos produzidos, em comparação com ambientes não fragmentados (AIZEN; FEINSIGER, 1994a; JENNERSTEN, 1988). Além disso, a baixa densidade de indivíduos reprodutivos na borda não seria atraente para os polinizadores (JENNERSTEN, 1988).

2.5.3 Sistema de reprodução

As árvores matrizes da parcela e da borda apresentaram um sistema misto de reprodução com predomínio de cruzamentos, além de uma diferença significativa no valor da taxa de cruzamento multilocos (t_m). As árvores da borda apresentaram uma maior taxa de autofecundação do que aquelas da parcela, evidenciando um nítido efeito de borda sobre o

sistema de reprodução de *C. langsdorffii*, no cerradão da EEA. Dessa forma, o cerradão deve ser monitorado, conservado e manejado como uma floresta tropical, visto que pode apresentar os mesmos efeitos de borda verificados em outras florestas tropicais. Contudo, não se pode inferir que os resultados obtidos sejam conclusivamente negativos para a manutenção e evolução da espécie na EEA.

Cruzamentos e autofecundações em angiospermas são regulados por fatores genéticos, fisiológicos e morfológicos e, pela interação da planta com seus polinizadores e plantas vizinhas (GOODWILLIE; KALIZ; ECKERT, 2005). Estudos fenológicos através de cruzamentos dirigidos (FREITAS; OLIVEIRA, 2002) e utilizando marcadores alozímicos (OLIVEIRA; CARVALHO; ROSADO, 2002) comprovaram a possibilidade de autofecundação em *C. langsdorffii*. Não foi observado autogamia, apenas geitonogamia, o que indica uma dependência de agentes polinizadores (FREITAS; OLIVEIRA, 2002). Contudo, a possibilidade de autogamia não pode ser descartada em *C. langsdorffii* pois, em muitas espécies que também apresentam flores hercogâmicas, mesmo na ausência de polinizadores, durante a senescência da flor as anteras podem encostar no pistilo, promovendo a autogamia (FREITAS; SAZIMA, 2009).

Por um lado, apesar das conseqüências da depressão por endogamia, a autofecundação pode promover o sucesso reprodutivo em ambientes hostis, onde os polinizadores são escassos, promovendo a colonização de novas áreas (FREITAS; SAZIMA, 2009; GOODWILLIE; KALIZ; ECKERT, 2005). Plantas hermafroditas e auto-compatíveis apresentam vantagem seletiva na colonização de ambientes ainda não ocupados (BAKER, 1967; EPPLEY; PANNELL, 2007; STEBBINS, 1957). A medida que ocorre autofecundação, alelos recessivos que causam a depressão por endogamia podem ser eliminados por seleção. Dessa forma, num mecanismo de retroalimentação positiva, a seleção poderia facilitar o aumento de alelos de auto-compatibilidade, fenômeno chamado de “seleção automática” (CHAPTOU; SHOEN, 2007; FISHER, 1941; GOODWILLIE; KALIZ; ECKERT, 2005; HOLSINGER, 2000; LANDE; SCHEMSKE, 1985).

Por outro lado, na ausência de seleção automática ou na presença de polinizadores, a autofecundação torna-se desvantajosa em relação ao sistema de cruzamentos (CHAPTOU; SHOEN, 2007; GOODWILLIE; KALIZ; ECKERT, 2005; HOLSINGER, 2000). Os cruzamentos são importantes por gerarem novas recombinações gênicas promovendo, conseqüentemente, a manutenção da diversidade genética e do potencial adaptativo da espécie. Um alto potencial

adaptativo contrapõe os efeitos gerados pelas estocasticidades ambientais (GEBUREK, 2000). Contudo, a evolução da transição dos sistemas de reprodução, e a adequação desses sistemas em populações e espécies, demanda tempo e área suficientes (CHAPTOU; SHOEN, 2007; GOODWILLIE; KALIZ; ECKERT, 2005). Atualmente, por causa da intensa fragmentação florestal e do uso inadequado da terra, não há áreas disponíveis para colonização natural de espécies em novos habitats (SMITH-RAMÍREZ et al., 2007; YOUNG; BOYLE, 2000). Além disso, as mudanças climáticas geradas pelo homem vêm ocorrendo numa velocidade superior àquelas conhecidas no tempo geológico do planeta (MALHI et al., 2008; PARMESAN; YOHE, 2003; SOLOMON et al., 2009). Logo, uma espécie não pode depender unicamente da transição do seu sistema de reprodução para contrapor os efeitos gerados pelas estocasticidades ambientais e degradação antrópica. Para sua sobrevivência há a necessidade de que o seu sistema de reprodução garanta a manutenção da diversidade genética e um tamanho efetivo adequado. Além disso, os polinizadores devem existir e garantir uma dispersão efetiva de pólen.

O aumento nas autofecundações gerado pelos efeitos de borda também influenciaram substancialmente a divergência global do reservatório gênico do pólen recebido por diferentes árvores matrizes ($\hat{\Phi}''_{ft}$). Os resultados mostraram diferenças significativas na diferenciação genética do reservatório gênico do pólen entre a parcela e a borda, sendo a diferenciação maior na borda (Tabela 15). Na parcela, o valor significativo de $\hat{\Phi}''_{ft}$ deve-se em parte a autofecundação e a forte tendência de cruzamento entre árvores espacialmente próximas, do que entre árvores distantes entre si, fato comprovado pela análise de paternidade. Por outro lado, a diferenciação no conjunto do pólen recebido pelas árvores da borda foi inflada pelas autofecundações (Tabelas 13 e 15).

Autofecundações aumenta a frequência de alelos maternos dentro de progênes e, conseqüentemente, aumentam a diferenciação no conjunto de pólen entre diferentes matrizes. Isso tem fortes implicações para a coleta de sementes para conservação, melhoramento e recuperação ambiental, visto que nestes casos objetiva-se obter o máximo de diversidade genética e tamanho nas amostras. Por exemplo, se a divergência no conjunto de pólen recebido por diferentes árvores matrizes foi ocasionada por autofecundações e não porque as respectivas matrizes receberem diferentes conjuntos gênicos ou conjuntos de pólen não sobrepostos, então as amostras reterão menor diversidade genética e tamanho efetivo. Assim, de acordo com os resultados, a coleta de semente deve ser realizada preferencialmente onde a diferenciação no

conjunto de pólen foi menor. Em concordância, o tamanho efetivo médio dentro de progênes ($N_{e(v)}$) foi maior nas árvores da parcela.

2.5.4 Padrões e distância de dispersão de pólen

A dispersão de pólen contemporânea e realizada ocorreu até 300 m dentro da parcela o que indicou que os polinizadores dentro da EEA estão ativos e mantiveram o mesmo padrão de dispersão diante de diferentes eventos reprodutivos. Contudo, embora a dispersão de pólen tenha atingido grandes distâncias, foi observado um padrão de dispersão com alta frequência de pólen ($\approx 60\%$) sendo disperso a distâncias relativamente curtas (150 m) e baixa frequência a longas distâncias (Figuras 15 e 16). Trata-se de um padrão típico de isolamento por distância e que tem sido evidenciado em muitos outros estudos com espécies arbóreas (BITTENCOURT; SEBBENN, 2007; ROBLEDO-ARNUNCIO; AUSTERLITZ; SMOUSE, 2007). No entanto, a presente estimativa da dispersão de pólen a longas distâncias está subestimada, visto que grande parte do pólen foi detectado por imigração na parcela (64%).

A área efetiva de vizinhança de polinização (A_{ep}) foi estimada em até 5,3 ha, demonstrando a capacidade de forrageamento dos dispersores de *C. langsdorffii* e a necessidade de manutenção de fragmentos florestais maiores do que essa área. Esses resultados são condizentes com a distância de vôo de forrageamento dos visitantes mais frequentes de *C. langsdorffii*: *Apis mellifera*, *Scaptotrigona cf. depiles* e *Trigona spinipes* (FREITAS; OLIVEIRA, 2002); que apresentam a capacidade de forragear efetivamente por até 2 km (ARAÚJO et al., 2004; PIERROT; SCHLINDWIN, 2003). Apesar dessa capacidade, em ambientes florestais de alta densidade populacional e vegetal, a distância de polinização realizada por abelhas limita-se à 300 m (DICK et al. 2008; HANSON et al., 2008), como encontrado no presente estudo. Além disso, foi constatado que as árvores de maior DAP contribuíram menos do que aquelas com DAP de aproximadamente 25 cm, sugerindo senilidade de árvores reprodutivas na população.

2.5.5 Implicações para conservação

Uma grande quantidade de indivíduos e altos valores de diversidade genética foram encontrados na parcela de 10,24 ha. Extrapolando esses resultados para a área total da EEA, isso demonstra que a população apresenta um grande potencial para a conservação genética *in situ* e

para coleta de sementes para conservação genética, como já comentado. Os polinizadores e dispersores atuaram efetivamente dentro da parcela, promovendo intenso fluxo gênico dentro da área. Apesar da dispersão de pólen e sementes causarem EGE, mecanismos dependentes de densidade e distância, seleção a favor de indivíduos heterozigóticos ou, ainda, depressão endogâmica provavelmente entraram em ação, reduzindo a EGE e a endogamia durante os estágios de desenvolvimento de *C. langsdorffii*. Por outro lado, foi constatado um nítido efeito de borda influenciando o sistema de reprodução, resultando no aumento da taxa de autofecundação, o que reduziu o tamanho efetivo dentro das progênies coletadas na borda. Na parcela também ocorreu redução no tamanho efetivo devido a autofecundações, embora em uma taxa menor do que na borda.

Populações que apresentam $N_e=50$ têm, teoricamente, a possibilidade de manter a diversidade genética e superar os efeitos estocásticos no curto prazo, 10 gerações (FRANKEL; SOULÉ, 1981). A estimativa do tamanho efetivo da geração adulta e dos jovens da parcela indicou que este foi menor do que 50. Os 57 adultos e 147 jovens representam um valor de N_e de 21 e 19, respectivamente. Logo, os 57 adultos e os 147 jovens representam 21 e 19 indivíduos não aparentados e não endogâmicos, respectivamente. Contudo, a parcela representa apenas uma pequena fração do total de área da EEA. Como *C. langsdorffii* encontra-se em alta densidade por todo o cerradão da EEA, possivelmente o número de indivíduos existentes na área seria suficiente para alcançar um valor de $N_e = 1000$. O mesmo raciocínio vale para a estimativa de AMV de *C. langsdorffii* na EEA. A área de 1.760,64 ha da EEA tem a capacidade de comportar pelo menos quatro $AMV_{(1000)}$, oito $AMV_{(500)}$ e 16 $AMV_{(50)}$, logo, o respectivo fragmento, tem potencial para a conservação *in situ* e para servir para a coleta de sementes para conservação *ex situ* e recuperação ambiental.

Os resultados mostraram que o número mínimo de matrizes necessárias para coleta de sementes, visando atingir $N_{e(v)} = 500$, foi maior na borda do que na parcela. Ou seja, para fins de restauração florestal ou conservação *ex situ*, sugere-se coletar sementes de árvores no interior dos fragmentos ou aumentar a amostragem nas bordas para que não haja redução da representatividade genética. Além disso, pela curva de dispersão do pólen, sugere-se coletar sementes de árvores, pelo menos a 300 m distantes entre si, independentemente do local. Evitando, dessa forma, coletar sementes de matrizes aparentes, que se cruzaram entre si ou

receberam pólen de mesma árvore doadora, conseqüentemente, anulando todo e qualquer parentesco entre indivíduos de diferentes progênies.

A intensa fragmentação do cerrado brasileiro faz com que sejam poucas as áreas que abranjam 244 ha de floresta contínua (DURIGAN, 2008; KLINK; MACHADO, 2005; KRONKA et al., 2005). Essa seria a área mínima viável necessária para garantir a conservação de indivíduos reprodutivos de *C. langsdorffii* a partir de um tamanho efetivo de 500 ($AMV_{(500)}$). Contudo, existem áreas de cerrado maiores do que a EEA, que poderiam manter populações mínimas viáveis de *C. langsdorffii*, com as mesmas características daquelas encontradas em Assis. Entretanto, para a viabilidade e manutenção dessa proposta, requer-se uma grande quantidade de fragmentos que apresentem conectividade e fluxo gênico. Dessa forma, seria possível conservar o potencial evolutivo de *C. langsdorffii*, e proporcionar recursos e habitat para seus polinizadores e dispersores, que por sua vez, influenciam na sua diversidade e estrutura genética.

Uma vez que a atividade agrícola representa importante setor econômico na economia brasileira, para a manutenção da conectividade entre fragmentos florestais no cerrado, há a necessidade que os planos de conservação e manejo conciliem a atividade agrícola com a conservação da biodiversidade. Como o cerrado brasileiro vem sendo substituído por uma paisagem agrícola e as unidades de conservação correspondem a menos de 3,18% da sua área de abrangência, os proprietários rurais devem ser tratados como atores principais na conservação da biodiversidade. Incentivos devem ser provisionados para o desenvolvimento sustentável das atividades agrícolas proporcionando um melhor uso da terra (HARVEY et al., 2008; PERFECTO; VANDERMEER, 2008).

Vale ressaltar que, se as leis federais, como o artigo 225 da Constituição Federal, a lei 6938/1981 e a lei 4771/1965 fossem respeitadas integralmente, o cerrado teria a garantia de conservação, sem a necessidade de criação de novas unidades de conservação. A legislação prevê que 20% da área total de propriedades rurais seja destinada à reserva legal, além da garantia de corredores contínuos de fluxo gênico representados pelas áreas de proteção permanente. Outra forma de aliar agricultura e conservação da biodiversidade é através de sistemas agroflorestais (HARVEY et al., 2008; PERFECTO; VANDERMEER, 2008). Estes sistemas poderiam prover proteção e sombra para as espécies típicas de cerradão, servir de barreira corta-fogo no cerrado *stricto sensu* e integrar-se nos corredores ecológicos servindo como fonte de renda alternativa, além de reduzir os efeitos de borda, no caso do cerradão.

3. CONCLUSÕES

1. Existem mecanismos genéticos e ecológicos que elevam a frequência de heterozigotos e reduzem a endogamia em árvores adultas, em comparação com jovens e sementes.
2. Existe estrutura genética espacial intrapopulacional nos jovens.
3. O efeito de borda afeta o sistema de reprodução da espécie.
4. Existe um intenso movimento de genes via sementes e pólen de *C. langsdorffii* no interior da EEA.
5. O padrão de dispersão de sementes de *C. langsdorffii* na EEA tende a uma distribuição normal.
6. A Estação Ecológica de Assis apresenta uma área mínima viável para conservação do potencial evolutivo da população existente.
7. Devido ao efeito de borda sobre o sistema de reprodução, o esforço amostral de sementes de polinização aberta em árvores matrizes tem que ser maior na borda do que no interior do fragmento.

REFERÊNCIAS

- AIZEN, M.A.; FEINSIGER, P. Forest fragmentation, pollination, and plant reproduction in a Chaco Dry Forest, Argentina. **Ecology**, Washington, v.75, n.2, p.330-351, 1994a.
- AIZEN, M.A.; FEINSIGER, P. Habitat fragmentation, native insect pollinators, and feral honey bees in Argentine 'Chaco Serrano'. **Ecological Applications**, Boulder, v.4, n.2, p.378-392, 1994b.
- ALDRICH, P.R.; HAMRICK, J.L. Reproductive dominance of pasture trees in a fragmented tropical forest mosaic. **Science**, Washington, v.281, p.103-105, 1998.
- ARAÚJO, E.D.; COSTA, M.; CHAUD-NETTO, J.; FOWLER, H.G. Body size and flight distance in stingless bees (Hymenoptera: Meliponini): inference of flight range and possible ecological implications. **Brazilian Journal of Biology**, São Carlos, v.64, p.563-568, 2004.
- AUGSPURGER, C.K. Phenology, flowering synchrony, and fruit set of six Neotropical shrubs. **Biotropica**, Lawrence, v.15, p.257-267, 1983.
- AUSTERLITZ, F.; DICK, C.W.; DUTECH, C.; KLEIN, E.K.; ODDOU-MURATORIO, S.; SMOUSE, P.E.; SORK, V.L. Using genetic markers to estimate the pollen dispersal curve. **Molecular Ecology**, Oxford, v.13, p.937-954, 2004.
- AUSTERLITZ, F.; SMOUSE, P.E. Two-generation analysis of pollen flow across a landscape. II. Relation between Φ_{it} , pollen dispersal and interfemale distance. **Genetics**, Chicago, v.157, p.851-857, 2001.
- AUSTERLITZ, F.; SMOUSE, P.E. Two-generation Analysis of pollen flow across a landscape. IV. Estimating the dispersal parameter. **Genetics**, Chicago. v.161, p.355-363, 2002.
- BAKER, H.G. Support for Baker's law: as a rule. **Evolution**, Lancaster, v.21, p.853-856, 1967.
- BARRET, S.C.H. Mating strategies in flowering plants: the outcrossing-selfing paradigm and beyond. **Philosophical Transactions of the Royal Society of London**, London, v.358, p.991-1004, 2003.
- BARRETT, S.C.H.; HARDER, L.D.; WORLEY, A.C. The comparative biology of pollination and mating in flowering plants. **Philosophical Transactions of the Royal Society of London**, London, v.351, p.1271-1280, 1996.
- BARRETT, S.C.H.; KOHN, J.R. Genetic and evolutionary consequences of small population sizes in plants: implications for conservation. In: FALK, D.A.; HOLSINGER, K.E. (Eds.). **Genetics and conservation of rare plants**. New York: Oxford University Press, 1991. p. 3-30.
- BAWA, K.S. Evolution of dioecy in flowering plants. **Annual Review of Ecology and Systematics**, Palo Alto, v.11, p.15-39, 1980.

BAWA, K.S. Patterns of flowering in tropical plants. In: JONES, C.E.; LITTLE, R.J. (Ed.). **Handbook of experimental pollination biology**. New York: Scientific and Academic Editions, 1983. p.394-410.

BITTENCOURT, J.V.M.; SEBBENN, A.M. Patterns of pollen and seed dispersal in a small fragmented population of a wind pollinated *Araucaria angustifolia* in southern Brazil. **Heredity**, London, v.99, p.580-591, 2007.

BITTENCOURT, J.V.M.; SEBBENN, A.M. Pollen movement and spatial genetic structure in a continuous forest of wind-pollinated *Araucaria angustifolia*, inferred from paternity and TWOGENER analysis. **Conservation Genetics**, Arlington, v. 9, p. 855-868, 2008.

BIZERRIL, M. X. A. **Vivendo no cerrado e aprendendo com ele**. São Paulo: Saraiva, 2004. 79p.

BOGNOLA, I.A.; JOAQUIM, A.C.; PRADO, H.; LEPSCH, I.F. **Levantamento pedológico semidetalhado da região do governo de Assis**. Escala 1:50.000. Convênio IAC/CIERGA/IGC, 1990.

BOSHIER, D.H. Mating systems. In: YOUNG, A.; BOSHIER, D.; BOYLE, T. (Eds.). **Forest conservation genetics: principles and practice**. Collingwood: CSIRO, 2000, p. 63-79.

BURCZYK, J.; KORALEWSKI, T.E. Parentage versus two-generation analyses for estimating pollen-mediated gene flow in plant populations. **Molecular Ecology**, Oxford, v.14, p.2525–2537, 2005.

CARVALHO, P.E.R. **Espécies Florestais Brasileiras: recomendações silviculturais, potencialidades e uso da madeira**. Colombo: EMBRAPA-CNPQ, 639p. 2003.

CASCANTE, A.; QUESADA, M.; LOBO, J.J.; FUCHS, E.A. Effects of dry tropical Forest fragmentation on the reproductive success and genetic structure of the tree *Samanea saman*. **Conservation Biology**, Oxford, v.16, p.137-147, 2002.

CAVERS, S.; DEGEN, B.; CARON, H.; LEMES M.R.; MARGIS, R.; SALGUEIRO, F.; LOWE, A.J. Optimal sampling strategy for estimation of spatial genetic structure in tree populations. **Heredity**, London, v.95, p.281–289, 2005.

CHARLESWORTH, D. Plant sex determination and sex chromosomes. **Heredity**, London, v.88, p. 94-101, 2002.

CHEPTOU, P.O.; SCHOEN, D.J. Combining population genetics and demographical approaches in evolutionary studies of plant mating systems. **Oikos**, Copenhagen, v.116, p.271–279, 2007.

CHUNG, M.G.; CHUNG M.Y.; OH G.S.; EPPERSON B.K. Spatial genetic structure in a *Neolitsea sericea* population (Lauraceae). **Heredity**, London, v.85, p.490–497, 2000.

CHUNG, M.Y.; NASON, J.D.; EPPERSON, B.K.; CHUNG, M.G. Temporal aspects of the fine-scale genetic structure in a population of *Cinnamomum insularimontanum* (Lauraceae). **Heredity**, London, v.90, p.98-106, 2003.

CIAMPI, A.Y.; BRONDANI, R.P.V.; GRATTAPAGLIA, D. Desenvolvimento de marcadores microsatélites para *Copaifera langsdorffii* Desf. (copaíba) Leguminosae – Caesalpinoideae e otimização de sistemas fluorescentes de genotipagem multiloco. **Boletim de Pesquisa da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia**, Brasília, v.16, p. 1-40, 2000.

CLARK, C.J.; POULSEN, J.R.; CONNOR, E.F.; PARKER, V.T. Fruiting trees as dispersal foci in a semi-deciduous tropical forest. **Oecologia**, Berlin, v.139, p.66-75, 2004.

CLARK, C.J.; POULSEN, J.R.; PARKER, V.T. The role of arboreal seed dispersal groups on the seed rain of a lowland tropical forest. **Biotropica**, Lawrence, v.33, p.606–620, 2001.

CLARK, D.A.; CLARK, D.B. Spacing dynamics of a tropical rainforest tree: evaluation of the Janzen-Connell model. **The American Naturalist**, Chicago, v.124, p.769–788, 1984.

CLARK, P.J.; EVANS, F.C. Distance to nearest neighbor as a measure of spatial relationships in populations. **Ecology**, Washington, v.35, p.445-456, 1954.

COATES, D.J.; SAMPSON, J.F.; YATES, C.J. Plant mating systems and assessing population persistence in fragmented landscapes. **Australian Journal of Botany**, Collingwood, v.55, p.239-249, 2007.

COCKERHAM, C.C. Variance of gene frequency. **Evolution**, Lancaster, v. 23, p. 72-84, 1969.

CONDIT, R.; ASHTON, P.S.; BAKER, P.; BUNYAVEJCHEWIN, S.; GUNATILLEKE, S.; GUNATILLEKE, N.; HUBBELL, S.P.; FOSTER, R.B.; ITOH, A.; LAFRANKIE, J.V.; LEE, H.S.; LOSOS, E.; MANOKARAN, N.; SUKUMAR, R.; YAMAKURA, T. Spatial Patterns in the distribution of tropical tree species. **Science**, Washington, v.288, p.1414-1418, 2000.

CONNELL, J.H. On the role of natural enemies in preventing competitive exclusion in some marine animals and rain forest trees. In: BOER, P. J.; GRADWELL, G.R. (Eds.). **Dynamics of populations**. Wageningen: PUDDOC, 1971. p. 298-312.

CONSERVATION INTERNATIONAL BRASIL. 2004. Disponível em <<http://www.conservation.org.br>>. Acesso em: 15 jul 2009.

CONSTITUIÇÃO DA REPÚBLICA FEDERATIVA DO BRASIL, 1988. Disponível em: <http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/constituicao/constitui%C3%A7ao.htm>. Acesso em: 15 jul 2009.

CONTE, R.; NODARI, R.O.; VENCovsky, R.; REIS, M.S. Genetic diversity and recruitment of the tropical palm, *Euterpe edulis* Mart., in a natural population from the Brazilian Atlantic Forest. **Heredity**, London, v.91, p. 401–406, 2003.

CORNUET, J.M.; LUIKART, G. Description and power analysis of two tests for detecting recent population bottlenecks from allele frequency data. **Genetics**, Chicago, v.144, p. 2001-2014, 1996.

COUTINHO, L. M. O conceito de Cerrado. **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, n.1, p. 17-23, 1978.

CRAWFORD, M.; JESSON, L.K.; GARNOCK-JONES, P.J. Correlated evolution of sexual system and life-history traits in mosses. **Evolution**, Lancaster, v.63, n.5, p.1129-1142, 2009.

CRESTE, S.; TULMANN NETO, A.; FIGUEIRA, A. Detection of single sequence repeat polymorphism in denaturing polyacrylamide sequencing gels by silver staining. **Plant Molecular Biology Reporter**, Athens, v. 19, n.4, p. 299-306, 2001.

DAVID, P.; PUJOL, B.; VIARD, F.; CASTELLAS, V.; GOUDET, J. Reliable selfing rate estimates from imperfect population data. **Molecular Ecology**, Oxford, v.16, p. 2474-2487, 2007.

DEAN, W. **A ferro e fogo: a história e a devastação da Mata Atlântica brasileira**. São Paulo: Companhia da Letras, 2004. 484p.

DEGEN, B.; PETIT, R.; KREMER, A. SGS - Spatial Genetic Software: A computer program for analysis of spatial genetic and phenotypic structures of individuals and populations. **Journal of Heredity**, Washington, v. 92, p.447-448, 2001.

DI RIENZO, A.; PETERSON, A.C.; GARZA, J.C.; VALDES, A.M.; SLATKIN, M. FREIMER, N.B. Mutational processes of Simple(Sequence Repeat loci in human populations. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, Washington, v. 91, n. 8, p.3166-3170, 1994.

DICK, C. W.; HARDY, O. J.; JONES, F. A.; PETIT, R. J. Spatial Scales of Pollen and Seed-Mediated Gene Flow in Tropical Rain Forest Trees. **Tropical Plant Biology**, New York, v.1, p.20-33, 2008.

DOYLE, J.J.; DOYLE, J.L. Isolation of plant DNA from fresh tissue. **Focus**, Rockville, v.12, p.13-15, 1990.

DURIGAN, G. Bases e diretrizes para a restauração da vegetação de cerrado. In: KAGEYAMA, P.Y.; OLIVEIRA, R.E.; MORAES, L.F.O.; ENGEL, V.E.; GANDARA, F.B. (Ed.). **Restauração ecológica de sistemas naturais**. Botucatu: FEPAP, 2008. p.187-204.

DURIGAN, G.; BACIC, M.C.; FRANCO, G.A.D.C.; SIQUEIRA, M.F. Inventário florístico do cerrado na Estação Ecológica de Assis, SP. **Hoehnea**, São Paulo, v.26, p. 149-179, 1999.

DURIGAN, G.; FRANCO, G.A.D.C.; PASTORE, J.A.; AGUIAR, O.T. Regeneração natural da vegetação de cerrado sob floresta de *Eucalyptus citriodora*. **Revista do Instituto Florestal**, São Paulo, v.9, n.1, p. 19-36, 1997.

DURIGAN, G.; FRANCO, G.A.D.C.; SIQUEIRA, M.F. A vegetação dos remanescentes de Cerrado no Estado de São Paulo. In: BITENCOURT, M.D.; MENDONÇA, R.R. (Ed.). **Viabilidade da conservação dos remanescentes de Cerrado no Estado de São Paulo**. São Paulo: FAPESP, 2004. p.29-56.

DURIGAN, G; SIQUEIRA, M.F.; FRANCO, G.A.D.C. Threats to the cerrado remnants of the state of São Paulo, Brazil. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v.64, n.4, p. 355-363, 2007.

DWYER, J.D. Further studies on the new world species of *Copaifera*. **Bulletin of the Torrey Botanical Club**, Torrey, v. 81, n. 3, p.179-187, 1954.

DWYER, J.D. The Central American, West Indian and South American species of *Copaifera* (Caesalpiniaceae). **Brittonia**, Bronx, v.7, n.3, p.143-172, 1951.

DYER, R.J.; WESTFALL, R.D.; SORK, V.L.; SMOUSE, P.E. Two-generation analysis of pollen flow across a landscape V: a stepwise approach for extracting factors contributing to pollen structure. **Heredity**, London, v.92, p.204–211, 2004.

EITEN, G. The cerrado vegetation of Brazil. **Botanical Review**, New York, n.38, v.2, p.201-341, 1972.

ENDRESS, P.K. **Diversity and evolutionary biology of tropical flowers**. Cambridge: Cambridge University Press, 1994. 511p.

ENNOS, R.A.; CLEGG, M.T. Effect of population substructuring on estimates of outcrossing rate in plant population. **Heredity**, London, v.48, p.283-292, 1982.

EPPELSON, B.K. **Geographical genetics**., Princeton: Princeton University Press, 2003. 356p.

EPPLEY, S.M.; PANNELL, J.R. Sexual systems and measures of occupancy and abundance in annual plant: testing the metapopulation model, **The American Naturalist**, Chicago, v.169, n.1, p. 20-28, 2007.

EWENS, W.J.; BROCKWELL, P.J.; GANI, J.M.; RESNICK, S.I. Minimum viable population size in the presence of catastrophes. In: SOULÉ, M.E. (Ed.). **Viable populations for conservation**. Cambridge: Cambridge University Press, 1996. p. 59-68.

EXOFFIER, P.E.; 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**, Chicago, v.131, p. 479–491, 1992.

FELFILI, J.M.; SCARIOT, A.O.; SILVA, J.C.S. Biodiversidade, ecologia e conservação do cerrado: Avanços do conhecimento. In: SCARIOT, A. O.; SOUSA-SILVA, J.C.; FELFILI, J.M. (Ed.). **Biodiversidade, ecologia e conservação do cerrado**, Brasília: Ministério do Meio Ambiente, 2005. p. 25-44.

FISCHER, J.; LINDENMAYER, D.B. Landscape modification and habitat fragmentation: a synthesis. **Global Ecology and Biogeography**, Oxford, v.16, p.265–280. 2007.

FISHER, R.A. Average excess and average effect of a gene substitution. **Annual Eugenics**, Edinburgh, v.11, p.53–631, 1941.

FISHER, R.A. **The genetic theory of natural selection**. Oxford: Clarendon Press, 1930. 280p.

FRAGOSO, J.M.; SILVIUS, K.M.; CORREA, J.A. Long distance seed dispersal by tapirs increases seed survival and aggregates tropical trees. **Ecology**, Washington, v.84, n.8, p.1998–2006, 2003.

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

FRANKHAM, R. Inbreeding and extinction – a threshold effect. **Conservation Biology**, Oxford, v.9, p.792–799. 1995.

FRANKHAM, R.; BALLOU, J.D.; BRISCOE, D.A. **Introduction to conservation genetics**. Cambridge: Cambridge University Press, 2002. 617 p.

FREITAS, C.V.; OLIVEIRA, P.E. Biologia reprodutiva de *Copaifera langsdorffii* Desf. (Leguminosae, Caesalpinioideae). **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v.25, n.3, p.311–321, 2002.

FREITAS, L.; SAZIMA, M. Floral biology and mechanisms of spontaneous self-pollination in five neotropical species of Gentianaceae. **Botanical Journal of the Linnean Society**, London, v.160, p.357–368, 2009.

FUNDAÇÃO NACIONAL DOS ÍNDIOS. 2009. Disponível em: <<http://www.funai.gov.br/>>. Acesso em: 15 jul 2009.

GAIOTTO, F.A.; GRATAPAGLIA, D.; VENCOSKY, R. Genetic structure, mating system, and long-distance gene flow in heart of palm (*Euterpe edulis* Mart.). **Journal of Heredity**, Cary, v. 94, p. 399–406, 2003.

GARDNER, R.H., ENGELHARDT K.A.M. Spatial processes that maintain biodiversity in plant communities. **Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics**, Jena, v.9, p.211–228, 2008.

GEBUREK, T. Effects of environmental population on the genetics of forest trees. In: YOUNG, A.; BOSHIER, D.; BOYLE, T. (Eds.). **Forest conservation genetics: principles and practice**. Collingwood: CSIRO, 2000. p. 135–155.

GENTRY, A.H. Flowering phenology and diversity in tropical Bignoniaceae. **Biotropica**, Lawrence, v.6, n.1, p.64–68, 1974.

GHAZOUL, J.; LISTON, K.A.; BOYLE, T.J.B. Disturbance induces density-dependent seed set in *Shorea siamensis* (Dipterocarpaceae), a tropical forest tree. **Journal of Ecology**, Oxford, v.86, p. 462–473, 1998.

- GILBERT, G.S. Evolutionary ecology of plant diseases in natural ecosystems. **Annual Review Phytopathology**, Palo Alto, v. 40, p.13–43, 2002.
- GILLET, E.; HATTEMER, H.H. Genetic analysis of isoenzyme phenotypes using single tree progenies. **Heredity**, Oxford, v. 63, p. 135-141, 1989.
- GOODWILLIE, C.; KALISZ, S.; ECKERT, C.G. The evolutionary enigma of mixed mating systems in plants: Occurrence, theoretical explanations, and empirical evidence. **Annual Review in Ecology, Evolution and Systematics**, Palo alto, v.36, p.47-79, 2005.
- GOUDET, J. FSTAT. (Version 2.9.3.2.): a computer program to calculate *F*-statistics. **Journal of Heredity**, Cary, v.86, p.485-486, 2002.
- HAMRICK J.L.; GODT M.J.W.; SHERMAN-BROYLES, S.L. Factors influencing levels of genetic diversity in woody plant species. **New Forests**, Dordrecht, v.6, p.95–124, 1992.
- HAMRICK, J.L.; NASON, J.D. Consequences of dispersal in plants. In: RHODES, O.E.; CHESSER, R.K.; SMITH, M.H. (Eds.). **Populations dynamics in ecological space and time**. Chicago: University of Chicago Press, 1996. p.203-236.
- HAMRICK, J.L.; NASON, J.D. Gene flow in forest trees. In: YOUNG, A.; BOSHIER, D.; BOYLE, T. (Ed.). **Forest conservation genetics: principles and practice**. Collingwood: CSIRO, 2000, p. 81-89.
- HANSON, T. R.; BRUNSFELD, S. J.; FINEGAN, B.; WAITS, L. P. Pollen dispersal and genetic structure of the tropical tree *Dipteryx panamensis* in a fragmented Costa Rican landscape. **Molecular Ecology**, Oxford, v.17, n.8, p.2060-2073, 2008.
- HARDESTY, B.D.; HUBBELL, S.; BERMINGHAM, E. Genetic evidence of frequent long distance recruitment in a vertebrate-dispersed tree. **Ecology Letters**, Oxford, v.9, p.516-525, 2006.
- HARDY, G.H. Mendelian proportions in a mixed population. **Science**, Washington, v. 28, p.49-50, 1908.
- HARDY, O.; GONZÁLEZ-MARTÍNEZ, S.C.; COLAS, B.; FRÉVILLE, H.; MIGNOT, A.; OLIVERI, I. Fine-scale genetic structure and gene dispersal in *Centaurea corymbosa* (Asteraceae). II. Correlated paternity within and among sibships. **Genetics**, Austin, v.168, p.1601–1614, 2004.
- HARDY, O.J.; MAGGIA, L.; BANDO, E.; BREYNE, P.; CARON, H.; CHEVALLIER, M.H.; DOLIGÉZ, A.; DUTECH, C.; KREMER, A.; LATOUCHE-HALLE, C.; TROISPOUX, V.; VERON, V.; DEGEN, B. Fine-scale genetic structure and gene dispersal inferences in 10 Neotropical tree species. **Molecular Ecology**, Oxford, v. 15, n.2, 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**, Oxford, v.2, p.618-620, 2002.

HARPER, K.A.; MACDONALD, S.E.; BURTON, P.J.; CHEN, J., BROSOFSKE, K.D.; SAUNDERS, S.C.; EUSKIRCHEN, E.; ROBERTS, D.; JAITEH, M.S.; PER-ANDERS, E. Edge influence on forest structure and composition in fragmented landscapes. **Conservation Biology**, Oxford, v.19, p.768-782, 2005.

HARRISON, S. Local extinction in a metapopulation context: an empirical evaluation. **Biological Journal of the Linnean Society**, London, v.42, p.73-88, 1991.

HARVEY, C.A.; KOMAR, O.; CHAZDON, R.; FERGUSON, B.G.; FINEGAN, B.; GRIFFITH, D.M.; MARTÍNEZ-RAMOS, M.; MORALES, H.; NIGH, R.; SOTO-PINTO, L.; BREUGEL, M.V.; WISHNIE, M. Integrating agricultural landscapes with biodiversity conservation in the Mesoamerican hotspot. **Conservation Biology**, Oxford, v.22, p.8-15, 2008.

HE, F.L.; LEGENDRE, P.; LAFRAKIE, J.V. Distribution patterns of tree species in a Malaysian tropical rain forest. **Journal of Vegetation Science**, Uppsala, v.8, p.105-114, 1997.

HEDRICK, P.W. **Genetics of populations**. Sudbury: Jones and Bartlett, 2005.629p.

HOLBROOK, K.; SMITH T.B. Seed dispersal and movement patterns in two species of *Ceratogymna hornbills* in a West African tropical lowland forest. **Oecologia**, Berlim, v.125, p.249-257, 2000.

HOLSINGER, K.E. Reproductive systems and evolution in vascular plants. **Proceedings of the national academy of sciences**, Washington, v.97, n.13, p.7037-7042, 2000.

HORNIK, K. The R FAQ: **Why is R named R?** Disponível em: <http://cran.r-project.org/doc/FAQ/R-FAQ.html#Why-is-R-named-R_003f>. Acesso em: 29 Jan 2008.

HUBBELL, S.P. Tree dispersion, abundance and diversity in a dry tropical forest. **Science**, Washington, v.203, p.1299-1309, 1979.

INSTITUTO FLORESTAL - IF. **Estação Experimental e Ecológica de Assis**. Disponível em: <http://www.iflorestsp.br/dfec/e_exp_as.htm>. Acesso em: 14 Abr 2008.

JANZEN, D.H. Herbivores and the number of tree species in tropical forests. **The American Naturalist**, Chicago, v.104, p.501-528, 1970.

JAQUIÉRY, J.; GUILLAUME F.; PERRIN, N. Predicting the deleterious effects of mutation load in fragmented populations. **Conservation Biology**, Oxford, v.23, p.207-218, 2008.

JENNERSTEN, O. Pollination of *Dianthus deltoids* (Caryophyllaceae): effects of habitat fragmentation on visitation and seed set. **Conservation Biology**, Oxford, v.2, p.359-366, 1988.

JONES FA, HAMRICK J.L.; PETERSON C.J.; SQUIERS E.R. Inferring colonization history from analyses of spatial genetic structure within populations of *Pinus strobus* and *Quercus rubra*. **Molecular Ecology**, Oxford, v.15, p.851-861, 2006.

KAGEYAMA, P.Y. In: KAGEYAMA, P.Y.; OLIVEIRA, R.E.; MORAES, L.F.O.; ENGEL, V.E.; GANDARA, F.B. (Org.). **Restauração ecológica de ecossistemas naturais**. Botucatu: FEPAP, 2008. p.29-46.

KAGEYAMA, P.Y.; SEBBENN, A.M.; RIBAS, L.A.; GANDARA, F.B.; PERECIN, M.B.; VENCOSKY, R. Diversidade genética em espécies arbóreas tropicais de diferentes estágios sucessionais por marcadores genéticos. **Scientia Forestalis**, Piracicaba, v. 64, p. 93-107, 2003.

KALINOWSKI, S. T; TAPER, M. L; MARSHALL, T. C. Revising how the computer program CERVUS accommodates genotyping error increases success in paternity assignment. **Molecular Ecology**, Oxford, v.16, p.1099-1106, 2007.

KÄRKKÄINEN, K.; LOE, G.; AGREN, J. Population structure in *Arabidopsis lyrata*: evidence for divergent selection on trichome production. **Evolution**, Lancaster, v.58, p.2831-2836, 1999.

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

KLINK, C. A.; MACHADO, R. Conservation of the Brazilian Cerrado. **Conservation Biology**, Oxford, v. 19, n. 3, p. 707-713, 2005.

KRAMER, A. T.; ISON, J. L.; ASHLEY, M. V.; HOWE, H. F. The Paradox of Forest Fragmentation Genetics. **Conservation Biology**, Oxford, v.22, n.4, p. 878–885, 2008.

KREMSATER, L.; BUNNELL, F.L. Edge effects: theory, evidence and implications to management of western North American forests. In: ROCHELLE, J.M.; LEHMANN, L.A.; WISNIEWSKI, J. BRILL, L. (Eds.). **Forest fragmentation: wildlife and management implications**. Netherlands: Brill Academic, 1999. p. vii-xiii.

KRONKA, F.J.N.; NALON, M.A.; MATSUKUMA, C.K.; KANASHIRO, M.M.; YWANE, M.S.S.; PAVÃO, M.; DURIGAN, G.; LIMA, L.M.P.R.; GUILLAUMON, J.R.; BAITELLO, J.B.; BORGO, S.C.; MANETTI, L.A.; BARRADAS, A.M.F.; FUKUDA, J.C.; SHIDA, C.N.; MONTEIRO, C.H.B.; PONTINHA, A.A.S.; ANDRADE, G.G.; BARBOSA, O.; SOARES, A.P. **Inventário florestal da vegetação natural do Estado de São Paulo**. São Paulo: Secretaria do Meio Ambiente; Instituto Florestal; Imprensa Oficial, 2005. 200p.

LANDE, R.; BARROWCLOUGH, G.F. Effective population size, genetic variation, and their use in population management. In: SOULÉ, M.E. (Ed.) **Viable populations for conservation**. Cambridge: Cambridge University Press, 1996. p. 87-123.

LANDE, R.; SCHEMSKE, D.W. The evolution of self-fertilization and inbreeding depression in plants. I. Genetics models. **Evolution**, Lancaster, v.39, p.24-40, 1985.

LAURANCE, W.F. Do edge effects occur over large spatial scales?. **Trends in Ecology and Evolution**, Amsterdam, v.15, n.4, p.134-135, 2000.

LEAL, I.R.; OLIVEIRA, P.S. Interactions between fungus-growing ants (Attini), fruits and seeds in cerrado vegetation in Southeast Brazil. **Biotropica**, Lawrence, v.30, n.2, p. 170-178, 1998.

LEIMU, R.; MUTIKAINEN, P.; KORICHEVA, J.; FISHER, M. How general are positive relationships between plant population size, fitness and genetic variation? **Journal of Ecology**, Oxford, v.94, p.942–952, 2006.

LEVIN, D.A. Consequences of stochastic elements in plant migration. **The American Naturalist**, Chicago, v. 132, n. 5, p. 643-651, 1988.

LEVINS, R.A. Extinction. **Lectures on Mathematics in the Life Sciences**, Providence, v.2, p.75–107, 1970.

LIMA, J.E.F.W.; SILVA, E.M. da. Estimativa da produção hídrica superficial do Cerrado brasileiro. In: SCARIOT, A.; SOUZA-SILVA, J. C.; FELFINI, J. M. (Eds.). **Cerrado: ecologia, biodiversidade e conservação**. Brasília: Ministério do Meio Ambiente, 2005. v. 1, p. 61-72.

LINDGREN, D.; GEA, L.; JEFFERSON, P. Loss of genetic diversity monitors by status number. **Silvae Genetica**, Forstgenetik, v.45, n.1, p.52-59, 1996.

LOISELLE, B.A. Spatial and temporal variation of seed rain in a tropical lowland wet forest. **Biotropica**, Lawrence, v.28, p.82–95, 1996.

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, p. 1420-1425, 1995.

LÓPEZ-BARRERA, F.; ARMESTO, J.J; WILLIAMS-LINERA, G.; SMITH-RAMÍREZ, C.; MANSON, R.H. Fragmentation and edge effects on plant-animal interactions, ecological processes and biodiversity. In: NEWTON, A.C. (Ed.) **Biodiversity loss and conservation in fragmented forest landscapes**. 2007. 416p.

LOVEJOY, T.E.; BIERREGAARD, R.O.; RYLANDS, A.B.; MALCOLM, J.R.; QUINTELA, C.E., HARPER, L.H.; BROWN, K.S.; POWELL, G.V.N.; SHUBART, H.O.R.; HAYS, M.B. Edge and other effects of isolation on Amazon forest fragments. In: SOULÉ, M.E. (Ed.) **Conservation biology: the science of scarcity and diversity**. Sunderland: Sinauer Associates, 1986. p.257-325.

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.

LUIKART, G.; CORNUET, J-M. Empirical evaluation of a test for identifying recently bottlenecked populations from allele frequency data. **Conservation Biology**, Oxford, v.12, n.1, p.228-237, 1998.

LYNCH, M. A quantitative-genetic perspective on conservation issues. In: AVISE, J; HAMRICK, J. (Eds.) **Conservation genetics: case histories from nature**. New York: Chapman and Hall, 1996. p.471-501.

LYNCH, M.; WALSH, B. **Genetics and analysis of quantitative traits**. Sunderland: Sinauer Associates, 1998. 980p.

MACHADO, R.B.; RAMOS NETO, M.B.; PEREIRA, P.G.P.; CALDAS, E.F.; GONÇALVES, D.A.; SANTOS, N.S.; TABOR, K.; STEININGER, M. **Estimativas de perda da área do cerrado brasileiro**. Relatório técnico. Brasília: Conservação International, 2004. 26p.

MALHI, Y.; ROBERTS, J.T.; BETTS, R.A.; LILLEEN, T.J., LI, W.; NOBRE, C.A. Climate change, deforestation, and fate of the Amazon. **Science**, Washington, v.319, p.169-172, 2008.

MARSHALL, T.C.; SLATE, J.; KRUUK, L.E.B.; PEMBERTON, J.M. Statistical confidence for likelihood-based paternity inference in natural populations. **Molecular Ecology**, Oxford, v.7, p.639-655, 1998.

MARTINS, K.; SANTOS, J.D.; GAIOTTO, F.A.; MORENO, M.A.; KAGEYAMA, P.Y. Estrutura genética populacional de *Copaifera langsdorffii* Desf. (Leguminosae - Caesalpinioideae) em fragmentos florestais do Pontal do Paranapanema, SP, Brasil. **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v. 31, p. 61-69, 2008.

MATLACK, R.G. Microenvironmental variation within and among forest edge sites in the Eastern United States. **Biological Conservation**, Beijing, v.66, p.185-94, 1993.

MATTHIES D.; BRAÜER I.; MAIBOM W.; TSCHARNTKE, T. Population size and the risk of local extinction: empirical evidence from rare plants. **Oikos**, Copenhagen, v.105, p.481-488, 2004.

MAYER, C.; SCHIEGG, K.; PASINELLI, G. Patchy population structure in a short-distance migrant: evidence from genetic and demographic data. **Molecular Ecology**, Oxford, v.18, p. 2353-2364, 2009.

MCKEY, D. The ecology of coevolved seed dispersal systems. In: GILBERT, L.E.; RAVEN, P.H. (Eds.) **Coevolution of animals and plants**. Austin: University of Texas, 1975. p.159-191.

MENDONÇA, R.C.; FELFILI, J.M.; WALTER, B.M.T, SILVA JÚNIOR, M.C., REZENDE A.V.; FILGUEIRAS, T.S.; NOGUEIRA, P.E. Flora vascular do cerrado. In: SANO, S. M.; ALMEIDA, S. P., (Eds.). **Cerrado: ambiente e flora**. Planaltina: EMBRAPA-CPAC, 2008. p.423-442.

MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE. **Programa Nacional de Conservação e Uso Sustentável do Bioma Cerrado- Programa Cerrado Sustentável**. Brasília, 2006. 56p.

MITTERMEIER, R.A.; GIL, P.R.; HOFFMANN, M.; PILGRIM, J.; BROOKS, J.; MITTERMEIER, C.G.; LAMOURUX, J.; FONSECA, G.A.B. **Hotspots Revisited: Earth's Biologically Richest and Most Endangered Terrestrial Ecoregions**. Cemex, Washington, DC. 2005.

Disponível em:
<<http://www.biodiversityhotspots.org/xp/Hotspots/cerrado/Pages/default.aspx>>. Acesso em: 13 ago 2009.

MOTTA-JÚNIOR, J.C.; LOMBARDI, J.A. Aves como agentes dispersores da copaíba (*Copaifera langsdorffii*, Caesalpinaceae) em São Carlos, estado de São Paulo. **Ararajuba: Revista Brasileira de Ornitologia**, Brasília, v.1, p.105-106, 1990.

MULLER-LANDAU, H.C.; WRIGHT, S.J.; CALDERÓN, O.; CONDIT, R.; HUBBELL, S.P. Interspecific variation in primary seed dispersal in a tropical forest. **Journal of Ecology**, Oxford, v.96, p.653–667, 2008.

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, n.12, p. 3321-3323, 1973.

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

NEWSTROM, L.E.; FRANKIE, G.W.; BAKER, H.G. A new classification for plant phenology based on flowering patterns in lowland tropical rain forest trees at La Selva, Costa Rica. **Biotropica**, Lawrence, v.26, p.141-159, 1994.

NG, K.K.S.; LEE, S.L.; SAW, L.G.; PLOTKIN, J.B.; KOH, C.L. Spatial structure and genetic diversity of three tropical tree species with different habitat preferences within a natural forest. **Tree Genetics and Genomes**, Berlin, v.2, p.121–131, 2006.

NUNNEY, L. The influence of mating system and overlapping generations on effective population size. **Evolution**, Lancaster, v.47, n.5, p. 1329-1341, 1993.

NUNNEY, L.; CAMPBELL, K.A. Assessing minimum viable population size: demography meets population genetics. **Trends in Ecology and Evolution**, Amsterdam, v. 8, p.234-239, 1993.

OHTA, T.; KIMURA, M. A model of mutation appropriate to estimate the number of electrophoretically detectable alleles in a finite population. **Genetic Research**, Cambridge, v. 33, p.201-204, 1973.

OLIVEIRA, A.F.; CARVALHO, D.; ROSADO, S.C.S. Taxa de cruzamento e sistema reprodutivo de uma população natural de *Copaiba langsdorffii* Desf. na região de Lavras (MG) por meio de isoenzimas. **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v.25, n.3, p.331-338, 2002.

OLIVEIRA-FILHO, A.T.; RATTER, J.A. Vegetation physiognomies and Woody flora of the cerrado biome. In: OLIVEIRA, P.S.; MARQUIS, R.J.(Eds.). **The cerrado of Brazil: ecology and natural history of a Neotropical savanna**. New York: Columbia University, 2002. p. 91-120.

PARMESAN, C.; YOHE, G. A globally coherent fingerprint of climate change impacts across natural systems. **Nature**, London, v.421, p.37-42, 2003.

PEDRONI, F. Ecologia da copaíba. In: MORELLATO, P.C.; LEITÃO FILHO, H.F.(Eds.). **Ecologia e preservação de uma floresta tropical urbana: Reserva de Santa Genebra**. Campinas: UNICAMP, 1995. p.70-76.

PEDRONI, F.; GALETTI, M. Os macacos-prego e seus hábitos. In: MORELLATO, P.C.; LEITÃO FILHO, H.F.(Eds.). **Ecologia e preservação de uma floresta tropical urbana: Reserva de Santa Genebra**. Campinas: UNICAMP, 1995. p.97-99.

PEDRONI, F.; SANCHEZ, M.; SANTOS, F.A.M. Fenologia da copaíba (*Copaifera langsdorffii* Desf. – Leguminosae, Caesalpinoideae) em uma floresta semidecídua no sudeste do Brasil. **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v.25, n.2, p.183-194, 2002.

PERFECTO, I.; VANDERMEER, J. Biodiversity conservation in tropical agroecosystems: a new conservation paradigm. **Annals of the New York Academy of Science**, New York, v.1134, p.173–200, 2008.

PIERROT, L.M.; SCHLINDWIN, C. Variation in daily flight activity and foraging patterns in colonies of uruçú – *Melipona scutellaris* Latreille (Apidae, Meliponini). **Revista Brasileira de Zoologia**, Curitiba, v.20, n.4, p.565-571, 2003.

PINHEIRO, E.S.; DURIGAN, G. Evolução fisionômica do cerrado (1962-2006) na Estação Ecológica de Assis, São Paulo, Brasil. In: CONGRESSO NACIONAL DE BOTÂNICA, 58., 2007, São Paulo. **Anais...** São Paulo: SBB. 2007. 1 CD-ROM.

PINTO, S.I.C.; SOUZA, A.M.; CARVALHO, D. Variabilidade genética por isoenzimas em populações de *Copaifera langsdorffii* Desf. Em dois fragmentos de mata ciliar. **Scientia Forestalis**, Piracicaba, n.65, p.40-48, 2004.

PIRY, S.; LUIKART, G.; CORNEUT, J.J. BOTTLENECK: A computer program for detecting recent reductions in the effective population size using allele frequency data. **The Journal of Heredity**, Cary, v.90, n.4, p.502-503, 1999.

PLOTKIN, J.B.; CHAVE, J.; ASHTON, P.S. Cluster analysis of spatial patterns in Malaysian tree species. **The American Naturalist**, Chicago, v.160, p.629-643.2002

RATTER, J.A.; BRIDGEWATER, S.; RIBEIRO, F. Biodiversity patterns of the Woody vegetation of the Brazilian Cerrado. In: PENNINGTON, R.T.; LEWIS, G.P.; RATTER, J.A.(Eds.). **Neotropical savannas and seasonally dry forests: plant diversity, biogeography and conservation**. London: Taylor and Francis, 2006. p.31-65.

REED, D.H. Relationship between population size and fitness. **Conservation Biology**, Oxford, v.19, p. 563–568, 2005.

REED, D.H.; FRANKHAM, R. Correlation between fitness and genetic diversity. **Conservation Biology**, Oxford, v.17, p.230–237, 2003.

RESENDE, J.C.F.; KLICK, C.A.; SCHIAVINI, I. Spatial heterogeneity and its influence on *Copaifera langsdorffii* Desf. (Caesalpiniaceae). **Brazilian Archives of Biology and Technology**, Curitiba, v.46, n.3, p.405-414, 2003.

RIBEIRO, J.F.; SILVA, J.C.S. Manutenção e recuperação da biodiversidade do Bioma Cerrado: o uso de plantas nativas. In: SIMPÓSIO SOBRE O CERRADO, 8., 1996. Brasília. **Anais...** EMBRAPA–CPAC Brasília. 1996. p. 10-14.

RIBEIRO, J.R.; WALTER, B.M.T. Fitofisionomia do Bioma Cerrado. In: SANO, S.M.; ALMEIDA, S.P. (Eds.) **Cerrado: ambiente e flora**. Planaltina: EMBRAPA-CPAC, 1998. p. 89-166.

RIBEIRO, M.C.; METZGER, J.P.; MARTENSEN, A.C.; PONZONI, F.J.; HIROTA, M.M. The Brazilian Atlantic Forest: How much is left, and how is the remaining forest distributed? Implications for conservation. **Biological Conservation**, Beijing, v.142, p.1141-1153, 2009.

RITLAND, K. Extensions of models for the estimation of mating systems using n independent loci. **Heredity**, London, v.88, p.221-228, 2002.

RITLAND, K. Genetic differentiation, diversity and inbreeding in the mountain monkeyflower (*Mimulus caespitosus*) of the Washington Cascades, **Canadian Journal of Botany**, Ottawa, v.67, p.2019-2024, 1989.

RITLAND, K. **Multilocus mating system program MLTR. Version 3.3. 2008**. Disponível em: <<http://genetics.forestry.ubc.ca/ritland/programs.html>>. Acesso em: 15 jul 2008.

RITLAND, K.; JAIN, S. A model for the estimation of outcrossing rate and gene frequency using independent loci. **Heredity**, London, v.47, p.35-52, 1981.

ROBLEDO-ARNUNCIO, J. J.; AUSTERLITZ, F.; SMOUSE, P. E. POLDISP: a software package for indirect estimation of contemporary pollen dispersal. **Molecular Ecology Notes**, Oxford, v. 7, n. 5, p.763 – 766, 2007.

ROBLEDO-ARNUNCIO, J.J.; AUSTERLITZ, F. Pollen dispersal in spatially aggregated populations. **The American Naturalist**, Chicago, v.168, n.4, p.500-511, 2006.

ROEL, A.R.; ARRUDA, E. Agroecologia e os recursos naturais de fragmentos de vegetação nativa. In: COSTA, R.B. da (Org.). **Fragmentação dos cerrados**. Campo Grande: UCDB / Conservation, 2003. v. 1p. 235-239.

SANCRISTOBAL, M.; CHAVALET, C. Error tolerant parent identification from a finite set of individual. **Genetical Research**, London, v.70, p.53-62, 1997.

SANKARAN, M.; HANAN, N.P.; SCHOLLES, R.J.; RATNAM, J.; AUGUSTINE, D.J.; CADE, B.S.; GIGNOUX, J.; HIGGINS, S.I.; LE ROUX, X.; LUDWIG, F.; ARDO, J.; BANYIKWA, F.; BRONN, A.; BUCINI, G.; CAYLOR, K. K.; COUGHENOUR, M.B.; DIOUF, A.; EKAYA, W.; FERAL, C.J.; FEBRUARY, E.C.; FROST, P.G.H.; HIERNAUX, P.; HRABAR, H.; METZGER, K.L.; PRINS, H.H.T.; RINGROSE, S.; SEA, W.; TEWS, J.; WORDEN J.; ZAMBATIS, N. Determinants of woody cover in African savannas. **Nature**, London, v.438, n.8, p.846-849, 2005.

SANO, E. E.; ROSA, R.; BRITO J. L.; FERREIRA, L. G. Mapeamento semidetalhado (escala de 1:250.000) da cobertura vegetal antrópica do Bioma Cerrado. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 43, n. 1, p. 153-156, 2008.

SCHEMSKE, D.W.; LANDE, R. The evolution of self-fertilization and inbreeding depression in plants. II. Empirical observations. **Evolution**, Lancaster, v.39, p.41-52, 1985.

SEBBENN, A. M.; SEOANE, C.E.S. Estimativa de tamanho efetivo de endogamia por marcadores genéticos. **Revista Árvore**, Viçosa, v.29, n.1, p. 1-7, 2005.

SEBBENN, A.M. Número de árvores matrizes e conceitos genéticos na coleta de sementes para reflorestamentos com espécies nativas. **Revista do Instituto Florestal**, São Paulo, v. 14, p.115-132, 2002.

SEBBENN, A.M.; KAGEYAMA, P.K.; VENCovsky, R. Genetic variability, mating system and the spatial genetic structure in *Genipa Americana* L. through isozyme markers. **Scientia Florestalis**, Piracicaba, n.53, p.19-30. 1998.

SEZEN, U.U.; CHAZDON, R.L.; HOLSINGER, K.E. Genetic consequences of tropical second-growth forest regeneration. **Science**, Washington, v. 307, n.5711, p.891, 2005.

SHAPCOTT, A. The spatial genetic structure in natural population of the Australian temperate rainforest tree *Atherosperma moschatum* (Labill.) (Monimiaceae). **Heredity**, London, v.74, p.28-38, 1995.

SIITONEN, P.; LEHTINEN, A.; SIITONEN, M. Effects of forest edges on the distribution, abundance, and regional persistence of wood-rotting fungi. **Conservation Biology**, Oxford, v.25, p. 250-260, 2005.

SILVA, J.F.; FARIÑAS, M.R.; FELFILI, J.M.; KLINK, C.A. Spatial heterogeneity, land use and conservation in the cerrado region of Brazil. **Journal of Biogeography**, Oxford, v.33, n.3, p.536-548, 2006.

SILVA, J.M.C.; BATES, J.M. Biogeographic patterns and conservation in South American Cerrado: a tropical savanna hotspot. **BioScience**, Washington, v.52, p.225-233, 2002.

SILVA, M.B.; KANASHIRO, M.; CIAMPI, A.Y.; TOMPSON, I.; SEBBENN, A.M. Genetic effects of selective logging and pollen gene flow in a low-density population of the dioecious tropical tree *Bagassa guianensis* in the Brazilian Amazon. **Forest Ecology and Management**, Amsterdam, v.255, p.1548-1558, 2008.

SILVERTOWN, J. The evolutionary maintenance of sexual reproduction: evidence from the ecological distribution of asexual reproduction in clonal plants. **International Journal of Plant Sciences**, Chicago, v. 169, n. 1, p.157–168, 2008.

SLATKIN, M. Gene flow in natural populations. **Annual Review of Ecology and Systems**, Palo alto, v.16, p.393-430, 1985.

SLATKIN, M. Isolation by distance in equilibrium and nonequilibrium populations. **Evolution**, Lancaster, v.47, p.264–279, 1993.

SMITH-RAMÍREZ, C.; ROVERE, A.E.; NÚÑEZ-ÁVILA, M.C.; ARMESTO, J.J. Habitat fragmentation and reproductive ecology of *Embothrium coccineum*, *Eucryphia cordifolia* and *Aextoxicon punctatum* in Southern Temperate Rainforests. In: NEWTON, A.C. (Ed.).

Biodiversity loss and conservation in fragmented forest landscapes. Wallingford: CABI. 2007. 416 p.

SMOUSE, P.E.; DYER, R.J.; WESTFALL, R.D.; SORK, V.L. Two-generation analysis of pollen flow across a landscape. I. Male gamete heterogeneity among females. **Evolution**, Lancaster, v.55, p.260–271, 2001.

SOKAL, R.R.; ROHLF, F.J. **Biometry: principles and practices of statistics in biological research.** New York: W.H. Freeman and Company, 1989. 887 p.

SOLOMON, P.; PLATTNER, G.; KNUTTI, R.; FRIEDLINGSTEIN, P. Irreversible climate change due to carbon dioxide emissions, **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, Washington, v.106, n.6, p.1704–1709, 2009.

STEBBINS, G.L. Self-fertilization and population variability in the higher plants. **The American Naturalist**, Chicago, v.91, p.337–354, 1957.

STEFFAN-DEWENTER, I.; WESTPHAL, C. The interplay of pollinator diversity, pollination services and landscape change. **Journal of Applied Ecology**, Oxford, v.45, n.3, p.737–741, 2008.

TARAZI, R.; MANTOVANI, A.; REIS, M.S. Fine-scale spatial genetic structure and allozymic diversity in natural populations of *Ocotea catharinensis* Mez. (Lauraceae). **Conservation Genetics**, Arlington, 2009. Disponível em: <<http://www.springerlink.com/content/n403n5505044438t/>>. Acesso em: 15 jul 2009.

TEWKSBUURY, J.J.; LEVEY, D.J.; HADDAD, N.M.; SARGENT, S.; ORROCK, J.L.; WELDON, A.; DANIELSON, B.J.; BRINKERHOFF, J.; DAMSCHEN, E.I.; TOWNSEND, P. Corridors affect plants, animals, and their interactions in fragmented landscapes. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, Washington, v.99, p.12923–12926, 2002.

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

VENCOVSKY, R.; CROSSA, J. Measurements of representativeness used in genetic resources conservation and plant breeding. **Crop Science**, Madison, v.43, p. 1912–1921, 2003.

VIEIRA, M.V.; OLIFIERS, N.; DELCIELLOS, A.C.; ANTUNES, V.Z.; BERNARDO, L.R.; GRELLE, C.E.V.; CERQUEIRA, R.. Land use vs. fragment size and isolation as determinants of small mammal composition and richness in Atlantic Forest remnants. **Biological Conservation**, Beijing, v. 142, p. 1191–1200, 2009.

VOGLER, D.W.; KALISZ, S. Sex among the flowers: the distribution of plant mating systems. **Evolution**, Lancaster, v.55, p.202–204, 2001.

WEINBERG, W. Über der nachweis der vererbung beim menschen. Jahresh. Verein f. veter. **Naturk**, Württemberg, v.64, p.368–382, 1908.

WEIR, B.S. **Genetic data analysis II**: methods for discrete population genetic data. 2nd ed. Sunderland: Sinauer Associates, 1996. 445p.

WEIR, B.S.; COCKERHAM, C.C. Estimating F-statistics for the analysis of population structure. **Evolution**, Lawrence, v.38, n.6, p.1358-1370, 1984.

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

WHITTAKER, R.J.; FERNÁNDEZ-PALACIOS, J.M. **Island biogeography**: ecology, evolution, and conservation. 2nd ed. Edinburgh: Oxford Biology, 2007, 401 p.

WRIGHT, S. Coefficients of inbreeding and relationship. **American Naturalist**, Chicago, v.56, p.330–338, 1922.

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

WRIGHT, S. Isolation by distance. **Genetics**, Austin, v.28, p. 223-246, 1943.

WRIGHT, S. Systems of mating. 1. The biometric relations between parent and offspring. **Genetics**, Austin, v.6, p.111-123, 1921.

WRIGHT, S. The genetic structure of populations. **Annals of Eugenics**, New York, v. 15, p.395-420, 1951.

WRIGHT, S. The interpretation of population structure by F-statistics with special regard to systems of mating. **Evolution**, Lancaster, v. 19, p.95-420, 1965.

YEH, F. C. Forest Fragmentation. In: YOUNG, A.; BOSHIER, D.; BOYLE, T. (Ed.). **Forest conservation genetics**: principles and practice. Collingwood: CSIRO, 2000. p. 21- 37.

YOUNG, A.; BOYLE, T. Forest Fragmentation. In: YOUNG, A.; BOSHIER, D.; BOYLE, T. (Ed.). **Forest conservation genetics**: principles and practice. Collingwood: CSIRO, 2000. p. 123-132.

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

ANEXOS

ANEXO A – Teste de segregação mendeliana individual proposto por Gillet e Hattemer (1989) e por arranjos proposto por Weir (1996) para oito locos SSR de *C. langsdorffii* em uma população de Assis, SP

(continua)

Loco CL01								
Matrizes	$N_{ij}:N_{ii}+N_{jj}$	N	G-teste	P-valor	$N_{ik}:N_{jk}$	N	G-teste	P-valor
M2	2:1	3	0,34	0,56	7:10	17	0,53	0,466
M3	..	..	..	..	..	..	..	..
M13	4:5	9	0,11	0,739	4:6	10	0,4	0,526
M14	0:6	6	8,32	0,004	7:7	14	0	1
M6	6:1	7	3,96	0,047	5:8	13	0,7	0,403
M7	1:4	5	1,93	0,165	8:6	14	0,29	0,592
M8	..	..	..	..	..	..	..	..
M9	5:1	6	2,91	0,088	4:3	7	0,14	0,705
M19	2:2	4	0	1	3:7	10	1,65	0,2
M56	..	..	..	..	..	..	..	..
M34	5:2	7	1,33	0,249	12:1	13	10,97	0,001
M35	4:6	10	0,4	0,526	4:6	10	0,4	0,526
M36	5:5	10	0	1	5:4	9	0,11	0,739
M51	..	..	..	..	..	..	..	..
M23	4:1	5	1,93	0,165	1:14	15	13,45	0
M41	4:9	13	1,97	0,16	3:4	7	0,14	0,705
M48	..	..	..	..	..	..	..	..
F2	..	..	..	..	..	..	..	..
F3	3:5	8	0,51	0,477	7:5	12	0,33	0,563
F4	3:3	6	0	1	3:11	14	4,86	0,027
F8	6:2	8	2,09	0,148	7:5	12	0,33	0,563
F9	..	..	..	..	..	..	..	..
F10	5:1	6	2,91	0,088	9:5	14	1,16	0,282
F11	6:3	9	1,02	0,313	6:5	11	0,09	0,763
F12	13:5	18	3,68	0,055	1:1	2	0	1
F14	..	..	..	..	..	..	..	..
F15	3:4	7	0,14	0,705	0:13	13	18,02	0
F16	..	..	..	..	..	..	..	..

ANEXO A – Teste de segregação mendeliana individual proposto por Gillet e Hattemer (1989) e por arranjos proposto por Weir (1996) para oito locos SSR de *C. langsdorffii* em uma população de Assis, SP

(continuação)

Loco CL02								
Matrizes	$N_{ij}:N_{ii}+N_{jj}$	N	G-teste	P-valor	$N_{ik}:N_{jk}$	N	G-teste	P-valor
M2	5:9	14	1,16	0,282	4:2	6	0,68	0,41
M3	7:12	19	1,33	0,249	0:1	1	1,39	0,239
M13	6:6	12	0	1	2:6	8	2,09	0,148
M14	..	..	..	..	..	..	..	..
M6	3:7	10	1,65	0,2	8:2	10	3,85	0,05
M7	..	..	..	..	..	..	..	..
M8	4:1	5	1,93	0,165	8:7	15	0,07	0,796
M9	4:11	15	3,4	0,065	1:1	2	0	1
M19	1:11	12	9,75	0,002	3:2	5	0,2	0,654
M56	8:3	11	2,36	0,125	7:2	9	2,94	0,086
M34	1:0	1	1,39	0,239	9:10	19	0,05	0,819
M35	11:2	13	6,86	0,009	5:2	7	1,33	0,249
M36	3:5	8	0,51	0,477	8:4	12	1,36	0,244
M51	1:9	10	7,36	0,007	1:9	10	7,36	0,007
M23	..	..	..	..	..	..	..	..
M41	2:3	5	0,2	0,654	8:7	15	0,07	0,796
M48	1:11	12	9,75	0,002	2:6	8	2,09	0,148
F2	..	..	..	..	..	..	..	..
F3	6:8	14	0,29	0,592	3:3	6	0	1
F4	7:7	14	0	1	2:4	6	0,68	0,41
F8	10:4	14	2,66	0,103	3:2	5	0,2	0,654
F9	..	..	..	..	..	..	..	..
F10	3:12	15	5,78	0,016	4:1	5	1,93	0,165
F11	7:4	11	0,83	0,363	7:2	9	2,94	0,086
F12	11:7	18	0,9	0,344	1:1	2	0	1
F14	10:4	14	2,66	0,103	4:2	6	0,68	0,41
F15	1:12	13	10,97	0,001	6:1	7	3,96	0,047
F16	..	..	..	..	..	..	..	..

ANEXO A – Teste de segregação mendeliana individual proposto por Gillet e Hattemer (1989) e por arranjos proposto por Weir (1996) para oito locos SSR de *C. langsdorffii* em uma população de Assis, SP

(continuação)

Loco CL06								
Matrizes	$N_{ij}:N_{ii}+N_{jj}$	N	G-teste	P-valor	$N_{ik}:N_{jk}$	N	G-teste	P-valor
M2	4:1	5	1,93	0,165	2:13	15	9,01	0,003
M3	1:2	3	0,34	0,56	11:6	17	1,49	0,222
M13	5:0	5	6,93	0,008	10:5	15	1,7	0,192
M14	1:6	7	3,96	0,047	6:6	12	0	1
M6	3:0	3	4,16	0,041	5:11	16	2,31	0,129
M7	4:0	4	5,55	0,019	10:6	16	1,01	0,315
M8	3:1	4	1,05	0,306	12:3	15	5,78	0,016
M9	12:1	13	10,97	0,001	6:1	7	3,96	0,047
M19	7:7	14	0	1	4:2	6	0,68	0,41
M56	3:0	3	4,16	0,041	3:11	14	4,86	0,027
M34	7:2	9	2,94	0,086	7:3	10	1,65	0,2
M35	4:1	5	1,93	0,165	7:5	12	0,33	0,563
M36	6:0	6	8,32	0,004	5:8	13	0,7	0,403
M51	9:1	10	7,36	0,007	4:6	10	0,4	0,526
M23	4:1	5	1,93	0,165	8:7	15	0,07	0,796
M41	7:0	7	9,7	0,002	6:6	12	0	1
M48	3:3	6	0	1	4:8	12	1,36	0,244
F2	9:0	9	12,48	0	6:5	11	0,09	0,763
F3	5:1	6	2,91	0,088	6:8	14	0,29	0,592
F4	5:3	8	0,51	0,477	3:9	12	3,14	0,076
F8	3:4	7	0,14	0,705	7:6	13	0,08	0,781
F9	6:2	8	2,09	0,148	8:3	11	2,36	0,125
F10	2:2	4	0	1	5:9	14	1,16	0,282
F11	2:6	8	2,09	0,148	3:9	12	3,14	0,076
F12	8:4	12	1,36	0,244	3:3	6	0	1
F14	6:10	16	1,01	0,315	2:2	4	0	1
F15	7:1	8	5,06	0,024	5:6	11	0,09	0,763
F16	9:0	9	12,48	0	8:3	11	2,36	0,125

ANEXO A – Teste de segregação mendeliana individual proposto por Gillet e Hattemer (1989) e por arranjos proposto por Weir (1996) para oito locos SSR de *C. langsdorffii* em uma população de Assis, SP

(continuação)

Loco CL20								
Matrizes	$N_{ij}:N_{ii}+N_{jj}$	N	G-teste	P-valor	$N_{ik}:N_{jk}$	N	G-teste	P-valor
M2	1:3	4	1,05	0,306	11:5	16	2,31	0,129
M3	7:1	8	5,06	0,024	8:4	12	1,36	0,244
M13	0:8	8	11,09	0,001	8:4	12	1,36	0,244
M14	0:5	5	6,93	0,008	14:1	15	13,45	0
M6	..	..	..	..	..	..	..	..
M7	1:1	2	0	1	9:9	18	0	1
M8	3:0	3	4,16	0,041	8:9	17	0,06	0,808
M9	14:2	16	10,12	0,001	1:3	4	1,05	0,306
M19	5:2	7	1,33	0,249	9:3	12	3,14	0,076
M56	4:3	7	0,14	0,705	5:8	13	0,7	0,403
M34	3:2	5	0,2	0,654	8:7	15	0,07	0,796
M35	..	..	..	..	..	..	..	..
M36	..	..	..	..	..	..	..	..
M51	8:3	11	2,36	0,125	3:6	9	1,02	0,313
M23	2:1	3	0,34	0,56	7:10	17	0,53	0,466
M41	1:2	3	0,34	0,56	11:6	17	1,49	0,222
M48	5:3	8	0,51	0,477	8:4	12	1,36	0,244
F2	3:3	6	0	1	5:9	14	1,16	0,282
F3	4:2	6	0,68	0,41	13:1	14	12,2	0
F4	3:2	5	0,2	0,654	3:12	15	5,78	0,016
F8	7:5	12	0,33	0,563	3:5	8	0,51	0,477
F9	2:3	5	0,2	0,654	6:8	14	0,29	0,592
F10	4:2	6	0,68	0,41	7:7	14	0	1
F11	4:2	6	0,68	0,41	7:7	14	0	1
F12	11:3	14	4,86	0,027	4:2	6	0,68	0,41
F14	9:5	14	1,16	0,282	0:6	6	8,32	0,004
F15	3:5	8	0,51	0,477	7:5	12	0,33	0,563
F16	3:2	5	0,2	0,654	10:3	13	3,98	0,046

ANEXO A – Teste de segregação mendeliana individual proposto por Gillet e Hattemer (1989) e por arranjos proposto por Weir (1996) para oito locos SSR de *C. langsdorffii* em uma população de Assis, SP

(continuação)

Loco CL27								
Matrizes	$N_{ij}:N_{ii}+N_{jj}$	N	G-teste	P-valor	$N_{ik}:N_{jk}$	N	G-teste	P-valor
M2	8:0	8	11,09	0,001	10:2	12	5,82	0,016
M3	1:0	1	1,39	0,239	14:4	18	5,88	0,015
M13	8:4	12	1,36	0,244	5:1	6	2,91	0,088
M14	2:3	5	0,2	0,654	5:6	11	0,09	0,763
M6	4:5	9	0,11	0,739	7:1	8	5,06	0,024
M7	3:0	3	4,16	0,041	11:6	17	1,49	0,222
M8	5:1	6	2,91	0,088	9:4	13	1,97	0,16
M9	9:1	10	7,36	0,007	2:7	9	2,94	0,086
M19	7:0	7	9,7	0,002	4:8	12	1,36	0,244
M56	..	..	..	..	..	..	..	..
M34	3:1	4	1,05	0,306	8:7	15	0,07	0,796
M35	3:2	5	0,2	0,654	12:1	13	10,97	0,001
M36	5:3	8	0,51	0,477	8:3	11	2,36	0,125
M51	6:9	15	0,6	0,437	3:2	5	0,2	0,654
M23	4:11	15	3,4	0,065	3:2	5	0,2	0,654
M41	2:0	2	2,77	0,096	7:11	18	0,9	0,344
M48	9:1	10	7,36	0,007	7:3	10	1,65	0,2
F2	..	..	..	..	..	..	..	..
F3	8:1	9	6,2	0,013	2:9	11	4,82	0,028
F4	1:9	10	7,36	0,007	5:4	9	0,11	0,739
F8	4:2	6	0,68	0,41	11:1	12	9,75	0,002
F9	7:2	9	2,94	0,086	8:2	10	3,85	0,05
F10	1:1	2	0	1	13:5	18	3,68	0,055
F11	15:4	19	6,78	0,009	0:1	..	..	..
F12	2:10	12	5,82	0,016	1:0	1	1,39	0,239
F14	..	..	..	..	..	..	..	..
F15	10:7	17	0,53	0,466	1:0	1	1,39	0,239
F16	6:5	11	0,09	0,763	9:0	9	12,48	0

ANEXO A – Teste de segregação mendeliana individual proposto por Gillet e Hattemer (1989) e por arranjos proposto por Weir (1996) para oito locos SSR de *C. langsdorffii* em uma população de Assis, SP

(continuação)

Loco CL32								
Matrizes	$N_{ij}:N_{ii}+N_{jj}$	N	G-teste	P-valor	$N_{ik}:N_{jk}$	N	G-teste	P-valor
M2	7:1	8	5,06	0,024	9:3	12	3,14	0,076
M3	4:4	8	0	1	5:6	11	0,09	0,763
M13	4:2	6	0,68	0,41	9:5	14	1,16	0,282
M14	2:2	4	0	1	6:9	15	0,6	0,437
M6	3:4	7	0,14	0,705	5:6	11	0,09	0,763
M7	2:5	7	1,33	0,249	6:7	13	0,08	0,781
M8	4:1	5	1,93	0,165	4:10	14	2,66	0,103
M9	..	..	..	..	..	..	..	..
M19	9:4	13	1,97	0,16	3:4	7	0,14	0,705
M56	5:1	6	2,91	0,088	9:5	14	1,16	0,282
M34	..	..	..	..	..	..	..	..
M35	8:6	14	0,29	0,592	2:4	6	0,68	0,41
M36	7:2	9	2,94	0,086	6:2	8	2,09	0,148
M51	6:4	10	0,4	0,526	4:5	9	0,11	0,739
M23	3:6	9	1,02	0,313	4:6	10	0,4	0,526
M41	7:2	9	2,94	0,086	6:5	11	0,09	0,763
M48	3:3	6	0	1	6:6	12	0	1
F2	3:8	11	2,36	0,125	5:4	9	0,11	0,739
F3	4:1	5	1,93	0,165	4:3	7	0,14	0,705
F4	4:3	7	0,14	0,705	3:6	9	1,02	0,313
F8	3:6	9	1,02	0,313	6:5	11	0,09	0,763
F9	3:3	6	0	1	7:6	13	0,08	0,781
F10	..	..	..	..	..	..	..	..
F11	..	..	..	..	..	..	..	..
F12	11:3	14	4,86	0,027	1:5	6	2,91	0,088
F14	11:5	16	2,31	0,129	0:4	4	5,55	0,019
F15	6:2	8	2,09	0,148	4:8	12	1,36	0,244
F16	7:4	11	0,83	0,363	8:1	9	6,2	0,013

ANEXO A – Teste de segregação mendeliana individual proposto por Gillet e Hattemer (1989) e por arranjos proposto por Weir (1996) para oito locos SSR de *C. langsdorffii* em uma população de Assis, SP

(continuação)

Loco CL34								
Matrizes	$N_{ij}:N_{ii}+N_{jj}$	N	G-teste	P-valor	$N_{ik}:N_{jk}$	N	G-teste	P-valor
M2	2:10	12	5,82	0,016	4:4	8	0	1
M3	..	..	..	..	..	..	..	..
M13	7:6	13	0,08	0,781	2:3	5	0,2	0,654
M14	3:6	9	1,02	0,313	5:5	10	0	1
M6	..	..	..	..	...	..	..	..
M7	2:14	16	10,12	0,001	3:1	4	1,05	0,306
M8	..	..	..	..	..	..	..	..
M9	..	..	..	..	..	..	..	..
M19	9:2	11	4,82	0,028	3:6	9	1,02	0,313
M56	3:2	5	0,2	0,654	14:1	15	13,45	0
M34	8:6	14	0,29	0,592	0:6	6	8,32	0,004
M35	4:5	9	0,11	0,739	6:5	11	0,09	0,763
M36	2:12	14	7,92	0,005	4:2	6	0,68	0,41
M51	6:4	10	0,4	0,526	0:9	9	12,48	0
M23	..	..	..	..	..	..	..	..
M41	5:5	10	0	1	2:8	10	3,85	0,05
M48	3:6	9	1,02	0,313	2:7	9	2,94	0,086
F2	2:9	11	4,82	0,028	1:8	9	6,2	0,013
F3	2:11	13	6,86	0,009	0:5	5	6,93	0,008
F4	5:6	11	0,09	0,763	3:3	6	0	1
F8	6:3	9	1,02	0,313	5:1	6	2,91	0,088
F9	3:9	12	3,14	0,076	2:1	3	0,34	0,56
F10	..	..	..	..	..	..	..	..
F11	..	..	..	..	..	..	..	..
F12	4:9	13	1,97	0,16	5:2	7	1,33	0,249
F14	6:7	13	0,08	0,781	1:3	4	1,05	0,306
F15	8:5	13	0,7	0,403	5:1	6	2,91	0,088
F16	5:4	9	0,11	0,739	2:9	11	4,82	0,028

ANEXO A – Teste de segregação mendeliana individual proposto por Gillet e Hattemer (1989) e por arranjos proposto por Weir (1996) para oito locos SSR de *C. langsdorffii* em uma população de Assis, SP

(conclusão)

Loco CL39								
Matrizes	$N_{ij}:N_{ii}+N_{jj}$	N	G-teste	P-valor	$N_{ik}:N_{jk}$	N	G-teste	P-valor
M2	11:5	16	2,31	0,129	1:2	3	0,34	0,56
M3	2:3	5	0,2	0,654	13:2	15	9,01	0,003
M13	3:1	4	1,05	0,306	8:8	16	0	1
M14	1:1	2	0	1	7:11	18	0,9	0,344
M6	2:4	6	0,68	0,41	10:4	14	2,66	0,103
M7	3:0	3	4,16	0,041	14:3	17	7,72	0,005
M8	4:0	4	5,55	0,019	7:8	15	0,07	0,796
M9	11:4	15	3,4	0,065	2:2	4	0	1
M19	4:2	6	0,68	0,41	6:8	14	0,29	0,592
M56	10:3	13	3,98	0,046	0:7	7	9,7	0,002
M34	3:3	6	0	1	4:9	13	1,97	0,16
M35	5:1	6	2,91	0,088	7:7	14	0	1
M36	6:1	7	3,96	0,047	6:7	13	0,08	0,781
M51	4:4	8	0	1	6:5	11	0,09	0,763
M23	5:1	6	2,91	0,088	11:3	14	4,86	0,027
M41	..	..	..	..	..	..	..	..
M48	4:2	6	0,68	0,41	4:10	14	2,66	0,103
F2	1:9	10	7,36	0,007	7:2	9	2,94	0,086
F3	7:1	8	5,06	0,024	5:4	9	0,11	0,739
F4	2:4	6	0,68	0,41	6:6	12	0	1
F8	4:4	8	0	1	2:10	12	5,82	0,016
F9	4:7	11	0,83	0,363	5:3	8	0,51	0,477
F10	3:1	4	1,05	0,306	6:10	16	1,01	0,315
F11	1:11	12	9,75	0,002	1:7	8	5,06	0,024
F12	7:6	13	0,08	0,781	3:4	7	0,14	0,705
F14	7:9	16	0,25	0,617	0:4	4	5,55	0,019
F15	8:2	10	3,85	0,05	8:2	10	3,85	0,05
F16	6:3	9	1,02	0,313	0:5	5	6,93	0,008

Notas: Dados numéricos arredondados

Sinais convencionais utilizados:

.. não se aplica dado numérico;

0,00 dado numérico igual a zero resultante de arredondamento de um dado numérico originalmente positivo;

- Dado numérico igual a zero não resultante de arredondamento.

ANEXO B – Teste de segregação mendeliana por arranjos proposto por Weir (1996) para oito locos SSR de *C. langsdorffii* em uma população de Assis, SP

(continua)

CL01										
Matrizes agrupadas	$N_{ij}:N_{ii}+N_{jj}$	N	G- teste	P- valor	GL	$N_{ik}:N_{jk}$	N	G- teste	P- valor	GL
M13	4:5	9	0,11	0,739	1	4:6	10	0,4	0,526	1
M41	4:9	13	1,97	0,160	1	3:4	7	0,14	0,705	1
Agrupado	8:14	22	1,66	0,198	1	7:10	17	0,53	0,467	1
Total	..	..	2,08	0,353	2	..	..	0,54	0,763	2
Heterogeneidade	..	..	0,42	0,517	1	..	..	0,01	0,920	1
M19	2:2	4	0	1	1	3:7	10	1,65	0,200	1
M23	4:1	5	1,93	0,165	1	1:14	15	13,45	0	1
Agrupado	6:3	9	1,02	0,313	1	4:21	25	12,67	0,000	1
Total	..	..	1,93	0,381	2	..	..	15,10	0,001	2
Heterogeneidade	..	..	0,910	0,340	1	..	..	2,43	0,119	1
M6	6:1	7	3,96	0,047	1	5:8	13	0,70	0,403	1
M7	1:4	5	1,93	0,165	1	8:6	14	0,29	0,592	1
M34	5:2	7	1,33	0,249	1	12:1	13	10,97	0,001	1
Agrupado	12:7	19	1,33	0,249	1	25:15	40	2,53	0,112	1
Total	..	..	7,22	0,065	3	..	..	11,96	0,008	3
Heterogeneidade	..	..	5,89	0,053	2	..	..	9,43	0,009	2

ANEXO B – Teste de segregação mendeliana por arranjos proposto por Weir (1996) para oito locos SSR de *C. langsdorffii* em uma população de Assis, SP

(continuação)

CL02										
Matrizes agrupadas	$N_{ij}:N_{ii}+N_{jj}$	N	G- teste	P- valor	GL	$N_{ik}:N_{jk}$	N	G- teste	P- valor	GL
F8	10:4	14	2,66	0,103	1	3:2	5	0,20	0,654	1
M35	11:2	13	6,86	0,009	1	5:2	7	1,33	0,249	1
Agrupado	21:6	27	8,83	0,003	1	8:4	12	1,36	0,244	1
Total	..	..	9,52	0,009	2	..	..	1,53	0,465	2
Heterogeneidade	..	..	0,69	0,406	1	..	..	0,17	0,680	1
F3	6:8	14	0,29	0,592	1	3:3	6	0	1	1
F10	3:12	15	5,78	0,016	1	4:1	5	1,93	0,165	1
F11	7:4	11	0,83	0,363	1	7:2	9	2,94	0,086	1
F12	11:7	18	0,90	0,344	1	1:1	2	0	1	1
M2	5:9	14	1,16	0,282	1	4:2	6	0,68	0,410	1
Agrupado	32:40	72	0,89	0,345	1	19:9	28	3,65	0,056	1
Total	..	..	2,06	0,841	5	..	..	5,55	0,352	5
Heterogeneidade	..	..	1,17	0,883	4	..	..	1,90	0,754	4
M3	7:12	19	1,33	0,249	1	0:1	1	1,39	0,239	1
M9	4:11	15	3,40	0,065	1	1:1	2	0	1	1
M19	1:11	12	9,75	0,002	1	3:2	5	0,2	0,654	1
Agrupado	12:34	46	10,97	0,000	1	4:4	8	0	1	1
Total	..	..	13,15	0,004	3	..	..	1,39	0,708	3
Heterogeneidade	..	..	2,19	0,335	2	..	..	1,39	0,499	2

ANEXO B – Teste de segregação mendeliana por arranjos proposto por Weir (1996) para oito locos SSR de *C. langsdorffii* em uma população de Assis, SP

(continuação)

CL06										
Matrizes agrupadas	$N_{ij}:N_{ii}+N_{jj}$	N	G-teste	P-valor	GL	$N_{ik}:N_{jk}$	N	G-teste	P-valor	GL
F8	3:4	7	0,14	0,705	1	7:6	13	0,08	0,781	1
F9	6:2	8	2,09	0,148	1	8:3	11	2,36	0,125	1
Agrupado	9:6	15	0,60	0,439	1	15:9	24	1,52	0,218	1
Total	..	..	2,23	0,328	2	..	..	2,44	0,295	2
Heterogeneidade	..	..	1,63	0,202	1	..	..	0,92	0,337	1
M19	7:7	14	0	1	1	4:2	6	0,68	0,41	1
M51	9:1	10	7,36	0,007	1	4:6	10	0,40	0,526	1
Agrupado	16:8	24	2,72	0,099	1	8:8	16	0	1	1
Total	..	..	7,36	0,025	2	..	..	1,08	0,583	2
Heterogeneidade	..	..	4,64	0,031	1	..	..	1,08	0,299	1
M8	3:1	4	1,05	0,306	1	12:3	15	5,78	0,016	1
M48	3:3	6	0	1	1	4:8	12	1,36	0,244	1
Agrupado	6:4	10	0,40	0,527	1	16:11	27	0,93	0,335	1
Total	..	..	1,05	0,592	2	..	..	7,14	0,028	2
Heterogeneidade	..	..	0,65	0,420	1	..	..	6,21	0,013	1
M2	4:1	5	1,93	0,165	1	2:13	15	9,01	0,003	1
F4	5:3	8	0,51	0,477	1	3:9	12	3,14	0,076	1
Agrupado	9:4	13	1,97	0,160	1	5:22	27	11,56	0,001	1
Total	..	..	2,44	0,295	2	..	..	12,15	0,002	2
Heterogeneidade	..	..	0,47	0,493	1	..	..	0,59	0,442	1

ANEXO B – Teste de segregação mendeliana por arranjos proposto por Weir (1996) para oito locos SSR de *C. langsdorffii* em uma população de Assis, SP

(continuação)

CL20										
Matrizes agrupadas	$N_{ij}:N_{ii}+N_{jj}$	N	G-teste	P-valor	GL	$N_{ik}:N_{jk}$	N	G-teste	P-valor	GL
F11	4:2	6	0,68	0,41	1	7:7	14	0	1	1
F15	3:5	8	0,51	0,477	1	7:5	12	0,33	0,563	1
Agrupado	7:7	14	0	1	1	14:12	26	0,15	0,699	1
Total	..	..	1,19	0,552	2	..	..	0,33	0,848	2
Heterogeneidade	..	..	1,19	0,275	1	..	..	0,18	0,671	1
F12	11:3	14	4,86	0,027	1	4:2	6	0,68	0,41	1
F14	9:5	14	1,16	0,282	1	0:6	6	8,32	0,004	1
M51	8:3	11	2,36	0,125	1	3:6	9	1,02	0,313	1
M56	4:3	7	0,14	0,705	1	5:8	13	0,70	0,403	1
Agrupado	32:14	46	7,24	0,007	1	12:22	34	2,99	0,084	1
Total	..	..	8,52	0,074	4	..	..	10,72	0,030	4
Heterogeneidade	..	..	1,28	0,734	3	..	..	7,73	0,051	3

ANEXO B – Teste de segregação mendeliana por arranjos proposto por Weir (1996) para oito locos SSR de *C. langsdorffii* em uma população de Assis, SP

(continuação)

CL27										
Matrizes agrupadas	$N_{ij}:N_{ii}+N_{jj}$	N	G-teste	P-valor	GL	$N_{ik}:N_{jk}$	N	G-teste	P-valor	GL
M2	8:0	8	11,09	0,001	1	10:2	12	5,82	0,016	1
M9	9:1	10	7,36	0,007	1	2:7	9	2,94	0,086	1
Agrupado	17:1	18	17,23	0,000	1	12:9	21	0,43	0,512	1
Total	..	..	18,45	0,000	2	..	..	8,76	0,013	2
Heterogeneidade	..	..	1,22	0,269	1	..	..	8,33	0,004	1
M14	2:3	5	0,2	0,654	1	5:6	11	0,09	0,763	1
M19	7:0	7	9,7	0,002	1	4:8	12	1,36	0,244	1
Agrupado	9:3	12	3,14	0,076	1	9:14	23	1,10	0,294	1
Total	..	..	9,90	0,071	2	..	..	1,45	0,484	2
Heterogeneidade	..	..	6,76	0,009	1	..	..	0,35	0,554	1
M7	3:0	3	4,16	0,041	1	11:6	17	1,49	0,222	1
M13	8:4	12	1,36	0,244	1	5:1	6	2,91	0,088	1
Agrupado	11:4	15	3,40	0,065	1	16:7	23	3,62	0,057	1
Total	..	..	5,52	0,063	2	..	..	4,40	0,111	2
Heterogeneidade	..	..	2,12	0,145	1	..	..	0,78	0,377	1
F11	15:4	19	6,78	0,009	1	0:1	1	0	0	1
F12	2:10	12	5,82	0,016	1	1:0	1	1,39	0,239	1
Agrupado	17:14	31	0,29	0,590	1	1:1	2	0	1	1
Total	..	..	12,60	0,002	2	..	..	1,39	0,499	2
Heterogeneidade	..	..	12,31	0,000	1	..	..	1,39	0,238	1
M3	1:0	1	1,39	0,239	1	14:4	18	5,88	0,015	1
M8	5:1	6	2,91	0,088	1	9:4	13	1,97	0,160	1
Agrupado	6:1	7	3,96	0,047	1	23:8	31	7,58	0,006	1
Total	..	..	4,30	0,116	2	..	..	7,85	0,020	2
Heterogeneidade	..	..	0,34	0,560	1	..	..	0,28	0,597	1

ANEXO B – Teste de segregação mendeliana por arranjos proposto por Weir (1996) para oito locos SSR de *C. langsdorffii* em uma população de Assis, SP

(continuação)

CL27										
Matrizes agrupadas	$N_{ij}:N_{ii}+N_{jj}$	N	G-teste	P-valor	GL	$N_{ik}:N_{jk}$	N	G-teste	P-valor	GL
F3	8:1	9	6,20	0,013	1	2:9	11	4,82	0,028	1
F4	1:9	10	7,36	0,007	1	5:4	9	0,11	0,739	1
M23	4:11	15	3,40	0,065	1	3:2	5	0,20	0,654	1
Agrupado	13:21	34	1,90	0,168	1	10:15	25	1,01	0,315	1
Total	..	..	16,96	0,001	3	..	..	5,13	0,163	3
Heterogeneidade	..	..	15,06	0,001	2	..	..	4,12	0,127	2
F8	4:2	6	0,68	0,41	1	11:1	12	9,75	0,002	1
M35	3:2	5	0,20	0,654	1	12:1	13	10,97	0,001	1
Agrupado	7:4	11	0,83	0,362	1	23:2	25	20,72	0,000	1
Total	..	..	0,88	0,644	2	..	..	20,72	0,000	2
Heterogeneidade	..	..	0,05	0,823	1	..	..	0,00	1	1

ANEXO B – Teste de segregação mendeliana por arranjos proposto por Weir (1996) para oito locos SSR de *C. langsdorffii* em uma população de Assis, SP

(continuação)

CL32										
Matrizes agrupadas	$N_{ij}:N_{ii}+N_{jj}$	N	G-teste	P-valor	GL	$N_{ik}:N_{jk}$	N	G-teste	P-valor	GL
M7	2:5	7	1,33	0,249	1	6:7	13	0,08	0,781	1
M36	7:2	9	2,94	0,086	1	6:2	8	2,09	0,148	1
Agrupado	9:7	16	0,25	0,617	1	12:9	21	0,43	0,512	1
Total	..	..	4,27	0,118	2	..	..	2,17	0,338	2
Heterogeneidade	..	..	4,02	0,045	1	..	..	1,74	0,187	1
F3	4:1	5	1,93	0,165	1	4:3	7	0,14	0,705	1
F4	4:3	7	0,14	0,705	1	3:6	9	1,02	0,313	1
F16	7:4	11	0,83	0,363	1	8:1	9	6,20	0,013	1
Agrupado	15:8	23	2,16	0,142	1	15:10	25	1,01	0,315	1
Total	..	..	2,90	0,407	3	..	..	7,36	0,061	3
Heterogeneidade	..	..	0,74	0,691	2	..	..	6,35	0,042	2
M13	4:2	6	0,68	0,410	1	9:5	14	1,16	0,282	1
M41	7:2	9	2,94	0,086	1	6:5	11	0,09	0,763	1
Agrupado	11:4	15	3,40	0,065	1	15:10	25	1,01	0,315	1
Total	..	..	3,62	0,164	2	..	..	1,25	0,535	2
Heterogeneidade	..	..	0,22	0,639	1	..	..	0,24	0,624	1

ANEXO B – Teste de segregação mendeliana por arranjos proposto por Weir (1996) para oito locos SSR de *C. langsdorffii* em uma população de Assis, SP

(continuação)

Matrizes agrupadas	$N_{ij} \cdot N_{ii} + N_{jj}$	N	CL32			$N_{ik} \cdot N_{jk}$	N	G-teste	P-valor	GL
			G-teste	P-valor	GL					
M2	7:1	8	5,06	0,024	1	9:3	12	3,14	0,076	1
M3	4:4	8	0	1	1	5:6	11	0,09	0,763	1
Agrupado	11:5	16	2,31	0,129	1	14:9	23	1,10	0,294	1
Total	..	..	5,06	0,080	2	..	..	3,23	0,199	2
Heterogeneidade	..	..	2,75	0,097	1	..	..	2,13	0,144	1
F2	3:8	11	2,36	0,125	1	5:4	9	0,11	0,739	1
F12	11:3	14	4,86	0,027	1	1:5	6	2,91	0,088	1
M19	9:4	13	1,97	0,16	1	3:4	7	0,14	0,705	1
Agrupado	23:15	38	1,70	0,192	1	9:13	22	0,73	0,393	1
Total	..	..	9,19	0,027	3	..	..	3,16	0,368	3
Heterogeneidade	..	..	7,49	0,024	2	..	..	2,43	0,297	2
M6	3:4	7	0,14	0,705	1	5:6	11	0,09	0,763	1
M48	3:3	6	0	1	1	6:6	12	0	1	1
Agrupado	6:7	13	0,08	0,777	1	11:12	23	0,04	0,841	1
Total	..	..	0,14	0,932	2	..	..	0,09	0,996	2
Heterogeneidade	..	..	0,06	0,806	1	..	..	0,05	0,824	1
M8	4:1	5	1,93	0,165	1	4:10	14	2,66	0,103	1
M56	5:1	6	2,91	0,088	1	9:5	14	1,16	0,282	1
Agrupado	9:2	11	4,82	0,028	1	13:15	28	0,14	0,708	1
Total	..	..	4,84	0,089	2	..	..	3,82	0,148	2
Heterogeneidade	..	..	0,02	0,888	1	..	..	3,68	0,055	1

ANEXO B – Teste de segregação mendeliana por arranjos proposto por Weir (1996) para oito locos SSR de *C. langsdorffii* em uma população de Assis, SP

(continuação)

Matrizes agrupadas	$N_{ij}:N_{ii}+N_{jj}$	N	CL34			$N_{ik}:N_{jk}$	N	G-teste	P-valor	GL
			G-teste	P-valor	GL					
M13	7:6	13	0,08	0,781	1	2:3	5	0,20	0,654	1
M19	9:2	11	4,82	0,028	1	3:6	9	1,02	0,313	1
M35	4:5	9	0,11	0,739	1	6:5	11	0,09	0,763	1
Agrupado	20:13	33	1,50	0,221	1	11:14	25	0,36	0,549	1
Total	..	..	5,01	0,171	3	..	..	1,31	0,727	3
Heterogeneidade	..	..	3,51	0,173	2	..	..	0,95	0,622	2
M34	8:6	14	0,29	0,592	1	0:6	6	8,32	0,004	1
M36	2:12	14	7,92	0,005	1	4:2	6	0,68	0,410	1
F2	2:9	11	4,82	0,028	1	1:8	9	6,20	0,013	1
Agrupado	12:27	39	5,92	0,015	1	5:16	21	6,06	0,014	1
Total	..	..	13,03	0,005	3	..	..	15,2	0,002	3
Heterogeneidade	..	..	7,11	0,030	2	..	..	9,14	0,010	2
F14	6:7	13	0,08	0,781	1	1:3	4	1,05	0,306	1
F16	5:4	9	0,11	0,739	1	2:9	11	4,82	0,028	1
Agrupado	11:11	22	0	1	1	3:12	15	5,78	0,016	1
Total	..	..	0,19	0,909	2	..	..	5,87	0,053	2
Heterogeneidade	..	..	0,19	0,663	1	..	..	0,09	0,764	1
M14	3:6	9	1,02	0,313	1	5:5	10	0	1	1
M56	3:2	5	0,20	0,654	1	14:1	15	13,45	0	1
Agrupado	6:8	14	0,29	0,590	1	19:6	25	7,10	0,008	1
Total	..	..	1,22	0,543	2	..	..	13,45	0,001	2
Heterogeneidade	..	..	0,93	0,335	1	..	..	6,35	0,012	1

ANEXO B – Teste de segregação mendeliana por arranjos proposto por Weir (1996) para oito locos SSR de *C. langsdorffii* em uma população de Assis, SP

(continuação)

Matrizes agrupadas	N _{ij} :N _{ii} +N _{jj}	N	CL34			N _{ik} :N _{jk}	N	G- teste	P- valor	GL
			G- teste	P- valor	GL					
F4	5:6	11	0,09	0,763	1	3:3	6	0	1	1
F8	6:3	9	1,02	0,313	1	5:1	6	2,91	0,088	1
F9	3:9	12	3,14	0,076	1	2:1	3	0,34	0,560	1
Agrupado	14:18	32	0,50	0,480	1	10:5	15	1,70	0,192	1
Total	..	..	4,25	0,236	3	..	..	3,25	0,354	3
Heterogeneidade	..	..	3,75	0,153	2	..	..	1,55	0,461	2

ANEXO B – Teste de segregação mendeliana por arranjos proposto por Weir (1996) para oito locos SSR de *C. langsdorffii* em uma população de Assis, SP

(conclusão)

CL39										
Matrizes agrupadas	$N_{ij}:N_{ii}+N_{jj}$	N	G-teste	P-valor	GL	Nik:Njk	N	G-teste	P-valor	GL
M2	11:5	16	2,31	0,129	1	1:2	3	0,34	0,56	1
F14	7:9	16	0,25	0,617	1	0:4	4	5,55	0,02	1
Agrupado	18:14	32	0,50	0,480	1	1:6	7	3,96	0,047	1
Total	..	..	2,56	0,278	2	..	..	5,89	0,053	2
Heterogeneidade	..	..	2,06	0,151	1	..	..	1,93	0,165	1
M7	3:0	3	4,16	0,041	1	14:3	17	7,72	0,01	1
F10	3:1	4	1,05	0,306	1	6:10	16	1,01	0,32	1
Agrupado	6:1	7	3,96	0,047	1	20:13	33	1,50	0,221	1
Total	..	..	5,21	0,073	2	..	..	8,73	0,013	2
Heterogeneidade	..	..	1,25	0,264	1	..	..	7,23	0,007	1
F12	7:6	13	0,08	0,781	1	3:4	7	0,14	0,71	1
M14	1:1	2	0	1	1	7:11	18	0,90	0,34	1
Agrupado	8:7	15	0,07	0,791	1	10:15	25	1,01	0,315	1
Total	..	..	0,08	0,961	2	..	..	1,04	0,595	2
Heterogeneidade	..	..	0,01	0,920	1	..	..	0,03	0,862	1
M9	11:4	15	3,40	0,065	1	2:2	4	0	1	1
M23	5:1	6	2,91	0,088	1	11:3	14	4,86	0,027	1
Agrupado	16:5	21	6,06	0,014	1	13:5	18	3,68	0,055	1
Total	..	..	6,31	0,043	2	..	..	4,86	0,088	2
Heterogeneidade	..	..	0,25	0,617	1	..	..	1,18	0,277	1

Notas: Dados numéricos arredondados

Sinais convencionais utilizados:

.. não se aplica dado numérico;

0,00 dado numérico igual a zero resultante de arredondamento de um dado numérico originalmente positivo;

- Dado numérico igual a zero não resultante de arredondamento.

ANEXO C – Teste de independência para oito locos SSR de *C. langsdorffii* em uma população de Assis, SP

(continua)

Combinação locos	Matrizes							
	M2		M3		M13		M14	
	G-teste	P-valor	G-teste	P-valor	G-teste	P-valor	G-teste	P-valor
CL01 x CL02	7,76	0,051	..	..	0,44	0,933	0,2	0,978
CL01 x CL06	8,47	0,037	..	..	2,54	0,468	6,36	0,095
CL01 x CL20	4,39	0,222	..	..	1	0,8	36,73	0
CL01 x CL27	2,87	0,412	..	..	3,67	0,299	5,31	0,15
CL01 x CL32	4,75	0,191	..	..	5,27	0,153	9,05	0,029
CL01 x CL34	4,59	0,204	..	..	3,84	0,28	8,77	0,032
CL01 x CL39	1,48	0,687	..	..	1,12	0,772	9,62	0,022
CL02 x CL06	17,32	0,001	4,09	0,251	2,81	0,422	..	..
CL02 x CL20	3,88	0,275	3,53	0,317	1,3	0,729	..	..
CL02 x CL27	2,99	0,393	17,89	0	2,78	0,426	..	..
CL02 x CL32	5,32	0,15	8,11	0,044	4,76	0,19	..	..
CL02 x CL34	5,34	0,148	..	..	9,59	0,022	..	..
CL02 x CL39	4,15	0,246	13,21	0,004	2,03	0,567	..	..
CL06 x CL20	12,72	0,005	0,34	0,952	1,58	0,664	44,42	0
CL06 x CL27	18,75	0	6,28	0,099	1,66	0,647	12,24	0,007
CL06 x CL32	16,01	0,001	0,35	0,95	4,61	0,203	4,97	0,174
CL06 x CL34	14,27	0,003	..	..	2,28	0,516	12,4	0,006
CL06 x CL39	20,07	0	3,4	0,334	1,24	0,744	9,66	0,022
CL20 x CL27	9,1	0,028	8,7	0,034	2,3	0,512	36,04	0
CL20 x CL32	8,85	0,031	0,5	0,919	4,29	0,232	38,2	0
CL20 x CL34	11,89	0,008	..	..	2,51	0,473	46,76	0
CL20 x CL39	5,92	0,116	4,81	0,186	0	1	30,26	0
CL27 x CL32	6,21	0,102	10,58	0,014	7,21	0,065	0,18	0,98
CL27 x CL34	7,82	0,05	..	..	3,05	0,384	7,43	0,059
CL27 x CL39	3,25	0,354	8,54	0,036	1,13	0,769	0,67	0,88
CL32 x CL34	6,07	0,108	0,05	0,997	2,81	0,422	12,17	0,007
CL32 x CL39	5,01	0,171	6,31	0,098	6,58	0,086	3,11	0,375
CL34 x CL39	3,62	0,305	..	..	2,87	0,413	6,37	0,095

ANEXO C – Teste de independência para oito locos SSR de *C. langsdorffii* em uma população de Assis, SP

(continuação)

Combinação locos	Matrizes							
	M6		M7		M8		M9	
	G-teste	P-valor	G-teste	P-valor	G-teste	P-valor	G-teste	P-valor
CL01 x CL02	1,01	0,8	2,59	0,459	..	..	0,67	0,88
CL01 x CL06	3,6	0,308	6,39	0,094	..	..	1,97	0,578
CL01 x CL20	..	..	3,54	0,316	..	..	2,26	0,52
CL01 x CL27	2,52	0,471	3,96	0,265	..	..	0,72	0,868
CL01 x CL32	2,26	0,52	2,56	0,465	..	..	..	..
CL01 x CL34	..	..	28,45	0	..	..	0,51	0,916
CL01 x CL39	1,52	0,677	11,13	0,011	..	..	0,37	0,947
CL02 x CL06	5,2	0,158	..	..	6	0,111	4,14	0,246
CL02 x CL20	..	..	..	..	0,82	0,844	0,9	0,825
CL02 x CL27	13,31	0,004	..	..	0,56	0,905	3,74	0,291
CL02 x CL32	2,6	0,457	..	..	0,25	0,969	..	..
CL02 x CL34	..	..	..	..	..	..	..	..
CL02 x CL39	1,48	0,687	..	..	1,11	0,775	2,13	0,546
CL06 x CL20	..	..	1,02	0,796	4,24	0,237	2,67	0,446
CL06 x CL27	8,06	0,045	2,88	0,411	6,49	0,09	3,4	0,334
CL06 x CL32	9,68	0,021	2,89	0,409	8,47	0,037	..	..
CL06 x CL34	..	..	29,85	0	..	..	..	..
CL06 x CL39	1,92	0,589	6,62	0,085	6,98	0,073	3,45	0,327
CL20 x CL27	..	..	1,4	0,706	0,13	0,988	3,73	0,293
CL20 x CL32	..	..	0,67	0,88	2,28	0,516	3,35	0,341
CL20 x CL34	..	..	30,49	0	..	..	..	..
CL20 x CL39	..	..	5,6	0,133	0,29	0,963	3,38	0,337
CL27 x CL32	2,1	0,551	2,74	0,433	3,16	0,368	..	..
CL27 x CL34	..	..	33,94	0	..	..	..	..
CL27 x CL39	4,61	0,203	8,66	0,034	0,89	0,829	4,13	0,248
CL32 x CL34	..	..	42,83	0	..	..	..	..
CL32 x CL39	2,56	0,465	9,32	0,025	0,1	0,992	..	..
CL34 x CL39	..	..	41,73	0	..	..	..	..

ANEXO C – Teste de independência para oito locos SSR de *C. langsdorffii* em uma população de Assis, SP

(continuação)

Combinação locos	Matrizes							
	M19		M56		M34		M35	
	G-teste	P-valor	G-teste	P-valor	G-teste	P-valor	G-teste	P-valor
CL01 x CL02	3,72	0,294	..	..	5,5	0,139	3,95	0,267
CL01 x CL06	4,32	0,229	..	..	5,27	0,153	4,53	0,21
CL01 x CL20	4,95	0,176	..	..	4,46	0,216	..	..
CL01 x CL27	2,12	0,549	..	..	6,83	0,078	10,85	0,013
CL01 x CL32	1,29	0,731	..	..	..	..	6,03	0,11
CL01 x CL34	1,58	0,663	..	..	7,39	0,06	3,71	0,295
CL01 x CL39	1,48	0,688	..	..	10,64	0,014	3,05	0,383
CL02 x CL06	1,22	0,748	5,51	0,138	1,77	0,622	0,65	0,886
CL02 x CL20	2,33	0,507	4,19	0,242	0,4	0,94	..	..
CL02 x CL27	2,69	0,441	..	..	0,74	0,864	9,36	0,025
CL02 x CL32	2,73	0,435	3,49	0,322	..	..	4,42	0,219
CL02 x CL34	3,07	0,382	17,64	0,001	7,99	0,046	5,61	0,132
CL02 x CL39	2,33	0,507	11,72	0,008	2,77	0,428	0,8	0,85
CL06 x CL20	2,56	0,465	7,68	0,053	1,4	0,706	..	..
CL06 x CL27	2,97	0,397	..	..	1,1	0,777	4,17	0,244
CL06 x CL32	0,63	0,891	3,39	0,335	..	..	9,05	0,029
CL06 x CL34	1,45	0,693	12,81	0,005	1,48	0,686	3,18	0,365
CL06 x CL39	1,6	0,659	8,55	0,036	4,46	0,216	0,35	0,95
CL20 x CL27	1,52	0,677	..	..	1,43	0,698	..	..
CL20 x CL32	5,69	0,128	2,13	0,547	..	..	..	..
CL20 x CL34	3,49	0,322	20,23	0	1,76	0,624	..	..
CL20 x CL39	2,19	0,533	8,04	0,045	4,47	0,215	..	..
CL27 x CL32	1,95	0,582	..	..	..	..	..	..
CL27 x CL34	1,48	0,687	..	..	1,68	0,641	7,47	0,058
CL27 x CL39	2,13	0,547	..	..	4,61	0,203	4,79	0,188
CL32 x CL34	1,2	0,752	16,97	0,001	..	..	8,82	0,032
CL32 x CL39	0,8	0,849	6,98	0,072	..	..	7,34	0,062
CL34 x CL39	0,27	0,965	22,86	0	3,05	0,384	3,21	0,361

ANEXO C – Teste de independência para oito locos SSR de *C. langsdorffii* em uma população de Assis, SP

(continuação)

Combinação locos	Matrizes							
	M36		M51		M23		M41	
	G-teste	P-valor	G-teste	P-valor	G-teste	P-valor	G-teste	P-valor
CL01 x CL02	1,23	0,747	..	..	23,28	0	5,41	0,144
CL01 x CL06	1,5	0,682	..	..	13,08	0,004	3,27	0,351
CL01 x CL20	..	..	..	..	9,18	0,027	6,84	0,077
CL01 x CL27	2,53	0,47	..	..	22,44	0	4,07	0,254
CL01 x CL32	4,91	0,178	..	..	11,73	0,008	3,75	0,29
CL01 x CL34	3,74	0,291	..	..	..	..	4,99	0,172
CL01 x CL39	0,62	0,891	..	..	14,29	0,003	..	..
CL02 x CL06	2,04	0,564	2,63	0,452	..	..	1,1	0,777
CL02 x CL20	..	..	0,73	0,866	..	..	7,48	0,058
CL02 x CL27	3,28	0,35	29,68	0	..	..	4,76	0,19
CL02 x CL32	4,91	0,178	8,52	0,036	..	..	2,13	0,547
CL02 x CL34	3,79	0,285	16,52	0,001	..	..	6,46	0,091
CL02 x CL39	2,66	0,447	4,81	0,186	..	..	..	..
CL06 x CL20	..	..	0,23	0,973	5,48	0,14	3,6	0,308
CL06 x CL27	6,51	0,089	16,99	0,001	7,25	0,064	0,93	0,819
CL06 x CL32	2,99	0,394	1,69	0,64	2,9	0,408	0,62	0,891
CL06 x CL34	4,19	0,242	14,1	0,003	..	..	0,5	0,918
CL06 x CL39	0,9	0,826	0,07	0,995	5,55	0,136	..	..
CL20 x CL27	..	..	15,8	0,001	6,46	0,091	5,35	0,148
CL20 x CL32	..	..	4,71	0,194	1,55	0,67	6,28	0,099
CL20 x CL34	..	..	17,47	0,001	..	..	6,55	0,088
CL20 x CL39	..	..	0,1	0,992	4,42	0,22	..	..
CL27 x CL32	5,67	0,129	24,1	0	5,32	0,15	0,25	0,969
CL27 x CL34	10,39	0,015	32,68	0	..	..	2,89	0,409
CL27 x CL39	5,44	0,143	19,05	0	11,73	0,008	..	..
CL32 x CL34	10,95	0,012	16,14	0,001	..	..	1,23	0,745
CL32 x CL39	4,81	0,186	2,81	0,422	8,39	0,039	..	..
CL34 x CL39	5,5	0,138	10,1	0,018	..	..	..	..

ANEXO C – Teste de independência para oito locos SSR de *C. langsdorffii* em uma população de Assis, SP

(continuação)

Combinação locos	Matrizes							
	M48		F2		F3		F4	
	G-teste	P-valor	G-teste	P-valor	G-teste	P-valor	G-teste	P-valor
CL01 x CL02	..	..	..	..	3,74	0,291	2,07	0,558
CL01 x CL06	..	..	..	..	0,88	0,829	2,6	0,457
CL01 x CL20	..	..	..	..	15,11	0,002	2,65	0,449
CL01 x CL27	..	..	..	..	3,88	0,275	5,66	0,129
CL01 x CL32	..	..	..	..	1,69	0,638	1,1	0,777
CL01 x CL34	..	..	..	..	32,56	0	14,38	0,002
CL01 x CL39	..	..	..	..	1,5	0,682	0,67	0,88
CL02 x CL06	7,16	0,067	..	..	2,56	0,465	6,69	0,082
CL02 x CL20	7,67	0,053	..	..	18,81	0	3,83	0,281
CL02 x CL27	7,46	0,058	..	..	7	0,072	7,46	0,058
CL02 x CL32	10,2	0,017	..	..	0,67	0,88	2,03	0,566
CL02 x CL34	4,72	0,194	..	..	32,4	0	8,17	0,043
CL02 x CL39	12,37	0,006	..	..	1,95	0,582	3,67	0,299
CL06 x CL20	4,07	0,254	0,62	0,891	10,49	0,015	1,84	0,606
CL06 x CL27	1,94	0,586	..	..	3,21	0,361	3,82	0,281
CL06 x CL32	1,52	0,677	0,73	0,865	3,33	0,344	3,32	0,345
CL06 x CL34	1,65	0,649	41,06	0	34,52	0	9,36	0,025
CL06 x CL39	3,32	0,345	23,79	0	0,59	0,898	2,31	0,511
CL20 x CL27	1,62	0,656	..	..	13,86	0,003	3,13	0,371
CL20 x CL32	0,3	0,96	2,11	0,551	7,18	0,067	1,29	0,731
CL20 x CL34	7,01	0,072	42,11	0	40,13	0	7,52	0,057
CL20 x CL39	5,28	0,152	19,96	0	9,74	0,021	4,61	0,203
CL27 x CL32	1,96	0,58	..	..	3,73	0,292	0,98	0,807
CL27 x CL34	5,92	0,116	..	..	28,19	0	10,82	0,013
CL27 x CL39	9,24	0,026	..	..	3,62	0,306	1,26	0,738
CL32 x CL34	4,01	0,26	40,82	0	23,46	0	9,86	0,02
CL32 x CL39	6,06	0,109	25,48	0	0,57	0,904	0,78	0,855
CL34 x CL39	16,06	0,001	54,81	0	28,01	0	7,75	0,051

ANEXO C – Teste de independência para oito locos SSR de *C. langsdorffii* em uma população de Assis, SP

(continuação)

Combinação locos	Matrizes							
	F8		F9		F10		F11	
	G-teste	P-valor	G-teste	P-valor	G-teste	P-valor	G-teste	P-valor
CL01 x CL02	2,46	0,482	..	..	29,82	0	4,51	0,211
CL01 x CL06	1,9	0,593	..	..	10,38	0,016	16,36	0,001
CL01 x CL20	2,76	0,429	..	..	2,99	0,394	3,6	0,308
CL01 x CL27	8,96	0,03	..	..	6	0,111	1,99	0,575
CL01 x CL32	3,57	0,312	..	..	..	..	3,22	0,359
CL01 x CL34	9,96	0,019	..	..	..	..	..	..
CL01 x CL39	8,47	0,037	..	..	4,89	0,18	30,84	0
CL02 x CL06	1,38	0,71	..	..	25,47	0	18,82	0
CL02 x CL20	1,87	0,6	..	..	35,32	0	2,6	0,458
CL02 x CL27	7,94	0,047	..	..	35,96	0	1,22	0,747
CL02 x CL32	0,67	0,88	..	..	..	..	1,72	0,632
CL02 x CL34	7,98	0,046	..	..	..	..	..	..
CL02 x CL39	7,24	0,065	..	..	31,08	0	25,77	0
CL06 x CL20	0,8	0,85	4,61	0,203	3,58	0,311	12,24	0,007
CL06 x CL27	6,11	0,107	4,84	0,184	5,96	0,114	14,61	0,002
CL06 x CL32	1,73	0,63	2,6	0,458	..	..	23,86	0
CL06 x CL34	7,83	0,05	6,46	0,091	..	..	..	..
CL06 x CL39	8,08	0,044	7,71	0,052	6,04	0,11	40	0
CL20 x CL27	8,64	0,035	5,49	0,139	8,47	0,037	2,35	0,504
CL20 x CL32	0,94	0,816	0,25	0,969	..	..	4,42	0,219
CL20 x CL34	6,07	0,108	11,53	0,009	..	..	..	..
CL20 x CL39	8,39	0,039	4,66	0,198	1,26	0,738	24,52	0
CL27 x CL32	6,35	0,096	3,21	0,36	..	..	0,16	0,984
CL27 x CL34	9,62	0,022	9,61	0,022	..	..	..	..
CL27 x CL39	12,51	0,006	6,15	0,105	10,46	0,015	27,11	0
CL32 x CL34	7,82	0,05	13,55	0,004	..	..	..	..
CL32 x CL39	12,31	0,006	2,34	0,504	..	..	32,83	0
CL34 x CL39	11,72	0,008	15,47	0,001	..	..	..	..

ANEXO C – Teste de independência para oito locos SSR de *C. langsdorffii* em uma população de Assis, SP

(conclusão)

Combinação locos	Matrizes							
	F12		F14		F15		F16	
	G-teste	P-valor	G-teste	P-valor	G-teste	P-valor	G-teste	P-valor
CL01 x CL02	4,79	0,188	..	..	49,13	0	..	..
CL01 x CL06	1,03	0,795	..	..	14	0,003	..	..
CL01 x CL20	0,41	0,937	..	..	16,08	0,001	..	..
CL01 x CL27	17,51	0,001	..	..	28,6	0	..	..
CL01 x CL32	0,64	0,887	..	..	16,96	0,001	..	..
CL01 x CL34	3,77	0,288	..	..	20,31	0	..	..
CL01 x CL39	4,76	0,19	..	..	19,53	0	..	..
CL02 x CL06	2,87	0,411	0,84	0,839	38,02	0	..	..
CL02 x CL20	3,68	0,298	3,03	0,387	35,27	0	..	..
CL02 x CL27	18,04	0	..	..	40,4	0	..	..
CL02 x CL32	4,3	0,231	0,43	0,934	42,35	0	..	..
CL02 x CL34	12,32	0,006	3,48	0,323	49,57	0	..	..
CL02 x CL39	5,36	0,147	0,9	0,825	38,74	0	..	..
CL06 x CL20	2,01	0,571	4,87	0,182	2,63	0,452	11,26	0,01
CL06 x CL27	12,82	0,005	..	..	4,01	0,26	5,79	0,122
CL06 x CL32	1,18	0,758	3,55	0,315	1,86	0,602	16,24	0,001
CL06 x CL34	13,72	0,003	1,51	0,681	5,04	0,169	6	0,111
CL06 x CL39	0,9	0,825	1,03	0,793	7,3	0,063	2,83	0,419
CL20 x CL27	11,63	0,009	..	..	5,84	0,12	8,88	0,031
CL20 x CL32	0,35	0,951	2,85	0,416	4,14	0,247	16,61	0,001
CL20 x CL34	3,85	0,278	3,72	0,293	9,15	0,027	7,43	0,059
CL20 x CL39	2,18	0,536	3,46	0,326	6,99	0,072	11,65	0,009
CL27 x CL32	10,22	0,017	..	..	6,27	0,099	16,73	0,001
CL27 x CL34	18,5	0	..	..	9,12	0,028	8,64	0,034
CL27 x CL39	14,26	0,003	..	..	5,06	0,167	4,56	0,207
CL32 x CL34	3,43	0,33	0,97	0,809	8,96	0,03	14,28	0,003
CL32 x CL39	4,72	0,194	0,3	0,959	7,94	0,047	13,94	0,003
CL34 x CL39	7,2	0,066	5,77	0,123	11,1	0,011	3,99	0,263

Notas: Dados numéricos arredondados

Sinais convencionais utilizados:

.. não se aplica dado numérico;

0,00 dado numérico igual a zero resultante de arredondamento de um dado numérico originalmente positivo;

- Dado numérico igual a zero não resultante de arredondamento.