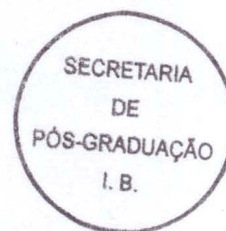


UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS

INSTITUTO DE BIOLOGIA



Elen Arroyo Peres

**“Estudo genético de populações de *Araneus venatrix*
(Arachnida: Araneae) do Estado de São Paulo”**

Este exemplar corresponde à redação final
da tese defendida pelo(a) candidato (a)

Elen Arroyo Peres

e aprovada pela Comissão Julgadora.

Solferini

Dissertação apresentada ao Instituto de Biologia para obtenção do Título de Mestre em Genética e Biologia Molecular, na área de Genética Animal e Evolução.

Orientadora: Prof^a. Dra. Vera Nisaka Solferini

Campinas, 2010

**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA DO INSTITUTO DE BIOLOGIA – UNICAMP**

P415e

Peres, Elen Arroyo

Estudo genético de populações de *Araneus venatrix*
(Arachnida: Araneae) do Estado de São Paulo / Elen Arroyo
Peres. – Campinas, SP: [s.n.], 2010.

Orientadora: Vera Nisaka Solferini.

Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual de
Campinas, Instituto de Biologia.

1. Genética de populações. 2. Mata Atlântica. 3.
Fragmentação florestal. 4. Aranha. I. Solferini, Vera
Nisaka. II. Universidade Estadual de Campinas. Instituto
de Biologia. III. Título.

Título em inglês: Genetic study of *Araneus venatrix* (Arachnida: Araneae) populations of São Paulo State.

Palavras-chave em inglês: Population genetics; Mata Atlântica – Brazil; Forest fragmentation; Spider.

Área de concentração: Genética Animal e Evolução.

Titulação: Mestre em Genética e Biologia Molecular.

Banca examinadora: Vera Nisaka Solferini, Louis Bernard Klaczko, Maura Helena Manfrin.

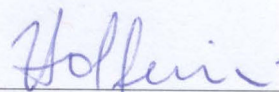
Data da defesa: 24/02/2010.

Programa de Pós-Graduação: Genética e Biologia Molecular.

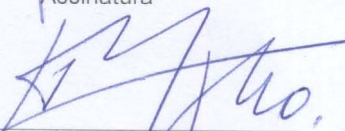
Campinas, 24 de fevereiro de 2010.

BANCA EXAMINADORA

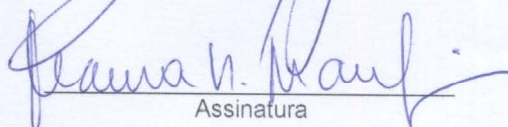
Prof^a. Dra. Vera Nisaka Solferini (Orientadora)


Assinatura

Prof. Dr. Louis Bernard Klaczko


Assinatura

Prof^a. Dra. Maura Helena Manfrin


Assinatura

Prof^a. Dra. Ana Maria Lima de Azeredo-Espin

Assinatura

Prof. Dr. Fernando Faria Franco

Assinatura

Agradecimentos

Agradeço, em primeiro lugar, à minha família. Aos meus pais, Paulo e Denise, pela realização de mais esse sonho. Pela educação que me proporcionaram desde a infância, por todo o apoio moral e financeiro, pelo incentivo à ciência e principalmente pelo amor incondicional que sempre me dedicaram.

Às minhas avós, Neide e Maria, por todo o carinho que só as avós podem conceder e por sempre se orgulharem das minhas conquistas, mesmo sem saber ao certo o que eu estudo.

À minha irmã Thainá, que me faz ver o mundo com os olhos sonhadores das crianças e valorizar as coisas realmente importantes na vida. Pela sinceridade, espontaneidade e alegria que sempre me serviram de incentivo nas horas difíceis.

À Vera Solferini, minha orientadora, pela oportunidade de trabalhar numa das melhores instituições de ensino e pesquisa do país. Pela confiança no meu trabalho, pelo estímulo nos momentos de angústia e pelo carinho nos últimos anos.

Aos técnicos do laboratório, Célia Bresil e Herbert Silva, por todo o auxílio. À Célia, meu agradecimento especial pela ajuda na realização da maioria dos protocolos e por ter sido uma grande amiga, sem a qual a rotina no laboratório teria sido infinitamente mais complicada e maçante.

Ao Prof. Dr. Marcelo de Oliveira Gonzaga, pelas idéias iniciais para o projeto, ajuda nas primeiras coletas e identificação das aranhas, e ao Msc. Jober Fernando Sobczak, pela identificação da maior parte dos indivíduos e pelas sugestões que enriqueceram sobremaneira este trabalho.

À Camila Macrini, pela paciência no início do mestrado, quando até utilizar a pipeta corretamente era um desafio. Por me ‘apresentar’ as aranhas, pela ajuda no campo e pelas as ótimas idéias, desde o começo do projeto até a discussão final.

À Aluana Abreu, por ensinar toda a metodologia utilizada, ajudar pacientemente com as análises dos dados e por todas as sugestões e críticas importantíssimas para a conclusão deste trabalho.

Aos colegas do Laboratório de Diversidade Genética, especialmente aos amigos Renê, Ricardo, Renato, Kaiser, Maurício, Luiz, Mariana, Caiame, Ju, Rafael, Patrícia, Alberto e agregados. Por compartilharem inúmeras tardes na bancada, pela ajuda com os protocolos, pelos cafés, almoços e momentos divertidíssimos. Sem a participação direta ou indireta de vocês esse trabalho nunca seria concluído.

Ao Prof. Dr. Gonçalo Amarante Guimarães Pereira, por permitir a utilização do fototransiluminador do Laboratório de Genômica e Expressão.

A todos os amigos (biólogos ou não) que auxiliaram nas coletas. Por sujarem as calças de barro, enfrentando calor, picadas de mosquitos e fobias, ajudando a capturar as aranhas ou simplesmente fazendo companhia, tornando o trabalho de campo mais rápido e divertido.

Aos membros da Banca Examinadora, Prof. Dr. Louis Bernard Klaczko e Prof^a. Dra. Maura Helena Manfrin, bem como aos da Pré-Banca, Prof. Dr. Fernando de Faria Franco e Prof. Dr. Evandro de Marsola Moraes, pelas valiosas sugestões e críticas a respeito da dissertação.

Aos amigos da Ecologia, principalmente às queridas Jana Cortinóz, Christiane Corrêa e Christini Caselli. Pelas críticas, sugestões, ajudas estatísticas, chás da tarde, idas ao Japi e pela companhia sempre divertida. Pelos conselhos acadêmicos e pessoais, e por tornarem minha vivência em Barão Geraldo tão especial.

Aos amigos-irmãos que tive em Campinas: Orestes, Rodrigo, Marcão, Mel, Thaíse, André (Frango), Dudu, Vini, Cristiano. Por todo o carinho, pela convivência maravilhosa, pelas caixas e mais caixas de cerveja bebidas e por serem o principal motivo de eu ter me adaptado à cidade desde o dia em que cheguei.

Às minhas amigas de infância, Jana Rebuá, Paloma e Marina, pela amizade incondicional. Por serem minha fonte de alegria e entusiasmo há quase 20 anos e sempre me apoiarem em tudo, com sinceridade, sorrisos e otimismo.

A todos os amigos da graduação, especialmente àqueles que colaboraram com este trabalho com sugestões e críticas: Cris, Paulinha, Nadia, Du (Brumas), Ana Z, Vanessa, Carol, Gorgon, Bruna, Lilian, Hil e Gabriel. Agradeço por continuarem contribuindo mesmo após o término da graduação, seja solucionando minhas dúvidas, oferecendo idéias ou simplesmente contando histórias engraçadas.

À FAPESP (Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo) pelo financiamento do projeto e à CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior) pela bolsa concedida.

Agradeço, por fim, às aranhas que contribuíram com a própria vida para este trabalho (embora não o tenham feito por livre e espontânea vontade). Tendo este trabalho a responsabilidade de contribuir para a conservação desta e de muitas outras espécies, é para mim imprescindível agradecer àquelas que tiveram de ser sacrificadas para torná-lo possível.

“Ao fim e ao cabo, não procedemos em relação ao conhecimento de maneira muito diferente da aranha, quando tece a teia para caçar e sugar as presas: ela pretende viver graças a estas artes e atividades, satisfazer as suas necessidades – a nós conhecedores, pretendemos exatamente o mesmo ao deitarmos a mão a sóis e a átomos, como que os fixando e determinando.”

(Friedrich Nietzsche)

RESUMO

A Mata Atlântica é uma das mais importantes florestas tropicais do mundo e, devido a sua grande riqueza de espécies e altas taxas de endemismo, é considerada um *hotspot* mundial para conservação. Entretanto, o bioma tem sido intensamente devastado nos últimos 500 anos, ficando restrito a pequenos fragmentos isolados. A fragmentação do habitat pode afetar diretamente a biodiversidade, já que o tamanho dos fragmentos e a conectividade entre eles exercem grande influência sobre a estrutura das populações. Embora não tenha efeitos previsíveis sobre a variabilidade genética das espécies, a subdivisão do habitat favorece a ação da deriva genética e, conseqüentemente, o acúmulo de divergências entre as populações locais, caso o fluxo gênico entre elas seja diminuído. Assim, as conseqüências da fragmentação dependem da habilidade de migração dos indivíduos entre fragmentos, o que é influenciado pelas propriedades específicas da matriz, pela distância entre os fragmentos e pela capacidade de dispersão de cada espécie. Sendo um grupo bastante variável quanto aos meios de dispersão, as aranhas constituem um bom modelo para o estudo da fragmentação. O objetivo deste trabalho foi investigar, por meio de PCR-RFLP do mtDNA, a variabilidade genética e estrutura populacional da aranha *Araneus venatrix* dentro e entre cinco fragmentos de Mata Atlântica do Estado de São Paulo, além de inferir os prováveis processos evolutivos responsáveis pela distribuição dos haplótipos na região estudada. Foram observados altos índices de variabilidade, o que pode estar relacionado ao hábito de forrageamento e comportamento social da espécie. A fragmentação do habitat parece afetar a diversidade genética, apesar de não haver correlação significativa entre tamanho do fragmento e variabilidade, sugerindo que fatores como grau de conservação dos fragmentos e conectividade entre eles também são importantes para a variabilidade genética na espécie. A forte estruturação populacional encontrada sugere que a capacidade de dispersão de *A. venatrix* é relativamente limitada a longas distâncias, ao menos entre as fêmeas. A migração dos indivíduos também pode ter sido prejudicada pela fragmentação do habitat, já que a matriz urbano-industrial e agrícola entre os fragmentos pode ter aumentado o isolamento de algumas populações. As análises filogeográficas não apontaram para eventos históricos de fragmentação ou expansão demográfica recente entre as populações de *A. venatrix*, sugerindo que a distribuição dos

haplótipos provavelmente se deve a restrições ao fluxo gênico entre as populações, sendo influenciada posteriormente pelos efeitos da fragmentação antrópica do habitat.

ABSTRACT

Brazilian Atlantic Forest is considered a biodiversity hotspot due to its high species richness and endemism. However, this biome has been intensively depleted in the last 500 years, and now the remains are found in more or less isolated patches of different sizes. Habitat fragmentation may directly affect biodiversity once patch size and connectivity play important roles in the structure of communities. Though the genetic effects of habitat subdivision cannot be predicted, it may promote random genetic drift and interpopulational divergence when gene flow is reduced or absent. Therefore, the consequences of habitat fragmentation depend on the dispersal ability of each species, which may be influenced by the properties of the surrounding matrix and the distance between fragments. Spiders are a very diverse group regarding dispersal behavior and, hence, represent a suitable model for fragmentation studies. The aim of this work was to investigate, with analysis of mtDNA PCR-RFLP, intra and interpopulational genetic variability and structure of the spider *Araneus venatrix* in five patches of Brazilian Atlantic Forest. We discuss the likely evolutionary processes responsible for haplotypes distribution in this region. High levels of genetic diversity were observed, which may be related to species' foraging and social behavior. Habitat fragmentation also seems to affect genetic variance, although no significant correlation between variability and patch size was found, suggesting that levels of disturbance and patch connectivity may also be important for the species genetic diversity. High levels of populational structure reveal limited dispersal ability in *A. venatrix*, at least among females. Migration may also be affected by fragmentation, since the urban and agroecosystem matrix could isolate some of the patches. Phylogeographic analysis did not indicate fragmentation historic events or demographic expansion in *A. venatrix* populations, suggesting that the distribution of haplotypes is probably due to restricted gene flow and isolation by distance, influenced by antropogenic habitat fragmentation.

ÍNDICE

1. INTRODUÇÃO.....	1
1.1. A Mata Atlântica.....	1
1.2. Fragmentação do habitat.....	6
1.2.1. Aspectos gerais da fragmentação.....	6
1.2.2. Marcadores moleculares no estudo da fragmentação.....	8
1.2.3. Modelos de estudo.....	9
1.3. As aranhas.....	10
1.3.1. A Ordem Araneae.....	10
1.3.2. Influência do habitat sobre a diversidade de aranhas.....	12
1.3.3. Aranhas na Mata Atlântica.....	13
1.3.4. O gênero <i>Araneus</i> e <i>A. venatrix</i>	14
2. OBJETIVOS.....	19
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	20
3.1. Espécie estudada e coleta dos indivíduos.....	20
3.2. Área de estudo.....	20
3.3. Análise genética.....	23
3.3.1. Extração do DNA total.....	23
3.3.2. Escolha dos genes e amplificação da região.....	23
3.3.3. Clivagem do mtDNA com endonucleases de restrição.....	25
3.3.4. Análise dos dados.....	25
4. RESULTADOS.....	27
5. DISCUSSÃO.....	45
5.1. Variabilidade da região mitocondrial COI-COI.....	45
5.2. Variabilidade intrapopulacional.....	46
5.3. Influência do habitat sobre a variabilidade genética.....	47
5.4. Estrutura populacional.....	49
5.5. Estrutura genética e fragmentação do habitat.....	50
5.6. Rede de haplótipos e análises filogeográficas.....	51
6. CONCLUSÕES.....	53
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	54

1. INTRODUÇÃO

1.1. A Mata Atlântica

Apesar de cobrirem apenas 7% da superfície terrestre, as florestas tropicais detêm mais de 50% das espécies de todo o planeta (Wilson 1988). A América Tropical abriga grande parte dos remanescentes dessas florestas, sendo a Mata Atlântica uma das mais biodiversas (Lanly 1982). A Mata Atlântica é um dos maiores biomas brasileiros, estendendo-se por quase todos os estados do litoral (do Rio Grande do Norte ao Rio Grande do Sul) e adentrando o continente nas regiões Sul e Sudeste até a Argentina e o Paraguai (Collins 1990).

A definição de Mata Atlântica ainda é bastante discutida, já que a delimitação de seus domínios pode ser feita por diferentes critérios como florísticos, fisionômico-estruturais e ambientais (Morellato & Haddad 2000). Essa grande quantidade de definições possíveis pode gerar dados controversos entre os estudos envolvendo esse bioma, além de ter consequências no estabelecimento de políticas públicas e estratégias de conservação (Scudeller 2002). Atualmente tem sido aceita a definição de Mata Atlântica como um “grande domínio” que apresenta diversas expressões fisionômicas e florísticas de acordo com a região em que se encontra e com as condições ambientais à que são submetidas, como ventos, temperatura, umidade, etc. (Durigan *et al.* 2008, Oliveira-Filho & Fontes 2000, Scudeller 2002). Segundo o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) existem quatro formações florestais principais na Mata Atlântica: Florestas Ombrófilas Densas e Mistas (com a presença de araucárias) e Florestas Estacionais Semidecíduas e Decíduas (<http://www.ibge.gov.br>, acesso em 18/09/2009).

Uma das características mais marcantes da Mata Atlântica é a sua impressionante riqueza de espécies. Já foram descritos cerca de 20.000 espécies de plantas, mais de 1.400 vertebrados terrestres e milhares de espécies de invertebrados (Laurance 2009). Além disso, os índices de endemismo observados são extremamente altos: cerca de 50% de todas as espécies são endêmicas, chegando a 95% em alguns grupos. O bioma foi reconhecido pela UNESCO como Reserva da Biosfera, a primeira a ser criada no Brasil e a maior do planeta em área florestal (UNESCO 1994).

Apesar de sua importância mundial, a Mata Atlântica tem sido intensamente devastada nos últimos 500 anos (Dean 1995). Segundo a Fundação SOS Mata Atlântica, estima-se que até a chegada dos europeus no Brasil o bioma era representado por uma área de 1.300.000 km², o equivalente a cerca de 15% do território brasileiro; entretanto essa área sofreu uma grande devastação ao longo do processo de colonização, restringindo-se atualmente a apenas 12% de sua cobertura original (Ribeiro *et al.* 2009). Atividades como extrativismo, agricultura, pecuária, desenvolvimento urbano e industrial foram alguns dos processos responsáveis pela destruição de grande parte das florestas, degradação que continua até os dias de hoje, apesar da implementação de diversas unidades de conservação nessas áreas (Tabarelli *et al.* 2005). Existem atualmente cerca de 120 milhões de brasileiros vivendo em mais de 3.000 cidades nas regiões originalmente cobertas por Mata Atlântica, fazendo com que o bioma fique restrito a pequenos fragmentos florestais isolados e alterando a dinâmica populacional de várias espécies (Viana 1997) (Figura 1). Essa intensa pressão antrópica, juntamente com a grande biodiversidade e altas taxas de endemismo, faz com que o bioma seja considerado um dos principais *hotspots* mundiais para conservação (Brooks *et al.* 2006, Brown & Brown 1992, Myers *et al.* 2000).



Figura 1. Atlas dos remanescentes florestais de Mata Atlântica (Fonte: INPE/Fundação SOS Mata Atlântica).

O Estado de São Paulo possuía originalmente cerca de 81,8% de seu território (20.450.000 ha) coberto por Mata Atlântica (Victor 1975). Conforme o Inventário Florestal do Estado, apenas no período de 1962 a 1990-92, a perda de vegetação foi de 57,13%. Atualmente as florestas remanescentes equivalem a 5% da área do Estado e representam aproximadamente 18% do que ainda resta do bioma no Brasil, concentrando-se principalmente ao longo do litoral e das encostas da Serra do Mar (CONSEMA 1985). Segundo Rodrigues *et al.* (2008), São Paulo é o Estado com o maior número de espécies nativas da Mata Atlântica ameaçadas no Brasil (214 ou 11% do total), o que torna a situação ainda mais preocupante.

A região que compreende o município de Campinas e cidades adjacentes é atualmente uma das mais densamente povoadas de São Paulo e, assim como ocorreu na maior parte do Estado, sofreu uma drástica redução em sua vegetação original. Embora não existam registros precisos sobre o início da destruição da Mata Atlântica nessa região, Mattos (1996) sugere que a penetração humana tenha se iniciado no século XVIII, sendo sempre predatória. A urbanização, a cultura de cana-de-açúcar e as plantações de café são alguns dos processos que mais contribuíram para o desaparecimento das florestas primárias (Santin 1999).

A área de Mata Atlântica mais bem conservada da região de Campinas encontra-se na Serra do Japi, situada entre Jundiaí, Cabreúva e Cajamar (Figura 2). Em 1994, foi reconhecida como integrante da Reserva da Biosfera da Mata Atlântica, tendo se tornado uma unidade de conservação de importância mundial (UNESCO 1994). A Serra do Japi é composta por aproximadamente 20.000 ha de vegetação heterogênea, sendo uma das últimas áreas de floresta contínuas do bioma no Estado (Morellato 1992). Entretanto, a área protegida pela Reserva abrange pouco mais de 2.000 ha, dos quais estima-se que apenas 25% sejam de propriedade pública, o que dificulta a preservação dessa área (Fonte: Plano de Manejo da Reserva Biológica Municipal da Serra do Japi, Jundiaí, SP. Disponível em [http://www.jundiai.sp.gov.br/PMJSITE/biblio.nsf/V03.01/smpm_serra/\\$file/ManejoRebio.pdf](http://www.jundiai.sp.gov.br/PMJSITE/biblio.nsf/V03.01/smpm_serra/$file/ManejoRebio.pdf), acesso em 15/10/2009).

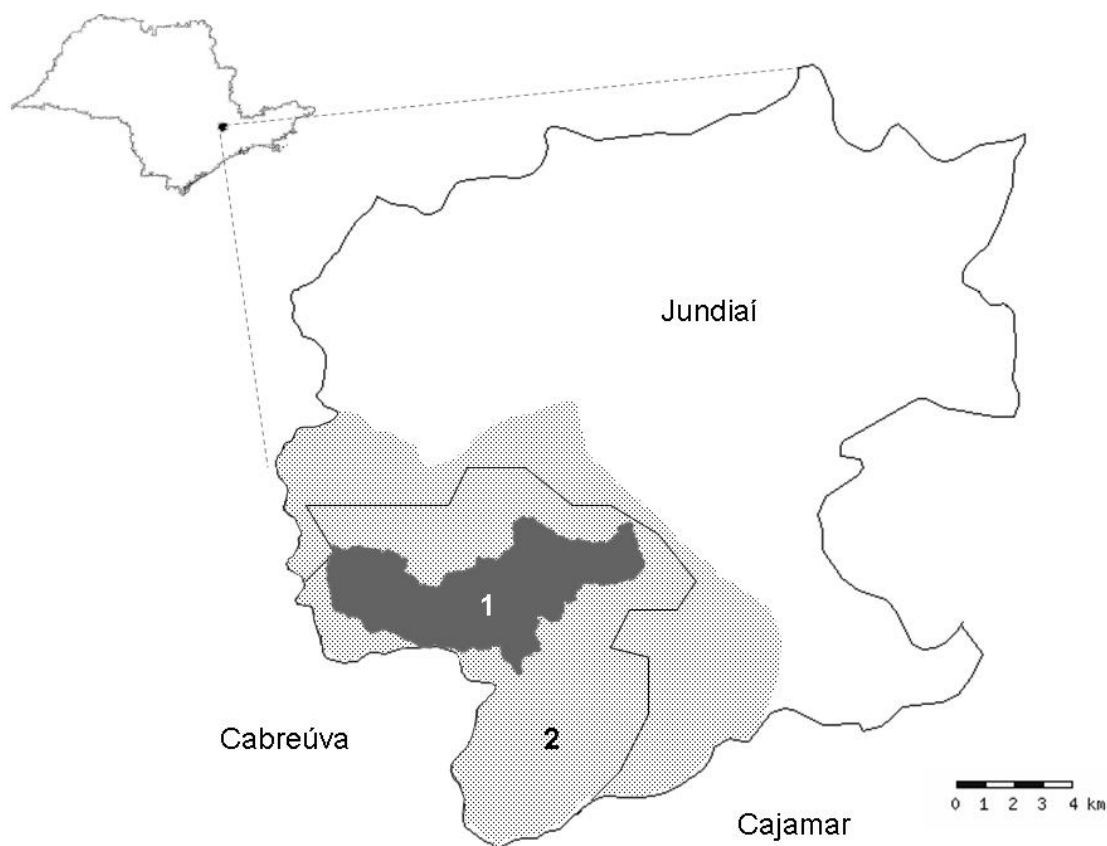


Figura 2. Localização da Serra do Japi no município de Jundiaí (região hachurada).
1 = Reserva Biológica Municipal da Serra do Japi; 2 = limite da área Tombada (adaptado de Leite 2000).

Com exceção da Serra do Japi, toda a região é composta por poucos e pequenos fragmentos florestais isolados. Segundo Santin (1999), os remanescentes de Mata Atlântica em Campinas representam somente 2,42% da área municipal e encontram-se distribuídos em cerca de 197 fragmentos, sendo o maior deles a Reserva Municipal da Mata de Santa Genebra, com 251,77 ha (Figura 3-A). Além de ser uma das maiores florestas urbanas do Brasil, a Mata de Santa Genebra é uma área relativamente bem protegida e um dos fragmentos mais bem estudados do sudeste brasileiro, uma vez que vários estudos científicos já vinham se desenvolvendo nessa área mesmo antes de sua conversão em Reserva Municipal (Gandolfi 2000).

Entretanto, os demais fragmentos florestais de Campinas são geralmente bem menores que a Mata de Santa Genebra e a maioria situa-se na Área de Proteção Ambiental (APA) de Sousas e Joaquim Egídio (Figura 3-B). A APA

corresponde a aproximadamente 28% do município e, através de fotografias aéreas, foi observado que a maioria dos fragmentos mantém sua forma e tamanho atuais há pelo menos cinquenta anos (Santos 2003).

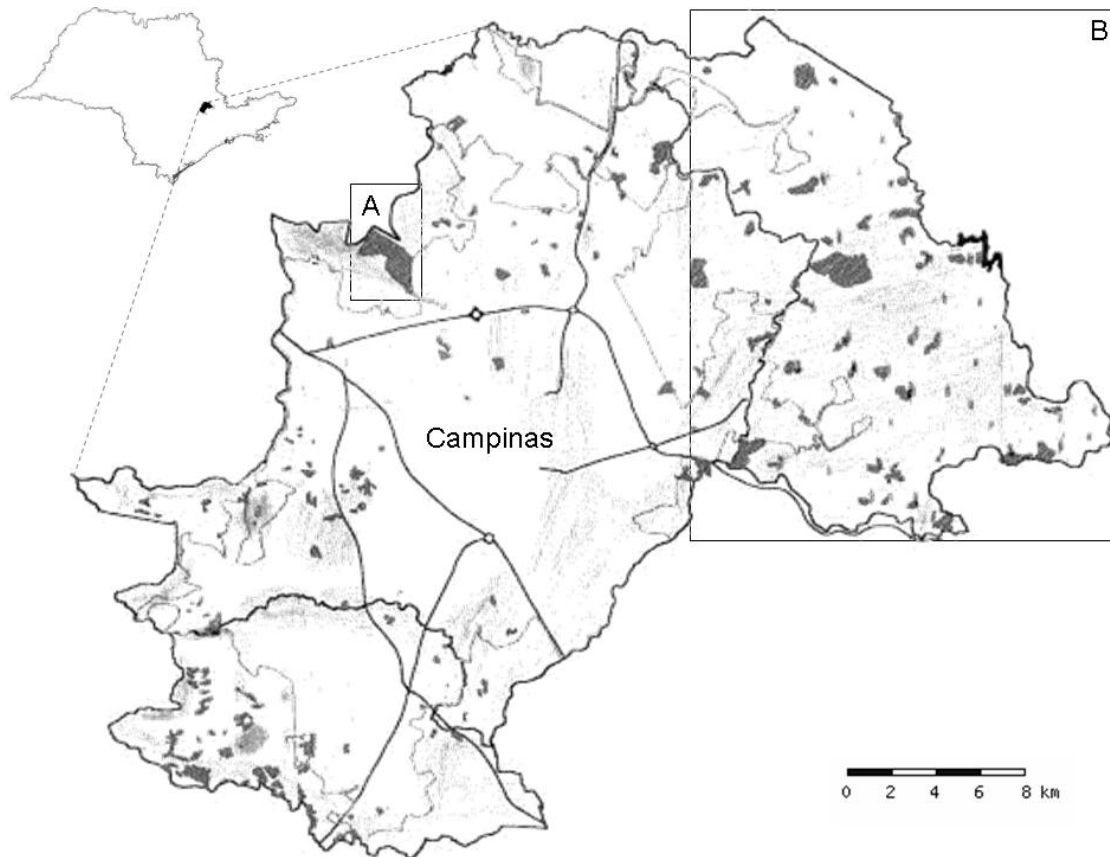


Figura 3. Mapa dos remanescentes florestais de Mata Atlântica do município de Campinas (adaptado de Santin 1999). A: Reserva Municipal Mata de Santa Genebra. B: Área de Proteção Ambiental (APA) de Sousas e Joaquim Egídio.

A fragmentação do habitat é um importante fator a ser considerado no estudo da biodiversidade das espécies. Tendo em vista que a Mata Atlântica é um dos biomas brasileiros com maior redução de sua cobertura original nos últimos séculos, torna-se imprescindível a análise do impacto da fragmentação antrópica sobre as populações dos diversos grupos ali presentes, bem como das consequências dessa subdivisão a curto e longo prazo.

1.2. Fragmentação do habitat

1.2.1. Aspectos gerais da fragmentação

A fragmentação do habitat é geralmente definida como o processo pelo qual “uma grande extensão de habitat é transformada em um número de manchas menores isoladas umas das outras por uma matriz de habitats diferente do original” (Wilcove *et al.* 1986). Embora grande parte dos ambientes fragmentados seja consequência de atividade antrópica (ou seja, ambientes que foram modificados por ação humana), habitats naturalmente fragmentados também são amplamente encontrados por todo o planeta, (Watson 2002, Ewers & Didham 2005).

Os estudos sobre fragmentação de habitat têm suas raízes na teoria de biogeografia de ilhas proposta por MacArthur & Wilson (1967) e geralmente recorre a este modelo para explicar os padrões de distribuição observados, tratando os fragmentos como “ilhas em um mar de habitats modificados pelo homem” (Wilson & Willis 1975). Entretanto, os resultados conflitantes encontrados na literatura têm mostrado que estes dois sistemas são fundamentalmente distintos, a começar por sua origem: fragmentos são remanescentes de um habitat previamente contínuo isolados pela imposição de uma matriz contrastante, enquanto ilhas são definidas como manchas disjuntas que nunca tiveram contato entre si e desenvolveram sua biota exclusivamente a partir dos organismos colonizadores (Watson 2002). Além disso, os dois sistemas são afetados por processos diferentes e nem sempre estão sujeitos às mesmas pressões ambientais, tendo em vista que a natureza da matriz em torno dos fragmentos pode influenciar fortemente a conectividade entre eles (Laurance 2008, Prugh *et al.* 2008). Porém, segundo Watson (2002), é possível comparar os dados encontrados em ambos os tipos de estudos desde que haja uma classificação correta para os padrões observados, de acordo com os processos que afetam cada ambiente e as populações a ele associadas.

A fragmentação do habitat tem diversas consequências, entre elas a redução da quantidade de habitat, o aumento no número de manchas, a diminuição do tamanho dessas manchas e o aumento do isolamento entre os fragmentos (Fahrig 2003). A perda do habitat tem em geral um forte efeito negativo na biodiversidade local e é reconhecidamente uma das maiores causas de extinção de espécies (Fahrig 2003, Tilman *et al.* 1994, Turner 1996). A diminuição na área total de um

habitat causa um decréscimo no tamanho dos fragmentos e aumenta o isolamento entre eles (Andrén 1994), com uma conseqüente redução no tamanho das populações residentes e nas taxas de migração e colonização, o que aumenta do risco de extinções locais (Bender *et al.* 1998, Bowers & Matter 1997, Crooks *et al.* 2001, Hames *et al.* 2001, Hanski 1998, Lande 1993, Schoereder *et al.* 2004). Os efeitos negativos da perda de habitat não atuam somente sobre estimativas diretas de biodiversidade como riqueza de espécies, abundância, distribuição das populações e diversidade genética, mas também podem alterar a taxa de crescimento populacional, sucesso reprodutivo, capacidade de dispersão e muitos outros aspectos comportamentais (Fahrig 2003).

Todavia, deve-se considerar que a fragmentação não provoca apenas a redução da área ocupada pelo habitat: são gerados pequenos fragmentos isolados que alteram as propriedades do habitat e a dinâmica das populações (Van den Berg *et al.* 2001), que podem manter-se organizadas em metapopulações (Driscoll 2007, Hanski 1998). Dessa forma, muitos estudos definem a fragmentação não somente como diminuição do habitat, mas como uma mudança na configuração do ambiente que permite investigar outros aspectos do processo (Ewers & Didham 2005). Essas alterações, ao contrário da fragmentação que considera apenas a perda de habitat, podem ter efeitos positivos, negativos ou neutros nas populações, apesar de serem geralmente menos evidentes que aqueles causados pela redução do habitat (Fahrig 2003, Yaacobi *et al.* 2007).

Recentemente, os avanços em disciplinas como genética da conservação e ecologia molecular têm colaborado para a investigação de eventos ligados à fragmentação do habitat. Os estudos nestas áreas se utilizam de polimorfismos genéticos em populações naturais como base para a compreensão de fenômenos evolutivos, demográficos ou ecológicos, os quais são considerados para a conservação destes grupos. A análise destes polimorfismos pode ser realizada através de marcadores moleculares, que constituem atualmente uma importante ferramenta em estudos envolvendo conservação de espécies, filogeografia, genética populacional e fragmentação do habitat. Embora a fragmentação não produza efeitos previsíveis nos padrões de diversidade genética, a subdivisão do habitat possibilita a estruturação genética das populações locais (Gibbs 2001), propiciando a ação da deriva genética e o acúmulo divergências genéticas entre as populações

locais caso o fluxo gênico entre elas seja substancialmente diminuído (Lande 1988, Whitlock & Barton 1997).

1.2.2. Marcadores moleculares no estudo da fragmentação

Até a década de 60, os estudos populacionais empregavam dados morfológicos, fisiológicos, comportamentais ou outros caracteres fenotípicos como medida de variabilidade. Porém, a partir do surgimento da técnica de eletroforese de isozimas e, posteriormente, com o advento amplificação de seqüências de DNA através da PCR (*Polymerase Chain Reaction*), várias metodologias foram desenvolvidas e as análises de variações tanto ao nível de proteínas quanto ao de DNA têm sido amplamente utilizadas (Avice 2004). Essas análises podem fornecer informações importantes sobre a composição das populações, como variabilidade genética e grau de parentesco entre indivíduos, e sobre a estrutura genética dessas populações, representada pelo grau de diferenciação genética entre elas. Dessa forma, os marcadores moleculares constituem uma importante ferramenta em estudos populacionais e têm contribuído para o fortalecimento de disciplinas como ecologia molecular, genética da conservação, filogeografia, entre outros (Avice 2004).

Além da metodologia aplicada, a escolha da região genômica também é importante nas análises moleculares. O DNA mitocondrial (mtDNA), por exemplo, tem sido freqüentemente utilizado em estudos de genética de populações animais devido a características peculiares como: a circularidade (com poucas exceções), o fato de ser facilmente isolado e manipulado e a estrutura genética simples (sem DNA repetitivo, elementos de transposição, pseudogenes ou íntrons). Além disso, a ausência de mecanismos de reparo eficientes permite uma rápida evolução das seqüências de mtDNA, o que as torna viáveis para análises de estrutura populacional (Brown *et al.* 1979). Por fim, a herança materna, a natureza não-recombinante e os altos níveis de polimorfismo fazem do mtDNA uma molécula extremamente útil no estudo de processos como fluxo gênico, efeito do fundador, gargalos genéticos e, mais recentemente, inferências filogeográficas (Avice 2004).

Atualmente, o seqüenciamento do DNA tem sido a metodologia mais amplamente empregada na análise da variação do mtDNA e/ou regiões nucleares em estudos populacionais. No entanto, o método de RFLP (*Restriction Fragment*

Lenght Polimorfism) representa uma alternativa consideravelmente mais barata e permite analisar rapidamente a variação genética de um grande número de indivíduos. Esta técnica envolve a clivagem do DNA com endonucleases de restrição, separando os fragmentos resultantes de acordo com seu peso molecular através de eletroforese. A análise de RFLP é bastante adequada aos estudos de estrutura populacional intraespecífica, já que permite uma rápida avaliação de um grande número de indivíduos (Bermingham *et al.* 1996, Caterino *et al.* 2000).

A partir da metodologia de RFLP, desenvolveu-se posteriormente a análise conhecida como PCR-RFLP, no qual determinadas regiões amplificadas do DNA são digeridas com endonucleases de restrição, de modo semelhante ao realizado na análise de RFLP (Saperstein & Nickerson 1991). O método de PCR-RFLP oferece diversas vantagens em relação ao RFLP tradicional, como a menor quantidade de DNA requerido, a extensão pré-definida dos fragmentos que serão digeridos pelas endonucleases e ausência de etapas que envolvem isótopos radioativos, além de ser uma técnica muito mais rápida e prática (Avisé 2004).

Embora a aplicação de marcadores moleculares no estudo da biodiversidade tenha se iniciado há mais de quatro décadas, alguns estudos na área de genética de populações ainda são bastante controversos. A variabilidade genética, por exemplo, pode ser favorecida, prejudicada ou não ser afetada pela fragmentação, assim como a diferenciação entre populações que pode ser ou não influenciada (Krauss *et al.* 2004, Ramirez & Haakonsen 1999, Schmitt & Seitz 2002, Van Dongen *et al.* 1998, Wood & Pullin 2002). Esses resultados conflitantes podem ser explicados pelas diferenças na habilidade do organismo para se mover entre as porções de vegetação original, o que é influenciado pelas propriedades específicas da matriz, pela distância entre os fragmentos e pela capacidade de dispersão da espécie (Fahrig 2003, Ramirez & Haakonsen 1999). Assim, é imprescindível que organismos com diferentes capacidades de dispersão sejam estudados em um mesmo habitat, possibilitando uma comparação entre os resultados e um maior entendimento sobre os efeitos da fragmentação do habitat sobre a variabilidade genética das espécies.

1.2.3. Modelos de estudo

Na Mata Atlântica, a maioria dos trabalhos sobre fragmentação utiliza plantas ou vertebrados terrestres como objetos de estudo (Kremen *et al.* 1993, Turner 1996,

Lewinsohn *et al.* 2005). Entretanto, os invertebrados (principalmente artrópodes) representam a maior parte da biodiversidade tropical e são considerados melhores bioindicadores do que os vertebrados devido à sua sensibilidade a mudanças no habitat, rápida resposta a distúrbios e facilidade de amostragem, entre outras vantagens (Kremen *et al.* 1993, Uehara-Prado *et al.* 2009). Apesar da crescente conscientização da importância de se incluir artrópodes em programas de monitoramento e estratégias de conservação, poucos estudos avaliam explicitamente a resposta desses organismos às perturbações do habitat em florestas tropicais (Bragagnolo *et al.* 2007, Kitching *et al.* 2000, Kremen 1992), o que ocorre tanto por dificuldades taxonômicas como pela maior preocupação popular com a conservação de vertebrados (Kitching *et al.* 2000).

Os artrópodes compreendem mais de 80% de todas as espécies da Terra (Toti *et al.* 2000) e é um grupo particularmente interessante no estudo dos efeitos da fragmentação, já que apresentam uma grande variedade de meios de dispersão. Artrópodes que voam, por exemplo, possuem maior capacidade de dispersão, podendo atravessar longas distâncias e favorecendo a ocorrência de fluxo gênico entre as populações separadas (Kronforst & Flemming 2001), enquanto para espécies que não possuem essa capacidade a matriz entre os fragmentos pode constituir uma barreira significativa. As aranhas (Ordem Araneae) constituem um bom modelo de estudo, já que espécies de um mesmo grupo podem possuir modos de dispersão bastante diferentes (Colgan *et al.* 2002, Marshal *et al.* 2006, Ramirez & Fandino 1996, Ramirez & Haakonsen 1999).

1.3. As aranhas

1.3.1. A Ordem Araneae

As aranhas (Arachnida: Araneae) compreendem uma porção bastante significativa de todos os artrópodes terrestres e são amplamente distribuídas por todo o planeta, exceto na Antártida (Platnick 1995). A ordem Araneae divide-se em três subordens: as Mesothelae, caracterizadas por possuírem caracteres primitivos e por serem exclusivas da região asiática; as Mygalomorphae (migalomorfas), popularmente conhecidas como caranguejeiras ou aranhas-peludas, que possuem

como característica principal as quelíceras dispostas paralelamente e somente quatro fiandeiras; e as Araneomorphae (araneomorfos ou aranhas-verdadeiras), que representam cerca de 90% das aranhas conhecidas e caracterizam-se por apresentar as quelíceras verticais, opondo-se uma em relação a outra, com normalmente seis fiandeiras (Foelix 1996).

Araneae é considerada uma das maiores ordens de artrópodes, com as 41.253 espécies descritas distribuídas em 109 famílias, sendo Salticidae, Linyphiidae e Araneidae as mais abundantes (Platnick 2010). Baseando-se no ritmo de descoberta de novas espécies durante a segunda metade do século XX, estima-se que existam entre 60.000 e 170.000 espécies de aranhas no mundo (Coddington & Levi 1991, Platnick 1999). No entanto, o conhecimento taxonômico de aranhas não é distribuído uniformemente por todo o planeta e, por motivos históricos, as regiões tropicais e temperadas austrais são menos estudadas, apesar da maior diversidade de aranhas (Platnick 1991). Na região neotropical estima-se que apenas 50% da araneofauna seja conhecida, enquanto no Japão, Canadá, Estados Unidos e países do oeste europeu, por exemplo, são conhecidas mais de 80% das espécies (Platnick 1999). A alta diversidade do grupo, pouca tradição em pesquisa científica e escassez de recursos nessa região estão entre os principais fatores que fazem com que a araneofauna neotropical permaneça pouco estudada, principalmente na América do Sul.

No Brasil, poucos inventários de araneofauna foram realizados até o presente, sendo as regiões fitogeográficas melhor amostradas a Floresta Amazônica (Adis *et al.* 2002, Azevedo 2002, Borges & Brescovit 1996, Höfer 1990, Ricetti & Bonaldo 2008) e a Mata Atlântica (Brescovit 1999, Brescovit *et al.* 2004, Indicatti *et al.* 2005). Apesar disto, estima-se que sejam conhecidas apenas 30% das aranhas brasileiras, sendo as regiões sul e sudeste as melhor representadas em coleções científicas (Brescovit 1999). No Estado de São Paulo, até o ano de 1999 haviam sido descritas cerca de 700 espécies, com um número real estimado entre 1.000 a 1.200 espécies (Brescovit 1999). Entretanto, segundo dados atuais do Programa BIOTA/FAPESP, o número de espécies conhecidas no Estado já aumentou muito nos últimos 10 anos, chegando a mais de 2.400 espécies (Disponível em: <http://sinbiota.cria.org.br/>, acesso em 20/11/2009).

1.3.2. Influência do habitat sobre a diversidade de aranhas

A distribuição das aranhas em uma região está fortemente ligada à sensibilidade de cada espécie a fatores abióticos intrínsecos do ambiente, como temperatura, umidade, vento e intensidade luminosa, ficando algumas aranhas restritas a habitats com menor variação de condições climáticas (Foelix 1996). Dentro das faixas de tolerância às condições físicas, a distribuição espacial também é influenciada por vários fatores bióticos, como suprimento de presas, abundância de competidores, predadores ou parasitas e, principalmente, pela vegetação característica de cada habitat (Souza 2007).

O tipo de vegetação do habitat pode influenciar a distribuição de aranhas de diversas maneiras. A arquitetura das plantas, por exemplo, pode ter um efeito direto através de variações na oferta de substratos para construção de teias, abrigos contra predadores ou condições climáticas adversas e locais de forrageamento, encontro de parceiros sexuais, acasalamento e oviposição (Souza 2007). Além disso, a estrutura dos ramos também pode afetar a diversidade e abundância das presas, o que influencia indiretamente a distribuição de espécies de aranhas (Gunnarsson 1990). Uma relação positiva entre complexidade estrutural de plantas e abundância de aranhas já foi observada em diversos trabalhos, ressaltando a importância da composição da vegetação para diversas espécies (Gunnarsson 1988, Romero *et al.* 2008, Souza & Martins 2005).

Tendo em vista a grande influência do habitat sobre a distribuição das espécies, é de suma importância para algumas aranhas possuírem mecanismos que as permitam colonizar novos ambientes quando necessário. Quando as condições locais se tornam desfavoráveis, as aranhas podem migrar para outras áreas através de diversos mecanismos, que varia desde o movimento cursorial (“caminhando” pela vegetação) até a dispersão por balonismo (Souza 2007). O balonismo é um tipo de dispersão no qual as aranhas tecem pequenos emaranhados de seda com o abdome voltado para cima e se lançam nas correntes de ar, podendo ocasionalmente alcançar centenas ou até mesmo milhares de quilômetros de distância (Decae 1987). Mesmo alcançando locais desfavoráveis na maioria das vezes, este modo de dispersão é rápido e garante a expansão da distribuição das aranhas através da colonização de novas áreas e, conseqüentemente, a manutenção das populações (Samu *et al.* 1999).

Muitos trabalhos ressaltam a dificuldade em se obter uma medida direta da capacidade de dispersão dos indivíduos. A ocorrência de balonismo, por exemplo, só foi documentada para poucas aranhas, embora existam indícios de que muitas outras espécies possam se dispersar com auxílio de correntes de vento, ao menos quando jovens (Schneider *et al.* 2001). Entretanto, é possível obter estimativas indiretas da taxa de migração entre populações ou regiões através da análise genética dos indivíduos, como tem sido feito recentemente para várias aranhas (Bidegaray-Batista *et al.* 2007, Bonte 2009, Colgan *et al.* 2002, Johannesen *et al.* 2005a, Lubin *et al.* 2009, Ramirez & Fandino 1996, Ramirez e Haakonsen 1999, Smith *et al.* 2009, Vandergast *et al.* 2004). A partir da estruturação observada nas populações pode-se estimar o fluxo gênico entre as populações e, desse modo, inferir a capacidade de dispersão dos organismos. Estes estudos moleculares podem contribuir para o conhecimento de aspectos comportamentais e da dinâmica populacional de diversas espécies de aranhas.

1.3.3. Aranhas na Mata Atlântica

Os primeiros trabalhos sobre diversidade de aranhas brasileiras na Mata Atlântica foram realizados na região da Serra do Mar e em ilhas (Brescovit *et al.* 2004, Bücherl 1949, Fowler & Venticinque 1995, Luederwaldt 1929, Mello-Leitão 1923), mas estudos em outras áreas desse bioma também foram feitos recentemente (Benati *et al.* 2005, Indicatti *et al.* 2005, Santos 1999, Sordi 1996). Alguns trabalhos relacionados às comunidades de aranhas da Mata Atlântica referem-se apenas às espécies orbitelas (aranhas construtoras de teias orbiculares ou geométricas), já que estas representam grande parte da araneofauna do bioma (Nogueira *et al.* 2006). Além disso, o estudo de uma ou algumas famílias ou guildas ao invés de toda a araneofauna pode aumentar o valor informativo dos dados, já que uma determinada guilda costuma ter uma relação mais específica com o ambiente (Churchill 1997, New 1999). Assim, aranhas errantes de solo poderiam estar relacionadas à qualidade da serapilheira e à abundância de presas nesse estrato, enquanto a diversidade das construtoras de teia seria influenciada pelo tipo de vegetação arbórea e arbustiva (Nogueira *et al.* 2006).

O conceito de guilda foi inicialmente definido por Root (1967) como um grupo de espécies que exploram o mesmo recurso de maneira similar. Entretanto, as

classificações das guildas variam muito entre os estudos, principalmente com relação ao número de níveis hierárquicos ou ao grau de refinamento empregado. De acordo com Höfer e Brescovit (2001), as aranhas podem ser divididas em dois grandes grupos: construtoras de teia ou errantes. Porém, as aranhas de cada grupo podem ainda ser subdivididas em várias outras categorias, como aranhas aéreas ou de chão, diurnas ou noturnas, etc., o que resulta em 12 diferentes guildas. A guilda das orbitelas é composta por aranhas aéreas que constroem suas teias em formato orbicular e geralmente possuem hábitos noturnos, ao menos em ambientes tropicais (Rypstra 1986, Coddington *et al.* 1996). Famílias como Araneidae, Tetragnathidae, Theridiosomatidae e Uloboridae são algumas das principais representantes dessa guilda (Höfer & Brescovit 2001).

A família Araneidae é uma das mais abundantes entre as orbitelas em regiões tropicais (Santos 1999), sendo composta, em sua maioria, por espécies mais conspicuas e de maior porte em relação à araneofauna em geral (Moreira 2006). Contudo, o grande número de araneídeos em comparação aos representantes de outras famílias pode ser devido ao fato dessas aranhas serem de fácil coleta e construírem teias bem visíveis, que atraem a atenção de coletores (Moreira 2006).

1.3.4. O gênero *Araneus* e *A. venatrix*

Dentre os araneídeos presentes na Mata Atlântica, o gênero *Araneus* (Clerck 1757) destaca-se como um dos mais abundantes em diversos inventários no bioma. Em um inventário no Parque Nacional da Tijuca (RJ), Moreira (2006) observou que o gênero *Araneus* foi o segundo mais diverso do estudo, representando cerca de 82% das espécies registradas para o município. Além disso, foi observada uma grande diversidade morfológica e comportamental entre as espécies: algumas constroem grandes teias ao longo de trilhas abertas, como *A. workmani* (Keyserling 1884), enquanto outras apresentam pequeno porte e constroem suas teias paralelamente aos troncos das árvores, como *A. Iguazu* (Levi 1991). Há ainda outras como *A. unanims* (Keyserling 1879) e *A. vincibilis* (Keyserling 1893), que formam suas teias apenas durante a noite, sobre arbustos e arvoretas em áreas abertas nas margens da floresta ou em campos artificiais.

Mais de 600 espécies desse gênero já foram descritas no mundo todo, exceto na Austrália e na Nova Zelândia (Levi 1991, Platnick 2009). No continente

americano, a região neártica apresenta a maior abundância de espécies, seguida pelo leste brasileiro e pela região dos Andes (Levi 1991) (Figura 4). Entretanto, apesar de sua grande diversidade, existem poucas revisões taxonômicas relacionadas a este grupo. Segundo Levi (1991), uma revisão completa do gênero é algo extremamente complicado devido à grande similaridade das características morfológicas entre algumas espécies, principalmente em regiões neotropicais, o que geralmente resulta em classificações errôneas. A maioria das espécies de *Araneus* dessas regiões não pode ser diferenciada por tamanho, coloração ou formato do corpo, sendo *Araneus venatrix* (Koch 1838) uma das raras exceções devido a seu padrão de coloração do abdome bastante distinto (Levi 1991).

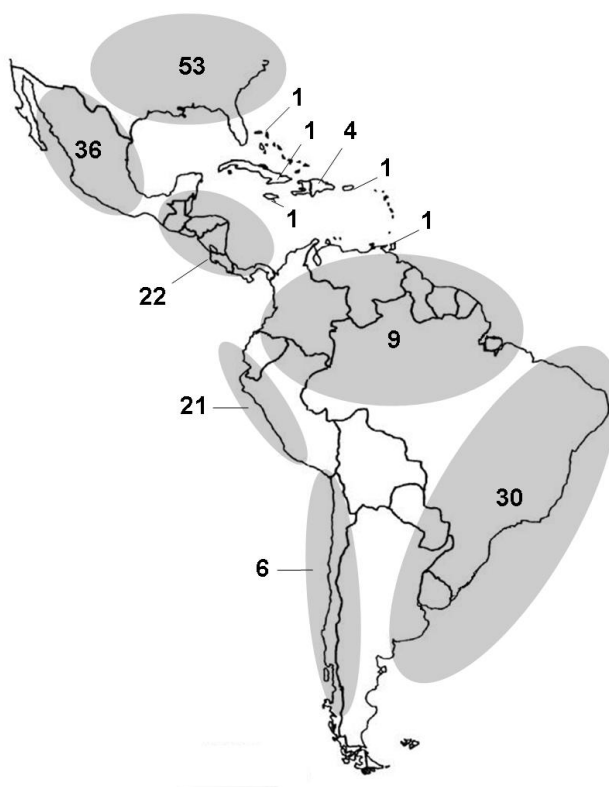


Figura 4. Número aproximado de espécies de *Araneus* em diferentes regiões do continente americano (adaptado de Levi 1991).

A. venatrix (Figuras 5 e 6) é uma das espécies de *Araneus* mais comumente encontradas na Mata Atlântica. Sua área de distribuição abrange praticamente toda a América do Sul, desde Trinidad e Tobago, Panamá e Colômbia até Paraguai e sul do Brasil (Bonaldi *et al.* 2007, Chickering 1936, Gilede-Moncayo & Bello-Silva 2000,

Levi 1991, Platnick 2009). No Brasil sua ocorrência foi documentada principalmente em regiões amazônicas e ao leste do país (Figura 7). No Estado de São Paulo, apesar da escassez de inventários de araneofauna, a espécie já foi observada em diversos fragmentos e representam grande parte de todas as espécies do gênero encontradas no Estado (Figura 8).



Figura 5. *A. venatrix* (Koch 1838). Foto: Paulo Robson de Souza (retirada de Pagotto & Souza 2006).

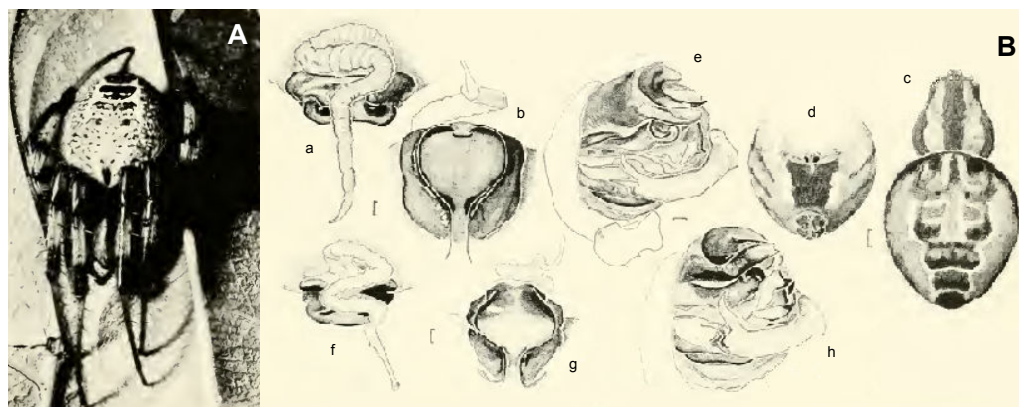


Figura 6. *A. venatrix*. A: foto de uma fêmea adulta. B: principais características morfológicas da espécie (a-d = fêmea; a, f = epigíneo, ventral; b, g = epigíneo, posterior; c = dorsal; d = abdome, ventral; e, h = palpos do macho; adaptado de Levi 1991).



Figura 7. Distribuição geográfica da espécie *A. venatrix* (adaptado de Levi 1991).



Figura 8. Localidades no Estado de São Paulo onde foram observadas espécies do gênero *Araneus* (círculos abertos) e da espécie *A. venatrix*, especificamente (círculos sólidos). (Fonte: Centro de Referência em Informação Ambiental – CRIA – Programa Biota/Fapesp)

As aranhas dessa espécie apresentam dimorfismo sexual quanto ao tamanho corporal, com as fêmeas variando em média de 8,0 a 16,7 mm e os machos de 6,1 a 8,1 mm (Levi 1991). Os indivíduos possuem hábitos noturnos e passam a maior parte do tempo em estruturas foliares próximas à sua teia, saindo apenas para se alimentar (Figura 9). As fêmeas tecem grandes teias e permanecem próximas a estas durante a maior parte da vida, enquanto os machos geralmente constroem teias menores e as abandonam, quando partem em busca de fêmeas para acasalamento. As aranhas são encontradas geralmente em ambientes muito úmidos e frescos, com suas teias próximas a cursos d'água (Levi 1991).

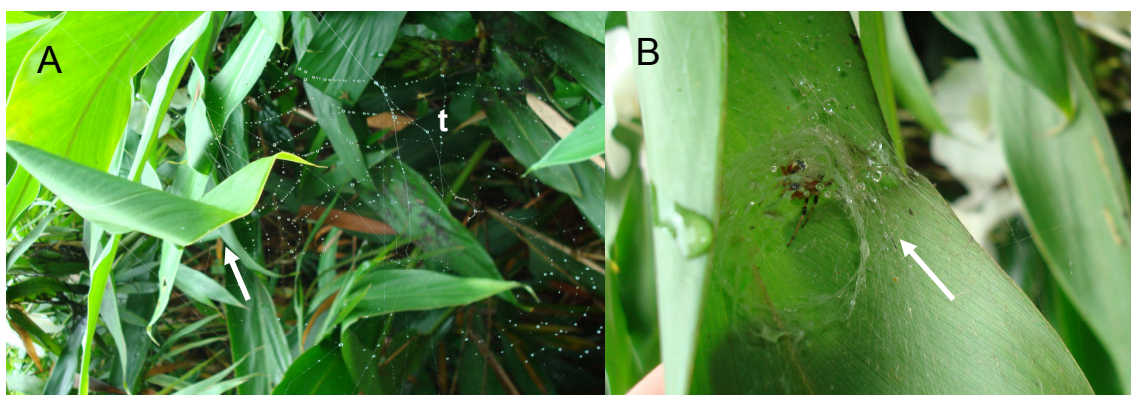


Figura 9. Fêmea de *Araneus venatrix* e sua teia. A: seta apontando para a localização da aranha e teia representada pela letra 't'. B: localização da aranha na folha (Fotos: Elen Peres).

Entretanto, ainda são poucos os trabalhos que tratam da distribuição, ecologia e comportamento das aranhas do gênero *Araneus*. No Brasil, até onde sabemos, consta na literatura apenas um estudo ecológico diretamente envolvido com uma espécie desse gênero (Gonzaga & Sobczak 2006), o que faz com que a importância e predominância do grupo em diversas regiões sejam subestimadas. Estudos genéticos são ainda mais escassos, assim como para a maioria das aranhas brasileiras. Dessa forma, análises genéticas das espécies desse grupo, juntamente com estudos taxonômicos e ecológicos, são extremamente importantes para esclarecer a atual situação dessas comunidades de aranhas, bem como suas relações com os demais organismos dos ecossistemas.

2. OBJETIVOS

Os objetivos específicos do trabalho foram:

- Investigar, através de PCR-RFLP do DNA mitocondrial, a variabilidade e estruturação genética de *A. venatrix* entre e dentro de cinco fragmentos de Mata Atlântica;
- Relacionar os padrões de variabilidade e estrutura populacional observados a características ambientais de cada fragmento, bem como à biologia e comportamento da espécie;
- Inferir os processos evolutivos responsáveis pela distribuição atual dos haplótipos na região estudada.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Espécie estudada e coleta dos indivíduos

A espécie *A. venatrix* foi escolhida para o estudo por ser uma aranha bastante conspícua e abundante nos fragmentos, além de ser de fácil coleta e identificação. Além disso, os indivíduos apresentam somente uma geração por ano e, uma vez que não há sobreposição de gerações, os efeitos de diversos processos evolutivos sobre as populações podem ser mais facilmente investigados.

As coletas foram realizadas de março de 2007 a março de 2009 (Quadro 1) e concentraram-se entre os meses de janeiro e maio, já que estes são meses tipicamente chuvosos (59 a 243,3 mm/mês) e há uma abundância considerável de aranhas. Todos os indivíduos foram coletados manualmente e levados vivos para o laboratório e, após a identificação, as aranhas coletadas tiveram seu DNA extraído imediatamente ou ficaram armazenadas em nitrogênio líquido até sua utilização.

3.2. Área de estudo

Foram estudadas cinco populações de *A. venatrix* nos seguintes remanescentes florestais (Figura 10):

- a) Fazenda Santo Antônio das Mangueiras (FSAM), localizada na Área de Proteção Ambiental (APA) de Sousas e Joaquim Egídio, Campinas;
- b) Serra do Japi (JAPI), Jundiaí;
- c) Parque Ecológico Monsenhor Emílio José Salim (PEC), Campinas;
- d) Mata Santa Genebra (SGE), Campinas;
- e) Observatório Abrahão de Moraes (VAL), Valinhos.

Na Tabela 1 encontram-se a localização e o tamanho aproximado de cada fragmento, bem como o número de indivíduos (N) analisados em cada área.

Data	Local	Ind.	Hapl.*	Data	Local	Ind.	Hapl.*
10/01/08	FSAM	1	H02	01/05/08	JAPI	66	H09
		2	H02			67	H07
		3	H02			68	H07
		4	H02			69	H09
17/01/08	FSAM	5	H02	07/05/08	VAL	70	H07
		6	H02			71	H12
		7	H02			72	H04
		8	H02			73	H04
		9	H02	10/06/08	JAPI	74	H07
		10	H02	11/06/08	SGE	75	H13
28/01/08	FSAM	11	H22	29/01/09	PEC	76	H01
		12	H03	06/02/09	FSAM	77	H05
		13	H21			78	H15
		14	H20			79	H02
		15	H04			80	H02
		16	H02			81	H06
		17	H02			82	H06
		18	H12			83	H02
		19	H03			84	H02
31/01/08	JAPI	20	H08			85	H02
		21	H07	16/02/09	SGE	86	H23
		22	H06			87	H02
		23	H03			88	H06
		24	H08			89	H17
		25	H02			90	H06
		26	H08			91	H10
		27	H16			92	H02
						93	H10
14/03/08	SGE	28	H01			94	H06
		29	H01	03/03/09	PEC	95	H01
		30	H01			96	H01
31/03/08	VAL	31	H04			97	H01
		32	H08			98	H01
		33	H04			99	H10
		34	H04			100	H18
		35	H04			101	H01
		36	H03			102	H14
01/04/08	PEC	37	H01			103	H05
		38	H01			104	H01
		39	H01			105	H01
		40	H01			106	H10
02/04/08	JAPI	41	H09			107	H01
08/04/08	SGE	42	H01			108	H01
		43	H09	06/03/09	JAPI	109	H03
		44	H15			110	H04
		45	H11			111	H04
		46	H06			112	H11
		47	H13			113	H03
17/04/08	PEC	48	H01			114	H05
		49	H01	14/03/09	VAL	115	H03
		50	H01			116	H19
		51	H01			117	H05
		52	H11			118	H05
		53	H01			119	H05
		54	H24			120	H03
		55	H25			121	H05
		56	H01			122	H03
		57	H01			123	H04
		58	H01			124	H08
		59	H01			125	H05
		60	H01			126	H03
		61	H01			127	H05
		62	H14			128	H08
01/05/08	JAPI	63	H05			129	H03
		64	H07			130	H04
		65	H07				

Quadro 1. Coletas de *A. venatrix* realizadas entre março de 2007 e março de 2009. Os indivíduos que não foram utilizados nas análises genéticas não foram contabilizados. (*haplótipos obtidos após a conclusão das análises genéticas.)

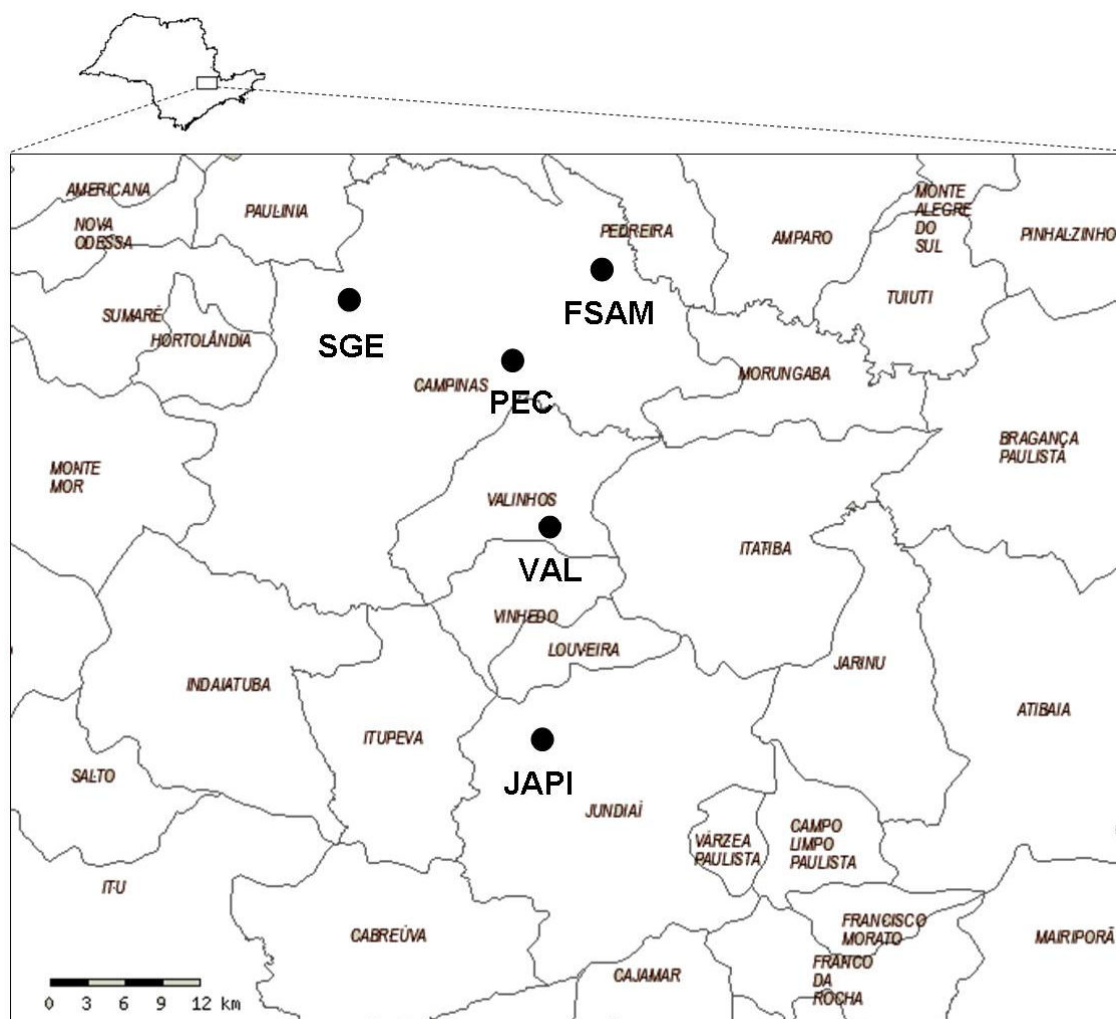


Figura 10. Representação da área de estudo, com a localização dos cinco pontos de coleta.

Tabela 1. Relação dos pontos de coleta, com a localização e tamanho dos fragmentos estudados (N = número de indivíduos utilizados na análise).

População	Município	Tamanho	Coordenadas	N
FSAM	Campinas	50 ha	22°48'56"S, 46°56'31"W	28
JAPI	Jundiaí	20.000 ha	23°14'14"S, 46°56'24"W	24
PEC	Campinas	110 ha	22°54'46"S, 47° 1'10"W	34
SGE	Campinas	251,77 ha	22°49'07"S, 47°6'50"W	19
VAL	Valinhos	100 ha	23°0'35"S, 46°57'43"W	25

3.3. Análise genética

3.3.1. Extração do DNA total

O kit Wizard® Genomic DNA Purification (Promega) foi utilizado na extração do DNA de todos os indivíduos. As pernas e o cefalotórax das aranhas foram macerados em almofarizes com nitrogênio líquido até a obtenção de um pó fino e seco. Cada macerado foi transferido para um tubo tipo *ependorf* de 1,5 ml contendo 600 µl de solução de lise celular e incubado a 65 °C por cerca de 5 horas. Em seguida foram adicionados 200 µl de solução de precipitação de proteínas, o conteúdo foi homogeneizado e centrifugado a 18.000 g por 10 minutos. O sobrenadante foi transferido para um novo tubo com 600 µl de isopropanol 100% e mantido a -20°C *overnight*. No dia seguinte a solução foi centrifugada novamente a 18.000 g por 10 minutos e o sobrenadante descartado; ao precipitado foram então acrescentados 600 µl de ETOH 70% e a solução foi mais uma vez centrifugada a 18.000 g por 10 minutos. O sobrenadante foi descartado e o pellet seco ressuspenso em 20 µl de água milliQ.

3.3.2. Escolha dos genes e amplificação da região

Foram selecionadas duas regiões contíguas do genoma mitocondrial que codificam as enzimas Citocromo Oxidase I e II (COI-COII). Tanto a região COI como COII são amplamente utilizadas em sistemática molecular, seja separadamente ou combinadas como uma só sequência com cerca 2Kb de extensão. Embora a maioria dos genes codificantes seja altamente conservada devido à restrições seletivas, essa região já se mostrou bastante variável e informativa em muitas espécies, inclusive ao nível intraespecífico (Brower 1994, Liu & Beckenbach 1992, Simon *et al.* 1994, Sperling & Hickey 1994). Além disso, a sequência possui mais de 1Kb de extensão, tamanho suficiente para permitir que diferentes níveis de variação sejam amostrados (Caterino *et al.* 2000).

Os *primers* escolhidos para a amplificação da região foram C1-J-1751 “SPID” (Simon *et al.* 1994, modificado por Hedin & Maddison 2001) e C2-N-3661 (Simon *et al.* 1994), que já foram utilizados para outros grupos e mostraram-se eficientes também para a espécie em questão. A localização destes *primers* no genoma

mitocondrial encontra-se esquematizada na Figura 11 e a sequência exata dos mesmos na Tabela 2.

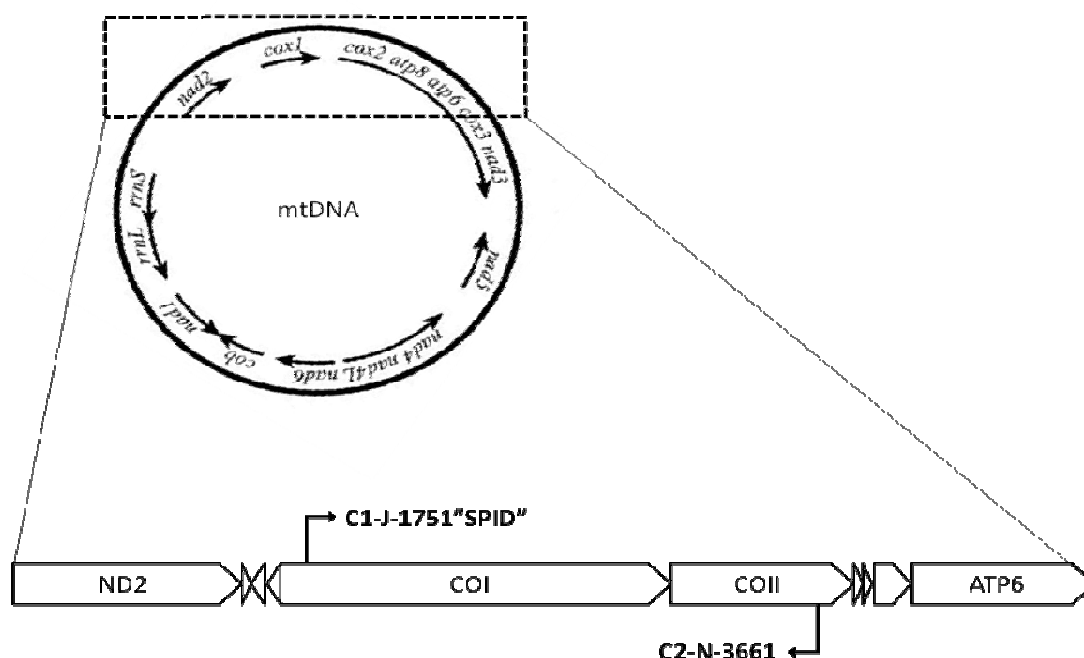


Figura 11. Representação esquemática das regiões mitocondriais descritas para a aranha *Habronattus oregonensis* (adaptada de Masta & Boore 2004), evidenciando a localização e direção dos *primers* utilizados no estudo.

Tabela 2. Relação dos *primers* utilizados no trabalho e suas respectivas seqüências nucleotídicas.

Nome	Seqüência
C1-J-1751 "SPID"	5' GGAGCTCCTGATATAGCTTTTCC 3'
C2-N-3661	5' CCACAAATTTCTGAACATTGACCA 3'

As reações de amplificação foram realizadas em 50 µl de solução de reação contendo 3 µl de DNA genômico (com concentração média de 10 µg/µl), 5 µl de tampão padrão de reação 10X (Invitrogen®), 2.5 mM de dNTP, 0.2 µM de cada *primer*, 4 mM de MgCl₂, 2 U de *Taq* DNA polimerase (Invitrogen®) e o restante do volume ajustado com água milliQ. As reações de amplificação foram baseadas na técnica de "touchdown" (sendo 56°C a temperatura inicial de anelamento, diminuindo

em 1°C a cada ciclo até chegar a 49°C), com as seguintes condições: um ciclo de 3' a 94°C; 37 ciclos: 45" a 94°C, 45" a 49°C-56°C, 2' a 72°C; e um ciclo de 3' a 72°C.

3.3.3. Clivagem do mtDNA com endonucleases de restrição

Seis enzimas foram selecionadas para o estudo por apresentarem algum polimorfismo: *AluI* (AG/CT), *DdeI* (C/TNAG), *EcoRV* (GAT/ATC), *HaeIII* (GG/CC), *RsaI* (GT/AC) e *TaqI* (T/CGA). A digestão enzimática foi realizada com 8 µl de produto amplificado, 1,5 µl do tampão de digestão de cada enzima, 1U da enzima de restrição e água milliQ até o volume final de 15 µl. As reações foram incubadas à temperatura recomendada pelo fabricante (Invitrogen®) para cada enzima por aproximadamente 4 horas. Em seguida as amostras foram aplicadas em gel de agarose (2,5%) em tampão TAE 1x, juntamente com um marcador de tamanho molecular de 100 pares de bases (Invitrogen®) como referência. Estas amostras foram submetidas a uma voltagem de 100V e mantidas até que se completasse a corrida (cerca de 4 horas). Os géis foram corados com brometo de etídeo, visualizados com luz UV e fotografados.

3.3.4. Análise dos dados

Os géis foram analisados visualmente e o tamanho dos fragmentos estimado pelo programa DNAfrag (Schaffer & Sederoff 1981). Os perfis de digestão obtidos em cada um dos indivíduos foram analisados de acordo com os sítios de restrição que deram origem aos fragmentos. A análise dos sítios é preferível à análise dos próprios fragmentos, pois estes podem não ser analiticamente independentes (Bermingham *et al.* 1996). Os padrões de restrição de cada enzima foram classificados com letras maiúsculas e as prováveis relações entre eles foram estabelecidas seguindo o princípio de que a perda de um sítio é mais provável que seu ganho (Templeton 1983). Reunindo os padrões de todas as enzimas foi construída uma matriz binária de presença/ausência de sítios para cada haplótipo.

Foram calculadas as estimativas de diversidade haplotípica (h), nucleotídica (π), o número de diferenças nucleotídicas entre pares de haplótipos (d), as divergências nucleotídicas entre as populações (D) e este número corrigido (D_A , que

desconta a variação intrapopulacional) (Nei 1987, Nei & Li 1979, Nei & Tajima 1981), com o programa ARLEQUIN 3.11 (Excoffier *et al.* 2005). A partir das distâncias genéticas entre os haplótipos e entre as populações foram construído dendrogramas utilizando o método de agrupamento de *neighbor-joining* (Saitou & Nei 1987), com o auxílio do programa MEGA4 (Tamura *et al.* 2007).

Foram calculados os índices de fixação (F_{ST}) entre pares de populações, cuja significância foi avaliada com testes não paramétricos de permutação, com índice de significância (α) de 0,05. Os valores de F_{ST} foram utilizados nas estimativas do número de migrantes por geração ($M = 1 - F_{ST}/2 F_{ST}$) entre as populações. A correlação entre os valores de F_{ST} e as distâncias geográficas, bem como entre as distâncias genéticas (D_A) e as distâncias geográficas interpopulacionais, foram analisadas por meio do teste de Mantel (Mantel 1967). A estruturação das populações também foi avaliada por meio da análise de variância molecular hierárquica (AMOVA, Excoffier *et al.* 1992). Para avaliar se as populações encontram-se sob efeito de seleção, expansão populacional, gargalo genético ou se existe heterogeneidade nas taxas de mutação foram realizados os testes de neutralidade de Tajima (D , Tajima 1989) e de Fu (F_s , Fu 1997). Todas essas estimativas também foram calculadas com o auxílio do programa ARLEQUIN 3.11 (Excoffier *et al.* 2005).

Uma rede de haplótipos (*minimum spanning network*) foi construída a partir das divergências entre pares de haplótipos, utilizando o algoritmo descrito por Rohlf (1973). Foi feita uma análise de clados aninhados (NCA - *Nested Clade Analysis*), que possibilita inferências sobre a história demográfica das populações a partir da rede de haplótipos e sua distribuição geográfica, com o objetivo de diferenciar eventos históricos da estrutura genética das populações (Templeton *et al.* 1995, Templeton 1998, 2001). O programa GeoDis 2.2 (Posada *et al.* 2000), que busca por associações significativas entre distâncias genéticas e geográficas, foi utilizado na análise. Foram realizados testes de contingência permutacional para todos os clados, além de estimativas de distâncias dos clados (D_c) e distâncias dos agrupamentos (D_n) (Templeton *et al.* 1995). As associações significantes foram interpretadas em termos de processos biológicos seguindo a chave de inferência disponível em Templeton (2004).

4. RESULTADOS

As enzimas utilizadas apresentaram de 2 a 9 padrões de restrição e o número de sítios de restrição em cada um deles variou de 0 a 4 (Tabela 3). As relações entre os padrões gerados por cada enzima encontram-se esquematizadas nas Figuras 12, 13, 14, 15, 16 e 17. Foram obtidos no total 30 sítios de restrição, dos quais apenas um não era informativo por estar presente em todos os padrões (*TaqI* – **a**). Com os 29 sítios restantes foi construída uma matriz binária de presença/ausência (1/0), e a combinação de todos os sítios resultou em 25 haplótipos (Tabela 4). O dendrograma construído a partir das distâncias genéticas entre os haplótipos (*d*) encontra-se na Figura 18.

Tabela 3. Padrões de restrição de cada enzima com os respectivos números de sítios e tamanhos dos fragmentos.

Enzima	Padrão de restrição	Nº de sítios de restrição	Tamanho dos fragmentos (pb)
<i>AluI</i>	A	1	1340, 570
	B	3	1170, 430, 170, 140
	C	1	1040, 870
	D	2	1040, 730, 140
	E	4	900, 390, 290, 190, 140
	F	2	870, 550, 490
	G	3	860, 480, 430, 140
	H	3	730, 550, 490, 140
	I	4	690, 480, 430, 170, 140
<i>DdeI</i>	A	1	1430, 480
	B	1	1300, 610
	C	2	1120, 610, 180
	D	3	1000, 430, 260, 220
	E	2	880, 550, 480
	F	2	820, 610, 480
<i>EcoRV</i>	A	0	1910
	B	1	1630, 280
<i>HaeIII</i>	A	0	1910
	B	2	1400, 300, 210
	C	1	1150, 760
	D	1	1000, 910
	E	2	1000, 700, 210
<i>RsaI</i>	A	0	1910
	B	1	1740, 170
	C	1	1620, 290
	D	2	1430, 310, 170
	E	2	1230, 550, 130
	F	2	1060, 680, 170
	G	2	940, 680, 290
<i>TaqI</i>	A	2	1540, 260, 110
	B	2	1390, 370, 150
	C	2	1170, 370, 370
	D	3	1170, 370, 260, 110
	E	2	840, 700, 370
	F	3	840, 410, 370, 290

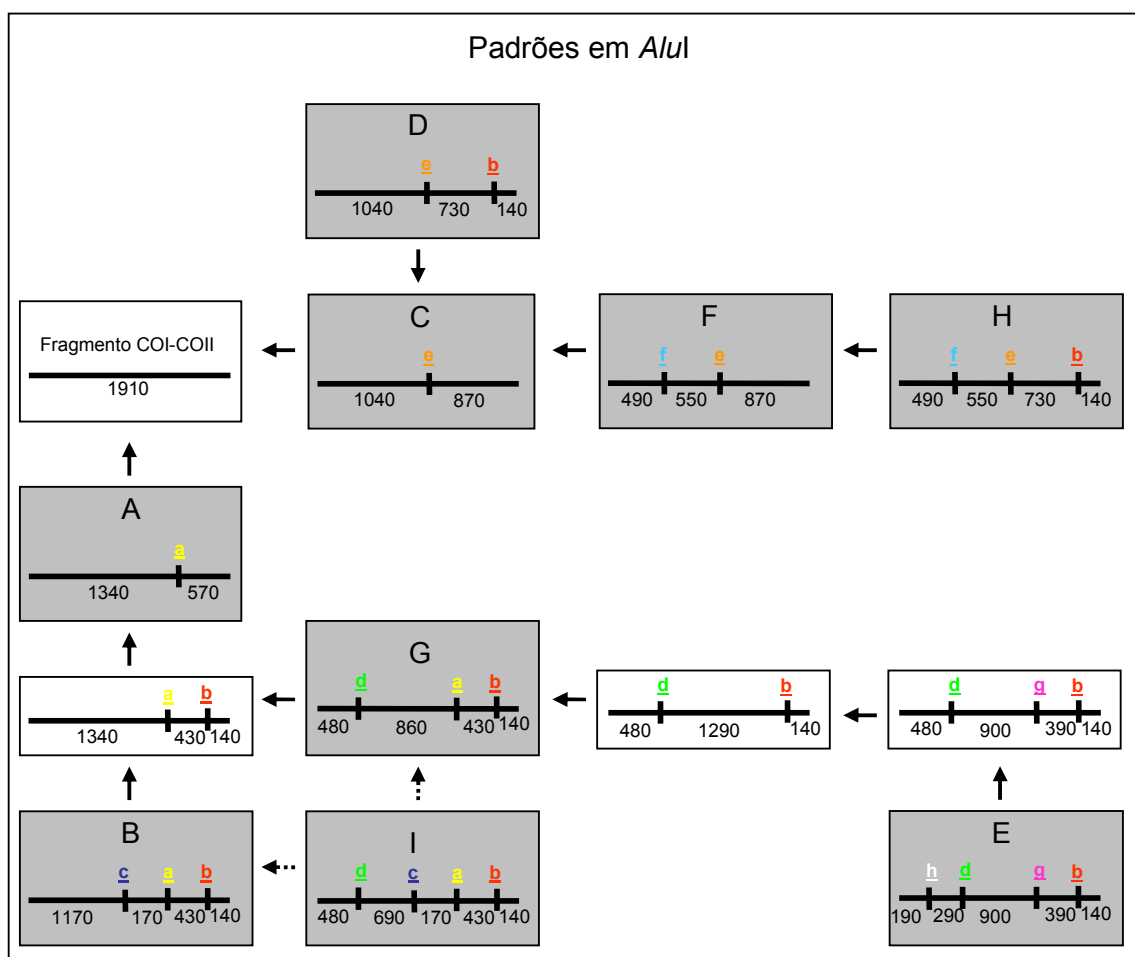


Figura 12. Relação entre os padrões de restrição obtidos pela enzima *AluI*. Os retângulos em cinza representam os padrões de A a I; os brancos representam os padrões intermediários inferidos. As setas sólidas indicam a relação mais provável entre os padrões e as tracejadas estão presentes onde existe mais de uma hipótese para a relação.

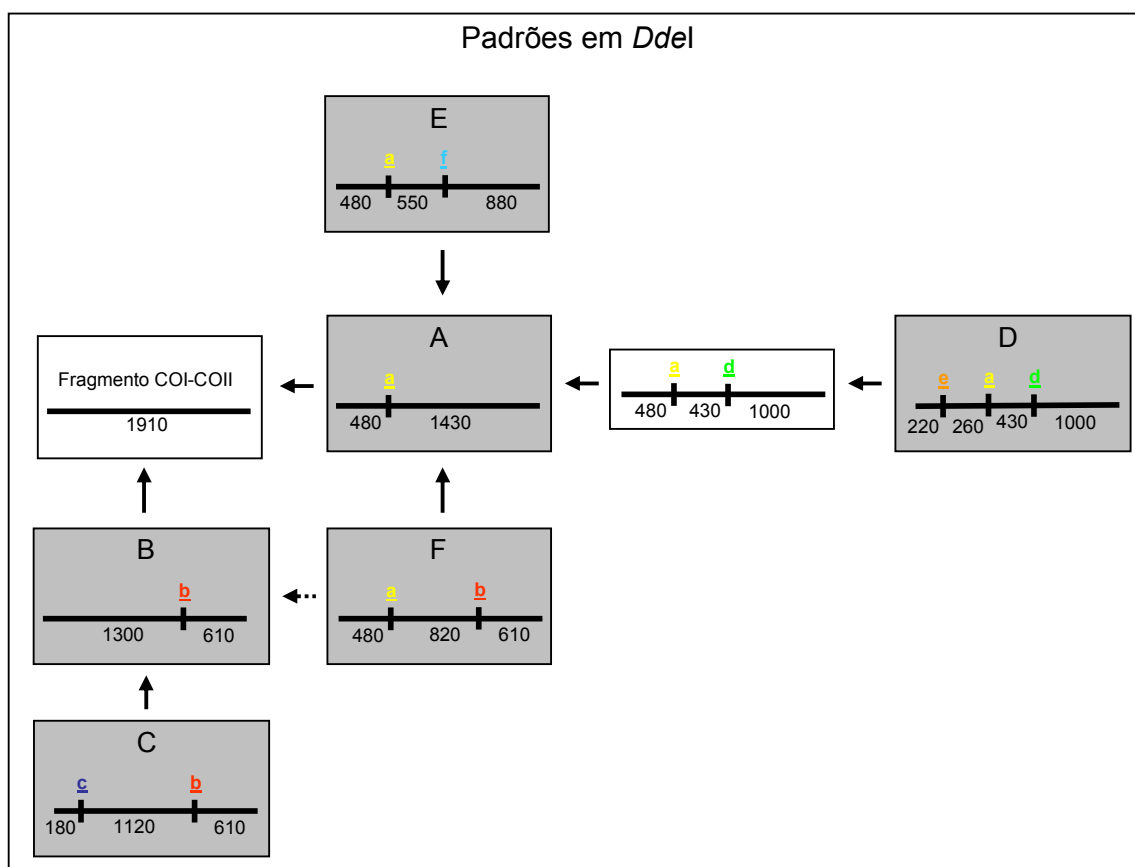


Figura 13. Relação entre os padrões de restrição obtidos pela enzima *DdeI*. Os retângulos em cinza representam os padrões de A a F; os brancos representam os padrões intermediários inferidos. As setas sólidas indicam a relação mais provável entre os padrões e as tracejadas estão presentes onde existe mais de uma hipótese para a relação.

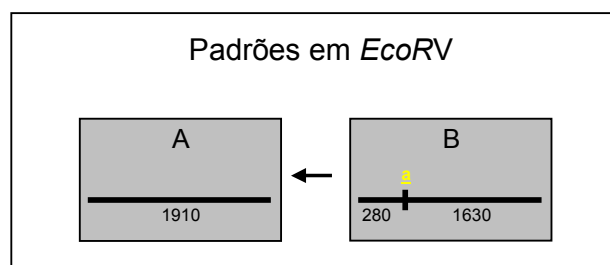


Figura 14. Relação entre os padrões de restrição obtidos pela enzima *EcoRV*. Os retângulos em cinza representam os padrões A e B. A seta indica a relação mais provável entre os padrões.

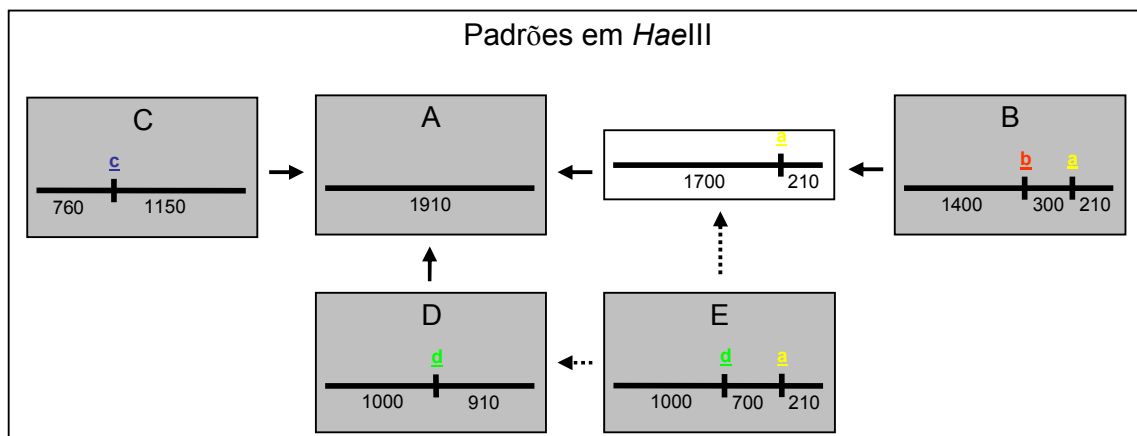


Figura 15. Relação entre os padrões de restrição obtidos pela enzima *Hae*III. Os retângulos em cinza representam os padrões de A a E; o branco representa o padrão intermediário inferido. As setas sólidas indicam a relação mais provável entre os padrões e as tracejadas estão presentes onde existe mais de uma hipótese para a relação.

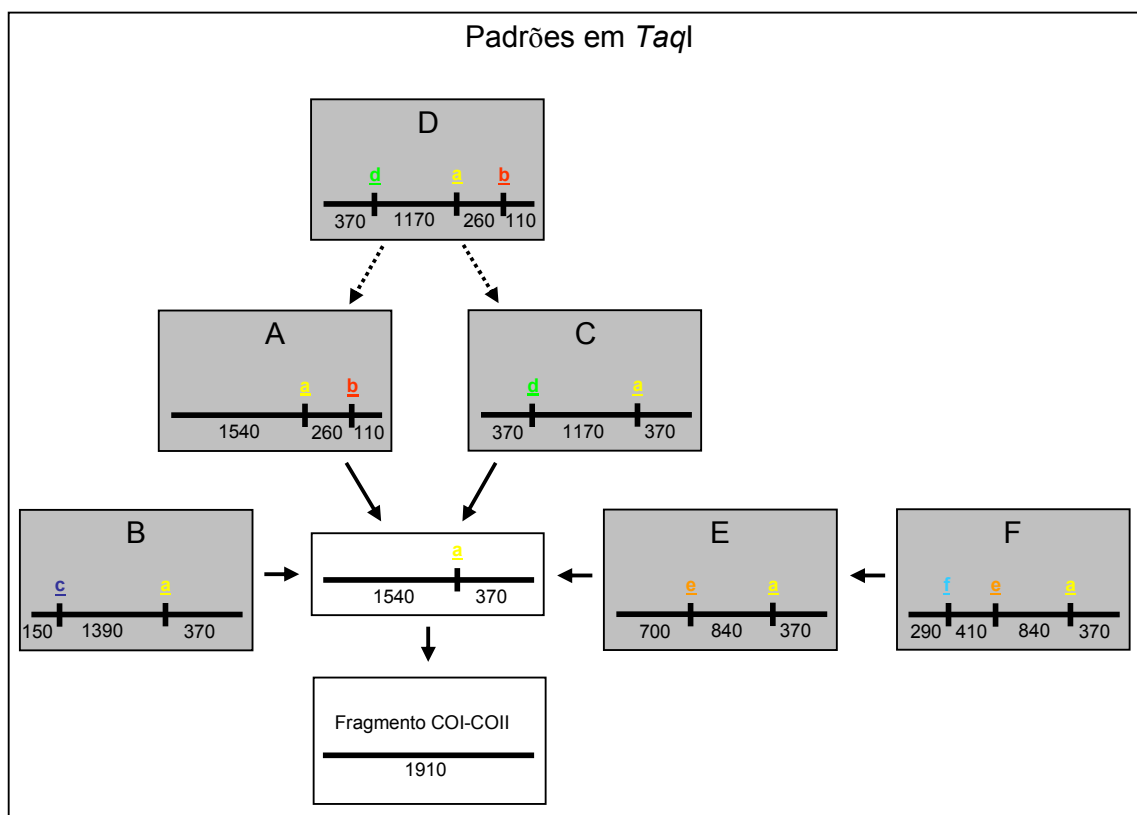


Figura 16. Relação entre os padrões de restrição obtidos pela enzima *Taq*I. Os retângulos em cinza representam os padrões de A a F; os brancos representam os padrões intermediários inferidos. As setas sólidas indicam a relação mais provável entre os padrões e as tracejadas estão presentes onde existe mais de uma hipótese para a relação.

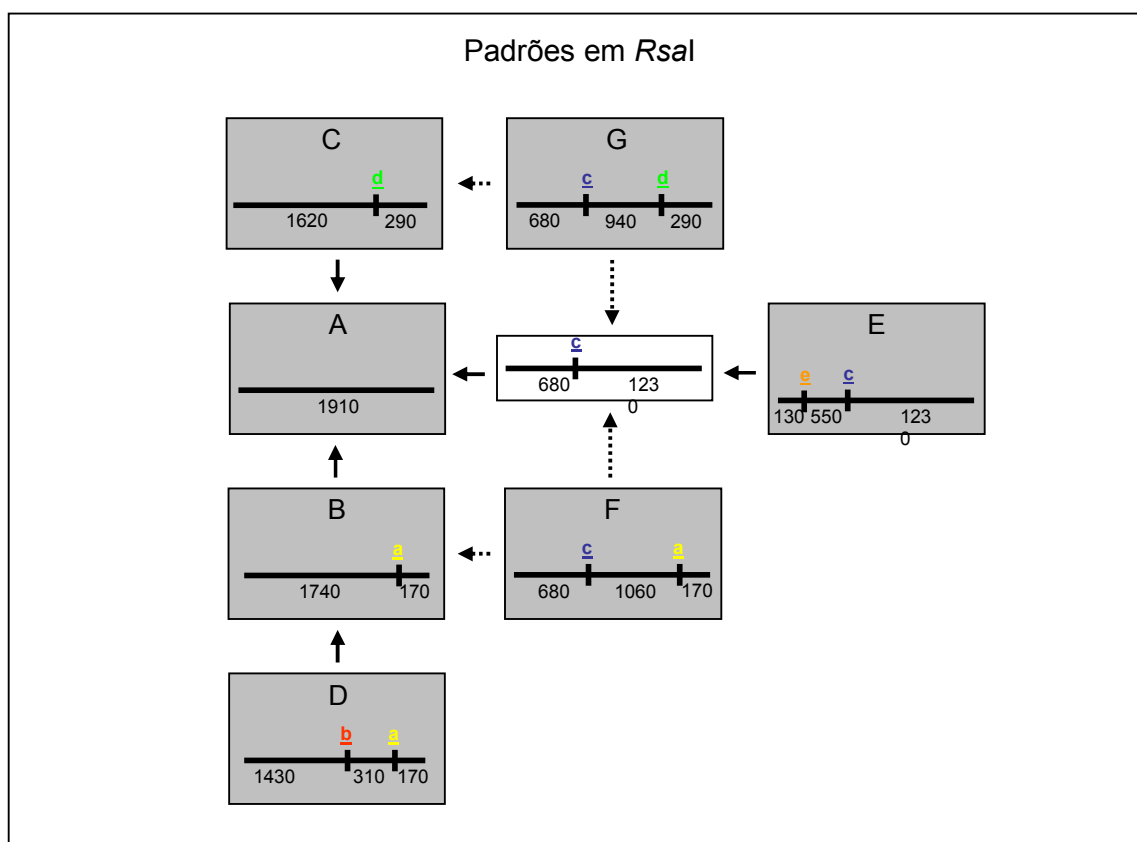


Figura 17. Relação entre os padrões de restrição obtidos pela enzima *Rsa*I. Os retângulos em cinza representam os padrões de A a F; o branco representa o padrão intermediário inferido. As setas sólidas indicam a relação mais provável entre os padrões e as tracejadas estão presentes onde existe mais de uma hipótese para a relação.

Tabela 4. Estado dos sítios em cada enzima nos haplótipos.

Hap.	AluI								DdeI								EcoRV	HaeIII				RsaI				TaqI						
	a	b	c	d	e	f	g	h	a	b	c	d	e	f	a	b		c	d	e	f	a	b	c	d	e	f	a	b	c	d	e
H01	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
H02	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
H03	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
H04	0	1	0	0	1	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
H05	0	1	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
H06	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
H07	0	1	0	1	0	0	1	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
H08	0	1	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
H09	1	1	1	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
H10	1	1	1	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
H11	1	1	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
H12	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
H13	0	1	0	0	1	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
H14	1	1	1	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
H15	1	1	1	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
H16	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
H17	1	1	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
H18	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
H19	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
H20	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
H21	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
H22	1	1	1	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
H23	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
H24	1	1	1	1	1	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
H25	1	1	1	1	1	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

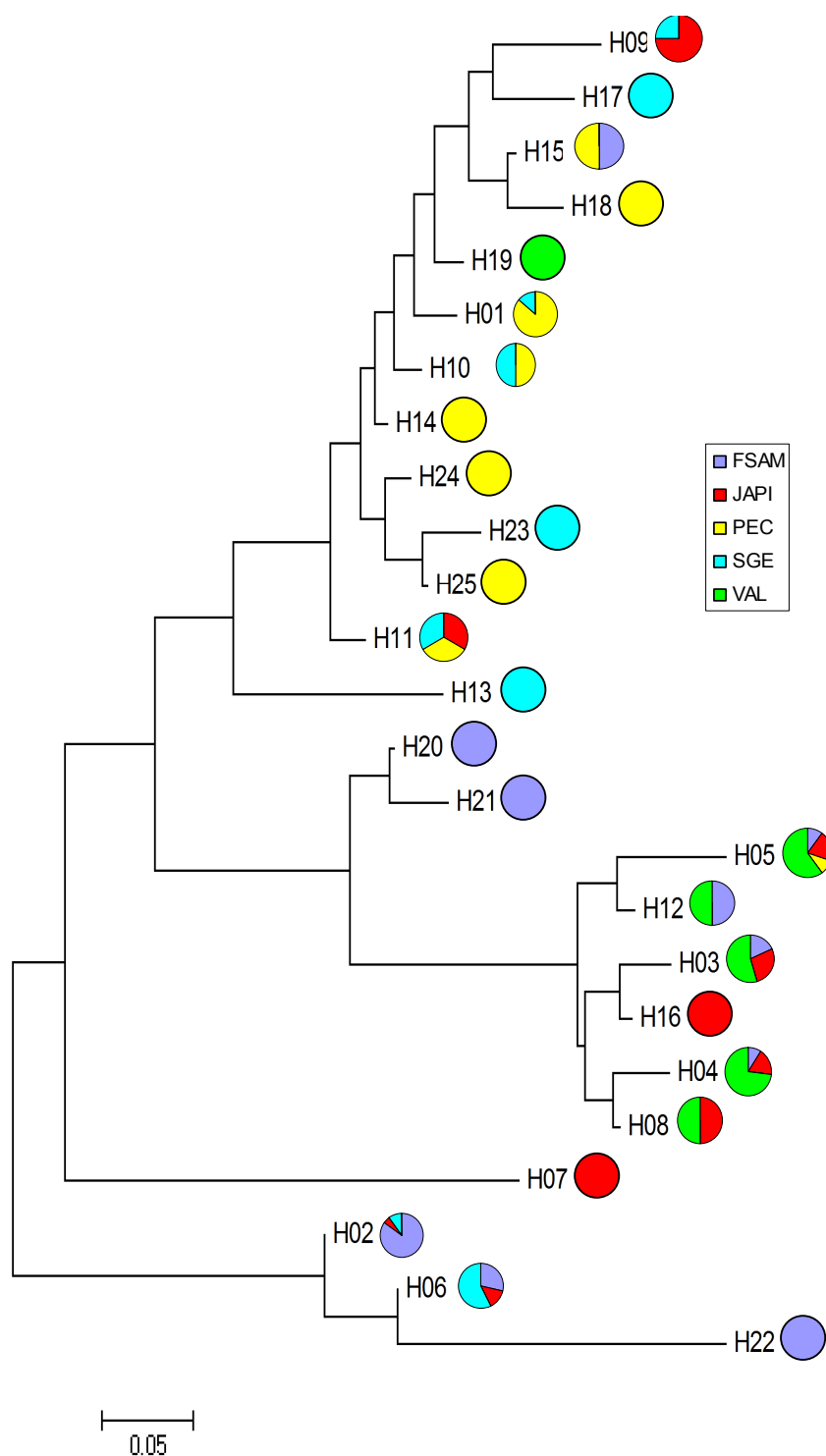


Figura 18. Dendrograma construído a partir das distâncias genéticas (d) entre os haplótipos. As cores representam as populações onde cada haplótipo foi encontrado.

A distribuição dos haplótipos entre as populações e suas respectivas frequências encontram-se na Tabela 5 e na Figura 19. As populações FSAM, JAPI e SGE apresentaram o maior número de haplótipos (10), seguidas por PEC (8) e VAL (6). O haplótipo H01 foi o mais frequente, correspondendo a 29 dos 130 indivíduos. Nenhum haplótipo foi compartilhado por todas as populações e mais da metade (13 haplótipos) foram encontrados em uma única população.

Tabela 5. Frequência dos haplótipos nas cinco populações estudadas de *A. venatrix*; entre parênteses, o número de indivíduos.

Haplótipo	FSAM (28)	JAPI (24)	PEC (34)	SGE (19)	VAL (25)	Total (130)
H01	-	-	0,735 (25)	0,211 (4)	-	0,223 (29)
H02	0,607 (17)	0,0417 (1)	-	0,105 (2)	-	0,134 (20)
H03	0,0714 (2)	0,125 (3)	-	-	0,24 (6)	0,085 (11)
H04	0,0357 (1)	0,0833 (2)	-	-	0,32 (8)	0,085 (11)
H05	0,0357 (1)	0,0833 (2)	0,0294 (1)	-	0,24 (6)	0,077 (10)
H06	0,0714 (2)	0,0417 (1)	-	0,211 (4)	-	0,054 (7)
H07	-	0,292 (7)	-	-	-	0,054 (7)
H08	-	0,125 (3)	-	-	0,12 (3)	0,046 (6)
H09	-	0,125 (3)	-	0,0526 (1)	-	0,031 (4)
H10	-	-	0,0588 (2)	0,105 (2)	-	0,031 (4)
H11	-	0,0417 (1)	0,0294 (1)	0,0526 (1)	-	0,023 (3)
H12	0,0357 (1)	-	-	-	0,04 (1)	0,015 (2)
H13	-	-	-	0,105 (2)	-	0,015 (2)
H14	-	-	0,0588 (2)	-	-	0,015 (2)
H15	0,0357 (1)	-	-	0,0526 (1)	-	0,015 (2)
H16	-	0,0417 (1)	-	-	-	0,008 (1)
H17	-	-	-	0,0526 (1)	-	0,008 (1)
H18	-	-	0,0294 (1)	-	-	0,008 (1)
H19	-	-	-	-	0,04 (1)	0,008 (1)
H20	0,0357 (1)	-	-	-	-	0,008 (1)
H21	0,0357 (1)	-	-	-	-	0,008 (1)
H22	0,0357 (1)	-	-	-	-	0,008 (1)
H23	-	-	-	0,0526 (1)	-	0,008 (1)
H24	-	-	0,0294 (1)	-	-	0,008 (1)
H25	-	-	0,0294 (1)	-	-	0,008 (1)

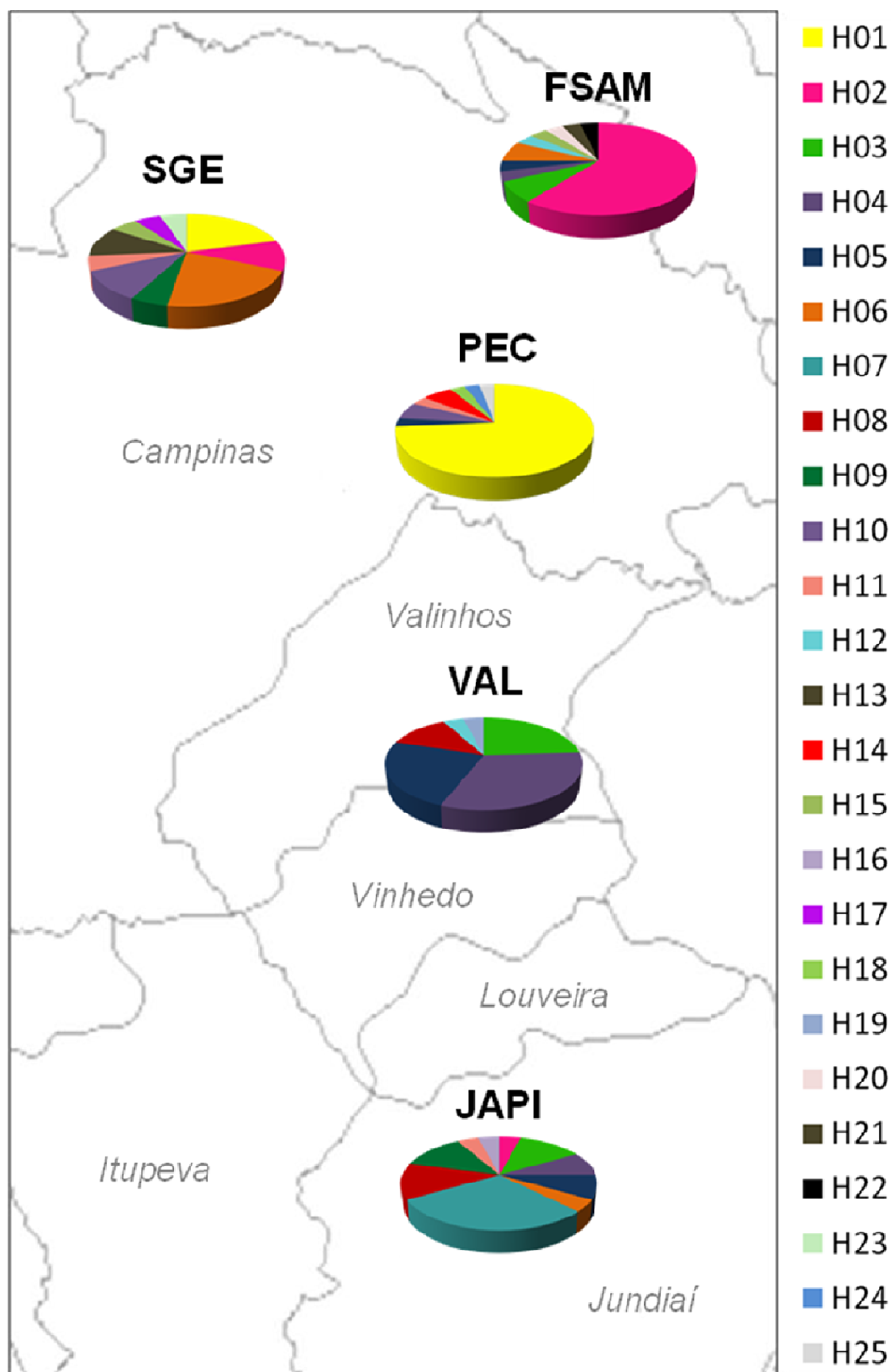


Figura 19. Frequências dos haplótipos nas cinco populações estudadas de *A. venatrix*. O mapa representa a localização aproximada das populações.

A Tabela 6 exibe as estimativas de variabilidade em cada população. A diversidade haplotípica (referente ao número de haplótipos em cada população) e nucleotídica (que se refere às diferenças entre os haplótipos presentes em cada população). A população PEC teve os menores valores de diversidade ($h=0,4617$; $\pi=0,059991$); a população SGE apresentou a maior diversidade de haplótipos ($h=0,9123$) e JAPI a maior diversidade de nucleotídeos ($\pi=0,359695$). Entretanto, as correlações entre as estimativas de diversidade e o tamanho do fragmento não foram significativas ($R^2=0,293$; $p=0,346$ e $R^2=0,609$; $p=0,119$ para h e π , respectivamente).

Tabela 6. Variabilidade genética nas cinco populações de *A. venatrix*. Entre parênteses, os respectivos desvios-padrão.

População	Diversidade Haplotípica (h)	Diversidade Nucleotídica (π)
FSAM	0,6349 (0,1043)	0,216293 (0,117804)
JAPI	0,8841 (0,0432)	0,359695 (0,189477)
PEC	0,4617 (0,1054)	0,059991 (0,039771)
SGE	0,9123 (0,0397)	0,229482 (0,126635)
VAL	0,7967 (0,0408)	0,100230 (0,060644)
Média	0,73794	0,193138

As distâncias genéticas entre as populações (D e D_A) encontram-se na Tabela 7. Os menores valores foram observados entre as populações PEC e SGE ($D=5,514$; $D_A=1,316$) e os maiores entre PEC e VAL ($D=13,955$; $D_A=11,632$). O dendrograma construído com base nestas distâncias revelou que as populações encontram-se divididas em dois grandes grupos: o primeiro com PEC, SGE e FSAM, sendo esta última um pouco mais distante das outras duas; e o segundo com JAPI e VAL, relativamente mais distantes das demais (Figura 20). Porém, o coeficiente de correlação entre as distâncias genéticas e geográficas não foi significativo ($r=-0,276$, $p=0,731$; Figura 21).

Tabela 7. Número médio de diferenças nucleotídicas entre as populações (D). Abaixo da diagonal, o número corrigido (D_A).

	FSAM	JAPI	PEC	SGE	VAL
FSAM	-	11,327	10,521	8,453	11,390
JAPI	2,976	-	12,206	11,919	9,208
PEC	6,515	6,120	-	5,514	13,955
SGE	1,989	3,376	1,316	-	13,474
VAL	6,800	2,539	11,632	8,693	-

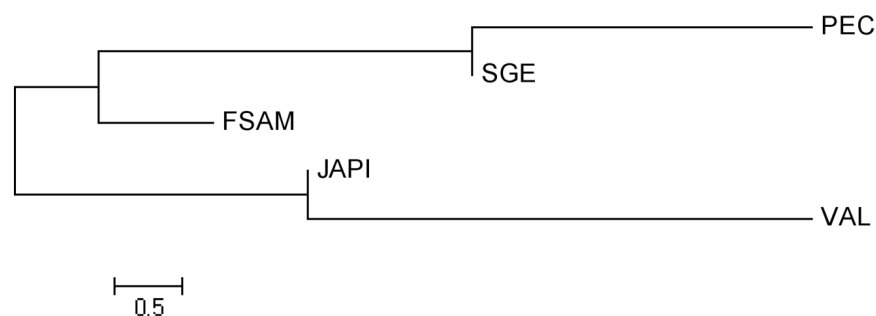


Figura 20. Dendrograma construído a partir das diferenças nucleotídicas entre as cinco populações de *A. venatrix*.

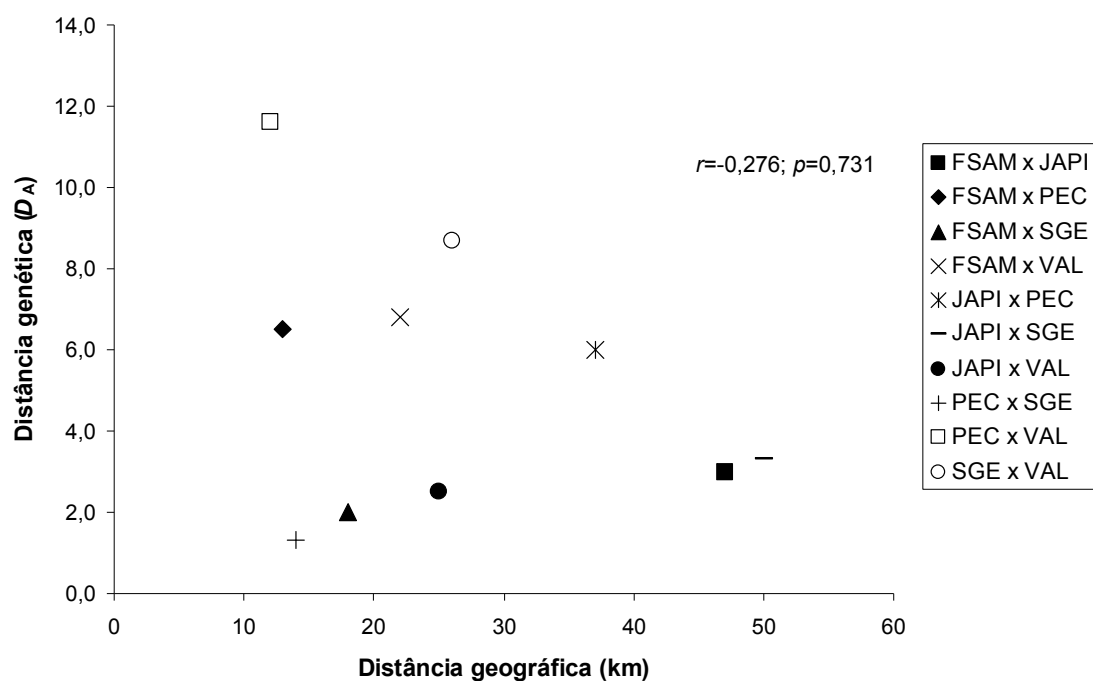


Figura 21. Relação entre distâncias genéticas (D_A) e geográficas nas populações de *A. venatrix* (r = coeficiente de correlação do teste de Mantel).

Todos os valores de F_{ST} entre pares de populações foram altos e significativos, como mostra a Tabela 8; porém, o teste de Mantel revelou que a relação entre o F_{ST} e as distâncias geográficas também não é significativa ($r=-0,418$, $p=0,828$; Figura 22). A análise de variância molecular (AMOVA) também aponta para a existência de uma forte estruturação ($\Phi_{ST}=0,51308$), já que mais da metade da variação foi interpopulacional (Tabela 9).

Tabela 8. Índices de F_{ST} entre os pares de populações. Todos os valores foram estatisticamente significativos. Abaixo da diagonal, os valores de F_{ST} ; acima, o número estimado de migrantes (M) entre as populações por geração.

	FSAM	JAPI	PEC	SGE	VAL
FSAM	-	1,36964	0,28942	1,61235	0,34510
JAPI	0,26743	-	0,42994	1,30766	1,29405
PEC	0,63338	0,53767	-	1,26369	0,09585
SGE	0,23670	0,27660	0,28350	-	0,25886
VAL	0,59165	0,27870	0,83914	0,65888	-

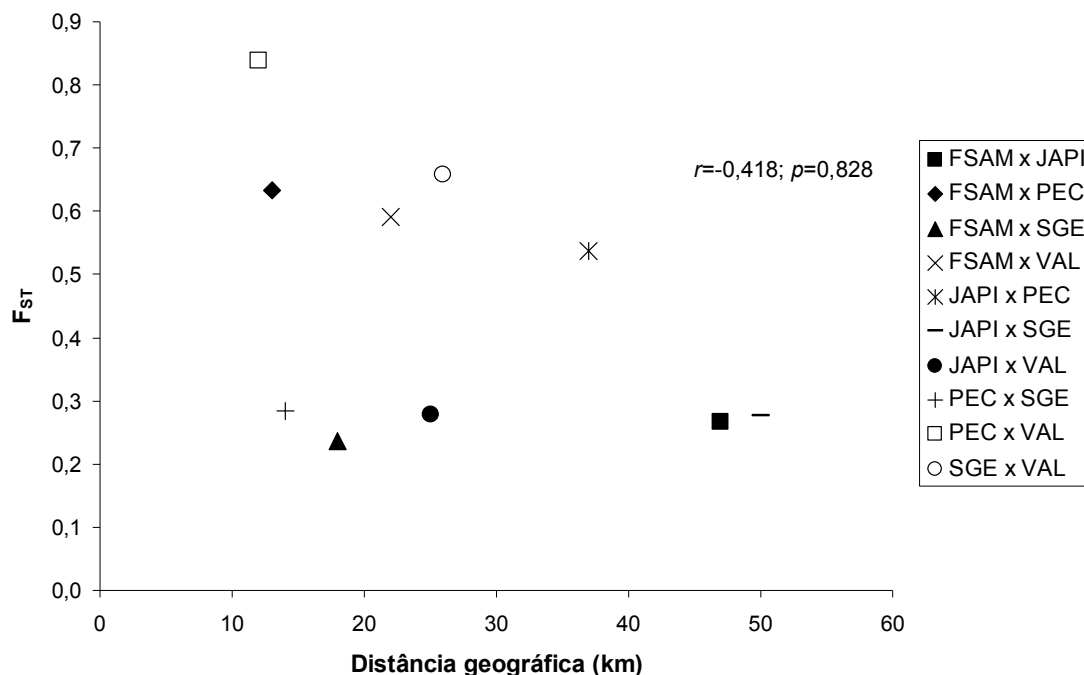


Figura 22. Relação entre F_{ST} e geográficas nas populações de *A. venatrix* (r = coeficiente de correlação do teste de Mantel).

Tabela 9. Análise de variância molecular (AMOVA) em *A. venatrix*.

Fonte de variação	G. L.	Soma dos quadrados	Componentes da variância	Porcentagem da variação
Entre populações	4	295,559	2,76592 V_a	51,31
Dentro das populações	125	328,118	2,62494 V_b	48,69
Total	129	623,677	5,39086	
$\Phi_{ST} = 0,51308$				

Os resultados dos testes de neutralidade encontram-se na Tabela 10. O teste de Tajima (1989) resultou em um valor significativo apenas para a população PEC ($D=-1,9422$, $p=0,01400$), o que pode ser um indício de expansão populacional. O teste de Fu (1997) não gerou resultado significativo para nenhuma das populações.

Tabela 10. Valores dos testes de neutralidade para cada população. (* = valores estatisticamente significativos)

	$D_{Tajima} (p)$	$F_{sFu} (p)$
FSAM	0,39041 (0,70200)	1,08369 (0,72600)
JAPI	1,46767 (0,91300)	2,59742 (0,96500)
PEC	-1,9422* (0,01400)	-1,54001 (0,22900)
SGE	1,1133 (0,87300)	-0,12393 (0,50700)
VAL	-1,5188 (0,05300)	1,26852 (0,77400)
Média	-0,09791 (0,51100)	0,65714 (0,64020)

A rede de haplótipos (*minimum spanning network*) obtida com base nas divergências nucleotídicas encontra-se na Figura 23. O número de diferenças entre os haplótipos variou bastante, estando alguns deles separados por vários passos mutacionais. O haplótipo H14 apresentou o maior número de ramificações (5) e o mais divergente foi H07, com 10 haplótipos inferidos separando-o da sequência mais próxima (H09).

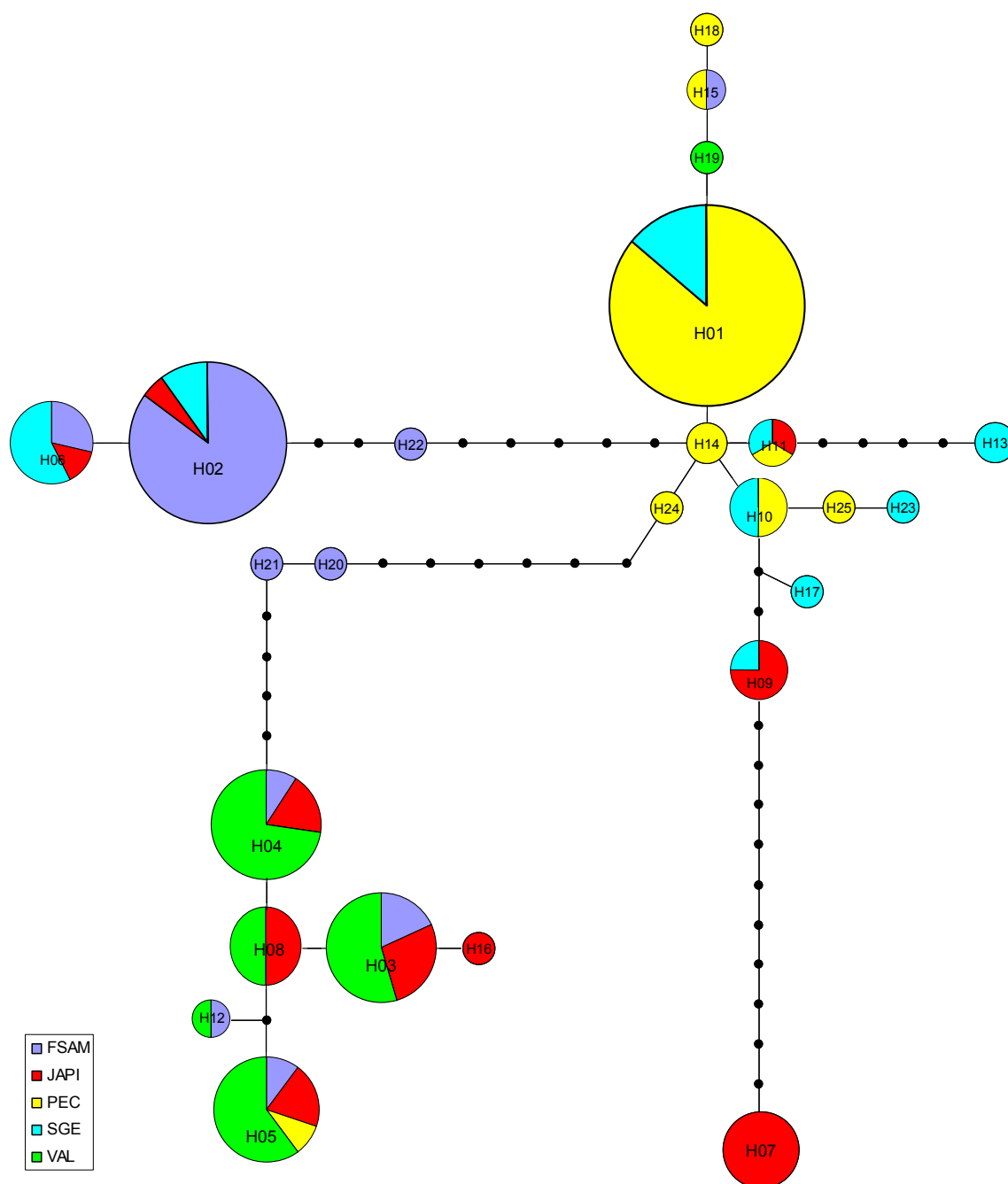


Figura 22. Rede de haplótipos (*minimum spanning network*) de *A. venatrix*. O tamanho dos círculos reflete o número de indivíduos analisados e seu preenchimento representa a frequência em que cada haplótipo foi observado nas populações. Os pontos pretos representam os haplótipos intermediários não amostrados.

O aninhamento hierárquico dos haplótipos para realização da NCA está apresentado na Figura 24. O teste de contingência permutacional apontou valores significantes em quatro clados (incluindo o cladograma total), para os quais a hipótese nula de não-associação geográfica deve ser rejeitada (Tabela 11). A interpretação dos dados indicou fluxo gênico restrito com isolamento por distância em três dos clados considerados; em um deles não foi possível discriminar entre fragmentação e isolamento por distância para explicar a estrutura geográfica dos haplótipos (Tabela 12).

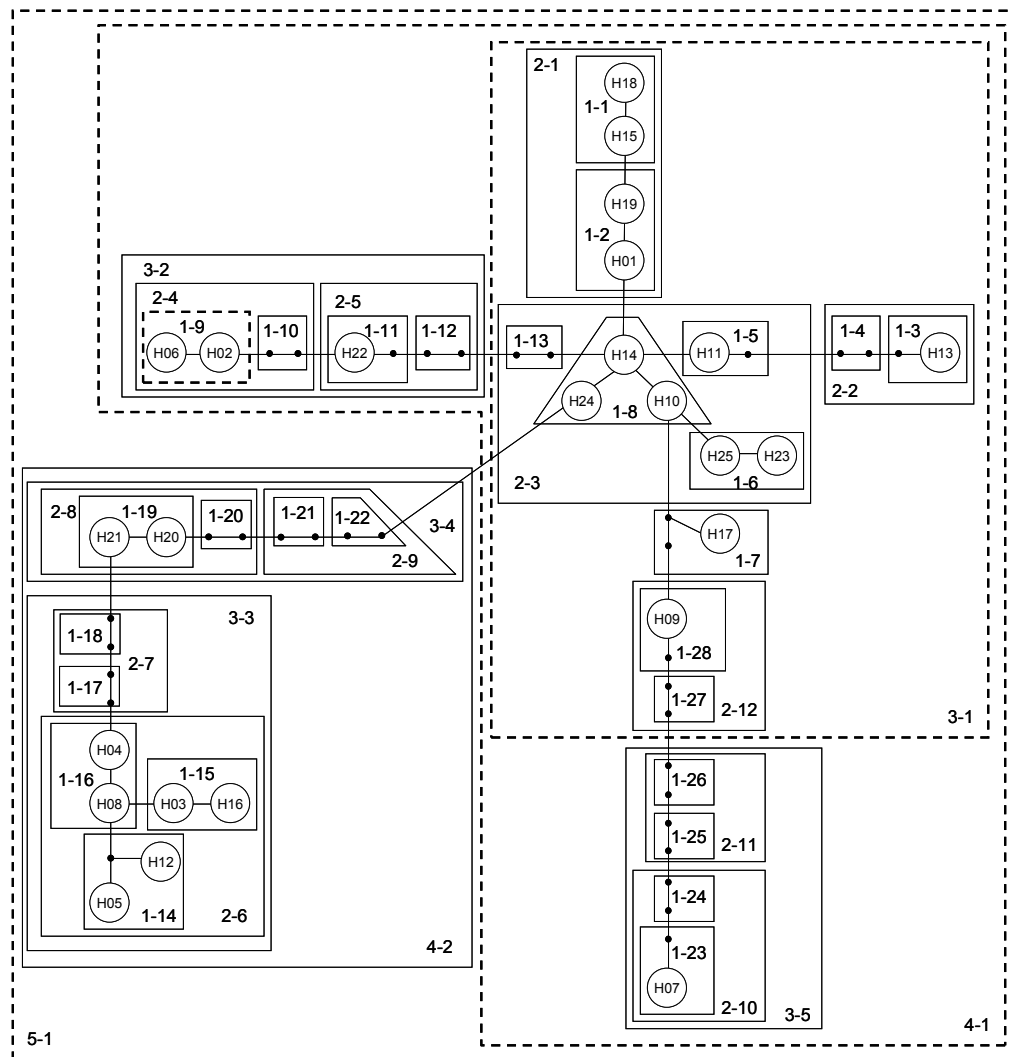


Figura 24. Rede de haplótipos (*minimum spanning network*) de *A. venatrix* e o aninhamento hierárquico realizado para a *Nested Clade Analysis* (NCA). Cada linha representa um passo mutacional e os pontos pretos representam os haplótipos inferidos não amostrados. Os clados que apresentaram valores de associação geográfica significativos encontram-se tracejados.

Tabela 11. Teste de contingência permutacional da *Nested Clade Analysis* (NCA). Em negrito, os clados que apresentaram valores de associação geográfica significantes ($p < 0,05$).

Clado	χ^2	Probabilidade
1-1	3,0000	1,0000
1-2	3,0000	1,0000
1-6	2,0000	1,0000
1-8	2,1000	0,6214
1-9	8,1355	0,0113
1-14	2,2286	0,6852
1-15	2,1818	0,5027
1-16	2,1917	0,5335
2-1	11,6854	0,0593
2-3	5,7660	0,5117
2-6	4,3191	0,7227
3-1	39,3427	0,0112
3-2	0,4148	1,0000
4-1	99,7781	0,0000
4-2	10,7875	0,0697
Cladograma Total	70,6448	0,0000

Tabela 12. Estimativas das distâncias nos clados (D_c) e agrupamentos (D_n) obtidas na *Nested Clade Analysis* (NCA) e os processos biológicos inferidos para cada clado. Os haplótipos e clados interiores estão destacados em cinza. Em negrito, os valores significantes ($p < 0,05$). I-T= diferença média das distâncias entre nós interiores e terminais; < = valores significativamente pequenos; > = valores significativamente grandes.

Clado	Membros do clado	D_c		D_n		Inferência*
		<	>	<	>	
1-9	H02	0.0265*	0.9789	0.0644	0.941	(1-2-3-4) Fluxo gênico restrito com isolamento por distância
	H06	0.6053	0.4001	0.941	0.0644	
	I-T	0.064	0.9414	0.0644	0.941	
3-1	2-1	0.0003*	0.9997	0*	1	(1-2-3-4) Fluxo gênico restrito com isolamento por distância
	2-2	0.448	1	0.825	0.231	
	2-3	0.6579	0.3771	0.6432	0.3918	
	2-12	0.9898	0.0102*	0.9993	0.0007*	
	I-T	0.9843	0.0157*	0.998	0.002*	
4-1	3-1	0*	1	0*	1	(1-2-3-5-15-16-18) Amostragem inadequado para discriminação entre fragmentação e isolamento por distância
	3-2	0.0774	0.9226	0.8422	0.1578	
	3-5	0.0012*	1	1	0*	
	I-T	0.6181	0.3819	0*	1	
Total	4-1	0.002*	0.998	0.8663	0.1337	(1-2-3-4) Fluxo gênico restrito com isolamento por distância
	4-2	0.0049*	0.9951	0.1497	0.8503	

* Os números entre parênteses representam as etapas percorridas na chave de inferências de Templeton (2004)

5. DISCUSSÃO

5.1. Variabilidade da região mitocondrial COI-COII

Os índices de variabilidade obtidos em nosso estudo foram altos. A região mitocondrial analisada (que compreende os genes COI e COII) demonstrou ser variável e geneticamente informativa a nível populacional, embora seja pouco explorada em artrópodes terrestres.

Em muitos insetos, a alta variação nessa região pode ser explicada pela presença de uma sequência intergênica localizada entre COI e COII, cujo tamanho e composição pode variar de acordo com o grupo (Arias *et al.* 2006, Cornuet *et al.* 1991, Sperling *et al.* 1999). Porém, nas poucas aranhas que tiveram seu genoma mitocondrial seqüenciado até o momento essa região intergênica não foi observada (Masta & Boore 2004, Qiu *et al.* 2005), assim como em outros quelicerados e em miriápodes (Boore *et al.* 1998). No entanto, o fato de não haver uma região intergênica entre COI e COII não compromete a aplicabilidade dessa sequência em estudos populacionais de aranhas: ambos já foram utilizados separadamente em vários estudos populacionais (Chang *et al.* 2007, Croucher *et al.* 2004, Hedin & Maddison 2001, Hedin & Wood 2002, Johannesen *et al.* 2005b, Lee *et al.* 2004, Masta 2000), apresentando diversos níveis variabilidade genética. Assim, a opção por utilizar as duas regiões como uma só sequência de aproximadamente 2 kb também pode ter contribuído para a variabilidade observada em nosso estudo, já que a probabilidade de que as enzimas de restrição reconheçam sítios específicos é maior do que se utilizássemos apenas COI ou COII.

A alta variabilidade da região em *A. venatrix* torna-se ainda mais interessante quando comparada a resultados obtidos com espécies próximas. Em *Araneus diadematus*, Johannesen e Toft (2002) analisaram a variabilidade populacional por meio de isozimas e do seqüenciamento da região ND1 do mtDNA. Embora essa região mitocondrial já tivesse se mostrado variável em outras aranhas (Hedin 1997, Johannesen *et al.* 2002, Johannesen & Veith 2001), em *A. diadematus* o seqüenciamento revelou apenas um haplótipo para todos os indivíduos, mesmo estando as populações separadas por uma distância de aproximadamente 300 km. Uma das possíveis explicações para o número de haplótipos muito maior em *A. venatrix* é a grande variabilidade da região COI-COII em comparação à ND1, o que

reforça a importância da utilização dessa sequência em outros estudos populacionais.

5.2. Variabilidade intrapopulacional

Ramirez e Saunders (1999) demonstraram por meio da análise de isozimas que a diversidade genética em aranhas é geralmente baixa em relação a outros invertebrados terrestres. Esses autores observaram ainda uma relação positiva entre variação genética e fluxo gênico nas espécies estudadas, indicando que populações com variabilidade reduzida devem estar geneticamente mais isoladas. Sendo assim, é razoável esperar que a diversidade genética seja maior em grupos com maior capacidade de dispersão.

As estimativas médias de diversidade intrapopulacional que encontramos para *A. venatrix* foram altas em comparação aos valores observados em outros artrópodes terrestres analisados com a mesma metodologia (Abreu & Solferini 2008, Insuan *et al.* 2007, Lyra *et al.* 2009) e em aranhas analisadas com isozimas (Ramirez & Saunders 1999). No entanto, como as estimativas de variabilidade podem ser afetadas por artefatos da metodologia ligados à natureza do marcador utilizado (Piel & Nutt 2000), não é possível comparar diretamente nossos resultados a outras espécies de aranhas, pois a maioria dos estudos populacionais com esses organismos emprega a análise isoenzimática ou o seqüenciamento de genes nucleares e mitocondriais.

Independente da metodologia utilizada para analisar a diversidade genética, grande parte dos estudos populacionais com aranhas atribuem a variabilidade a características intrínsecas de cada espécie. Em aranhas sociais, por exemplo, cujas populações encontram-se agrupadas em colônias e os jovens geralmente não se dispersam muito, a variabilidade genética dentro das populações tende a ser menor devido às altas taxas de endocruzamentos (Johannesen *et al.* 2007, 2009, Riechert & Roeloffs 1993, Smith & Hagen 1996). Entretanto a maioria das aranhas (incluindo a família Araneidae) possui hábitos não-sociais, são geralmente territorialistas e muitas delas possuem mecanismos comportamentais que as permitem migrar a curtas ou longas distâncias (Riechert & Roeloffs, 1993), o que pode ter contribuído para a alta variabilidade encontrada em nosso estudo. Além disso, aranhas orbitelas

(como *A. venatrix*) apresentam em geral altos índices de diversidade (Ramirez & Saunders 1999).

5.3. Influência do habitat sobre a variabilidade genética

A diversidade genética encontrada pode estar relacionada à fragmentação do habitat. A perda do habitat pode causar decréscimos no tamanho efetivo das populações e na conectividade interpopulacional, causando alterações na composição genética das populações (Dixo *et al.* 2009, Fahrig 2003, Lowe *et al.* 2005). As populações de *A. venatrix* dos dois maiores fragmentos estudados, a Serra do Japi e a Mata Santa Genebra, apresentaram os maiores valores de diversidade haplotípica e nucleotídica, sugerindo que o tamanho do fragmento esteja positivamente relacionado à diversidade genética nessa espécie. Tal associação entre tamanho do habitat e variação genética já foi descrita para outros grupos de aranhas e, em grande parte deles, os fragmentos maiores também abrigaram maior variabilidade em comparação aos menores (Gurdebeke *et al.* 2003).

Porém, quando considerados todos os fragmentos, a correlação entre tamanho do fragmento e variabilidade não foi estatisticamente significativa. Entre os fatores que podem ter contribuído para essa falta de correlação estão: a escala de tamanho dos fragmentos amostrados, uma vez que a Serra do Japi (com 20.000 ha) é muito maior que todos os outros; o pouco tempo decorrido desde que a fragmentação nessa região teve início (cerca de 300 anos); e os próprios hábitos generalistas da espécie, que podem evitar que esta seja fortemente afetada pelos efeitos da fragmentação a curto prazo.

No entanto, a falta de correlação estatística pode sugerir também que outras características do fragmento além de seu tamanho, como estado de conservação e conectividade entre manchas, podem afetar a variabilidade nessas populações. Fragmentos onde a ação antrópica e o nível de perturbação são grandes tendem a apresentar menores níveis de diversidade (Bonte *et al.* 2003, Bragagnolo *et al.* 2007, Fleishman *et al.* 2002). Embora seja uma característica de difícil análise, a qualidade do habitat também pode estar associada aos resultados de nosso trabalho, já que a Serra do Japi e a Mata Santa Genebra, além de serem os maiores fragmentos do estudo, são regiões pouco perturbadas em comparação aos demais fragmentos.

A população da Fazenda Santo Antônio das Mangueiras (FSAM) apresentou índices de diversidade relativamente altos, ao contrário do esperávamos tendo em vista que este é o menor fragmento do estudo (com aproximadamente 50 ha). Uma possível explicação seria a localização do fragmento em meio à Área de Proteção Ambiental (APA) de Sousas e Joaquim Egídio, uma região com cerca de 22.512,54 ha (28% da área total do município de Campinas). A APA é constituída por um grande número de pequenos fragmentos de Mata Atlântica que se mantêm preservados em relação ao restante do município (Mattos 1996). A proximidade entre os fragmentos, bem como a presença de corredores de vegetação entre eles (como matas ciliares ao longo dos cursos d'água, por exemplo), pode facilitar a migração de indivíduos entre populações. Dessa forma, a presença de matas adjacentes ao fragmento FSAM pode estar contribuindo para a manutenção da variabilidade genética da população. Além disso, esse fragmento encontra-se muito próximo à Mata Ribeirão Cachoeira, maior fragmento da APA (com 244,9 ha), sendo provável que ele comporte populações grandes e, conseqüentemente, com maiores níveis de diversidade. A dinâmica populacional entre o fragmento grande e os menores dentro da APA pode impedir reduções na variabilidade genética das populações pequenas, evitando até mesmo que sejam extintas. Se a alta variabilidade genética em FSAM for, de fato, resultante do fluxo gênico interpopulacional, é possível inferir que *A. venatrix* possui alguma capacidade de dispersão, ao menos a médias distâncias.

Muitos estudos com aranhas sugerem que fragmentos maiores, mais preservados e menos isolados tendem a apresentar maiores índices de diversidade. Maes e Bonte (2006) analisaram cinco espécies de artrópodes terrestres na Bélgica e observaram que os fragmentos grandes e com maior conectividade com as manchas adjacentes apresentaram maior riqueza de espécies, sendo as aranhas as mais afetadas pela redução do habitat. Na mesma região, Bonte *et al.* (2004) observaram que a distribuição de 29 espécies de aranhas é influenciada principalmente pela capacidade de dispersão e pela estrutura espacial dos fragmentos (tamanho e conectividade). Esses resultados sugerem que a dinâmica de metapopulações pode ter um papel muito importante sobre a distribuição de várias aranhas, além de prevenir os efeitos prejudiciais da fragmentação do habitat sobre as espécies com nicho restrito (mais especialistas).

5.4. Estrutura populacional

As distâncias genéticas entre as cinco populações foram altas, mas não há relação significativa entre distâncias genéticas e geográficas. A estruturação observada nas populações também foi muito forte, o que pode ser consequência, entre outros fatores, do marcador genético utilizado. Algumas características particulares do mtDNA podem interferir na estruturação genética das populações, como por exemplo a taxa de evolução rápida em relação ao DNA nuclear devido à ausência de mecanismos de reparo eficientes (Brown *et al.* 1979) e seu tamanho populacional efetivo quatro vezes menor do que genes transmitidos biparentalmente (Avice 2004).

A herança materna do mtDNA também pode gerar resultados enviesados se a espécie apresenta assimetria com relação à migração de machos e fêmeas. Em aranhas é comum observar essa disparidade e, em muitas espécies, a fêmea é territorialista e permanece em sua teia por longos períodos, enquanto os machos percorrem longas distâncias em busca de alimento e/ou parceiras para reprodução (Costa 1999). Assim, a estrutura populacional observada em *A. venatrix* pode ser resultado do comportamento migratório apenas das fêmeas, não refletindo o fluxo gênico referente à dispersão dos machos. A metodologia empregada em nosso trabalho não nos permite fazer essa distinção, mas estudos posteriores utilizando marcadores nucleares poderão elucidar a questão.

Estudos populacionais com aranhas geralmente associam a estrutura genética às taxas de dispersão de cada espécie (Bidegaray-Batista *et al.* 2007, Colgan *et al.* 2002, Johannesen *et al.* 2005a, Vandergast *et al.* 2004). Analisando três populações de *Metepeira ventura*, Ramirez e Fandino (1996) atribuíram a grande variabilidade e baixa estruturação à capacidade de dispersão desses araneídeos, sugerindo que os indivíduos (ao menos os jovens) podem eventualmente se dispersar por balonismo. Este fenômeno também pôde ser inferido para *Argiope trifasciata* no trabalho de Ramirez e Haakonsen (1999), demonstrando que este é um padrão relativamente comum nessa família. Embora esse fenômeno nunca tenha sido relatado para *A. venatrix* ou qualquer outra espécie do gênero *Araneus*, não podemos descartar a possibilidade de que alguns dos indivíduos alcancem fragmentos vizinhos utilizando esse recurso, como é provável que ocorra entre os fragmentos da APA de Sousas e Joaquim Egídio, por exemplo. Porém, a

forte estruturação observada em nossos resultados é um indício de que a capacidade de migração dessa espécie é relativamente limitada quando a distância entre os fragmentos ultrapassa alguns quilômetros.

5.5. Estrutura genética e fragmentação do habitat

Além das características biológicas e comportamentais particulares de cada espécie, a composição do habitat também desempenha um papel importante na estrutura populacional. Nosso estudo mostrou que o isolamento por distância parece não ser o único fator responsável pela estruturação entre as populações estudadas, pois os valores de F_{ST} e as distâncias geográficas não são correlacionados. Pelo contrário: pode-se observar que as populações mais próximas, referentes ao Parque Ecológico Monsenhor Emílio José Salim e ao Observatório Abrahão de Moraes (PEC e VAL, respectivamente, distantes entre si por pouco mais de 12 km), foram as que apresentaram maior F_{ST} . Por outro lado, os valores de F_{ST} entre a população JAPI e as demais foram relativamente baixos, apesar de ser esta a população mais distante de todas as outras (25 a 47 km de distância).

Um dos fatores que podem contribuir para esse perfil de estruturação é a natureza da matriz entre os fragmentos. Apesar do processo de fragmentação ser relativamente recente, regiões urbanizadas ou agroecossistemas entre as manchas de habitat podem representar um imenso obstáculo para a migração de indivíduos, principalmente nas espécies que não se dispersam pelo vento (Bishop & Riechert 1990). A localização das populações de *A. venatrix* em meio a centros urbanos densamente povoados pode ter contribuído para a forte estruturação observada. O tamanho populacional reduzido, juntamente com a dificuldade de migrar ou receber migrantes pode aumentar o efeito da deriva, resultando no acúmulo de divergências entre as populações.

No entanto é preciso ter cautela ao associar os efeitos da fragmentação sobre a estrutura das populações. Embora a atividade humana possa afetar a variabilidade genética de algumas espécies, a estrutura populacional pode ser consequência de processos naturais mais antigos. Estudando uma espécie de Lycosidae na Austrália, Colgan *et al.* (2002) observaram que as divergências interpopulacionais não tinham relação com as distâncias geográficas, sugerindo que as populações já se encontravam estruturadas antes da fragmentação antrópica da região. A distribuição

dos haplótipos e composição das populações de *A. venatrix* também podem ter sido influenciadas por processos históricos, uma vez que a fragmentação da região estudada se iniciou há apenas cerca de 300 anos (Mattos 1996).

5.6. Rede de haplótipos e análises filogeográficas

A rede de haplótipos indicou grande variabilidade haplotípica e nucleotídica nessa espécie. O haplótipo mais central e com maior número de ramificações na árvore foi encontrado em baixa frequência, enquanto os haplótipos mais frequentes estão localizados marginalmente. Esse padrão, juntamente com os resultados obtidos nos testes de neutralidade, descarta a hipótese de que as populações tenham sofrido expansão demográfica recente (Avise, 2000). Além disso, vários haplótipos geneticamente próximos encontram-se agrupados nas mesmas populações, como em PEC e VAL. Essa associação aparentemente não-aleatória dos haplótipos pode estar relacionada a fluxo gênico restrito, eventos históricos mais antigos ou a combinação desses fatores (Templeton *et al.* 1995).

Poucas associações filogeográficas foram significativas em nosso estudo e, na maioria delas, o padrão pode ser explicado por isolamento por distância. O maior valor de associação geográfica dos haplótipos foi observado no clado 4-1, no qual os haplótipos pertencentes ao clado 3-1 apresentam distribuição geográfica restrita (em sua maioria haplótipos encontrados nas populações PEC e SGE). Embora as populações analisadas sejam geograficamente muito próximas e uma amostragem mais abrangente seja necessária para conclusões mais robustas, nossos resultados indicaram que a distribuição dos haplótipos de *A. venatrix* nessa região parece não ter sido consequência de expansão demográfica, colonização ou eventos históricos de fragmentação. O padrão observado, segundo a NCA, foi provavelmente resultado de fluxo gênico restrito entre as populações, sendo o isolamento por distância uma das possíveis explicações para as divergências, ao contrário do que indicaram os testes de correlação entre distâncias genéticas e geográficas.

Embora a discordância entre as diferentes análises possa ser um resultado falso-positivo gerado pela NCA, a inferência de isolamento por distância encontra-se bem fundamentada em nossos resultados, uma vez que foi observada em clados de vários níveis. A aparente contradição entre os resultados da NCA e da falta de correlação entre distâncias geográficas e F_{ST} pode ser explicada pela natureza de

cada análise: ao contrário da NCA, a estatística F não considera as diferenças entre os haplótipos, refletindo apenas a estruturação recente das populações (Templeton 1998). Por outro lado, as distâncias genéticas de Nei (D_A , Nei & Li 1979) consideram as populações como unidades de análise, enquanto a NCA parte da relação entre os haplótipos, o que pode ter gerado resultados discordantes. Dessa forma pode ter ocorrido isolamento por distância entre alguns grupos de haplótipos no passado e, ao longo das gerações, outros processos contribuíram para a estruturação atual das populações. Na aranha *Pardosa monticola*, Bonte *et al.* (2003) sugeriram que a diferenciação genética pode ser afetada tanto pelo fluxo gênico histórico como pela fragmentação recente do habitat, o que também pode ser aplicado ao padrão observado em *A. venatrix*. A fragmentação antrópica pode ter sido responsável pelo isolamento entre algumas populações, impondo assim barreiras físicas e ecológicas à migração dos indivíduos já distribuídos por toda a região. Além disso, a redução do tamanho das populações e, conseqüentemente, a perda de haplótipos acentuada pelo efeito da deriva também podem ter colaborado para a diferenciação interpopulacional.

6. CONCLUSÕES

1. A região mitocondrial COI-COII mostrou-se extremamente variável em *A. venatrix*. Este é o primeiro trabalho a utilizar enzimas de restrição nessa região para acessar a diversidade genética em aranhas e nossos resultados sugerem que o uso da sequência pode se estender a outras espécies de aranhas, bem como a vários outros artrópodes terrestres.
2. O hábito de forrageamento e comportamento social *A. venatrix* podem ter sido responsáveis por grande parte da alta variabilidade observada. A fragmentação do habitat parece afetar a diversidade genética da espécie, apesar de não haver uma correlação estatisticamente significativa entre tamanho do fragmento e variabilidade, sugerindo que fatores como grau de conservação dos fragmentos e conectividade entre eles também podem ser importantes para a manutenção da variabilidade genética na espécie.
3. A forte estruturação populacional observada sugere que a capacidade de dispersão de *A. venatrix* é relativamente limitada a longas distâncias, ao menos entre as fêmeas. A migração dos indivíduos pode ter sido prejudicada pela fragmentação do habitat que, com o surgimento de uma matriz urbano-industrial e agrícola entre os fragmentos, aumentou o isolamento de algumas populações.
4. As análises filogeográficas não apontam para eventos históricos de fragmentação ou expansão demográfica recente entre as populações de *A. venatrix*. A distribuição dos haplótipos provavelmente se deve a restrições ao fluxo gênico entre as populações, sendo influenciada posteriormente pelos efeitos da fragmentação antrópica do habitat.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abreu AG, Solferini VN (2008) Genetic population structure and hybridization in two sibling species, *Tomoplagia reticulata* and *Tomoplagia pallens* (Diptera: Tephritidae). **Genetics and Molecular Research**, **7**, 1298-1311.
- Adis J, Bonaldo AB, Brescovit AD, Bertani R, Cokendolpher JC, Conde B, Kury AB, Lourenço WR, Mahnert V, Pinto-da-Rocha R, Platnick NI, Reddell JR, Rheims CA, Rocha LS, Rowland JM, Weygoldt P, Woas S (2002) Arachnida at 'Reserva Ducke', Central Amazonia/Brazil. **Amazoniana-limnologia et Oecologia Regionalis Systemae Fluminis Amazonas**, **17**, 1-14.
- Andrén H (1994) Effects of habitat fragmentation on birds and mammals in landscapes with different proportions of suitable habitat: a review. **Oikos**, **71**, 355-366.
- Arias MC, Brito RM, Francisco FO, Moretto G, Oliveira FF, Silvestre D, Sheppard WS (2006) Molecular markers as a tool for population and evolutionary studies of stingless bees. **Apidologie**, **37**, 259-274.
- Avice JC (2000) **Phylogeography: the history and formation of species**. Harvard University Press, Cambridge.
- Avice JC (2004) **Molecular markers, natural history, and evolution**. 2nd ed. Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts.
- Azevedo C S (2002) Resultados preliminares da composição da araneofauna em três ambientes do Parque Nacional do Jaú, AM, Brasil. P. 180. *In*: **Resumos do 19o. Congresso Brasileiro de Entomologia**. Manaus, Amazonas.
- Benati KR, Souza-Alves JP, Silva EA, Peres MCL, Coutinho EO (2005) Aspectos comparativos das comunidades de aranhas (Araneae) em dois remanescentes de Mata Atlântica da Bahia, Brasil. **Biota Neotropica**, **5**. Disponível em: <http://www.biotaneotropica.org.br/v5n1a/pt/abstract?article+BN005051a2005>.
- Bender DJ, Contreras TA, Fahrig L (1998) Habitat loss and population decline: a meta-analysis of the patch size effect. **Ecology**, **79**, 517-533.
- Bermingham E, Seutin G, Ricklefs RE (1996) Regional approaches to conservation biology: RFLP, DNA sequencing and Caribbean birds. *In*: Smith TB, Wayne RK (eds) **Molecular genetics approaches in conservation**. Pp. 104-124. Oxford University Press, New York.

- Bidegaray-Batista L, Macias-Hernández N, Oromi P, Arnedo MA (2007) Living on the edge: demographic and phylogeographical patterns in the woodlouse-hunter spider *Dysdera lancerotensis* Simon, 1907 on the eastern volcanic ridge of the Canary Islands. **Molecular Ecology**, **16**, 3198-3214.
- Bishop L, Riechert SE (1990) Spider colonization of agroecosystems: mode and source. **Environmental Entomology**, **19**, 1738-1745.
- Bonaldo AB, Marques MAL, Pinto-da-Rocha R, Gardner T (2007) Species richness and community structure of arboreal spider assemblages in fragments of three vegetational types at Banhado Grande wet plain, Gravataí River, Rio Grande do Sul, Brazil. **Iheringia Série Zoologia [online]**, **97**, 143-151.
- Bonte D (2009) Inbreeding depresses short and long distance dispersal in three congeneric spiders. **Journal of Evolutionary Biology**, **22**, 1429-1434.
- Bonte D, Baert L, Lens L, Maelfait JP (2004) Effects of aerial dispersal, habitat specialisation, and landscape structure on spider distribution across fragmented grey dunes. **Ecography**, **27**, 343-349.
- Bonte D, Lens L, Maelfait JP (2003) Patch quality and connectivity influence spatial dynamics in a dune wolfspider. **Oecologia**, **135**, 227-233.
- Boore JL, Lavrov DV, Brown WM (1998) Gene translocation links insects and crustaceans. **Nature**, **392**, 667-668.
- Borges SH, Brescovit AD (1996) Inventário preliminar da aracnofauna (Araneae) de duas localidades na Amazônia Ocidental. **Boletim do Museu Paraense Emílio Goeldi**, **12**, 9-21.
- Bowers MA, Matter SF (1997) Landscape ecology of mammals: Relationships between density and patch size. **Journal of Mammalogy**, **78**, 999-1013.
- Bragagnolo C, Nogueira AA, Pinto-da-Rocha R, Pardini R (2007) Harvestmen in an Atlantic forest fragmented landscape: Evaluating assemblage response to habitat quality and quantity. **Biological Conservation**, **139**, 389-400.
- Brescovit AD (1999) Araneae. Pp. 45-60. *In*: Brandão CRF, Vasconcelos EM (org.) **Biodiversidade do Estado de São Paulo, Brasil: Síntese do conhecimento ao final do século XX**. Fapesp, São Paulo.
- Brescovit AD, Bertani R, Pinto-da-Rocha R, Rheims CA (2004) Aracnídeos da Estação Ecológica Juréia-Itatins: Inventário preliminar e história natural. Pp. 198-221. *In*: Marques OAV, Duleba W (eds.) **Estação Ecológica Juréia-Itatins: Ambiente físico, flora e fauna**. Holos. Ribeirão Preto.

- Brooks TM, Mittermeier RA, da Fonseca GAB, Gerlach J, Hoffmann M, Lamoreux JF, Mittermeier CG, Pilgrim JD, Rodrigues ASL (2006) Global biodiversity conservation priorities. **Science**, **313**, 58-61.
- Brower AVZ (1994) Phylogeny of *Heliconius* butterflies inferred from mitochondrial DNA sequences (Lepidoptera: Nymphalidae). **Molecular Phylogenetics and Evolution**, **3**, 159-174.
- Brown Jr KS, Brown GG (1992) Habitat alteration and species loss in Brazilian forests. In: Whitmore TC, Sayer JA (eds.) **Tropical deforestation and species extinction**. Pp. 119-142. Chapman and Hall, London.
- Brown WM, George Jr. M, Wilson AC (1979) Rapid evolution of animal mitochondrial DNA. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA**, **76**, 1967-1971.
- Bücherl W (1949) Em torno das três espécies insulares e praianas do gênero *Pamphobeteus* Pocock, 1901 (Mygalomorphae). **Memória do Instituto Butantan**, **21**, 117-135.
- Caterino MS, Cho S, Sperling FAH (2000) The current state of insect molecular systematics: *a thriving tower of Babel*. **Annual Review of Entomology**, **45**, 1-54.
- Chang J, Song D, Zhou K (2007) Incongruous nuclear and mitochondrial phylogeographic patterns in two sympatric lineages of the wolf spider *Pardosa astrigera* (Araneae: Lycosidae) from China. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, **42**, 104-121.
- Chickering AM (1936) Additions to the list of known species of spiders from Barro Colorado Island, Panama. **Transactions of the American Microscopical Society**, **55**, 449-456.
- Churchill TB (1997) Spiders as ecological indicators: an overview for Australia. *Memoirs of the Museum of Victoria*, **56**, 331-337.
- Clerck C (1757) Svenska spindlar, uti sina hufvud-slågter indelte samt under några och sextio särskildte arter beskrefne och med Insektuto. **Konchuaikokai**, **26**, 14-18.
- Coddington JA, Levi HW (1991) Systematics and evolution of spiders (Araneae). **Annual Review of Ecology and Systematics**, **22**, 565-592.

- Coddington JA, Young LH, Coyle FA (1996) Estimating spider species richness in a southern Appalachian cove hardwood forest. **Journal of Arachnology**, **24**, 111-128.
- Colgan DJ, Brown S, Major RE, Christie F, Gray MR, Cassis G (2002) Population genetics of wolf spiders of fragmented habitat in the wheat belt of New South Wales. **Molecular Ecology**, **11**, 2295-2305.
- Collins M (1990) **The last rain forests**. Mitchell Beazley Publ./IUCN, London.
- CONSEMA. Conselho Estadual do Meio Ambiente (1985) Áreas naturais do Estado de São Paulo.
- Cornuet JM, Garnery L, Solignac M (1991) Putative origin and function of the intergenic region between COI and COII of *Apis mellifera* L. mitochondrial DNA. **Genetics**, **1128**, 393-403.
- Costa, FG (1999) Only one seeking sex: the best strategy for sexual meeting. **Evolutionary Theory**, **12**, 47-48.
- Crooks KR, Suarez AV, Bolger DT, Soulé ME (2001) Extinction and colonization of birds on habitat islands. **Conservation Biology**, **15**, 159-172.
- Croucher PJP, Oxford GS, Searle JB (2004) Mitochondrial differentiation, introgression and phylogeny of species in the *Tegenaria atrica* group (Araneae: Agelenidae). **Biological Journal of the Linnean Society**, **81**, 79–89.
- Dean W (1995) **With broadax and firebrand: the destruction of the Brazilian Atlantic Forest**. University of California Press, Berkeley.
- Decae AE (1987) Dispersal: Ballooning and other mechanisms. Pp. 348-356. In: Nentwig W (ed.) **Ecophysiology of Spiders**. Springer-Verlag, New York.
- Dixo M, Metzger JP, Morgante JS, Zamudio KR (2009) Habitat fragmentation reduces genetic diversity and connectivity among toad populations in the Brazilian Atlantic Coastal Forest. **Biological Conservation**, **142**, 1560-1569.
- Driscoll DA (2007) How to find a metapopulation. **Canadian Journal of Zoology**, **85**, 1031-1048.
- Durigan G, Bernacci LC, Franco GADC, Arbocz GF (2008) Estádio sucessional e fatores geográficos como determinantes da similaridade florística entre comunidades florestais no Planalto Atlântico, Estado de São Paulo, Brasil. **Acta Botanica Brasilica**, **22**, 51-62.
- Ewers RM, Didham RK (2005) Confounding factors in the detection of species responses to habitat fragmentation. **Biological Reviews**, **81**, 117-142.

- Excoffier L, Laval G, Schneider S (2005) Arlequin ver. 3.0: an integrated software package for population genetics data analysis. **Evolutionary Bioinformatics Online**, **1**, 47-50.
- Excoffier L, Smouse PE, Quattro JM (1992) Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: application to human mitochondrial DNA restriction data. **Genetics**, **131**, 479-491.
- Fahrig L (2003) Effects of habitat fragmentation on biodiversity. **Annual Review of Ecology, Evolution and Systematics**, **34**, 487-515.
- Fleishman E, Ray C, Sjögre-Gulve P, Boggs CL, Murphy DD (2002) Assessing the roles of patch quality, area, and isolation in predicting metapopulation dynamics. **Conservation Biology**, **16**, 706-716.
- Foelix RF (1996) **Biology of Spiders**. Oxford University Press, New York.
- Fowler HG, Venticque EM (1995) Ground spider (Araneae) diversity in differing habitats in the Ilha do Cardoso State Park. **Naturalia**, **20**, 75-81.
- Fu YX (1997) Statistical test of neutrality of mutations against population growth, hitchhiking and background selection. **Genetics**, **147**, 915-925.
- Gandolfi S (2000) **História natural de uma floresta estacional semidecidual no município de Campinas**. Tese de doutorado. Universidade Estadual de Campinas, Campinas, São Paulo.
- Gilede-Moncayo O, Bello-Silva JC (2000) La familia Araneidae (Araneoidea: Orbicularie) em el departamento del Meta, Colômbia. **Biota Colombiana**, **1**, 125-130.
- Gibbs JP (2001) Demography versus habitat fragmentation as determinants of genetic variation in wild populations. **Biological Conservation**, **100**, 15-20.
- Gonzaga MO, Sobczak JF (2006) Parasitoid-induced mortality of *Araneus omnicolor* (Araneae, Araneidae) by *Hymenoepimecis* sp. (Hymenoptera, Ichneumonidae) in southeastern Brazil. **Naturwissenschaften**, **94**, 223-227.
- Gunnarsson B (1988) Spruce-living spiders and fores decline: the importance of needle-loss. **Biological Conservation**, **43**, 309-391.
- Gunnarsson B (1990) Vegetation structure and the abundance and size distribution of spruce-living spiders. **Journal of Animal Ecology**, **59**, 743-752.
- Gurdebeke S, Maelfait JP, Backeljau T (2003) Contrasting allozyme and RAPD variation in spider populations from patchy forest habitats. **Genetica**, **119**, 27-34.

- Hames RS, Rosenberg KV, Lowe JD, Dhondt AA (2001) Site reoccupation in fragmented landscapes: testing predictions of metapopulation theory. **Journal of Animal Ecology**, **70**, 182-190.
- Hanski I (1998) Metapopulation dynamics. **Nature**, **396**, 41-49.
- Hedin MC (1997) Molecular phylogenetics at the population/species interface in cave spiders of the southern appalachians (Araneae: Nesticidae: *Nesticus*). **Molecular Biology and Evolution**, **14**, 309-324.
- Hedin MC, Maddison WPA (2001) Combined Molecular Approach to Phylogeny of the Jumping Spider Subfamily Dendryphantinae (Araneae: Salticidae). **Molecular Phylogenetics and Evolution**, **18**, 386-403.
- Hedin MC, Wood DA (2002) Genealogical exclusivity in geographically proximate populations of *Hypochilus thorelli* Marx (Araneae, Hypochilidae) on the Cumberland Plateau of North America. **Molecular Ecology**, **11**, 1975-1988.
- Höfer H (1990) The spider community (Araneae) of a Central Amazonian blackwater inundation forest (igapó). **Acta Zoológica Fennica**, **190**, 173-179.
- Höfer H, Brescovit AD (2001) Species and guild structure of a neotropical spider assemblage (Araneae) from Reserva Ducke, Amazonia, Brazil. **Andrias**, **15**, 99-119.
- Indicatti RP, Candiani DF, Brescovit AD, Japyassú HF (2005) Diversidade de aranhas de solo (Arachnida: Araneae) na bacia do Reservatório do Guarapiranga, São Paulo, São Paulo, Brasil. **Biota Neotropica**, **5**. Disponível: <http://www.biotaneotropica.org.br/v5n1a/pt/abstract?inventory+BN011051a2005>
- Insuan S, Deowanish S, Klinbunga S, Sittipraneed S, Sylvester HA, Wongsiri S (2007) Genetic differentiation of the giant honey bee (*Apis dorsata*) in Thailand analyzed by mitochondrial genes and microsatellites. **Biochemical Genetics**, **45**, 345-361.
- Johannesen J, Hennig A, Dommermuth B, Schneider JM (2002) Mitochondrial DNA distributions indicate colony propagation by single matrilineages in the social spider *Stegodyphus dumicola* (Eresidae). **Biological Journal of the Linnean Society**, **76**, 591-600.
- Johannesen J, Kiefer A, Veith M, Kral J (2005) Genetic cohesion of *Eresus walckenaeri* (Araneae, Eresidae) in the eastern Mediterranean. **Biological Journal of the Linnean Society**, **86**, 1-9.

- Johannesen J, Lubin Y, Laufs T, Seitz A (2005) Dispersal history of a spider (*Stegodyphus lineatus*) across contiguous deserts: vicariance and range expansion. **Biological Journal of the Linnean Society**, **84**, 739–754.
- Johannesen J, Lubin Y, Smith DR, Bilde T, Schneider JM (2007) The age and evolution of sociality in *Stegodyphus* spiders: a molecular phylogenetic perspective. **Proceedings of the Royal Society B**, **274**, 231-237.
- Johannesen J, Toft S (2002) A test for reproductive separation of alternate generations in a biennial spider, *Araneus diadematus* (Araneae, Araneidae). **The Journal of Arachnology**, **30**, 65–69.
- Johannesen J, Veith M (2001) Population history of *Eresus cinnaberinus* (Araneae: Eresidae) colour variants at a putative species transition. **Heredity**, **87**, 114-124.
- Johannesen J, Wickler W, Seibt U, Moritz RFA (2009) Population history in social spiders repeated: colony structure and lineage evolution in *Stegodyphus mimosarum* (Eresidae). **Molecular Ecology**, **18**, 2812-2818.
- Kane TC (1982) Genetic patterns and population structure in cave animals. In: Mossakowski D, Roth G (eds) 1982. **Environmental adaptation and evolution**. Gustav Fischer, Stuttgart.
- Keyserling E (1879) Neue Spinnen aus Amerika. **V. Verhandlungen der zoologisch-botanischen Gesellschaft in Wien**, **29**, 293-349.
- Keyserling E (1884) Neue Spinnen aus Amerika. **V. Verhandlungen der zoologisch-botanischen Gesellschaft in Wien**, **33**, 649-684.
- Keyserling E (1893) D Insektuto. **Konchuaikokai**, **26**, 14-18.
- Kitching RL, Orr AG, Thalib L, Mitchell H, Hopkins MS, Gahan AW (2000) Moth assemblages as indicators of environmental quality in remnants of upland Australian rain forest. **Journal of Applied Ecology**, **37**, 284-297.
- Koch CL (1838) Die Arachniden. **Nür Insektuto, Konchuaikokai**, **26**, 14-18.
- Krauss J, Schmitt T, Seitz A, Steffan-Dewenter I, Tscharntke T (2004) Effects of habitat fragmentation on the genetic structure of the monophagous butterfly *Polyommatus coridon* along its northern range. **Molecular Ecology**, **13**, 311-320.
- Kremen C (1992) Assessing the indicator properties of species assemblages for natural areas monitoring. **Ecological Applications**, **2**, 203-217.

- Kremen C, Colwell RK, Erwin TL, Murphy DD, Noss RF, Sanjayan MA (1993) Terrestrial arthropod assemblages: Their use in conservation planning. **Conservation Biology**, **7**, 796-808.
- Kronforst MR, Fleming HT (2001) Lack of genetic differentiation among widely spaced subpopulations of a butterfly with home range behaviour. **Heredity**, **86**, 243-250.
- Lande R (1988) Genetics and demography in biological conservation. **Science**, **241**, 1455-1460.
- Lande R (1993) Risks of population extinction from demographic and environmental stochasticity and random catastrophes. **American Naturalist**, **142**, 911-927.
- Lanly J (1982) Tropical forests resources. **Forestry Paper (FAO)**, **30**.
- Laurance WF (2008) Theory meets reality: How habitat fragmentation research has transcended island biogeographic theory. **Biological Conservation**, **141**, 1731-1744.
- Laurance WF (2009) Conserving the hottest of the hotspots. **Biological Conservation**, **142**, 1137.
- Lee JW, Jiang L, Su YC, Tso IM (2004) Is Central Mountain Range a geographic barrier to the giant wood spider *Nephila pilipes* (Araneae: Tetragnathidae) in Taiwan? A population genetic approach. **Zoological Studies**, **43**, 112-122.
- Leite EC (2000) **A vegetação de uma Reserva Biológica Municipal: contribuição ao manejo e à conservação da Serra do Japi, Jundiaí, SP**. Tese de doutorado. Universidade Estadual de Campinas, Campinas, São Paulo.
- Levi HW (1991) The Neotropical and Mexican species of the orb-weaver genera *Araneus*, *Dubiepeira*, and *Aculepeira* (Araneae: Araneidae). **Bulletin of the Museum of Comparative Zoology**, **152**, 167-315.
- Lewinsohn TM, Freitas AVL, Prado PI (2005) Conservation of terrestrial invertebrates and their habitats in Brazil. **Conservation Biology**, **19**, 640-645.
- Liu H, Beckenbach AT (1992) Evolution of the mitochondrial cytochrome oxidase II gene among ten orders of insects. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, **1**, 41-52.
- Lowe AJ, Boshier D, Ward M, Bacles CFE, Navarro C (2005) Genetic resource impacts of habitat loss and degradation; reconciling empirical evidence and predicted theory for neotropical trees. **Heredity**, **95**, 255-273.

- Lubin Y, Birkhofer K, Berger-Tal R, Bilde T (2009) Limited male dispersal in a social spider with extreme inbreeding. **Biological Journal of the Linnean Society**, **97**, 227-234.
- Luederwaldt H (1929) Resultados de uma excursão científica á Ilha de São Sebastião no littoral do Estado de São Paulo em 1925. **Revista do Museu Paulista**, **16**, 3-79.
- Lyra ML, Klaczko LB, Azeredo-Espin ML (2009) Complex patterns of genetic variability in populations of the New World screwworm fly revealed by mitochondrial DNA markers. **Medical and Veterinary Entomology**, **23**, 32–42.
- MacArthur RH, Wilson EO (1967) **The theory of island biogeography**. Princeton University Press, Princeton.
- Maes D, Bonte D (2006) Using distribution patterns of five threatened invertebrates in a highly fragmented dune landscape to develop a multispecies conservation approach. **Biological Conservation**, **133**, 490-499.
- Mantel N (1967) Detection of a disease clustering and a generalized regression approach. **Cancer Research**, **27**, 209-220.
- Marshall SD, Walker SE, Rypstra AL (2006) Two ecologically-divergent generalist predators have different responses to landscape fragmentation. **Oikos**, **114**, 241-248.
- Masta SE (2000) Mitochondrial sequence evolution in spiders: intraspecific variation in tRNAs lacking the TΨC arm. **Molecular Biology and Evolution**, **17**, 1091-1100.
- Masta SE, Boore JL (2004) The complete mitochondrial genome sequence of the spider *Habronattus oregonensis* reveals rearranged and extremely truncated tRNAs. **Molecular Biology and Evolution**, **21**, 893-902.
- Mattos CO (1996) **Contribuição ao planejamento e gestão da Área de Proteção Ambiental de Sousas e Joaquim Egídio, Campinas/SP**. Dissertação de Mestrado. Universidade Estadual de São Paulo, São Paulo.
- Mello-Leitão CF (1923) Arachnideos da Ilha de Alcatrazes. **Revista do Museu Paulista**, **12**, 3-8.
- Moreira TS (2006) **Levantamento da araneofauna (Arachnida Araneae) do Parque Nacional da Tijuca**. Monografia de Bacharelado. Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro.

- Morellato LPC (1992) História natural da Serra do Japi: ecologia e preservação de uma área florestal no Sudeste do Brasil. Editora Unicamp, Campinas.
- Morellato LPC, Haddad CFB (2000) Introduction: the Brazilian Atlantic Forest. **Biotropica**, **32**, 786–792.
- Myers N, Mittermeier RA, Mittermeier CG, da Fonseca GAB, Kent J (2000) Biodiversity hotspots for conservation priorities. **Nature**, **403**, 853-858.
- Nei M (1987) **Molecular evolutionary genetics**. Columbia University Press, New York.
- Nei M, Li WH (1979) Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA**, **76**, 5269-5273.
- Nei M, Tajima F (1981) DNA polymorphism detectable by restriction endonucleases. **Genetics**, **97**, 145-163.
- New TR (1999) Untangling the web: spiders and the challenges of invertebrate conservation. *Journal of Insect Conservation*, **3**, 251-256.
- Nogueira AA, Pinto-da-Rocha R, Brescovit AD (2006) Comunidade de aranhas orbitelas (Araneae, Arachnida) na região da Reserva Florestal do Morro Grande, Cotia, São Paulo, Brasil. **Biota Neotropica**, **6**. Disponível em: <http://www.biotaneotropica.org.br/v6n2/pt/abstract?article+bn00906022006>.
- Oliveira-Filho AT, Fontes MAL (2000) Patterns of floristic differentiation among Atlantic Forests in southeastern Brazil and the influence of climate. **Biotropica**, **32**, 793–810.
- Pagotto TCS, Souza PR (2006) **Biodiversidade do Complexo Aporé-Sucuriú: subsídios à conservação e ao manejo do Cerrado. Área prioritária 316-Jauru**. Editora UFMS, Campo Grande, MS.
- Piel WH, Nutt KJ (2000) One species or several? Discordant patterns of geographic variation between allozymes and mtDNA sequences among spiders in the genus *Metepeira* (Araneae: Araneidae). **Molecular Phylogenetics and Evolution**, **15**, 414-418.
- Platnick NI (1991) Patterns of biodiversity: tropical vs. temperate. **Journal of Natural History**, **25**, 1083-1088.
- Platnick NI (1995) An abundance of spiders. **Natural History**, **104**, 50-53.

- Platnick NI (1999) Dimensions of biodiversity: targeting megadiverse groups. Pp.33-52. *In*: Cracraft J, Grifo FT (eds.) **Living planet in crisis – Biodiversity science and policy**. Columbia University Press, New York.
- Platnick NI (2010) The world spider catalog, version 10.5. **American Museum of Natural History**. Disponível em: <http://research.amnh.org/entomology/spiders/catalog/index.html>.
- Posada D, Crandall KA, Templeton AR (2000) GeoDis: a program for the cladistic nested analysis of the geographical distribution of genetic haplotypes. **Molecular Ecology**, **9**, 487-488.
- Prugh LR, Hodges KE, Sinclair ARE, Brashares JS (2008) Effect of habitat area and isolation on fragmented animal populations. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, **105**, 20770-20775.
- Qiu Y, Song D, Zhou K, Sun H (2005) The mitochondrial sequences of *Heptathela hangzhouensis* and *Ornithoctonus huwena* reveal unique gene arrangements and atypical tRNAs. **Journal of Molecular Evolution**, **60**, 57-71.
- Ramirez MG, Fandino LB (1996) Genetic variability and gene flow in *Metepeira ventura* (Araneae, Araneidae). **Journal of Arachnology**, **24**, 1-8.
- Ramirez MG, Haakonsen KE (1999) Gene flow among habitat patches on a fragmented landscape in the spider *Argiope trifasciata* (Araneae: Araneidae). **Heredity**, **83**, 580-585.
- Ramirez MG, Saunders TA (1999) Allozyme diversity in non-social spiders: pattern, process and conservation implications. **Journal of Insect Conservation**, **3**, 327-340.
- Ribeiro MC, Metzger JP, Martensen AC, Ponzoni FJ, Hirota MM (2009) The Brazilian Atlantic Forest: How much is left, and how is the remaining forest distributed? Implications for conservation. **Biological Conservation**, **142**, 1141-1153.
- Ricetti J, Bonaldo AB (2008) Diversidade e estimativas de riqueza de aranhas em quatro fitofisionomias na Serra do Cachimbo, Pará, Brasil. **Iheringia Série Zoologia**, **98**, 88-99.
- Riechert SE, Roeloffs RM (1993) Evidence for and consequences of inbreeding in the cooperative spiders. *In*: Thornhill NW (ed) 1993. **The Natural History of Inbreeding and Outbreeding: Theoretical and Empirical Perspectives**. Chicago University Press, Chicago, Illinois.

- Rodrigues RR, Joly CA, Brito MCW, Paese A, Metzger JP, Casatti L, Nalon MA, Menezes N, Ivanauska NM, Bolzani V, Bononi VLR (2008) **Diretrizes para conservação e restauração da biodiversidade no Estado de São Paulo**. Governo do Estado de São Paulo, São Paulo.
- Rohlf FJ (1973) Algorithm 76. Hierarchical clustering using the minimum spanning tree. **The Computer Journal**, **16**, 93-95.
- Romero GQ, Souza JC, Vasconcellos-Neto J (2008) Anti-herbivore protection by mutualistic spiders and the role of plant glandular trichomes. **Ecology**, **89**, 3105-3115.
- Root RB (1967) The niche exploitation pattern of the blue-gray gnatcatcher. **Ecological Monographs**, **37**, 317-350.
- Rypstra AL (1986) Web spiders in temperate and tropical forests: relative abundance and environmental correlates. **American Midland Naturalist**, **115**, 42-51.
- Saitou N, Nei M (1987) The Neighbor-Joining Method – A new method for reconstructing phylogenetic trees. **Molecular Biology and Evolution**, **4**, 406-425.
- Samu F, Sunderland KD, Szinnetár C (1999) Scale-dependent dispersal and distribution patterns of spiders in agricultural systems: a review. **Journal of Arachnology**, **27**, 325-332.
- Santin DA (1999) **A vegetação remanescente do município de Campinas (SP): mapeamento, caracterização fisionômica e florística, visando a conservação**. Tese de doutorado. Universidade Estadual de Campinas, Campinas, São Paulo.
- Santos AJ (1999) **Diversidade e composição em espécies de aranhas da Reserva Florestal da Companhia Vale do Rio Doce (Linhares/ES)**. Dissertação de Mestrado. Universidade Estadual de Campinas, Campinas, São Paulo.
- Santos K (2003) **Caracterização florística e estrutural de onze fragmentos de mata estacional semidecidual da área de proteção ambiental do município de Campinas – SP**. Tese de Doutorado. Universidade Estadual de Campinas, Campinas, São Paulo.
- Saperstein D, Nickerson JM (1991) Restriction fragment length polymorphism analysis using PCR coupled to restriction digests. **BioTechniques**, **10**, 488-489.

- Schaffer HE, Sederoff RR (1981) Improved estimation of DNA fragment lengths from agarose gels. **Analytical biochemistry**, **115**, 113-122.
- Schmitt T, Seitz A (2002) Influence of habitat fragmentation on the genetic structure of *Polyommatus coridon* (Lepidoptera: Lycaenidae): implications for conservation. **Biological Conservation**, **107**, 291-297.
- Schneider JM, Roos J, Lubin Y, Henschel JR (2001) Dispersal of *Stegodyphus dumicola* (Araneae, Eresidae): They do balloon after all! **Journal of Arachnology**, **29**, 114-116.
- Schoereder JH, Sorbrino TG, Ribas CR, Campos RBF (2004) Colonization and extinction of ant communities in a fragmented landscape. **Austral Ecology** **29**, 391-398.
- Scudeller VV (2002) **Análise fitogeográfica da Mata Atlântica – Brasil**. Tese de doutorado, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, São Paulo.
- Simon C, Frati F, Beckenbach A, Crespi B, Liu H, Flook P (1994) Evolution, weighting, and phylogenetic utility of mitochondrial gene sequences and a compilation of conserved polymerase chain reaction primers. **Annals of the Entomological Society of America**, **87**, 651-701.
- Smith DR, Hagen RH (1996) Population structure and interdemic selection in the cooperative spider *Anelosimus eximius*. **Journal of Evolutionary Biology**, **9**, 589-608.
- Smith D, Van Rijn S, Henschel J, Bilde T, Lubin Y (2009) Amplified fragment length polymorphism fingerprints support limited gene flow among social spider populations. **Biological Journal of the Linnean Society**, **97**, 235-246.
- Sordi SJ (1996) **Ecologia de populações de aranha *Porrimosa lagotis* (Lycosidade) e nas Reservas Mata de Santa Genebra, Campinas (SP) e Serra do JAPI, Jundiá (SP)**. Dissertação de mestrado. Universidade Estadual de Campinas, Campinas, São Paulo.
- Souza ALT (2007) Influência da estrutura do habitat na abundância e diversidade de aranhas. Pp. 25-43. In: Gonzaga MO, Santos AJ, Japyassú HF (orgs.) **Ecologia e comportamento de aranhas**. Editora Interciência, Rio de Janeiro.
- Souza ALT, Martins RP (2005) Foliage density of branches and distribution of plant-dwelling spiders. **Biotropica**, **37**, 416-420.

- Sperling FAH, Hickey DA (1994) Mitochondrial DNA sequence variation in the spruce budworm species complex (*Choristoneura*: Lepidoptera). **Molecular Biology and Evolution**, **11**, 656–665.
- Sperling FAH, Raska AG, Otvos IS (1999) Mitochondrial DNA sequence variation among populations and host races of *Lambdina fiscellaria* (Gn.) (Lepidoptera: Geometridae). **Insect Molecular Biology**, **8**, 97-106.
- Tabarelli M, Pinto LP, Silva JMC, Hirota M, Bede L (2005) Challenges and opportunities for Biodiversity conservation in the Brazilian Atlantic forest. **Conservation Biology**, **19**, 695–700.
- Tajima F (1989) Statistical method for testing the neutral mutation hypothesis by DNA polymorphism. **Genetics**, **123**, 585-595.
- Tamura K, Dudley J, Nei M, Kumar S (2007) MEGA4: Molecular Evolutionary Genetics Analysis (MEGA) Software Version 4.0. **Molecular Biology and Evolution**, **24**, 1596-1599.
- Templeton AR (1983) Phylogenetic inference from restriction endonuclease cleavage site maps with particular reference to the evolution of human and the apes. **Evolution**, **37**, 221-244.
- Templeton AR (1998) Nested clade analyses of phylogeographic data: testing hypotheses about gene flow and population history. **Molecular Ecology**, **7**, 381-397.
- Templeton AR (2001) Using phylogeographic analyses of gene trees to test species status and processes. **Molecular Ecology**, **10**, 779-791.
- Templeton AR (2004) Statistical phylogeography methods of evaluating and minimizing inference errors. **Molecular Ecology**, **13**, 789-809.
- Templeton AR, Routman E, Phillips CA (1995) Separating population structure from population history: A cladistic analysis of the geographical distribution of mitochondrial DNA haplotypes in the tiger salamander, *Ambystoma tigrinum*. **Genetics**, **140**, 767-782.
- Tilman D, May RM, Lehman CL, Nowak MA (1994) Habitat destruction and the extinction debt. **Nature**, **371**, 65-66.
- Toti DS, Coyle FA, Miller JA (2000) A structured inventory of appalachian grass bald and heath bald spider assemblages and a test of species richness estimator performance. **Journal of Arachnology**, **28**, 329-345.

- Turner IM (1996) Species loss in fragments of tropical rain forest: A review of the evidence. **The Journal of Applied Ecology**, **33**, 200-209.
- Uehara-Prado M, Fernandes JO, Bello AM, Machado G, Santos AJ, Vaz-de-Mello FZ, Freitas AVL (2009) Selecting terrestrial arthropods as indicators of small-scale disturbance: A first approach in the Brazilian Atlantic Forest. **Biological Conservation**, **142**, 1220-1228.
- UNESCO (1994) **Réserve de la Biosphère de la Ceinture verte de la ville de São Paulo comme partie intégrante de la Réserve de la Biosphère de la Forêt Atlantique**. Unesco-MAB, Paris.
- Van den Berg LJJ, Bullock JM, Clarke RT, Langston RHW, Rose RJ (2001) Territory selection by the Dartford warbler (*Sylvia undata*) in Dorset, England: the role of vegetation type, habitat fragmentation and population size. **Biological Conservation**, **101**, 217-228.
- Van Dongen S, Backeljau T, Matthysen E, Dhondt AA (1998) Genetic population structure of the winter moth (*Operophtera brumata* L.) (Lepidoptera, Geometridae) in a fragmented landscape. **Heredity**, **80**, 92-100.
- Vandergast AG, Gillespie RG, Roderick GK (2004) Influence of volcanic activity on the population genetic structure of Hawaiian *Tetragnatha* spiders: fragmentation, rapid population growth and the potential for accelerated evolution. **Molecular Ecology**, **13**, 1729-1743.
- Viana VM, Tabanez AAJ, Batista JLF (1997) Dynamics and restoration of forest fragments in the Brazilian Atlantic moist forest. In: Laurance WF, Bierregard Jr. RO (eds.) **Tropical forest remnants: ecology, management, and conservation of fragmented communities**. Pp. 351-365. University of Chicago Press, Chicago, Illinois.
- Victor MAM (1975) **A devastação florestal**. Sociedade Brasileira de Silvicultura, São Paulo.
- Watson DM (2002) A conceptual framework for studying species composition in fragments, islands and other patchy ecosystems. **Journal of Biogeography**, **29**, 823-834.
- Whitlock NC, Barton NH (1997) The effective size of a subdivided population. **Genetics**, **146**, 427-441.

- Wilcove DS, McLellan CH, Dobson AP (1986) Habitat fragmentation in the temperate zone. *In*: Soulé ME (ed) **Conservation Biology**. Pp. 237-256. Sinauer, Sunderland.
- Wilson EO (1988) The current state of biological diversity. *In*: Wilson EO (ed.) **Biodiversity**. National Academy Press, Washington, D.C.
- Wilson EO, Willis EO (1975) Applied biogeography. *In*: Cody ML, Diamond JM (eds) **Ecology and evolution of communities**. Pp. 522-534. Belknap Press, Cambridge.
- Wood BC, Pullin AS (2002) Persistence of species in a fragmented urban landscape: the importance of dispersal ability and habitat availability for grassland butterflies. **Biodiversity and Conservation**, **11**, 1451-1468.
- Yaacobi G, Ziv Y, Rosenzweig ML (2007) Habitat fragmentation may not matter to species diversity. **Proceedings of the Royal Society B**, **274**, 2409-2412.