

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS

INSTITUTO DE BIOLOGIA



JOICE MACHADO BARIANI

**“ANÁLISE DA VARIABILIDADE GENÉTICA EM
POPULAÇÕES DE *Gochnatia pulchra* (ASTERACEAE)”**

Este exemplar corresponde à redação final
da tese defendida pelo(a) candidato (a)
JOICE MACHADO BARIANI
Vera Nisaka Solferini
e aprovada pela Comissão Julgadora.

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: Profa. Dra. Vera Nisaka Solferini

Campinas, 2007

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

B239a

Bariani, Joice Machado
Análise da variabilidade genética em populações de
Gochnatia pulchra (Asteraceae) / Joice Machado Bariani. –
Campinas, SP: [s.n.], 2007.

Orientadora: Vera Nisaka Solferini.
Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual de
Campinas, Instituto de Biologia.

1. Isoenzimas. 2. Gochnatia. 3. Cerrados. 4.
Degradação ambiental. 5. Compostas. I. Solferini, Vera
Nisaka. II. Universidade Estadual de Campinas. Instituto
de Biologia. III. Título.

(rcdt/ib)

Título em inglês: Genetic variation in populations of *Gochnatia pulchra* (Asteraceae).

Palavras-chave em inglês: Allozymes; Gochnatia; Cerrados; Environmental degradation;
Compositae.

Área de concentração: Genética Animal e Evolução.

Titulação: Mestre em Genética e Biologia Molecular.

Banca examinadora: Vera Nisaka Solferini, Louis Bernard Klaczko, Maria Tereza Grombone
Guaratini.

Data da defesa: 07/08/2007.

Programa de Pós-Graduação: Genética e Biologia Molecular.

Campinas, 07 de Agosto de 2007

BANCA EXAMINADORA

Profa. Dra. Vera Nisaka Solferini (Orientadora)


Assinatura

Prof. Dr. Louis Bernard Klaczko


Assinatura

Profa. Dra. Maria Tereza Grombone Guaratini


Assinatura

Prof. Dr. João Semir

Assinatura

Profa. Dra. Maria Imaculada Zucchi

Assinatura

*Dedico este trabalho aos meus pais
Aparecida e Leonildo.*

AGRADECIMENTOS

Agradeço, em primeiro lugar, aos meus pais Aparecida e Leonildo, que me deram condições para realizar e sustentar um sonho que se iniciou na infância, com as primeiras observações da natureza, pelo apoio nas etapas difíceis e incentivo na procura de novos caminhos. Por terem confiado em mim e por me amarem. Ao meu irmão Marcelo, inspiração de perseverança nos estudos e cujo intelecto muito admiro.

Agradeço à Vera pela paciência e oportunidade de participar de uma instituição com a qual sempre sonhei, a Unicamp. Pela confiança depositada num projeto que teve fases difíceis e numa aluna um tanto introspectiva. Por preocupar-se não apenas com nossas questões profissionais como também com nossa felicidade pessoal.

Agradeço em especial ao amigo Mário Almeida Neto, que me acolheu intelectualmente desde a primeira boa intenção em unir a Genética à Ecologia. Pelo incentivo e orientação em todas as fases do projeto, desde coleta até a tese, e pelos constantes resgates no meio do cerrado. Por quem tenho profunda admiração, pelo modelo de profissional que é, apaixonado pelos seus estudos.

Ao professor Thomas Lewinsohn, por ter me acolhido como membro em seu Laboratório de Interação Inseto-Planta, por todo o suporte oferecido durante as coletas e por permitir a união de dois projetos conduzidos por dois malucos.

Aos professores João Semir e Louis Bernard, respectivamente, pelas informações sobre a espécie em estudo e pelo ensino didático e divertido de genética de populações.

Aos membros da Banca, professores Louis Bernard, Tereza Grombone Guaratini, João Semir e Maria Imaculada Zucchi.

À Aluana, pelo apoio, paciência e puxadas de orelha durante esses 3 anos de laboratório, pela orientação no projeto e nos manuscritos.

À Sônia, primeira pessoa que conheci no laboratório, correndo isoenzimas em pleno feriado, pelo apoio e amizade e a todos os amigos do laboratório: Maína, Alu, Sônia, Ricardo Gabriel, Renato, Claudemir, Déa, Kívia, René, Joana, Flávio Ramos.

Aos amigos Camila, Kaiser e Bruno (LDG) e Rosane (Liip) pelas maluquices, risadas e companhia.

Aos participantes dos “campos do Mário”, meus colegas ecólogos, que ajudaram na coleta de dados e em especial aos que me ajudaram nas coletas de *pulchra* (Rosane e Umberto Kubota). A todos que ajudaram nos famosos “rolinhos” de *pulchra*, incluindo papai, mamãe e Glauco.

Às minhas inseparáveis amigas valinhenses: Luciana, Luciane, Li e Clau Higa por todos os bons momentos que passamos juntos, pelo apoio e constante diversão. Amo vocês!!!

Aos membros da república da Alu - Gui, Moni, Sebá, Danilo, Dri e Kubota - que me acolheram durante a curta e feliz estadia em Barão Geraldo.

A todos os funcionários da Unicamp que colaboraram para a realização do projeto e aos funcionários do laboratório, Herberth e Ricardo Destéfano.

À Fapesp (Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo) pelo financiamento do projeto e à Capes pela bolsa concedida.

“Para onde quer que tu vás, vai todo, leva junto teu coração” (Confúcio)

ÍNDICE

Resumo	1
Abstract	1
Introdução geral	2
Objetivo geral	8
 Capítulo 1. Variabilidade genética e fluxo gênico em populações de <i>Gochnatia pulchra</i> (Asteraceae)	
Resumo	11
Introdução	12
Objetivos	17
Metodologia	18
Resultados	20
Discussão	26
 Capítulo 2. Efeito da degradação do habitat na variabilidade genética de populações de <i>Gochnatia pulchra</i> (Asteraceae)	
Resumo	33
Introdução	33
Objetivo	36
Material e metodologia	36
Resultados	39

Discussão	43
------------------	-----------

Considerações e conclusões gerais	50
--	-----------

RESUMO

Dentre os ecossistemas de savanas tropicais, o cerrado brasileiro é um dos biomas mais ameaçados no mundo, estando sujeito a processos de fragmentação, perda e degradação de habitat. *Gochnatia pulchra* Cabrera (Asteraceae, Mutisieae) é uma espécie arbustiva perene, encontrada em áreas de cerrado com freqüente perturbação antrópica. No presente trabalho, foram estudadas oito populações dessa espécie empregando-se marcadores moleculares de isoenzimas, com o objetivo de analisá-las quanto à variabilidade genética. Foram observados baixos níveis de variabilidade genética nas populações, elevada endogamia e estruturação genética moderada entre as populações, indicando baixos níveis de fluxo gênico. Para seis dessas populações, foi realizado o estudo sobre o efeito da degradação do habitat sobre a variabilidade genética. Como resultado, observou-se que a degradação e a densidade de indivíduos apresentaram efeito negativo sobre a variabilidade genética das populações. Tais resultados apontam para a importância da degradação do habitat da espécie, dificultando o sucesso de interações ecológicas que são importantes para a manutenção da diversidade genética das populações.

ABSTRACT

The brazilian cerrado is one of the most threatened biomes of tropical savannas in the world, subject to habitat fragmentation, loss and degradation. *Gochantia pulchra* Kunth (Asteraceae, Mutisieae) is a perennial shrub species endemic and to the brazilian cerrado. Its commonly found in human disturbed cerrado sites. In the presente work, we studied eight populations of this species with allozyme markers, with the aim to analyze its genetic variation. We observed low levels of genetic variation, elevated inbreeding and moderate genetic structure between populations, indicating low levels of gene flow. For six out of eight populations, we studied the effect of habitat degradation on the genetic variation of populations. As a result, we observed that degradation and density showed a negative effect on the genetic variation on populations. These results highlight the impact of habitat degradation on this species, reducing the success of ecological interactions that are essential to the maintance of the genetic variation in these populations.

INTRODUÇÃO GERAL

Diversidade genética e degradação do habitat

A destruição de florestas tropicais tem aumentado dramaticamente nas últimas décadas e a ameaça aos ecossistemas tropicais é evidente (explos Bawa e Seidler, 1998, White et al., 1999, Trejo e Dirzo, 2000, Ghazoul e McLeish, 2001). A degradação do habitat representa uma ameaça para a sobrevivência da biota. Para as espécies vegetais, a degradação do habitat primário resulta de dois processos principais, fragmentação da floresta em porções após desflorestamento e perturbação do habitat acompanhando processos de extração, como corte seletivo, por exemplo (Lowe et al., 2005). Teoricamente, as mudanças populacionais associadas com a degradação do habitat, como a diminuição do tamanho da população, aliada à fragmentação de seu habitat, levam a uma erosão da variação genética e aumento da divergência interpopulacional devido à existência de fluxo gênico reduzido, ao aumento da deriva genética, e elevada endogamia, que são característicos de populações em que o tamanho e o isolamento atingem níveis críticos. Essas mudanças por colaborarem para a redução da variabilidade genética, acabam por comprometer a viabilidade da população a curto e a longo prazo, através de aumento de suscetibilidade à doenças e pragas (Barret e Kohn, 1991), perda de alelos de incompatibilidade e fixação de alelos deletérios (Huenneke, 1991), caracterizando a depressão endogâmica e perda imediata de valor adaptativo. A longo prazo, a perda de diversidade genética pode reduzir o potencial de adaptação a ambientes em constante mudança de pressões seletivas (Young et al., 1996); em conjunto com outros processos estocásticos dependentes do tamanho, pode levar ao aumento da probabilidade de extinção da população.

Lowe et al. (2005) revisaram a documentação disponível na literatura sobre as consequências genéticas da degradação do habitat em espécies arbóreas neotropicais para verificar quais estudos de casos corroboravam com as previsões teóricas para marcadores neutros e variações quantitativas. Segundo os autores, ao nível populacional, a maioria dos estudos, que examinaram a diversidade genética em populações impactadas, não apresentou diferenças significativas entre elas e populações controle. Os efeitos mais pronunciados

foram aumento de endogamia (6 em 8 estudos), e diminuição na produção de produção de sementes (7 entre 10 estudos) (Lowe et al., 2005).

No presente trabalho foram estudadas populações de *Gochnatia pulchra* (Asteraceae, Mutisieae), uma espécie que ocorre comumente em áreas de cerrado sujeitas à degradação. A degradação do habitat, definida como a redução na qualidade ou condições de uma área de habitat, interferindo na demografia da população (Hall et al., 1997), pode ser, portanto, um fator importante para os níveis de variabilidade genética das populações desta espécie.

A espécie e o sistema de estudo

O cerrado apresenta uma biodiversidade rica e geralmente subestimada. O número de plantas vasculares excede o de muitas floras mundiais, com mais 7000 espécies reconhecidas de ervas, arbustos, árvores e lianas (Mendonça et al., 1998). Com um grau de endemismo que atinge 44% da sua flora, o cerrado é, neste sentido, a mais rica savana tropical no mundo (Silva e Bates, 2002).

A região do cerrado está localizada entre a zona equatorial e 23° latitude sul. Faz contato com a floresta amazônica ao norte, com a floresta Atlântica ao sul e sudeste, e com a caatinga da região semiárida do nordeste. A região do cerrado apresenta clima tropical úmido e tropical seco com pluviosidade intermediária entre as regiões mais úmidas ao noroeste e sudeste e as áreas mais secas ao nordeste (Silva e Bates, 2002). A maioria do cerrado está no platô de blocos sedimentares ou cristalinos, cuja continuidade é quebrada por uma extensiva rede de depressões periféricas localizadas nas áreas entre os platôs (Brasil e Alvarenga, 1989). Esta variação geomorfológica explica muito da variação da distribuição de plantas no cerrado (Cole, 1986).

Disponibilidade de nutrientes e água, relacionadas ao clima sazonal, déficit de lençol de água e fogo têm sido considerados os principais determinantes da vegetação do cerrado (Cochrane et al., 1985; Coutinho, 1990, Haridasan, 1990), que apresenta distintas fisionomias, incluindo desde campos com gramíneas com poucas ou nenhuma herbácea ou plantas lenhosas maiores, os “campos limpos”, até florestas densas esclerófilas, que freqüentemente têm um dossel completamente fechado (Silva e Bates, 2002).

O fogo é uma característica comum dos cerrados e também de outros ecossistemas de savanas. Embora seja considerado como um dos determinantes da vegetação, a rápida ocupação da região do cerrado alterou o regime natural de fogo (estação e frequência de fogo), interferindo na composição e estrutura da vegetação. Atualmente, a principal causa de fogo no cerrado é a agricultura, pois há queima de vegetação tanto com o propósito de transformar áreas de cerrado em campos de cultura quanto o de manejar pastagens naturais ou pastagens artificiais (Coutinho 1990). O fogo no cerrado, como a maioria dos fogos de savanas, é caracterizado como fogo de superfície, que consome o combustível fino do estrato herbáceo (gramíneas vivas e mortas) na combustão (Miranda et al., 2002). O fogo apresenta efeitos diversos na vegetação, incluindo a indução da floração em algumas espécies. A maioria das espécies lenhosas do cerrado apresenta suberização do tronco e ramos, resultando num isolamento térmico eficiente dos tecidos internos desses órgãos durante o fogo (Miranda et al., 2002). Assim, muitas espécies são resistentes ao fogo.

Em áreas de cerrado degradadas há uma tendência à facilitação da invasão por espécies não nativas. A hipótese de que a perturbação aumenta a invasibilidade do habitat é testada e amplamente aceita por vários autores (Fox e Fox, 1996, Hobbs e Huenneke, 1992; D'Antonio e Vitousek, 1992). Vitousek (1990) discute três modos pelos quais as invasões alteram o ecossistema, dentre os quais está a capacidade de alterar o regime de perturbações (tipo, frequência e/ou intensidade) da área invadida. No caso do cerrado, as espécies invasoras mais importantes são espécies de gramíneas exóticas e a invasão por estas altera a frequência e a intensidade de fogo nas áreas. Segundo D'Antonio e Vitousek, (1992), as gramíneas exóticas são importantes porque são altamente competitivas com as espécies nativas e porque muitas espécies têm alta tolerância ou até mesmo aumentam o fogo. Além disso, muitas respondem ao fogo com rápido crescimento (D'Antonio e Vitousek, 1992), sendo assim capazes de invadir grandes áreas que estejam disponíveis.

Dentro da flora do cerrado, a família Asteraceae é a segunda mais representativa quanto ao número de espécies (Warming 1973; Mendonça et al., 1998). A família Asteraceae apresenta grande número de espécies e abundância (Brito 1997; Mendonça et al. 1998). É frequentemente uma das famílias mais ricas em floras locais e regionais (Bremer 1994), especialmente em ambientes abertos, com muitas espécies heliófilas e pioneiras. No Brasil existem pelo menos 1.900 espécies já descritas (Barroso, 1986). A tribo Mutisieae

compreende 76 gêneros com aproximadamente 970 espécies e é bem representada entre as Asteraceae na América do Sul. A maioria dos representantes da tribo é encontrada ao longo do sudoeste dos Andes, sendo muitos gêneros restritos a habitats áridos e montanhosos (Kim et al., 2002).

Gochnatia é o maior dos gêneros dentro da tribo, com 68 espécies reconhecidas, ocorrendo predominantemente no Novo Mundo (Kim et al., 2002). Nesse gênero são encontrados arbustos ou árvores, raramente dióicas, de capítulos solitários, discóides e homógamos. *Gochnatia* distribui-se pelo sudoeste dos Estados Unidos, Américas Central e do Sul e sudeste da Ásia Continental (Kim et al., 2002). *Gochnatia pulchra* é encontrada no cerrado brasileiro e também no Paraguai (Rojas, 1934). Estudos taxonômicos ainda são escassos nessa espécie e os dados sobre características morfológicas e reprodutivas são obtidos de descrições gerais da seção Hedraiophylum, Lessing (Freire et al., 2002).

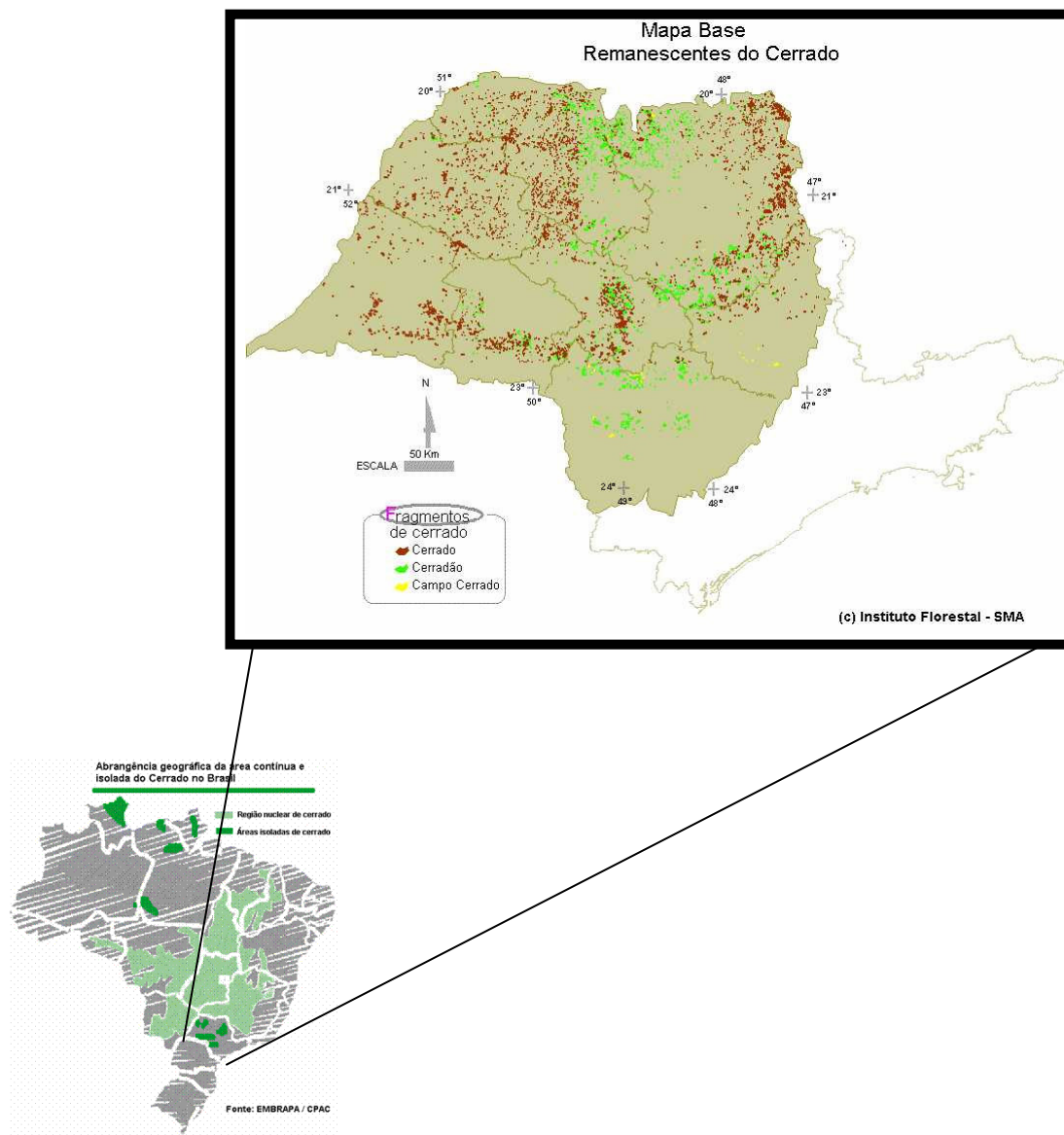


Figura 1. Distribuição das áreas de cerrado pelo território brasileiro e no Estado de São Paulo (em destaque).



Figura 2. Indivíduo adulto de *Gochnatia pulchra* em estágio inicial de floração e inflorescência (capítulo) da espécie.

Uso de marcadores de isoenzimas

A influência da eletroforese de isoenzimas no entendimento da estrutura genética de populações naturais é inestimável. Desde que foi aplicada, pela primeira vez em genética de populações, na década de 60, tem sido amplamente usada em sistemática, evolução, ecologia e biologia da conservação (Leberg, 1996). Para a genética vegetal, o emprego de isoenzimas contribui para informações sobre os sistemas de cruzamento e seus efeitos na estrutura genética e variabilidade de populações, a diferenciação geográfica de populações dentro de espécies e os fatores ecológicos que controlam o fluxo gênico dentro de populações, entre outros (Robinson, 1998).

Embora outros métodos moleculares para obtenção de dados evolutivos tenham se tornado importantes mais recentemente, o emprego de marcadores isoenzimáticos ainda é corrente na literatura. As vantagens dos dados obtidos a partir da eletroforese de isoenzimas são: objetividade, codominância, maior conjunto de dados existentes para muitos organismos, baixo custo se comparado com outros métodos moleculares e curto tempo de processamento de dados (Van der Bank et al., 2001), além do fato de ser um marcador molecular nuclear, permitindo estimativas do fluxo gênico que se dá tanto através de pólen quanto de semente (Comes e Abbott, 1998).

OBJETIVO GERAL

O objetivo central deste estudo foi analisar a variabilidade genética de populações de *Gochnatia pulchra* de fragmentos de cerrado degradados, para avaliar o efeito da degradação ambiental sobre essas populações.

LITERATURA CITADA

- Barrett, S. C. e Kohn, J. R. (1991). Genetic and evolutionary consequences of small population size in plants: implications for conservation. In: **Genetics and Conservation of rare Plants** (Eds D. A. Falk, K. E. Holsinger). Oxford University Press: Oxford. pp 3–30.
- Bawa, K. S. e Seidler, R. (1998) Natural Forest management and conservation of biodiversity in tropical forests. *Conservation Biology* **12**: 46-55,
- Bremer, K. (1994) **Asteraceae: cladistics and classification**. Timber Press, Portland, Oregon, USA.
- Brito, M.C.W. (1997) **Cerrado: bases para conservação e uso sustentável das áreas de Cerrado do Estado de São Paulo**. Secretaria de Estado do Meio Ambiente, Série PROBIO, São Paulo.
- Comes, H.P. e Abbott, R. J. (1998) The relative importance of historical events and gene flow on the population structure of Mediterranean ragwort, *Senecio gallicus* (Asteraceae). *Evolution* **52**: 255-267.
- Coutinho, L. M. (1990) Fire in the ecology of the Brazilian Cerrado. In: (Ed. J. G. Goldammer) **Fire in the Tropical Biota: Ecosystem Processes and Global Challenges** pp 82-105. Berlin: Springer Verlag.
- Dirzo, R. (2000). Deforestation of a seasonally dry tropical forest: a national and local analysis in Mexico. *Biological Conservation*, **94**: 133-142.
- Freire, S. E.; Katinas, L. e Sancho, G. (2002) *Gochnatia* (Asteraceae, Mutisieae) and the *Gochnatia* complex: taxonomic implications from morphology. *Annals of the Missouri Botanical Garden* **89**: 524-550.
- Ghazoul, J. e McLeish, M. (2001) Reproductive ecology of tropical forest trees in logged and fragmented habitats in Thailand and Costa Rica. *Plant Ecology* **153**: 335-345.
- Hall, L. S.; Krausmn, P. R. e Morrison, M. L. (1997). The habitat concept and a plea for standard terminology. *Wildlife Society Bulletin* **25**: 173-182.
- Huennneke, L. F. (1991). Ecological implication of genetic variation in plant populations. In: **Genetics and Conservation of rare Plants** (Eds D. A. Falk, K. E. Holsinger). Oxford University Press: Oxford. pp 31–44.

- Kim, H.-G., Loockerman, D. J. e Jansen, R. K. (2002) Systematic implications of *ndhF* sequence variation in the Mutisieae (Asteraceae). *Systematic Botany* **27**: 598-609.
- Leberg, P. L. (1996). Applications of allozyme electrophoresis in conservation biology. In: **Molecular genetics approaches in conservation**. (Eds. T. B Smith e R. K. Wayne). Oxford University Press, New York.
- Lowe, A. J.; Boshier, D.; Ward, M.; Bacles, C.F.E e Navarro, C. (2005). Genetic resource impacts of habitat loss and degradation; reconciling empirical evidence and predicted theory for neotropical trees. *Heredity* **95**: 255-273.
- Mendonça, R.C.; Felfili, J.M.; Walter, B.M.T., Silva-Júnior, M.C.; Rezende, A.V.; Filgueiras, T.S. e Nogueira, P.E. (1998) Flora vascular do cerrado. In: **Cerrado: ambiente e flora** (Eds. S.M. Sano e S.P. de Almeida), pp. 289-556. Embrapa, Brasília, Brasil.
- Miranda, H. S.; Bustamante, M. M. C e Miranda, A. C. (2002) In: (Eds. P. S Oliveira e R. J. Marquis) **The cerrados of Brazil: Ecology and Natural History of a Neotropical Savanna**. pp 51-68. Columbia University Press, New York.
- Robinson, I. P. (1998). Aloenzimas na genética de populações de plantas. In: (Ed. A. C. Alfenas) **Eletroforese de isoenzimas e proteínas afins: fundamentos e aplicações em plantas e microorganismos**. Edit. Universidade Federal de Viçosa, 154p.
- Rojas, T. (1934) *In* Missouri Botanical Garden (2007). http://mobot.mobot.org/cgi-bin/search_vast
- Silva, J. M. C e Bates, J. M. (2002). Biogeographic patterns and conservation in the south american cerrado: a tropical savanna hotspot. *Bioscience* **52**: 225-233.
- Trejo, I. e Dirzo, R. (2000). Deforestation of a seasonally dry tropical forest: a national and local analysis in Mexico. *Biological Conservation* **94**: 133-142.
- Van der Bank, H.; Van der Bank, M. e van Wik, B. E. (2001) A review of the use of allozyme electrophoresis in plant systematics. *Biochemical Systematics and Ecology* **29**: 469-483.
- Vitousek, P. M. (1990) Biological invasions and ecosystem processes: towards an integration of population biology and ecosystem studies. *Oikos* **57**: 7-13.
- White, G. M.; Boshier, D. H. e Powell, W. (1999) Genetic variation within a fragmented population of *Swietenia humilis* Zucc. *Molecular Ecology* **8**: 1899-1909,.

Capítulo 1. Variabilidade genética e fluxo gênico em populações de *Gochnatia pulchra* (Asteraceae)

Joice Machado Bariani, Aluana Gonçalves de Abreu, Mário Almeida Neto e Vera Nisaka Solferini

RESUMO

Dentre os ecossistemas de savanas tropicais, o cerrado brasileiro é um dos biomas mais ameaçados no mundo. Os processos mais comuns que acompanham a interferência humana no cerrado são a fragmentação e a perda de habitat. A intensificação da atividade agrícola, especialmente nas décadas de 70 e 80, foi o que mais colaborou para a fragmentação do cerrado, que hoje constitui apenas 1,17 % da área original, no Estado de São Paulo. *Gochnatia pulchra* Cabrera (Asteraceae, Mutisieae) é uma espécie arbustiva perene comum no cerrado brasileiro e encontrada em áreas de cerrado com freqüente perturbação antrópica. As inflorescências são ginodióicas e os aquênios são dispersos pelo vento. No presente trabalho, foram estudadas oito populações dessa espécie empregando-se marcadores moleculares de isoenzimas, com o objetivo de analisá-las quanto à variabilidade genética. Foram analisados oito *loci* de isoenzimas, a partir dos quais foram realizadas as estimativas de variabilidade: número médio de alelos por *locus*, heterozigosidades esperada e observada, porcentagem de *loci* polimórficos. Foram também obtidas estimativas do nível de endogamia nas populações, de fluxo gênico entre as mesmas os valores de distância genética. Encontramos baixa variabilidade genética e altos níveis de endogamia em todas as populações, que também apresentaram composição alélica bem distinta para os *loci* polimórficos analisados. As estimativas de fluxo gênico apontaram para baixos níveis de fluxo gênico entre as populações, com estruturação moderada entre as mesmas. Houve correlação significativa entre os valores de θ par a par e a distância geográfica entre as populações, indicando que o isolamento por distância possa ser importante para a diferenciação das populações.

INTRODUÇÃO

A destruição de habitats pela atividade antrópica é umas das ameaças mais evidentes aos ecossistemas naturais e têm aumentado de forma dramática recentemente. Dentre as savanas tropicais, o cerrado brasileiro é um dos biomas mais ameaçados no mundo (Silva e Bates, 2002). No Brasil, fontes do ano de 2002 (MODIS *imagery data* - NASA) indicaram que 55% do cerrado já havia sido desmatado e transformado em área agrícola e pasto, principalmente. O desflorestamento atual atinge de 22.000 a 30.000 km²/ano (Machado et al., 2004). Os processos mais comuns que acompanham a interferência humana no cerrado são a fragmentação e a perda de habitat. Segundo Fahrig (2003), uma nova configuração espacial do habitat é o principal resultado da fragmentação, com freqüente diminuição no tamanho e aumento do isolamento dos fragmentos. Além de introdução de novos fatores de perturbação nos fragmentos, a redução do tamanho populacional pode contribuir para grandes impactos nas características das populações dos organismos de habitats fragmentados.

Plantas tropicais são tidas como particularmente vulneráveis aos efeitos de degradação do habitat, devido às suas características demográficas e reprodutivas, incluindo-se sistemas de cruzamento complexos com auto-incompatibilidade, altas taxas de fecundação cruzada (Cascante et al, 2002) e interações íntimas com polinizadores e dispersores de sementes (Didham et al, 1996; Dick et al, 2003; Ward et al, 2005). Além disso, o nível e a distribuição da variação genética são influenciados tanto pela história de vida de espécies individuais quanto por processos históricos que levaram à distribuição atual (Hamrick e Godt, 1996; Critchfield 1984; Templeton et al. 1990; Petit et al. 2002).

Embora nenhuma teoria de genética de populações tenha sido desenvolvida para fragmentação ou perturbação do habitat, as expectativas são baseadas na teoria bem estabelecida para o comportamento genético de populações de tamanho pequeno e finito, e nas teorias para populações subdivididas, de biogeografia e de metapopulações (Lowe et al., 2005). De forma geral, espera-se a erosão da variação genética e o aumento da diferenciação entre populações de diferentes fragmentos, devido ao aumento de deriva genética, redução de fluxo gênico e aumento do isolamento espacial.

O isolamento físico entre manchas de plantas freqüentemente se reflete em isolamento genético (Murren et al., 2003). No que diz respeito à estrutura genética espacial, dados de espécies arbóreas temperadas e tropicais de áreas de florestas espacialmente isoladas, no entanto, indicam que grandes distâncias entre manchas de árvores podem não corresponder a uma alta diferenciação genética (Nason e Hamrick, 1997; Aldrich e Hamrick, 1998; Aldrich et al., 1998; White, 2002). Analogamente, resultados de estrutura temporal em espécies com sistema de polinização generalista e dispersão de sementes a longas distâncias indicaram uma baixa diferenciação entre áreas a despeito da fragmentação por perturbação antrópica (Murren et al., 2003). Vários autores mostraram que o fluxo gênico parece ser alto para plantas tropicais mesmo em paisagens severamente perturbadas (Hamrick et al., 1991; Rocha e Aguilar, 2001; White et al., 2002).

Além dos problemas da diferenciação das populações e da perda de variabilidade genética, também o aumento da endogamia é uma característica de populações sujeitas à fragmentação de seu habitat (Young et al., 1996). A redução da dispersão do pólen, devido ao aumento da separação espacial entre os indivíduos e as populações, pode levar à diminuição da oferta de pólen, resultando na menor produção de sementes por indivíduos isolados. A redução na produção de sementes é um dos resultados da endogamia, em interação com outras causas, preditos para a fragmentação e para o desmatamento (Lowe et al., 2005). Entre plantas que ocupam áreas recentemente ou intensamente perturbadas, a reprodução cruzada obrigatória ou sistemas de cruzamento que requerem animais polinizadores ocorrem com menor freqüência que entre as plantas de áreas não-perturbadas (Feinsinger et al., 1987). Para *Eleocarpus grandis*, uma espécie que coloniza áreas perturbadas favoráveis e persistente em áreas de floresta climática, uma grande proporção de populações fragmentadas mostrou níveis significativos de endogamia (Rossetto et al., 2004).

Espécie em estudo

Gochnatia pulhcr Cabr. (Asteraceae, Mutisieae) é uma espécie encontrada no cerrado brasileiro e, segundo Rojas, (1934) também no Paraguai. No Brasil, apresenta distribuição pelos Estados de Minas Gerais, São Paulo e Mato Grosso do Sul (Oliveira-

Filho, 2006). Segundo Oliveira-Filho (2006), ocorre em Floresta Estacional Semidecidual das Terras Baixas Submontanas (Cerrado *sensu lato*), sendo classificada por esse autor como espécie freqüente. É encontrada em áreas de cerrado que encontram-se sujeitas à variados níveis de perturbação antrópica, como fogo e presença de gado. Tais áreas estão localizadas em paisagens agrícolas nos quais fragmentos de cerrado estão comumente inseridos e evidente nos locais onde foram coletadas as populações desse estudo. Apresenta hábito de arvoreta, chegando a atingir até 3m de altura (Oliveira-Filho, 2006). As inflorescências apresentam ginodioicia e são dispostas em forma de capítulos homógamos, solitários, discóides e de coloração amarelo-pardo. Os aquênios pubescentes têm capacidade para dispersão a longas distâncias devido ao *pappus* plumoso (J. Semir, com. pess.) Moscas são visitantes florais dos capítulos devido ao forte odor e podem assim atuar como potenciais polinizadores (obs. pess.). A revisão filogenética da família Asteraceae (Ferrer e Good-Avila, 2007) indica que auto-compatibilidade é disseminada entre a tribo Mutisieae, mas existe também sistema de auto-incompatibilidade, sendo este derivado. *G. pulchra* apresenta características morfológicas que indicam possibilidade de realização de auto-fecundação e aliada à presença de auto-compatibilidade na tribo, acredita-se que seja capaz de gerar sementes viáveis por autopolinização.

Espécies heliófilas são comuns em áreas de cerrado e são capazes de colonizar novas áreas com disponibilidade espacial e luminosidade adequadas à germinação da semente e crescimento de plântulas, comuns em ambientes com perturbações provocadas por fogo e desmatamento. *Gochnatia pulchra* é comumente encontrada em manchas, nas clareiras de formações de cerrado *strictu sensu* e em formações de campo limpo e campo sujo. Em formações florestais de cerrado (*cerradão*), ocorrem em menor densidade e são encontradas geralmente plântulas. De acordo com a literatura, em locais historicamente sujeitos a intensas perturbações, as populações que permanecem pequenas após a perturbação podem tornar-se fixadas para alelos alternativos, dado que não existe níveis adequados de fluxo gênico entre as populações, resultando em um aumento da divergência genética (Barrett e Kohn, 1991). Por outro lado, em escalas espaciais correspondendo a alguns quilômetros, é esperado que a dispersão anemocórica da semente previna tanto a diferenciação intrapopulacional quanto a diferenciação entre as populações.

Local de estudo

A intensificação da atividade agrícola, especialmente nas décadas de 70 e 80, foi a atividade que mais colaborou para a fragmentação do cerrado, que hoje constitui apenas 1,17 % da área original, no Estado de São Paulo. Estas áreas remanescentes estão bastante fragmentadas e sujeitas a diferentes perturbações antrópicas (Brito 1997), e seu estado de conservação é bastante precário.

Este estudo foi conduzido em fragmentos de cerrado localizados no Estado de São Paulo. Foram selecionadas 8 fragmentos: 1 no município de Ibaté, 5 no município de Itirapina, 1 na Reserva Estadual de Mogi Guaçu, município de Mogi Guaçu e 1 no Parque Estadual Vassununga, em Santa Rita do Passa Quatro. O clima regional está entre Cwa and Aw (Köppen, 1948), e caracterizado por uma transição de tropical quente com inverno seco para tropical com verão seco e inverno úmido (Embrapa-CCPSE, 1999). Diferentes níveis de degradação do habitat são impostos às populações de *Gochnatia pulchra* que encontram-se nos fragmentos amostrados nessas localidades. Entre o conjunto de áreas de Ibaté e Itirapina, os locais de estudo encontram-se rodeados por plantios de monoculturas, de *Eucaliptus* sp. e *Pinus* sp, pastos, rodovias e áreas urbanas (Soares et al., 2003). Assim, existe uma série complexa de habitats e tipos de cerrado relacionados a uma longa história de perturbação antrópica induzida através de desflorestamento e queima de pastagens. Em Mogi-Guaçu, a área onde realizou-se a coleta na Reserva Estadual encontra-se cercada por plantios de *Pinus* e *Eucaliptus* e em Santa Rita do Passa Quatro, *Eucaliptus* também foi encontrado. No entanto, os fragmentos desses dois municípios pertencem à áreas de proteção ambiental, podendo ou não estar menos sujeitas a degradação em relação aos demais fragmentos em estudo.



Figura 3. Localização das áreas de estudo, correspondendo aos municípios de Ibaté, Itirapina, Mogi Guaçu e Santa Rita do Passa Quatro.

Tabela 1. Localização e caracterização dos fragmentos de cerrado em que as populações de *G. pulchra* foram coletadas.

Localidade	Município	População	Coordenadas	Área (ha)
Pq. Est. Vassununga	Sta Rita do P. Quatro	Sta Rita	21° 42' 3''S 47° 28' 4''W	1.212
Res. Est. Mogi Guaçu	Mogi Guaçu	<i>Mogi</i>	22° 22' 2''S 22° 22' 2''W	101
Propriedade rural	Itirapina	<i>Graúna</i>	22° 15' 56''S 47° 47' 48''W	60
Propriedade rural	Ibaté	<i>Ibaté</i>	21° 58' 09''S 47° 56' 56''W	7
Propriedade Agroceres	Itirapina	<i>Agroceres</i>	22° 09' 57''S 47° 48' 08''W	40
Arredores de ferrovia	Itirapina	<i>L. de Ferro</i>	22° 19' 02''S 47° 48' 22''W	37,5
Conjunto habitacional	Itirapina	<i>UBA</i>	22° 17' 32''S 47° 48' 20''W	8,1
Margem de rodovia	Itirapina	<i>Patos</i>	22° 10' 03''S 7° 47' 16''W	12

OBJETIVOS

Os objetivos desse estudo foram:

- Caracterizar a variabilidade genética de populações naturais de *Gochmathia pulchra* em fragmentos de cerrado.
- Caracterizar a variabilidade genética de populações naturais de *Gochmathia pulchra* em áreas de cerrado sujeitas à perturbação e degradação por atividades antrópicas e de populações de áreas localizadas em Unidades de Proteção Integral de cerrado.
- Quantificar a estruturação de populações de *G. pulchra* localizadas em diferentes escalas geográficas (local e regional) e testar a correlação entre distâncias genéticas e geográficas.

METODOLOGIA

Coleta de amostras e análise

Foram coletadas folhas de 30 a 45 indivíduos em cada fragmento de cerrado, que foram em seguida individualizadas e envolvidas em papel filme plástico. As folhas foram, então, congeladas em nitrogênio líquido e nele mantidas até o momento da aplicação da metodologia. De cada local de coleta foi retirada uma exsicata para que fosse depositada no Herbário da UEC (Departamento de Botânica, IB, Universidade Estadual de Campinas).

O tecido foliar foi macerado numa quantidade variável de 80 a 100 μ L de tampão de extração de Tris-HCl 0,1M pH 7,0, contendo sacarose 0,2M, 0,6% PVP, EDTA 1mM, albumina bovina 0,15%, DIECA 0,06M, Bórax 0,03M, com o acréscimo de 0,1% v/v de 2-mercaptoetanol. Duas tiras de papel filtro Whatman nº 3 foram usados para absorver o extrato e para aplicação nos géis de amido Sigma com 1 cm de espessura, concentração de 8,5%. Para a eletroforese dos géis, foram empregados 2 sistemas eletrodo-tampão: **1)** eletrodo: LiOH 10 mM, H₃BO₃ 90 mM e EDTA 3 mM, pH 8,0 e a mesma solução do eletrodo diluída 1:10 para o gel, sendo a eletroforese submetida a 15 mA/4 hs. **2)** eletrodo: H₃BO₃ 0,3 M, NaOH 60 mM e HCl até pH 8,0; gel: Tris 10 mM e HCl até pH 8,5 e a eletroforese a 65V/4 hs. No sistema 1 foram reveladas as enzimas: Diaforase – DIA (1.8.1.4), Glutamato oxaloacetato transaminase – GOT (2.6.1.1), Fosfatase ácida - ACPH (3.1.3.2) e Peptidase - PEP (3.4.13). No sistema 2 foram reveladas as enzimas Fosfoglicoisomerase – PGI (5.3.1.9), Fosfoglicomutase – PGM (2.7.5.1), Leucina aminopeptidase – LAP (3.4.11.1), Fosfatase alcalina – ALP (3.1.3.1), Desidrogenase Isocítrica – IDH (1.1.1.42).

Ao final das corridas de géis, as frequências alélicas foram avaliadas pela leitura direta dos mesmos. A seguir, os géis foram diafanizados em solução de glicerina-etanol a 5% para efeito de documentação.

Análise dos dados

As estimativas de variabilidade genética (heterozigosidades observada e esperada, número médio de alelos por *locus*, porcentagem de *loci* polimórficos) foram calculadas no

programa Genetix 4.03 (Belkhir et al, 2000). O cálculo do F_{IS} foi feito pelo estimador f (Weir e Cockerham, 1984), com 1000 permutações para verificação do nível de significância dos valores obtidos para as populações (IC 95%), no mesmo programa.

O teste para localizar desequilíbrio de ligação entre os *loci* foi realizado criando-se tabelas de contingência para todos os pares de populações no programa Genepop 3.4 (Raymond e Rousset, 1995) e testando as probabilidades para cada tabela com a cadeia de Markov (1000 replicações). Para testar se as amostras encontram-se em equilíbrio de Hardy-Weinberg, fez-se o teste de probabilidade no programa Genepop 3.4 (Raymond e Rousset, 1995). Tanto para o primeiro caso quanto para o segundo, as probabilidades obtidas foram corrigidas por Bonferroni sequencial (Rice, 1989).

A estruturação genética entre todas as amostras foi quantificada através da estimativa θ de Weir e Cockerham (1984), considerada como uma estimativa não enviesada do F_{ST} de Wright (1978). O θ foi estimado para cada *locus*, e sua média estimada com permutações de jackknife, com intervalo de confiança de 95% determinado por 1000 reamostragens de bootstrap. O F_{ST} foi também estimado entre pares de populações, com 1000 permutações, resultando numa matriz de valores de θ par a par. Os valores obtidos foram utilizados na comparação de uma matriz de distância geográfica entre as populações pareadas com a matriz de F_{ST} pareados, pela análise de estruturação espacial no teste de Mantel, como sugerido por Hutchinson e Templeton (1999). Para tal, foi empregado o programa TFPGA 1.3 (Miller, 1997). Dois conjuntos de populações foram testados: um conjunto representando uma escala geográfica local, incluindo as populações coletadas em Ibaté e Itirapina e outro representativo de escala geográfica regional, incluindo além destas, as populações de Santa Rita do Passa Quatro e de Mogi Guaçu.

As identidades genéticas (Nei, 1978) entre as populações foram calculadas no programa TFPGA 1.3 (Miller, 1997) e utilizados na construção de um dendograma por UPGMA (Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean).

RESULTADOS

Variabilidade Genética

As populações mostraram composição alélica bem distinta para os *loci* polimórficos analisados, e para alguns deles verificou-se que alelos estavam fixados em algumas ou muitas populações (Tabela 2). Para o *locus* da Got, 5 das 8 populações apresentaram o alelo padrão (Got^{1,00}) fixado, e uma população (Santa Rita) apresentou um alelo exclusivo. Para o *locus* da Pep, foi observado que as populações Santa Rita e Mogi apresentam frequências alélicas muito distintas para os alelos Pep^{1,0} e Pep^{1,2} (tabela 2). Para o *locus* da Alp, foi observado que o alelo padrão (Alp^{1,0}) está fixado na população de Mogi Guaçu (Mogi) e que a população Ibaté apresenta esse alelo em baixa frequência, contrastando com a constituição alélica das demais populações. A análise das frequências alélicas mostra que a população de Santa Rita do Passa Quatro (Santa Rita) é a população com maior número de alelos exclusivos, sendo 1 alelo para cada *locus* dentre Got, Alp, Idh e Pgi (Tabela 2).

Os valores de heterozigosidade observada (H_o) nas populações variaram de 0,005 na população UBA a 0,077 na população Agrocere, com valores intermediários variáveis para as demais populações. A porcentagem de *loci* polimórficos variou de 55,5 a 77,8 e algumas populações apresentaram valores idênticos de P . O número médio de alelos por *locus* foi semelhante nas populações, variando de 1,7 a 2,5 (Tabela 2).

O cálculo do f indicou que todas as populações apresentam valores significativos para o mesmo (IC 95%), com deficiência de heterozigotos em relação ao esperado pelo equilíbrio de Hardy-Weinberg. Os valores de f variaram de 0,645 a 0,965 valores considerados muito altos e significativos (IC 95%), Tabela 3. Adicionalmente, foram encontrados desvios significativos ao esperado pelo equilíbrio de Hardy-Weinberg ($p < 0,05$), após a realização de 34 testes e probabilidades corrigidas, para as populações Graúna (*locus* da Pgi), Ibaté (Dia), Linha de Ferro (para o *locus* da Pep), Patos (para Pgi), UBA (em Alp), Mogi (para a Idh) e na população Agrocere (nos *loci* da Pep, Dia e Pgm). A população Santa Rita foi a única em que não foram detectados desvios significativos para o equilíbrio de Hardy-Weinberg. Desequilíbrio de ligação significativo não foi detectado para qualquer das oito populações analisadas ($p > 0,05$).

Tabela 2. Frequências alélicas para os *loci* polimórficos nas populações de *Gochnatia pulchra* (alelos estão identificados por mobilidades relativas); N tamanho da amostra.

<i>Locus</i>	População							
	<i>Sta Rita</i>	<i>Graúna</i>	<i>Ibaté</i>	<i>Agrocères</i>	<i>L.Ferro</i>	<i>Patos</i>	<i>UBA</i>	<i>Mogi</i>
<u>Pep</u> (N)	19	28	27	21	44	22	38	23
0,5	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,04	0,00
0,7	0,32	0,09	0,00	0,19	0,21	0,20	0,00	0,54
1,0	0,63	0,89	0,78	0,74	0,76	0,68	0,94	0,41
1,2	0,05	0,02	0,22	0,07	0,02	0,11	0,03	0,00
<u>Got</u> (N)	6	31	26	22	44	19	23	33
0,79	0,33	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
1,0	0,67	0,87	1,00	0,95	1,00	1,00	1,00	1,00
1,15	0,00	0,13	0,00	0,04	0,00	0,00	0,00	0,00
<u>Alp</u> (N)	20	30	30	30	35	26	28	32
1,0	0,03	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
0,77	0,47	0,06	0,77	0,13	0,16	0,31	0,03	0,00
1,0	0,45	0,93	0,23	0,78	0,81	0,65	0,93	1,00
1,2	0,05	0,00	0,00	0,08	0,03	0,04	0,03	0,00
<u>Idh</u> (N)	14	9	6	5	9	9	8	20
0,7	0,43	0,11	0,17	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
1,0	0,49	0,89	0,83	1,00	1,00	1,00	1,00	0,90
1,2	0,07	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,10
1,6	0,07	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
<u>Pgi</u> (N)	32	28	26	25	33	22	24	35
0,5	0,34	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
0,8	0,45	0,30	0,35	0,16	0,38	0,17	0,42	0,21
1,0	0,20	0,70	0,65	0,84	0,62	0,86	0,58	0,70
1,2	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,08
<u>Dia</u> (N)	27	8	18	16	17	21	26	35
0,75	0,15	0,12	0,58	0,03	0,00	0,57	0,00	0,17
1,0	0,67	0,87	0,39	0,69	1,00	0,31	0,81	0,37
1,15	0,185	0,00	0,03	0,28	0,00	0,12	0,19	0,46
<u>Pgm</u> (N)	14	28	23	27	32	23	21	21
0,7	0,75	0,11	0,28	0,18	0,03	0,11	0,38	0,05
1,0	0,25	0,80	0,78	0,81	0,94	0,89	0,63	0,95
1,3	0,00	0,09	0,00	0,00	0,03	0,00	0,00	0,00

Tabela 3. Estimativas de variabilidade genética das populações. **N** tamanho amostral; **H_e** heterozigosidade esperada; **H_o** heterozigosidade observada; **P** porcentagem de *loci* polimórficos; **A** número médio de alelos por *locus*; **f** índice de fixação.

População	N	H _e	H _o	P	A	f
Santa Rita	39	0,405	0,024	0,778	2,5	0,946
<i>Mogi</i>	39	0,209	0,049	0,556	1,9	0,771
<i>Graúna</i>	31	0,191	0,040	0,778	2,0	0,803
<i>Ibaté</i>	35	0,253	0,012	0,667	1,8	0,954
<i>Agrocères</i>	33	0,209	0,077	0,667	2,0	0,645
<i>Linha Ferro</i>	45	0,142	0,037	0,444	1,8	0,741
<i>Pato</i>	28	0,217	0,031	0,556	1,09	0,863
<i>UBA</i>	38	0,162	0,006	0,556	1,7	0,965

Estruturação genética

Os valores de F_{ST} foram calculados pelo estimador θ (Weir e Cockerham, 1984). Foram obtidos os valores de θ médio e também os valores para os pares de populações. O θ médio para as oito populações foi 0,195. Quando foram retiradas da análise as duas populações mais distantes geograficamente (Mogi e Santa Rita), o valor do θ médio passou de 0,195 para 0,163 sendo ainda significativo (IC 95%). No entanto, a diferença entre os valores de θ médio não é significativa, dada a sobreposição dos respectivos intervalos de confiança. Os valores de F_{ST} estimados par a par variaram de 0,021 a 0,337 para os pares Ibaté-Agroceres e Santa Rita-Mogi, respectivamente (Tabela 4).

O teste de Mantel mostrou uma correlação significativa entre os valores de θ par a par e a distância geográfica entre as populações, indicando que o isolamento por distância pode ser importante para a diferenciação das populações. Dois conjuntos de populações foram testados: um conjunto representando uma escala geográfica local, coletadas em Ibaté e Itirapina e outro representativo de escala geográfica regional, incluindo além destas, as populações de Santa Rita do Passa Quatro e de Mogi Guaçu (Figura 1).

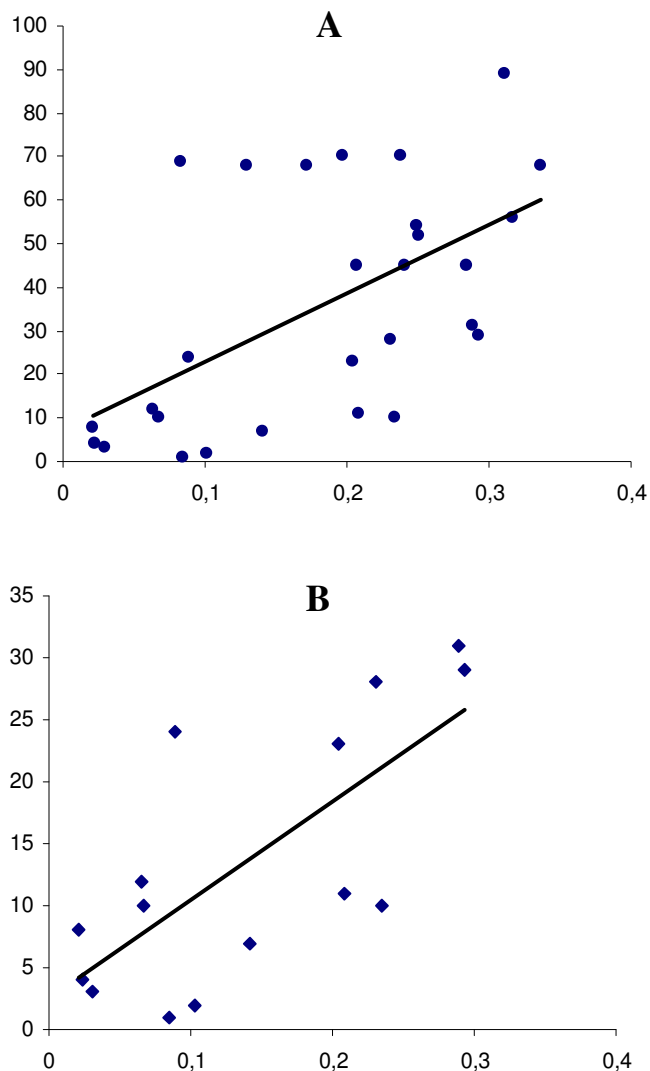


Figura 1. Correlação pareada de valores de θ (abcissa) com distância geográfica (em km) dos dois conjuntos de populações de *G. pulchra*. A. Conjunto de oito populações, representando a escala regional ($r = 0,571$). B. conjunto de 6 populações, correspondente à escala local ($r = 0,725$), respectivamente.

Diferenciação genética

A identidade genética (Nei, 1978) entre as duas populações mais distantes geograficamente (Santa Rita e Mogi Guaçu) foi 0,79. Entre as menos distantes (Pato e Agrocères) foi de 0,968. O maior valor de distância genética foi observado entre as

populações geograficamente mais distantes entre si, mas o menor valor de distância genética não foi observado entre as populações mais próximas geograficamente (veja Tabela 4).

Tabela 4. Valores de distância genética (Nei, 1978), acima da diagonal e de θ (Weir e Cockerham, 1984), abaixo da diagonal, para os pares de populações.

População	1	2	3	4	5	6	7	8
1 <i>Sta Rita</i>	***	0,165	0,153	0,174	0,179	0,214	0,136	0,236
2 <i>Graúna</i>	0,250	***	0,108	0,014	0,007	0,056	0,013	0,067
3 <i>Ibaté</i>	0,207	0,231	***	0,095	0,111	0,039	0,123	0,160
4 <i>Agrocères</i>	0,242	0,021	0,205	***	0,017	0,032	0,019	0,034
5 <i>L. Ferro</i>	0,317	0,023	0,289	0,065	***	0,065	0,025	0,064
6 <i>Pato</i>	0,285	0,141	0,089	0,085	0,209	***	0,078	0,050
7 <i>UBA</i>	0,249	0,030	0,293	0,067	0,102	0,234	***	0,082
8 <i>Mogi</i>	0,337	0,173	0,319	0,084	0,198	0,129	0,238	***

A figura 2 apresenta um dendograma UPGMA construído a partir dos valores de distância genética (Nei, 1978). Não foi observada correspondência entre a distância geográfica das populações e o padrão resultante do dendograma.

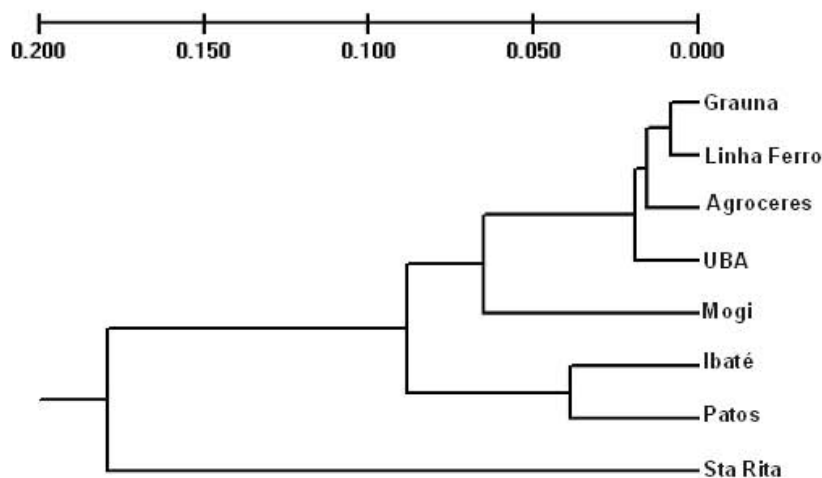


Figura 2. Dendrograma baseado nas distâncias genéticas das populações de *G. pulchra*. (Correlação cofenética = 0,904)

DISCUSSÃO

Variabilidade genética

A análise da variabilidade genética mostrou que as 8 populações apresentam baixos níveis de variabilidade genética. Todos os *loci* apresentaram valores baixos de heterozigosidade observada (H_o). Esse padrão foi encontrado tanto nas populações coletadas em fragmentos de cerrado degradados como em fragmentos dentro de reservas. Os valores de H_o encontrados para *G. pulchra* (0,012-0,077) são comparáveis aos observados em populações de *Acer saccharum* sujeitas à fragmentação e eventos de recolonização (Baucom et al., 2005). As estimativas de percentagem de *loci* polimórficos apontam para níveis moderados de polimorfismo nas populações, com valores acima de 55% para a maioria das populações. Tanto a população de Santa Rita, localizada em uma reserva, como a população Graúna, localizada num fragmento degradado, apresentaram os mesmos valores de P . Os níveis de P encontrados em *Gochnatia pulchra* são semelhantes aos encontrados por Baucom et al. (2005) para populações de *Acer saccharum*.

A análise das frequências dos alelos em *G pulchra* indica que as populações são distintas quanto às suas constituições alélicas para alguns *loci*. Frequências alélicas invertidas foram apresentadas pelas populações Mogi e Santa Rita, no *locus* da Pep. No *locus* da Alp, vemos diferenças entre as populações Mogi, onde o alelo Pep^{1.0} está fixado e a população Ibaté, na qual o mesmo ocorre em baixa frequência. Diferenças em frequências alélicas entre populações distantes como Mogi e Santa Rita são esperadas pois cada uma delas pode receber alelos de populações diferentes.

Apenas em uma das populações, Santa Rita, as frequências alélicas não apresentaram desvios significativos ao esperado em equilíbrio de Hardy-Weinberg. Nas demais, foram detectados desvios para diferentes *loci*; os valores de f médio foram altos (0,645 a 0,965) e significativos. Tais valores são encontrados apenas entre espécies reconhecidamente endocruzantes (revisão de Brown, 1979). De fato, é plausível que *G. pulchra* seja capaz de produzir sementes viáveis por autofecundação, visto ser esse um sistema reprodutivo comum em Asteraceae. Neste, foi incluído o caso extremo de apomixia que ocorre, por exemplo, na espécie *Chromolaena odorata*, uma asterácea (Rambuda e

Johnson, 2004). Além disso, também pode ocorrer cruzamento entre indivíduos aparentados. Murren (2003) estudou uma espécie de orquídea epifítica (*Catasetum viridiflavum*) que ocorre em manchas isoladas de plantas em florestas localizadas em pequenas ilhas próximas ao Canal do Panamá. O autor atribui altos níveis de coeficiente de endogamia e a deficiência de heterozigotos nessas populações, localizadas em habitats altamente perturbados, a efeitos temporais e espaciais que resultariam num efeito Wahlund. Os indivíduos de *G. pulchra* são muitas vezes encontrados agregados, o que poderia, também, originar um efeito Wahlund espacial na área, que resulta na deficiência de heterozigotos nas populações.

Em populações de *Chaetanthera euphrasioides* (Asteraceae, Mutisieae) estudadas por Arroyo et al. (2006), os valores de F_{IS} (0,470-0,672) relacionam-se à capacidade de autofecundação, embora não seja uma espécie de autofecundação obrigatória. Os autores discutem a perda do *papus* pelos aquênios logo em seguida à dispersão, o que resulta na localização de sementes a poucas distâncias da planta-mãe; assim alto nível de endogamia pode ser o reflexo de dispersão limitada nesta espécie. Em *G. pulchra*, é esperado que o *papus* plumoso alcance grandes distâncias. No entanto, num ambiente com severa perturbação e alta competição com outras espécies de Asteraceae, característico de áreas degradadas, a efetividade da dispersão bem como da germinação da semente pode ser comprometida. Por fim, o aumento da endogamia acompanha a fragmentação do habitat de populações de várias espécies sendo uma das consequências mais potencialmente deletérias da degradação (Lowe et al., 2005).

Diferenciação entre as populações e isolamento por distância

De acordo com o dendograma obtido, as distâncias genéticas entre as oito populações mostram que a população de Santa Rita, a mais distante geograficamente, não agrupa com as demais. No entanto, o padrão geral de diferenciação genética, segundo os valores de distância genética dos pares de populações, não apresenta relação com as distâncias geográficas.

Tanto para a escala local quanto para a regional, foi encontrada diferenciação moderada para as populações presentes nos diferentes fragmentos, como indicado pelos

valores de θ entre os pares de populações e de θ médio. Mesmo a distâncias inferiores a 2 km as populações apresentaram-se diferenciadas ($\theta = 0,102$). Na revisão de Lowe et al. (2005) estudos que examinaram fluxo gênico em plantas de habitats fragmentados mostraram duas tendências: dois estudos que examinaram remanescentes muito distantes (dezenas de quilômetros, Hall et al, 1994, 1996) encontraram evidência significativa de aumento da diferenciação genética, enquanto outros dois (White et al, 2002; Dick et al, 2003) enfatizaram a existência de fluxo gênico em escalas espaciais menores (menos de 10 km). Na nossa escala espacial local (0,67-29,04 km), o θ médio foi 0,163, não muito inferior ao valor (0,194) observado para a escala regional (44,74-88-93km).

De acordo com o teste de Mantel, a correlação entre os valores de θ e de distância geográfica entre as populações foi significativa para ambos os conjuntos de populações, mostrando um padrão consistente com o isolamento por distância tanto numa escala localizada quanto numa escala maior. Embora fluxo gênico considerável seja característico de espécies dispersas pelo vento e dada a morfologia dos aquênios de *G. pulchra*, não foram verificados níveis altos de fluxo gênico entre as populações. A visualização da matriz circundante aos fragmentos de cerrado amostrados pode explicar a estruturação espacial encontrada. Na área de estudo, a matriz constitui-se por monoculturas, pastos, plantios de *Eucaliptus* sp e *Pinus* sp. e áreas urbanas. *G. pulchra* foi raramente observada em bordas em nossas áreas de estudo, e há possibilidades de que ocorra, preferencialmente, em locais com menor contato com a matriz, cujas condições edáficas e climáticas sejam menos propícias à germinação da semente e ao estabelecimento dos indivíduos.

LITERATURA CITADA

- Aldrich, P.R. e Hamrick, J.L. (1998). Reproductive dominance of pasture trees in a fragmented forest mosaic. *Science* **281**: 103– 105.
- Aldrich, P.R., Hamrick, J.L., Chavarriaga, P. e Kochert, G. (1998). Microsatellite analysis of demographic genetic structure in fragmented populations of tropical tree *Symphonia globulifera*. *Molecular Ecology*. **7**: 933–944.
- Arroyo, M. T. K.; Muñoz, M. S., Henríquez, C.; Till-Bottraud, I. e Pérez, F. (2006) Erratic pollination, high selfing levels and their correlates and consequences in an

- altitudinally widespread above-tree-line species in the high Andes of Chile. *Acta Oecologica* **30**: 248-257.
- Barrett, S. C. e Kohn, J. R. (1991). Genetic and evolutionary consequences of small population size in plants: implications for conservation. In: Falk DA, Holsinger KE (eds) **Genetics and Conservation of Rare Plants**. Oxford University Press: Oxford. pp 3–30.
- Baucom, R. S.; Estill, J. C. e Cruzan, M. B. (2005) The effect of deforestation on the genetic diversity and structure in *Acer saccharum* (Marsh): Evidence for the loss and restructuring of genetic variation in a natural system. *Conservation Genetics* **6**: 39-50.
- Belkhir, K. Borsa, P.; Chikhi, L.; Raufaste, N.; Bonhomme, F. (2000) **GENETIX, logiciel sous Windows™ pour la génétique des populations**. Laboratoire Génome, Populations, Interactions, CNRS UMR 5000, Université de Montpellier II, Montpellier (France).
- Brito, M.C.W. (1997). *Cerrado: Bases para Conservação e Uso Sustentável das Áreas de cerrado do Estado de São Paulo*. Secretaria de Estado do Meio Ambiente. Série PROBIO, São Paulo.
- Brown, A. H. D. (1979). Enzyme polymorphism in plant populations. *Theoretical Population Biology* **15**: 1-42.
- Cascante, A; Quesada, M., Lobo, J. A., Fuchs, E. J. (2002). Effects of dry tropical Forest fragmentation on the reproductive success and genetic structure of the tree *Samanea saman*. *Conservation Biology* **16**: 137-147.
- Critchfield, W. B. (1984) Impact of the Pleistocene on the Genetic Structure of North American Conifers. Proceedings of the Eighth North American Forest Biology Workshop, Logan, Ut.
- Dick, C. W.; Etchelecu, G. Austerlitz, F. (2003). Pollen dispersal of tropical trees (*Dinizia excelsa*: Fabaceae) by native insects and African honeybees in pristine and fragmented Amazonian rainforest. *Molecular Ecology* **12**: 753-764.
- Didham, R. K.; Ghazoul, J.; Stork, N.E., Davis, A. J. (1996) Insects in fragmented forests: a functional approach. *Trends in Ecology and Evolution* **11**: 255-261.

- EMBRAPA-CPPSE (1999) *Microbacia hidrográfica do Ribeirão Canchim: um modelo real de laboratório ambiental*. Boletim de Pesquisa 5. Embrapa Pecuária Sudeste, São Carlos.
- Fahrig, L. Effects of habitat fragmentation on biodiversity. (2003). *Annual Review of Ecology, Evolution and Systematics* **34**: 487–515.
- Fore, S.A., Hickey, R.J., Vankat, J.L.; Guttman, S.I. & Schaefer, R.L. (1992). Genetic structure after forest fragmentation: a landscape ecology perspective on *Acer saccharum*. *Canadian Journal of Botany* **70**: 1659-1668.
- Hall, P.; Chase, M. R.; Bawa, K. S. (1994) Low genetic variation but high population differentiation in a common forest species. *Conservation Biology* **8**: 471–482.
- Hall P, Walker S, Bawa K (1996). Effects of forest fragmentation on genetic diversity and mating system in a tropical tree, *Pithecellobium elegans*. *Conservation Biology* **10**: 757–768.
- Hamrick, J.L.; Godt, M.J.W.; Murawski, D.A.; Loveless, M.D. (1991) Correlation between species traits and allozyme diversity: implications for conservation biology. In: **Genetics and Conservation of Rare Plants** (eds D.A. Falk e K.E. Holsinger), pp. 75–86. Oxford University Press, New York. Island Press, Washington, DC.
- Hamrick J. L. e Godt, M.J.W. (1996) Effects of life history traits on genetic diversity in plant species. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London B: Biological Sciences* **351**: 1291–1298.
- Hutchison, D. E. Templeton, A. R. (1999) Correlation of pairwise genetic and geographic distance measures: inferring the relative influences of gene flow and drift on the distribution of genetic variability. *Evolution* **53**: 1898-1914.
- Ferrer, M. M. e Good-Avila, S. V. (2007) Macrophylogenetic analysis of the gain and loss of self-incompatibility in the Asteraceae. *New Phytologist* **173**: 401-414.
- Feinsinger, P.; Beach, J. H.; Linhart, Y. B; Busby, W. H. e Murray, K. G. (1987). Disturbance, Pollinator predictability, and pollination success among Costa Rican cloud forest plants. *Ecology* **68**: 1294-1305.
- Freire, S. E.; Katinas, L. e Sancho, G. (2002) *Gochnatia* (Asteraceae, Mutisieae) and the *Gochnatia* complex: taxonomic implications from morphology. *Annals of the Missouri Botanical Garden* **89**: 524-550.

- Kim, H.-G., Loockerman, D. J. e Jansen, R. K. (2002) Systematic implications of *ndhF* sequence variation in the Mutisieae (Asteraceae). *Systematic Botany* **27**: 598-609.
- Köppen, W. (1948) Climatologia. Fondo de Cultura Económica, Mexico.
- Lowe, A. J.; Boshier, D.; Ward, M.; Bacles, C.F.E e Navarro, C. (2005). Genetic resource impacts of habitat loss and degradation; reconciling empirical evidence and predicted theory for neotropical trees. *Heredity* **95**: 255-273.
- Machado, R. B., Ramos Neto, M. B., Pereira, P. Caldas, E. Gonçalves, D., Santos, N., Tabor, K. e Steininger, M. (2004). **Estimativas de perda da área do Cerrado brasileiro**. Conservation International do Brasil, Brasília.
- Mendonça, R.C., Felfili, J.M., Walter, B.M.T., Silva-Júnior, M.C., Rezende, A.V., Filgueiras, T.S. e Nogueira, P.E. (1998) Flora vascular do cerrado. In: **Cerrado: ambiente e flora** (Editado por S.M. Sano e S.P. de Almeida), pp. 289-556. Embrapa, Brasília, Brasil.
- Miller, M. P. (1997). TFGPA, **Tools for population genetic analysis**. Department of Biological Sciences - Box 5640. Northern Arizona University, USA.
- Murren, C. J. (2003). Spatial and demographic population genetic structure in *Catsetum viridiflavum* across a human-disturbed habitat. *Journal of Evolutionary Biology* **16**: 333-342.
- Nason, J.D. & Hamrick, J.L. 1997. Reproductive and genetic consequences of forest fragmentation – two case studies of neotropical canopy trees. *Journal of. Heredity* **88**: 264–276.
- Nei, M. (1978). Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. *Genetics* **89**: 583-590.
- Petit, R.J.; Csakl, U.M.; Bordacs, S. et al. (2002). Chloroplast DNA variation in European white oaks – Phylogeography and patterns of diversity based on data from over 2600 populations. *Forest Ecol. Manage.* **156**: 5–26.
- Rambuda, T. D. e Johnson, D. (2004). Breeding systems of invasive alien plants in South Africa: does Baker's rule apply? *Diversity and Distribution* **10**: 409-416.

- Raymond, M. e Rousset, F.(1995). GENEPOP (version 1.2) population genetic software for exact tests and ecumenicism. *Journal of Heredity* **86**: 248-249.
- Rice, W. R. (1989). Analysing tables of statical tests. *Evolution* **43**: 223-225.
- Rocha, O.J. e Aguilar, G. (2001) Variation in the breeding behavior of the dry forest tree *Enterolobium cyclocarpum* (guanacaste) in Costa Rica. *American Journal of Botany* **88**: 1600–1606.
- Rojas, T. (1934) In Missouri Botanical Garden (2007). http://mobot.mobot.org/cgi-bin/search_vast
- Rosseto, M.; Jones, R. e Hunter, J. (2004). Genetic effects of rainforest fragmentation in an early sucessional tree (*Elaeocarpus grandis*). *Heredity* **93**: 610-618.
- Silva, J. M. C e Bates, J. M. (2002). Biogeographic patterns and conservation in the south american cerrado: a tropical savanna hotspot. *Bioscience* **52**: 225-233.
- Soares, J.J.; Silva, D. W. da e Lima, M. I. S. (2003) Current state and projection of the probable original vegetation of the São Carlos region of São Paulo State, Brazil. *Brazilian Journal of Biology* **63**: 527-536.
- Templeton, A. R; Shaw, K.; Routman, E.; Davis, S.K. (1990) The genetic consequences of habitat fragmentation. *Ann. Miss. Bot. Gard.* **77**: 13–27.
- Ward, M.; Dick, C. W.; Gibel, R.; Lemes, M.; Caron, H.; Lowe, A. J. (2005). To self, or not to self... a review of outcrossing and pollen-mediated gene flow in neotropical trees. *Heredity* **95**: 246-254.
- Warming, E. (1973) Lagoa Santa, contribuição para a geografia fitobiológica. In: **Lagoa Santa e a vegetação dos cerrados brasileiros** (Eds. E. Warming & M.G. Ferri), pp. 1-282. Itatiaia, Belo Horizonte e EDUSP, São Paulo, Brasil.
- Weir, B. S. e Cockerham, C. C. (1984). Estimating F-statistics for the analysis of population structure. *Evolution* **38**: 1358-1370.
- White, G.; Boshier, H.; Powell, W. (2002) Increased pollen flow counteracts fragmentation in a tropical dry forest: example from *Swietenia humilis* Zuccarini. *Proceedings of the National Academy of Science* **99**: 2038–2042.
- Wright, S. (1978). **Evolution and the genetics of populations** - vol. 4. *Variability within and among natural populations*. Univ. Chicago Press, Chicago.

Young, A.; Boyle, T. e Brown, T. (1996). The population genetic consequences of habitat fragmentation for plants. *Tree* **11**: 413-418.

Capítulo 2. Efeito da degradação do habitat na variabilidade genética de populações de *Gochnatia pulchra* (Asteraceae)

Joice Machado Bariani, Mário Almeida Neto, Aluana Gonçalves de Abreu, Thomas Michael Lewinsohn e Vera Nisaka Solferini.

RESUMO

A transformação imposta ao cerrado pela interferência humana tem efeitos negativos em populações naturais de plantas, principalmente através de redução do tamanho e aumento do isolamento espacial dessas populações. Além disso, o processo de degradação do habitat facilita a invasão por espécies invasoras, como as gramíneas no cerrado e prejudica as interações das plantas com os polinizadores, as quais têm importante papel na manutenção da variabilidade genética. *Gochnatia pulchra* Cabrera (Asteraceae, Mutisieae) é uma espécie encontrada em densidades relativamente altas em áreas de cerrado com freqüente perturbação antrópica. Os resultados do presente estudo mostram que a degradação e a densidade de indivíduos surtem efeitos negativos sobre a manutenção da variabilidade genética das populações de *G. pulchra*, através de reduções nos valores de heterozigosidade observada (H_o) e número médio de alelos por locus (A). Populações com maiores níveis de degradação e densidade apresentaram também maiores níveis de endogamia.

INTRODUÇÃO

O cerrado é o segundo maior bioma do Brasil, depois da Amazônia, e ocupa 21% do território do país (Klink e Machado, 2005). Constitui-se na maior savana neotropical, com uma área estimada em cerca de 2 milhões de km². Existem pelo menos 7 mil espécies reconhecidas de plantas vasculares, valor superior ao de muitas outras floras mundiais (Mendonça et al., 1998). Considerado um dos mais importantes *hotspots* mundiais (Myers et al., 2000), e com um grau de endemismo que atinge 44% da sua flora, o cerrado é a mais rica savana no mundo (Silva e Bates, 2002). Apesar disso, o cerrado brasileiro é um dos

biomas mais ameaçados (Silva e Bates, 2002). Mais da metade de sua área original foi transformada em pastos, monoculturas e outros usos nos últimos 35 anos (Klink e Machado, 2005). Essa transformação deu-se com um grande custo ambiental resultante dos seguintes processos: fragmentação, perda de biodiversidade, estabelecimento de espécies invasoras, erosão do solo, poluição da água e degradação da terra, mudanças nos regimes de fogo, desbalanço no ciclo do carbono e provavelmente modificação do clima regional (Klink e Machado, 2005). A introdução de eventos de perturbação, dentre eles o fogo em particular, acabam por permitir que espécies invasoras se estabeleçam em grandes áreas após a queima. Entre as plantas invasoras, as gramíneas são especialmente importantes porque podem expandir-se rapidamente e são, freqüentemente, altamente competitivas em relação às plantas nativas. Diversas gramíneas exóticas, trazidas ao Brasil como forrageiras, espalharam-se por grandes extensões, deslocando espécies nativas, graças ao seu grande poder competitivo (Pivello et al., 1999).

Os processos mais comuns que acompanham a interferência humana no cerrado são a fragmentação e a perda de habitat. Teoricamente, a redução do tamanho e o aumento do isolamento espacial das populações em habitats fragmentados levam à erosão da variabilidade genética e aumento da divergência genética interpopulacional através de deriva genética aumentada, endogamia elevada e fluxo gênico interpopulacional reduzido (Young et al., 1996). O aumento do isolamento espacial entre manchas e entre indivíduos leva ao aumento da diferenciação genética das populações (Barret e Kohn, 1991; Ellstrand e Elam, 1993; Slatkin, 1987; Young et al., 1996), devido à redução do fluxo gênico (Lowe et al., 2005). Acompanhando as mudanças na densidade populacional e potencial de dispersão (que podem ser ligadas às conseqüências ecológicas da degradação, como perda de espécies de insetos polinizadores), o aumento da endogamia é uma das conseqüências mais negativas da degradação do habitat (Lowe et al., 2005). Em termos de diversidade genética, para a maioria dos estudos de algumas espécies arbóreas neotropicais examinados por Lowe et al. (2005), não foram verificadas diferenças significativas entre as populações que sofreram o impacto de perda e degradação do habitat e as populações controle. Outros estudos, entretanto, mostram uma diminuição da riqueza alélica em populações impactadas, outros aumento de endogamia, ambos relacionados a diversos fatores (veja Baucom et al., 2005; Rossetto et al., 2004; Murren et al., 2003; Van Rossum e Triest, 2006).

De fato, muitas espécies de plantas tropicais podem ser particularmente vulneráveis à transformação da paisagem resultante da fragmentação, devido às suas baixas densidades e interferências em suas associações com vetores de pólen e semente (Nason et al., 1997). Além disso, os processos de fragmentação e degradação do habitat também levam a mudanças na densidade intrapopulacional (Kwak et al., 1998). Espécies cujas densidades populacionais atinjam níveis consideráveis mesmo em áreas degradadas podem responder de forma diferente no que diz respeito à variabilidade genética de suas populações. *Gochnatia pulchra* Cabrera (Asteraceae, Mutisieae) é uma espécie encontrada em densidades relativamente moderadas ou altas em áreas com freqüente perturbação antrópica (obs. pess.). Assim como outras espécies heliófilas, é comum em áreas de cerrado, onde são capazes de colonizar novas áreas com disponibilidade espacial e luminosidade adequadas à germinação da semente e crescimento de plântulas, originadas em ambientes com perturbações provocadas por fogo e desflorestamento. No entanto, as observações pessoais de que não são encontrados indivíduos da espécie em áreas de cerrado com nível de degradação elevados, exclui a possibilidade da espécie ser considerada oportunista. *Gochnatia pulchra* é comumente encontrada em manchas de tamanho variáveis, dependendo do nível de cobertura do dossel das áreas de cerrado.

Estudos ecológicos e genéticos de populações são complementares e existem algumas questões de biologia da conservação que só podem ser avaliadas por meio de estudos detalhados de genética de populações (Avise, 2001). A análise genética de populações, quando aliada a dados de demografia e de qualidade do habitat da espécie responde a questões importantes sobre os mecanismos que ameaçam a manutenção de populações em ecossistemas fragmentados. A literatura de isoenzimas provê uma rica fonte de dados com o qual podemos examinar hipóteses sobre níveis e distribuição de diversidade genética em espécies de plantas (Hamrick e Godt, 2001). Informações sobre variabilidade genética, taxas de endogamia e de fluxo gênico de populações podem ser eficientemente reunidas pelo uso desses marcadores moleculares. Assim, constitui-se em um marcador interessante para interpretações sobre a organização da diversidade genética de populações de plantas e sua relação com a degradação do habitat.

OBJETIVO

O objetivo deste estudo foi analisar o efeito da degradação do habitat sobre a variabilidade genética de populações de *Gochnatia pulchra*.

MATERIAL E METODOLOGIA

Espécie e local de estudo

Gochnatia pulchra é uma espécie arbustiva perene, endêmica do cerrado brasileiro (SEMIR, J. com. pess.). Segundo a revisão do gênero, as inflorescências da espécie apresentam ginodioiccia, como a maioria das espécies de *Gochnatia* sect. *Hedraiophyllum* (Freire et al., 2002). Apresentam-se dispostas em forma de capítulos homógamos, solitários e de coloração amarelo-pardo, característicos do gênero *Gochnatia* (Kim et al., 2002). Os aquênios pubescentes são, possivelmente, dispersos a longas distâncias devido ao *pappus* plumoso. Moscas são visitantes florais dos capítulos devido ao forte odor e podem assim atuar como potenciais polinizadores (obs. pessoais). A revisão filogenética da família Asteraceae (Ferrer e Good-Avila, 2007) indica que auto-compatibilidade é disseminada entre a tribo Mutisieae, sendo possivelmente a forma ancestral. No entanto, em alguns casos, ocorre o sistema de auto-incompatibilidade, sendo portanto considerado derivado. Acredita-se que também *Gochnatia pulchra* possa ser auto-compatível e capaz de gerar sementes viáveis por autopolinização, devido a homogamia e hermafroditismo das inflorescências.

Foram estudadas 6 populações coletadas em fragmentos de cerrado localizados em dois municípios, Ibaté e Itirapina (Estado de São Paulo). O clima da região é caracterizado pela transição entre tropical quente com inverno seco e tropical com verão seco e inverno úmido (Embrapa – CCPSE, 1999), sendo classificado como CWA segundo Köopfer (1948). O tamanho das áreas varia de 7 a 60 hectares e distam entre si de menos de 1 km a 30 km. Os locais foram selecionados para que fosse obtido um gradiente de nível de degradação no conjunto de áreas amostradas.

Coleta de material e análise genética

Foram coletadas folhas de 30 a 45 indivíduos em cada fragmento de cerrado, que foram em seguida individualizadas e envolvidas em papel filme plástico. As folhas foram, então, congeladas em nitrogênio líquido e nele mantidas até o momento da aplicação da metodologia. De cada local de coleta foi retirada uma exsicata para que fosse depositada no Herbário da UEC (Departamento de Botânica, IB, Universidade Estadual de Campinas).

O tecido foliar foi macerado numa quantidade variável de 80 a 100 μ L de tampão de extração de Tris-HCl 0,1M pH 7,0, contendo sacarose 0,2M, 0,6% PVP, EDTA 1mM, albumina bovina 0,15%, DIECA 0,06M, Bórax 0,03M, com o acréscimo de 0,1% v/v de 2-mercaptoetanol. Duas tiras de papel filtro Whatman nº 3 foram usados para absorver o extrato e para aplicação nos géis de amido Sigma com 1 cm de espessura, concentração de 8,5%. Para a eletroforese dos géis, foram empregados 2 sistemas eletrodo-tampão: **1)** eletrodo: LiOH 10 mM, H₃BO₃ 90 mM e EDTA 3 mM, pH 8,0 e a mesma solução do eletrodo diluída 1:10 para o gel, sendo a eletroforese submetida a 15 mA/4 hs. **2)** eletrodo: H₃BO₃ 0,3 M, NaOH 60 mM e HCl até pH 8,0; gel: Tris 10 mM e HCl até pH 8,5 e a eletroforese a 65V/4 hs. No sistema 1 foram reveladas as enzimas: Diaforase – DIA (1.8.1.4), Glutamato oxaloacetato transaminase – GOT (2.6.1.1), Fosfatase ácida - ACPH (3.1.3.2) e Peptidase - PEP (3.4.13). No sistema 2 foram reveladas as enzimas Fosfoglicoisomerase – PGI (5.3.1.9), Fosfoglicomutase – PGM (2.7.5.1), Leucina aminopeptidase – LAP (3.4.11.1), Fosfatase alcalina – ALP (3.1.3.1), Desidrogenase Isocítrica – IDH (1.1.1.42).

Ao final das corridas de géis, as frequências alélicas foram avaliadas pela leitura direta dos mesmos. A seguir, os géis foram diafanizados em solução de glicerina-etanol a 5% para efeito de documentação.

As estimativas de variabilidade genética (heterozigosidades observada e esperada, número médio de alelos por loco) foram calculadas no programa Genetix 4.03 (Belkhir et al, 2000). O cálculo do F_{IS} foi feito pelo estimador f (Weir e Cokerham, 1984), com 1000 permutações para verificação do nível de significância dos valores obtidos para as populações (IC 95%), no mesmo programa.

Coleta e análise de dados das áreas

As estimativas de nível de degradação e de densidade de indivíduos foram realizadas pela amostragem de cada fragmento em três períodos: Abril/Maio, Agosto/Setembro e Janeiro/Fevereiro. Tais períodos correspondem aos picos de floração da tribo Mutisieae, e de mais outras quatro tribos, consituindo as mais representativas dentro da família Asteraceae nos cerrados brasileiros (Almeida-Neto 2006). Para estimar a densidade de *G. pulchra*, foi realizada a contagem do número de indivíduos em floração/frutificação (para efeito de padronização, desejando-se obter a densidade de adultos reprodutivos) em 15 transectos de 30x5m em cada um dos períodos. A posição dos transectos nas áreas foi determinada por meio de sorteio de duas coordenadas: a posição ao longo da borda dos fragmentos, com um espaçamento mínimo de 10m entre dois transectos consecutivos, e a posição de início dos transectos, perpendicular à borda, variando de 5 a 55m.

Estimativa do nível de degradação

Uma medida direta do nível de degradação de um habitat só é possível através de manipulações experimentais, nas quais a frequência, intensidade, área e histórico de fatores de perturbação sejam diretamente controlados (ex. McCabe & Gotelli, 2000). Tendo em vista que o nível de perturbação de uma área é consequência de vários processos simultâneos, torna-se impossível a obtenção de uma medida única e direta da degradação em um ambiente natural em estudos observacionais. Assim, uma solução comumente aplicada por diversos autores em estudos em que se deseja medir o nível de degradação em habitats naturais é o uso de um ou mais parâmetros como medidas indiretas do nível de degradação, tais como densidade de gado (Cagnolo et al., 2002), fogo (Hoffmann, 1996) e densidade de gramíneas invasoras ou de espécies pioneiras (de Pietri, 1992, Molino e Sabatier, 2001). Gigord et al. (1999), por sua vez, utilizou como medidas do nível de perturbação a densidade e a riqueza de espécies introduzidas para avaliar os impactos na diversidade genética de *Dombeya acutangula*. Baseado na hipótese testada e amplamente aceita de que a perturbação aumenta a invasibilidade do habitat (Fox e Fox, 1996, Hobbs e Huenneke, 1992; D'Antonio e Vistousek, 1992), utilizamos em nosso estudo a porcentagem

de cobertura de 5 gramíneas africanas, *Andropogon guyanus* Kunth, *Brachiaria decumbens* Stapf, *Hyparrhenia rufa* (Ness) Stapf, *Melinis minutiflora* Beauvois, e *Panicum maximum* Jacq, como uma medida indireta do nível de degradação das áreas estudadas. Para cada transecto, foram criadas cinco classes de porcentagem: 0) 0 %, 1) 1 a 25 %; 2) 25 a 50 %; 3) 50 a 75 %, e 4) 75 a 100 %. Utilizamos, como uma medida indireta (“surrogate”) de degradação, o valor médio para cada área, baseado em 45 transectos.

Análise de correlações entre as estimativas

Foram examinadas as correlações da degradação e de densidade de plantas com nível de endogamia, utilizando o índice de fixação (f), heterozigosidade observada (H_o), heterozigosidade esperada (H_e) e número médio de alelos por *locus* (A). Nossas expectativas eram a de que o nível de degradação afetasse negativamente a manutenção da variabilidade genética, enquanto a densidade de plantas tivesse efeito positivo sobre a mesma.

A distribuição dos valores de f , H_o , H_e e A dados foram testados quanto à normalidade pelo teste de Shapiro e Wilk (1965). Usamos o coeficiente de Pearson para avaliar o grau de correlação do nível de degradação e da densidade populacional com f , H_o , H_e e A . Em função do pequeno tamanho amostral ($n = 6$), optou-se por avaliar a significância das correlações através de testes de reamostragem com 10000 permutações no programa Resampling Stats (Blank et al.. 2001).

RESULTADOS

O nível de degradação variou de 1,0 a 4,58, nem intervalo de valores de 1 a 5. A área com menor nível de degradação foi Agrocere, enquanto UBA apresentou o maior nível de degradação (Tabela 1).

Tabela 1. Nível de degradação das áreas de cerrado e densidade populacional da espécie *G. pulchra*.

* área total correspondente a todos os transectos

Área	Nível de degradação	Densidade (ind/2250m ² *)
<i>Agroceres</i>	1,0	9
<i>Graúna</i>	2,8	57
<i>Linha de Ferro</i>	3,2	86
<i>Ibaté</i>	3,8	72
<i>Pato</i>	4,2	38
<i>UBA</i>	4,6	97

Variabilidade genética

As populações analisadas apresentam baixos níveis de variabilidade genética (Tabela 2). Os valores de heterozigosidade esperada (H_e) e observada (H_o) variaram, respectivamente, de 0,142 a 0,191 e de 0,012 a 0,077, sendo considerados muito baixos. Foi verificada deficiência de heterozigotos em relação ao esperado pelo equilíbrio de Hardy-Weinberg e todas as populações apresentaram desvios significativos ao equilíbrio ($p < 0,05$). Os valores de f (0,645-0,965) foram altos e significativos (IC 95%) e o número médio de alelos por *locus* variou entre as populações de 1,1 a 2,0. As populações mostraram heterogenidade nos níveis de polimorfismo, que variaram de 44% de *loci* polimórficos para a população Linha de Ferro a 77,8% na população Ibaté (Tabela 2).

Tabela 2. Estimativas de variabilidade genética nas populações. **N** tamanho amostral, **H_e** heterozigosidade esperada, **H_o** heterozigosidade observada, **P** porcentagem de *loci* polimórficos, **A** número médio de alelos por *locus*, **f** índice de fixação.

População	N	H_e	H_o	P	A	f
<i>Graúna</i>	31	0,191	0,040	0,778	2,0	0,803
<i>Ibaté</i>	35	0,253	0,012	0,667	1,8	0,954
<i>Agroceres</i>	33	0,209	0,077	0,667	2,0	0,645
<i>Linha Ferro</i>	45	0,142	0,037	0,444	1,8	0,741
<i>Pato</i>	28	0,217	0,031	0,556	1,1	0,863
<i>UBA</i>	38	0,162	0,006	0,556	1,7	0,965

O nível de degradação apresentou correlação significativa com os valores de f , A e H_o , mas com efeitos diferentes (Figura 1). O índice de fixação (f) aumenta em populações de áreas mais degradadas ($r = 0,888$, $p = 0,027$). Por outro lado, tanto a riqueza alélica (A) quanto o nível de heterozigosidade observada são menores nas populações de áreas onde o nível de degradação é maior (A: $r = -0,747$, $p = 0,045$; H_o : $r = -0,939$, $p < 0,0001$; Figura 1).

Não foram detectadas correlações significativas entre o nível de degradação e valores de heterozigosidade esperada (H_e) ($r = -0,07$, $p = 0,440$).

As populações com maior densidade apresentaram menores valores para H_o ($r = -0,826$; $p = 0,029$) e A ($r = -0,845$; $p = 0,024$) enquanto a correlação entre densidade e f foi positiva, mas não significativa ($r = 0,640$, $p = 0,09$) (Figura 1). A densidade também não apresentou efeito significativo sobre H_e ($r = -0,476$, $p = 0,175$).

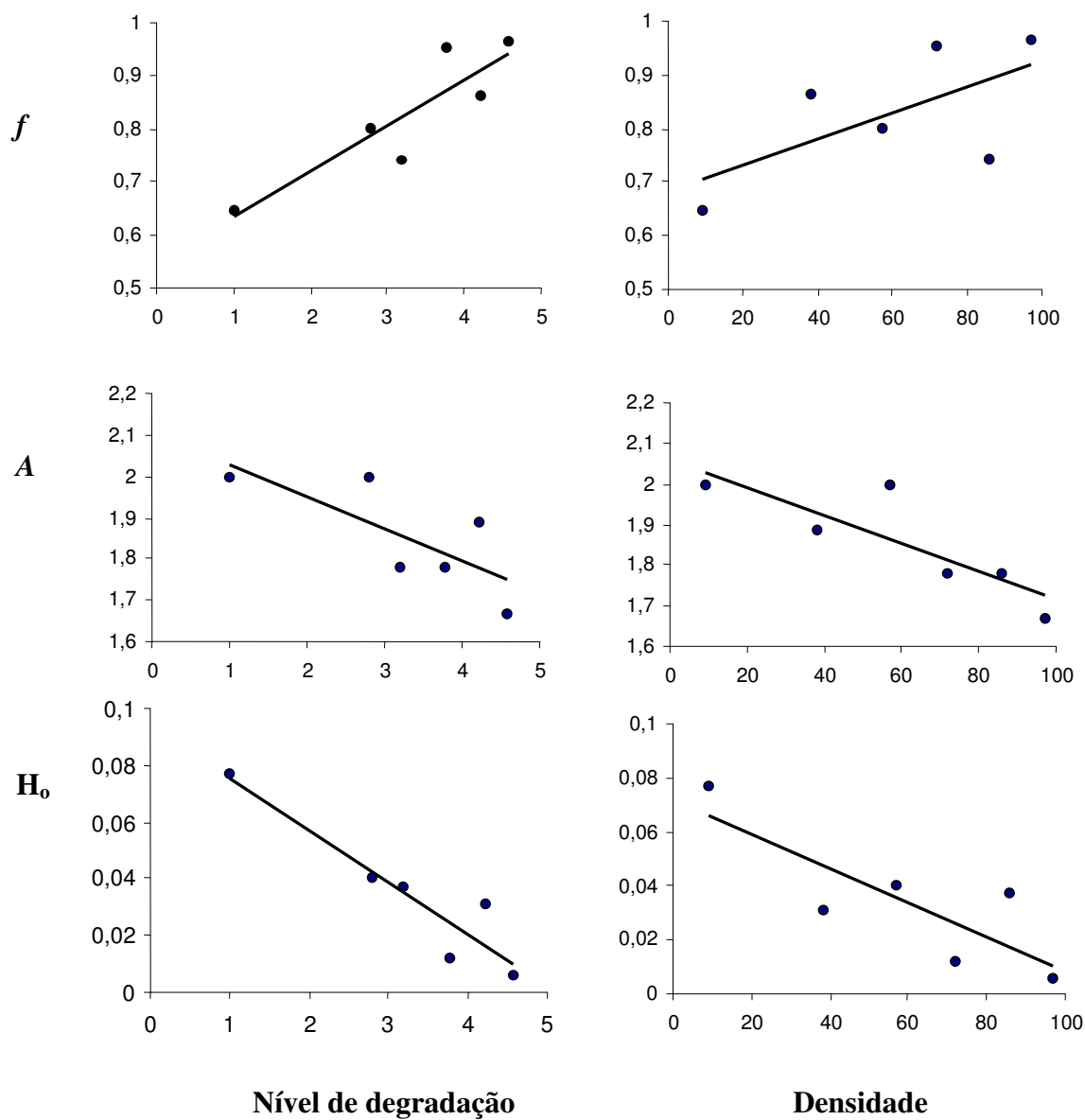


Figura 1. Correlações do nível de degradação do fragmento e da densidade da espécie com os valores de índice de fixação (f), número médio de alelos por *locus* (A) e heterozigosidade observada (H_0).

DISCUSSÃO

Os resultados deste estudo mostram que há uma forte relação entre o nível de degradação das áreas de cerrado e o nível de variabilidade genética das populações de *Gochnatia pulchra*. Além disso, como pode ser visto pelo índice de fixação, a endogamia aumenta em níveis de degradação maiores. Portanto, a perda de variabilidade pode resultar da perda de heterozigotos na população e da perda de alelos, combinadas com características espaciais que facilitem, por exemplo, a ocorrência de cruzamento entre indivíduos aparentados nas populações, resultando também em altos níveis de endogamia.

A perda de número médio de alelos por *locus* (A) é uma das conseqüências mais evidentes em populações de plantas sujeitas à fragmentação, assim como baixos níveis de heterozigosidade observada (H_o) (Baucom et al., 2005). Deriva genética, reduções no tamanho populacional e efeito fundador são apontadas como fatores principais na perda de variabilidade (revisão em Lowe et al., 2005). No entanto, também a ocorrência de perturbação no ambiente das populações tem sido indicada como fator relevante para baixos níveis de variabilidade genética encontrados em populações de plantas de diversos ambientes e taxa (Rosseto et al., 2004; Uchiyama et al., 2006; Baucom et al., 2005) e para altos níveis de endogamia (Murren, 2003). Para populações de *Swietenia macrophylla*, dentre vários fatores testados, apenas a intensidade de perturbação, definida como a intensidade de desmatamento, apresentou correlação significativa com um decréscimo na diversidade genética (Gillies et al., 1999). Assim, para esta espécie, a perturbação antrópica pode desempenhar papel importante para baixos níveis de diversidade das populações.

Os valores de índice de fixação (f) encontrados nas populações deste estudo, considerados muito altos e significativos, são semelhantes aos valores encontrados para algumas espécies de plantas autocompatíveis, tais como *Avena barabata* e *A. fatua*, *Bromus mollis*, *Hordeum spontaneum* e *H. jubatum*, *Phlox cuspidata* e *Lycopersicon pimpinellifolium* (revisão em Brown, 1984). Em populações andinas de *Chaetanthera euphrasioides* (Asteraceae), foram observados altos níveis de autocompatibilidade, igualmente alto potencial autógamo, baixa diversidade genética e níveis de índice de fixação altos e similares entre as populações. Para esta espécie, foi sugerido que altos níveis de F_{IS} podem estar relacionados, pelo menos em parte, à dispersão limitada das sementes,

visto que os aquênios perdem seu *pappus* logo após a dispersão, além da própria capacidade de autofecundação (Arroyo et al., 2006). Para a espécie *G. pulchra*, no entanto, há expectativa de uma dispersão eficiente da semente, baseada nas características morfológicas dos aquênios, que apresentam um *pappus* plumoso.

Em ambientes ricos em polinizadores, o serviço de forrageamento torna-se especializado, como resultado de intensa competição de plantas por este recurso (Motten, 1986). Em ambientes degradados, que são relativamente menos atraentes aos polinizadores, é possível que ocorra um comportamento recorrente do polinizador na mesma inflorescência, mesmo indivíduo ou mancha. Aliado a isso, entre as plantas que ocupam áreas recentemente ou intensamente perturbadas, a reprodução cruzada obrigatória ou sistemas de cruzamento que requerem animais polinizadores ocorrem com menor frequência que entre as plantas de áreas não-perturbadas (Feinsinger et al., 1987). Todos esses dados aumentam as expectativas de ocorrência de endogamia nas populações de *Gochnatia pulchra*. Para essa espécie ainda não foi descrito o sistema reprodutivo e não existe informação sobre as espécies que atuam como polinizadores. As sugestões existentes são baseadas em observações pessoais durante as visitas no campo.

Os altos níveis de endogamia encontrados nas populações de *G. pulchra* podem estar decorrentes tanto de características reprodutivas da espécie quanto de eventos de perturbação que ocorrem nessas áreas, interferindo na polinização, na distribuição espacial de indivíduos e na dispersão das sementes. A correlação positiva significativa entre os valores de f e os níveis de degradação é um forte indício de que a degradação influencia negativamente a manutenção da variabilidade genética das populações, visto que baixos valores de heterozigosidade observada (H_o) também estão relacionados aos valores de f estimados. O fogo em particular pode ser um fator importante na dinâmica das populações de *Gochnatia pulchra* dessas áreas.

O fogo afeta simultaneamente a produção de sementes, estabelecimentos de plântulas reprodução vegetativa, sobrevivência e crescimento. A alta frequência de fogo constitui-se num sério impedimento à reprodução sexual. Se uma espécie não possui adaptações para proteger sementes, a reprodução dos indivíduos depende de indivíduos que estejam em tamanho capaz de tolerar fogo e com flores em períodos entre queimas (Hoffman e Moreira, 2002). Caso isso não ocorra, a reprodução fica comprometida e o

recrutamento de novos indivíduos para a próxima geração diminuído, podendo representar um evento de redução populacional drástica. Além disso, o fogo também apresenta impactos negativos na produção de sementes e frutos. Hoffmann (1998) observou que frutos e sementes de 6 espécies foram danificados por um evento de fogo ao final de um período bienal de estação seca, com impacto negativo na reprodução sexual e 5 dessas espécies tiveram redução geral na produção de sementes nos anos seguintes ao evento de fogo.

Embora exista uma relação positiva entre o tamanho populacional, variabilidade genética e valor adaptativo (Leimu et al., 2006), indicativa de que reduções no tamanho populacional levam à diminuição da variabilidade genética, a densidade de indivíduos de *Gochnatia pulchra* não apresentou efeito positivo sobre a variabilidade genética das populações. Pelo contrário, a densidade teve um efeito negativo pronunciado, levando a maiores níveis de endogamia e menor riqueza de alelos na população. Portanto, o nível de degradação e a densidade apresentam efeitos semelhantes quanto à manutenção de variabilidade genética na população. Isso pode ser estar relacionado à eficiência da dispersão da semente e ao comportamento do polinizador. Em altas densidades de plantas, os polinizadores devem ser induzidos a visitar vários indivíduos proximamente localizados, devido ao fato de que maior disponibilidade de recursos estão sendo oferecidos numa escala espacial mais restrita, em relação ao que ocorre em menores densidades. Em áreas de menor densidade, em que menor número de indivíduos por metro quadrado estão disponíveis para visitação, maior número de indivíduos distantes entre si ter o de ser visitados. Com isso, espera-se menores níveis de endogamia. Por outro lado, maiores densidades levariam a um aumento dos valores de f , visto que mais indivíduos de planta por unidade espacial são disponíveis   visita o pelo polinizador.

Com rela o   dispersão das sementes, indivíduos de planta próximos ter o maior grau de parentesco se a dispersão das sementes estiver sendo limitada. Aliado ao comportamento recorrente do polinizador discutido acima, a dificuldade na dispersão. Em algumas espécies em que a perda mais rápida de alelos raros ocorre em altas densidades, foi detectado aumento da endogamia biparental, possivelmente decorrente da combina o de dispersão limitada das sementes e mudança do comportamento do polinizador de acordo com a densidade de plantas (Heywood, 1991; Van Rossum et al., 2004). Em *Primula*

elator, uma espécie de Asteraceae, o aumento da endogamia biparental foi verificado em altas densidades de plantas (Van Rossum et al., 2002, 2006).

LITERATURA CITADA

- Arroyo, M. T. K.; Muñoz, M. S.; Henríquez, C. e Till-Bottraud; I. (2006) Erratic pollination, high selfing levels and their correlates and consequences in an altitudinally widespread above-tree-line species in the high Andes of Chile. *Acta Oecologica* **30**: 248- 257.
- Barrett, S. C.e Kohn, J. R. (1991). Genetic and evolutionary consequences of small population size in plants: implications for conservation. In: Falk DA, Holsinger KE (eds) **Genetics and Conservation of Rare Plants**. Oxford University Press: Oxford. pp 3–30.
- Baucom, R. S.; Estill, J. C. e Cruzan, M. B. (2005) The effect of deforestation on the genetic diversity and structure in *Acer saccharum* (Marsh): Evidence for the loss and restructuring of genetic variation ina a natural system. *Conservation Genetics* **6**: 39-50.
- Belkhir, K. Borsa, P.; Chikhi, L.; Raufaste, N.; Bonhomme, F. (2000) **GENETIX, logiciel sous WindowsTM pour la génétique des populations**. Laboratoire Génome, Populations, Interactions, CNRS UMR 5000, Université de Montpellier II, Montpellier (France).
- Blank, S., C. Seiter e P. Bruce (2001) **Resampling Stats in Excel** - Version 2. Arlington, VA: Resampling Stats, Inc.
- Cagnolo, L., Molina, S. I. e Valladares, G. R. (2002) Diversity and guild structure of insect assemblages under grazing and exclusion regimes in a montane grassland from Central Argentina. *Biodiversity and Conservation* **11**: 407-420.
- D'Antonio, C. M. e Vitousek, P. M. (1992) Biological invasions by alien grasses, the grass/fire cycle and global change. *Annual Review of Ecology and Systematics*, **23**: 63-87.

- De Pietri, D. E. (1992). The search for ecological indicators: is it possible to biomonitor forest systems degradation caused by cattle ranching activities in Argentina? *Vegetatio* **101**: 109-121.
- Ellstrand, N. C. e Elam, D. R. (1993). Population genetic consequences of small population size: implications for plant conservation. *Annual Review of Ecology and Systematics* **24**: 217-242.
- EMBRAPA-CPPSE (1999) **Microbacia hidrográfica do Ribeirão Cachim: um modelo real de laboratório ambiental**. Boletim de Pesquisa 5. Embrapa Pecuária Sudeste, São Carlos.
- Feisinger, P.; Beach, J. H.; Linhart, Y. B.; Busby, W. H. ; Murray, G. K. (1987). Disturbance, Pollinator Predictability, and Pollination Success Among Costa Rican Cloud Forest Plants. *Ecology* **68**: 1294-1305.
- Fox, M.D. & Fox, B.J. (1986) The susceptibility of natural communities to invasion. In: **Ecology of biological invasions** (Eds. R.H. Groves e J.J. Burdon), pp. 57-66. Cambridge University Press, Cambridge, UK.
- Freire, S. E.; Katinas, L. e Sancho, G. (2002). *Gochnatia* (Asteraceae, Mutisieae) and the *Gochnatia* complex: taxonomic implications from morphology. *Annals of the Missouri Botanical Garden* **89**: 524-550.
- Gigord, L.; Picot, F.; Shyko, J. A. (1999). Effects of habitat fragmentation on *Dombeya acutangula* (Sterculiaceae), a native tree on La Réunion (Indian Ocean). *Biological Conservation* **88**: 43-51.
- Hamrick, J. L. e Godt, M. J. W. (2001). Conservation genetics of endemic plant species. In: **Conservation Genetics: case histories from nature**. (Eds H Avise e J. L Hamrick). Chapman & Hall. 512 p.
- Heywood, J. S. (1991). Spatial analysis of genetic variation in plant populations. *Annual Review of Ecology and Systematics* **22**: 335-355.
- Hobbs, R.J. e Huenneke, L.F. (1992) Disturbance, diversity and invasion: implications for conservation. *Conservation Biology* **6**: 324-337.
- Hoffmann, W.A. (1996) The effects of fire and cover on seedling establishment in a neotropical savanna. *Journal of Ecology* **84**: 383-393.

- Hoffman, W. A. (1998) Post-burn reproduction of woody plants in a neotropical savanna: the relative importance of sexual and vegetative reproduction. *Journal of Applied Ecology* **35**: 422-433.
- Hoffman, W. A. e Moreira, A. G. (2002). The role of fire in population dynamics of woody plants. In: (Eds. P. S. Oliveira e R. J. Marquis). **The cerrados os Brazil: Ecology and Natural History of a Neotropical Savanna**. pp 51-68. Columbia University Press, New York.
- Kim, H.-G., Loockerman, D. J. e Jansen, R. K. (2002) Systematic implications of *ndhF* sequence variation in the Mutisieae (Asteraceae). *Systematic Botany* **27**: 598-609.
- Klink, C. A. e Machado, R. B. (2005) Conservation of the brazilian cerrado. *Conservation Biology* **19**: 707-713.
- Köppen, W. (1948) **Climatologia**. Fondo de Cultura Económica, Mexico.
- Kwak, M. M., Velterop, O. e Van Andel, J. (1998) Pollen and gene flow in fragmented habitats. *Applied Vegetation Science* **1**: 37-54.
- Leimu, R.; Mutikainen, P.; Koricheva, J. e Fischer, M. (2006). How general are positive relationships between plant population size, fitness and genetic variation? *Journal of Ecology* **94**: 942-952.
- Mendonça, R.; Felfili, J.; Walter, B.; Silva Jr, J. C.; Rezende, A.; Filgueiras, T. e Nogueira, P. (1998) Flora vascular do Cerrado. pg 288-556. In (Eds S. Sano e S. Almeida). **Cerrado. Ambiente e flora**. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – Cerrados, Planaltina, Brasil
- Molino, J-F. e Sabatier, D. (2001) Tree diversity in tropical rain forests: A validation of the intermediate disturbance hypothesis. *Science* **294**: 1702-1704.
- Motten, A. F. (1986). Pollination ecology of the spring wild-flower community of a temperate deciduous forest. *Ecology Monographs* **56**: 21-42.
- Murren, C. J. (2003) Spatial and demographic population genetic structure in *Catasetum viridiflavum* across a human-disturbed habitat. *Journal of Evolutionary Biology* **16**: 333-342.
- Myers, N.; Mittermeier, R. A.; Mittermeier, C. G. ; da Fonseca, G. A. B. e Kent, J. (2000) Biodiversity hotspots for conservation priorities. *Nature* **403**: 853-858.

- Nason, J. D. e Hamrick, J. L. (1997) Reproductive and genetic consequences of forest fragmentation : two case studies of neotropical canopy trees. *Heredity* **88**: 264–276.
- Pivello, V.R., Shida, C. N. e Meirelles, S. T. (1999) Alien grasses in Brazilian savannas, a threat to the biodiversity. *Biodiversity and Conservation* **8**: 1281-1294.
- Rojas, T. (1934) *In* Missouri Botanical Garden (2007). http://mobot.mobot.org/cgi-bin/search_vast
- Rosseto, M.; Jones, R. e Hunter, J. (2004) Genetic effects of rainforest fragmentation in an early sucessional tree (*Elaeocarpus grandis*). *Heredity* **93**: 610-618.
- Shapiro, S. S. eWilk, M. B. (1965) An analysis of variance test for normality (complete samples) *Biometrika*, **52**:591-611.
- Silva, J. M. C e Bates, J. M. (2002) Biogeographic patterns and conservation in the south american cerrado: a tropical savanna hostpot. *Bioscience* **52**: 225-233.
- Slatkin, M. (1987) Gene flow and the geographic structure of natural populations. *Science* **236**: 787-792.
- Soares, J.J., Silva, D.W. & Lima, M.I.S. (2003) Current state and projection of the probable original vegetation of the São Carlos region of São Paulo state, Brazil. *Brazilian Journal of Biology* **63**: 527-536.
- Van Rossum, F.; Echchgadda, G.; Szabadi, I. e Triest, L. (2002. Commonness and long-term survival in fragmented habitats: *Primula elatior* as a study case. *Conservation Biology* **16**: 1286-1295.
- Van Rossum, F.; Campos de Sousa, S. e Triest, L. (2004) Genetic consequences of habitat fragmentation in an agricultural landscape on the common *Primula veris*, and comparison with its rare congener, *P. vulgaris*. *Conservation Genetics* **5**: 231-245.
- Van Rossum, F. e Triest, L. (2006) Fine-scale genetic structure of the common *Primula elatior* (Primulaceae) at an early stage of population fragmentation. *American Journal of Botany* **93**: 1281-1288.
- Weir,R, B. S. & Cockerham, C. C. (1984) Estimating F-statistics for the analysis of population structure. *Evolution* **38**: 1358-1370.
- Young, A.; Boyle, T. e Brown, T. (1996) The population genetic consequences of habitat fragmentation for plants. *Tree* **11**: 413-418.

CONSIDERAÇÕES E CONCLUSÕES GERAIS

Os objetivos de qualquer programa de conservação devem incluir a sobrevivência a longo prazo de espécies e a manutenção de processos ecológicos e evolutivos. Ambos requerem a preservação da diversidade genética (Hamrick e Godt, 2001). A fragmentação do habitat produz uma vasta gama de efeitos em várias escalas espaciais e níveis de organização biológica. É capaz de alterar diferentes processos ecológicos, padrão de cobertura vegetal em paisagens e influenciar tanto as espécies individuais como os taxa (Lindenmayer e Fischer, 2007). Os efeitos da fragmentação e degradação do habitat de espécies de plantas têm sido, mais recentemente, um tema freqüentemente abordado na literatura de genética de populações. No entanto, uma abordagem integrada de dados ecológicos e genéticos de populações raramente encontra-se bem articulada, a despeito de sua importância para a conservação das espécies vegetais.

A análise genética de populações de *Gochnatia pulchra* permitiu interpretações sobre os aspectos evolutivos que acompanham o processo de fragmentação e degradação do habitat da espécie. Como resultado, foram observados baixos níveis de variabilidade genética nas oito populações e altos níveis de endogamia. Os valores baixos de heterozigosidade observada, comuns a todas as populações, são semelhantes aos encontrados em espécies de habitat fragmentado. Os resultados indicam possibilidade de autofecundação em *G. pulchra*.

As estimativas apontaram um fluxo gênico limitado entre as populações, com estruturação genética moderada mesmo em escala espacial correspondendo a distâncias aproximadas de 1 a 30Km. O padrão de diferenciação genética entre as populações é consistente com isolamento por distância tanto em escala local quanto em escala regional.

O estudo correspondente ao Capítulo 2 permitiu avaliar os impactos da degradação do habitat na variabilidade genética da espécie. Os principais resultados mostram que tanto a degradação quanto a densidade têm efeito negativo sobre a variabilidade genética de *G. pulchra*. Maiores níveis de endogamia são observados em populações de fragmentos mais degradados, indicando processos que resultam em cruzamentos de indivíduos aparentados e em autopolinização. De forma semelhante, efeito negativo da densidade de indivíduos sobre a variabilidade genética foi verificado, contrariamente às previsões

teóricas baseadas em grandes tamanhos populacionais. Populações nas quais foram estimados os maiores valores de densidade de plantas correspondem àquelas em que foram verificados menores valores de heterozigosidade e maiores níveis de endogamia.

Os resultados aqui apresentados indicam que, embora a degradação possa facilitar a existência de altas densidades populacionais para a espécie, tais populações apresentam-se empobrecidas em termos de variabilidade genética. Tal observação deve ser levada em conta na elaboração de estratégias de manejo e conservação de espécies que, como *G. pulchra*, são comuns de áreas degradadas. A degradação, tida como um processo independente, pode desempenhar papel determinante na manutenção de populações endêmicas de áreas de cerrado, através de influências negativas na disponibilidade de polinizadores, no estabelecimento de novos indivíduos e na prevalência destes na população.

LITERATURA CITADA

- Hamrick, J. L. e Godt, M. J. W. (2001). Conservation genetics of endemic plant species. In: **Conservation Genetics: case histories from nature.** (Eds. H. Avise e J. L. Hamrick). Chapman & Hall. 512 p.
- Lindenmayer, D. B. e Fischer, J. (2007). Tackling the habitat fragmentation pantheon. *Trends in Ecology and Evolution* **22**: 127-132.