

Conservação genética de populações de *Cryptocarya moschata* Nees (Lauraceae) na Mata Atlântica do estado de São Paulo¹

PEDRO LUÍS RODRIGUES DE MORAES^{2,4}, REINALDO MONTEIRO² e ROLAND VENCOSKY³

(recebido em 06/11/98; aceito em 07/04/99)

ABSTRACT - (Genetic conservation of populations of *Cryptocarya moschata* Nees (Lauraceae) in the Atlantic Rain Forest of the State of São Paulo). This paper was aimed at studying the genetic structure of populations of *Cryptocarya moschata* and proposing conservation strategies for the species. Allozyme data of 18 polymorphic loci were collected from 214 trees sampled from four natural populations located in two regions of the State of São Paulo, Brazil. Estimates of Wright's F statistics were computed on the basis of observed and expected heterozygosities. The analysis of variance, pooled over loci and alleles, was also used to compare corresponding estimates of $F (= F_{IT})$, $\theta_p (= F_{ST})$ and $f (= F_{IS})$. Both methods provided similar results with $\hat{F}_{IT} = 0.142$, $\hat{F}_{ST} = 0.140$, $\hat{F}_{IS} = 0.002$ and $\hat{F} = 0.116$, $\hat{\theta}_p = 0.123$ and $\hat{f} = -0.008$. Results indicated that individuals within populations are probably panmictic. Diversity among populations was very high, similar to what would be expected for groups of plants with a half-sib family structure. Estimates of $\hat{\theta}_p$, obtained for populations taken two at a time, indicated that diversity tended to increase with distance and suggested that isolation by distance is a factor to be considered. An estimated gene flow of 0.9 migrants per generation corroborated to the pronounced divergence found among populations. Due to the negligible $\hat{f} \cong \hat{F}_{IS}$ value found, the variance effective size for each population is equivalent to its sampling number. In this case, management and conservation strategies aimed at preserving high intrapopulation genetic variation, will imply in the maintenance of large populations. In addition, due to the relatively large divergence detected among populations, the preservation of the species as a whole will also require the maintenance of many such populations.

RESUMO - (Conservação genética de populações de *Cryptocarya moschata* Nees (Lauraceae) na Mata Atlântica do estado de São Paulo). Através da análise de 18 locos isoenzimáticos polimórficos, foram estimadas as frequências alélicas referentes a 214 indivíduos adultos de quatro populações naturais de *Cryptocarya moschata* de duas regiões do estado de São Paulo. Com base nas heterozigosidades observadas e esperadas, foram obtidas estimativas das estatísticas F de Wright. Para fins de comparação, utilizou-se também o método da análise da variância para estimação dos parâmetros correspondentes $F = F_{IT}$, $\theta_p = F_{ST}$ e $f = F_{IS}$. Os dois métodos forneceram resultados bastante concordantes: $\hat{F}_{IT} = 0,142$; $\hat{F}_{ST} = 0,140$; $\hat{F}_{IS} = 0,002$ e $\hat{F} = 0,116$; $\hat{\theta}_p = 0,123$ e $\hat{f} = -0,008$, indicando que os indivíduos dentro das populações devem ser panmíticos e que a diversidade entre populações é bastante alta, sendo similar à que se espera para famílias com estruturação de meios-irmãos. Calculando $\hat{\theta}_p$ com as populações tomadas duas a duas, notou-se tendência de $\hat{\theta}_p$ crescer com a distância geográfica o que sugere tendência de isolamento pela distância. O fluxo gênico foi estimado em 0,9 indivíduos por geração, o que corrobora a pronunciada diferenciação populacional encontrada. Devido ao valor negligível encontrado de $\hat{f} \cong \hat{F}_{IS}$, o tamanho efetivo de variância de cada população é equivalente ao número de indivíduos amostrados. As estratégias de manejo e conservação necessárias para a preservação da alta variabilidade genética intrapopulacional de *C. moschata* implicam na manutenção de populações com número grande de indivíduos. Além disso, para a preservação da espécie como um todo, a manutenção de muitas populações provavelmente é necessária.

Key words - Genetic structure, effective population size, gene flow, *Cryptocarya moschata*

Introdução

Existe uma concordância geral de que as reservas e os parques florestais tropicais deveriam ser estabelecidos e manejados de maneira a preservar a máxima variabilidade genética dentro das espécies (Whitmore 1980). Porém, sem dados sobre a distribuição dessa variabilidade dentro ou entre popula-

ções, decisões razoáveis sobre os meios mais efetivos para a sua preservação não podem ser tomadas (Ashton 1981). A importância da estrutura genética na promoção e direcionamento de modificações evolutivas é claramente evidenciada através dos esforços atuais destinados à conservação genética.

O conhecimento da estrutura genética de populações de árvores pode também ajudar na explicação da evolução da alta diversidade encontrada nos trópicos (Eguiarte et al. 1992). Vários autores formularam a hipótese de que a alta diversidade de espécies arbóreas tropicais seria o produto de especiação não adaptativa, resultante de endogamia e deriva genética, provocadas por baixas densidades de indivíduos coespecíficos e

1. Parte da Tese de doutorado de P.L.R. de Moraes.
2. Departamento de Botânica, Instituto de Biociências, UNESP, Caixa Postal 199, 13506-900 Rio Claro, SP, Brasil.
3. Departamento de Genética, ESALQ/USP, Caixa Postal 83, 13418-900 Piracicaba, SP, Brasil.
4. Autor para correspondência: plrmoraes@merconet.com.br

autofecundação predominante (Fedorov 1966). Essa hipótese, mais conhecida como hipótese de Fedorov, tem uma clara relação com a Teoria de Equilíbrio Instável de Wright (1932), em que a subdivisão de uma população em demes pequenos, havendo baixo fluxo gênico entre os mesmos, pode resultar em uma rápida diferenciação genética devido à deriva, levando a uma eventual especiação simpátrica (Bawa 1992).

Uma hipótese alternativa, a de equilíbrio em micronichos, estabelece que a diversidade de árvores tropicais é o resultado da adaptação das populações de espécies arbóreas a nichos bastante específicos, definidos por fatores bióticos e abióticos (Bawa 1990). Essa hipótese já requer uma baixa endogamia e grandes tamanhos efetivos de população, com o modo de especiação sendo similar ao de uma diferenciação alopátrica de espécies predominantemente alógamas (Eguiarte et al. 1992).

Com isto, a estrutura genética de populações de espécies arbóreas impõe algumas restrições às estratégias de manejo e conservação. Se as árvores tropicais usualmente ocorrerem em populações pequenas e endogâmicas, como pressuposto pela hipótese de Fedorov, tem-se que uma espécie pode ser preservada a partir de poucos indivíduos de cada população, coletados das n populações, e a preservação *ex situ* é prática e factível. Por outro lado, se as árvores tropicais apresentam tamanhos efetivos populacionais grandes e baixa endogamia (hipótese de Ashton), os efeitos deletérios de se manter poucas populações deverá ser severo tanto a curto prazo, devido à depressão por endogamia, como a longo prazo, devido à deriva genética. Se essa última hipótese for verdadeira, uma estratégia viável de conservação é preservar grandes reservas ecológicas, e a conservação *ex situ* pode tornar-se inviável (Eguiarte & Piñero 1990).

Os dois modelos predizem uma considerável variabilidade genética entre (Fedorov) ou dentro das populações (Ashton), sendo que, pela proposta de Ashton, há também uma consideração simultânea de ambos os componentes da variabilidade, questionando como ocorre o fracionamento da variabilidade total através da distribuição dentro e entre populações.

A diversidade genética das espécies arbóreas tropicais vem sendo ameaçada pelo desmatamento e atividade madeireira. As conseqüências do desmatamento sobre a perda da biodiversidade em nível específico são bem conhecidas e têm recebido atenção considerável (Chase et al. 1995). Porém, pouco se

conhece dos efeitos do desmatamento sobre a perda de diversidade genética das espécies, sabendo-se que este pode reduzir o tamanho populacional ou eliminar populações locais (Hall et al. 1994).

O atual conhecimento sobre a Mata Atlântica é ainda bastante incipiente, principalmente quanto à estruturação genética populacional de suas espécies, e procedimentos adequados de amostragem para fins conservacionistas e de manejo. A avaliação da representatividade genética de amostras pode ser feita através do tamanho efetivo populacional, N_e , que é um parâmetro crucial para o julgamento do impacto da deriva sobre a estrutura genética de populações. O entendimento da relação entre o tamanho efetivo e o tamanho real de uma população de plantas é fundamental para um planejamento de conservação porque uma grande diferença entre N e N_e pode iludir os pesquisadores quanto ao *status* de uma espécie. Em essência, essa relação depende basicamente da variabilidade entre os indivíduos ao longo do tempo de seu sucesso reprodutivo, combinando tanto variáveis populacionais ecológicas quanto as genéticas.

N_e representa o tamanho de uma população ou vizinhança, que sofre o mesmo declínio de variância genética por endogamia ou deriva, como aquele de uma população referencial idealizada, panmítica, de tamanho N . Em espécies que apresentam alogamia (parcial ou total), N_e é uma região de um *continuum* populacional em que os genitores do indivíduo localizado em seu centro podem ser quaisquer adultos amostrados aleatoriamente (Wright 1969). De acordo com Endler (1979), a vizinhança representa uma escala geográfica abaixo da qual a diferenciação genética não tem sentido, sendo determinada pela dispersão dos genes dentro de uma geração. Os processos que diminuem N_e alteram a estrutura genética através do aumento de diferenciação entre as vizinhanças (Loveless & Hamrick 1984).

As populações naturais de plantas consistem, freqüentemente, de agrupamentos de indivíduos em que um genótipo ou alelo de um loco predomina (Linhart et al. 1981). Mesmo que essa estrutura genética espacial seja resultante de seleção natural, Wright (1951) e outros (p.ex., Rohlf & Schnell 1971) mostraram que a subdivisão genética pode ser o resultado de um fluxo gênico limitado e de um tamanho efetivo populacional pequeno. Pela Teoria de Equilíbrio Instável de Wright (1932), uma subdivisão da população em grupos pequenos (demes),

entre os quais houvesse pouco fluxo gênico, resultaria em rápida diferenciação por deriva genética.

A seleção altera as freqüências gênicas e genotípicas e age em concordância com a migração, dispersão e outros processos que geram a estrutura genética, como por exemplo, o isolamento pela distância, ou de vizinhança (Wright 1951), que é o principal modelo conceitual para se explicar como ocorrem as subdivisões das populações grandes de distribuição contínua, organizadas aleatoriamente. Esse modelo baseia-se na exceção biologicamente razoável de que a possibilidade de cruzamento depende da distância entre os indivíduos, ou da variância na dispersão de seus propágulos, com as populações remotas diferenciando-se meramente através do isolamento pela distância (Wright 1943).

As análises da estrutura de populações naturais são baseadas freqüentemente nos modelos de ilhas ou de alpondras, sendo que os coeficientes obtidos a partir de probabilidades de identidade por descendência, tais como F_{ST} , são estimados e comparados às expectativas sob um modelo de ilhas. De acordo com este modelo, a relação entre F_{ST} e o número de migrantes por geração (Nm) é freqüentemente empregado para quantificar o fluxo gênico. Esta relação tem sido demonstrada aproximar-se da relação entre F_{ST} e o número de migrantes em modelos de alpondras em um espaço bidimensional, e é utilizada na obtenção de estimativas indiretas do número de migrantes, ou “tamanho de vizinhança”, a partir de dados genéticos (Rousset 1997).

Um dos métodos mais robustos e confiáveis para a estimativa indireta de fluxo gênico é a partir da obtenção de Nm através de F_{ST} (que é a medida de dife-

renciação populacional usando freqüências alélicas; Wright 1951). O tamanho efetivo de vizinhança, N_b , pode ser da mesma ordem de magnitude que Nm , dependendo das características da população (Slatkin & Barton 1989, Eguiarte et al. 1993).

No presente trabalho, objetivou-se a caracterização da estrutura genética de populações de *Cryptocarya moschata* Nees, através de estimativas das estatísticas F de Wright e de coeficientes de coancestralidade. A partir da estimativa não viesada de F_{ST} , testou-se o modelo de isolamento pela distância. Adicionalmente, foram obtidas estimativas indiretas do fluxo gênico entre populações, bem como seus tamanhos efetivos intrapopulacionais e metapopulacional, os tamanhos de vizinhança e áreas de vizinhança. Com os resultados encontrados, discute-se uma possível estratégia de conservação da espécie, a partir da abordagem de populações mínimas viáveis.

Material e métodos

A espécie *Cryptocarya moschata* Nees - *Cryptocarya moschata* Nees pertence ao gênero *Cryptocarya* R. Brown, subtribo Cryptocaryineae Kosterm., tribo Cryptocaryeae Meissn., subfamília Lauroideae Kosterm., conforme a classificação de Kostermans (1957) para a família Lauraceae Lindl. Os indivíduos reprodutivos de *C. moschata* são árvores de 15-30 m de altura por 20-104 cm de DAP (PL.R. Moraes, dados não publicados). As flores são hermafroditas, trimeras, com duas séries de tépalas (3 + 3), 6 estames introrsos + 3 extrorsos, com anteras biloceladas, 3 estaminódios, ovário ± sésbil e estigma inconspícuo. Locais de estudo - A amostragem dos indivíduos de *C. moschata* foi realizada em populações de quatro parques estaduais do estado de São Paulo (tabela 1, figura 1): Parque Estadual de Carlos Botelho (PECB), Núcleo Saibadela (NS) do Parque Estadual Intervales (PEI), Núcleo de Desenvolvimento de Picinguaba (NP) e Núcleo Santa Virgínia (NSV) pertencentes ao Parque Estadual da Serra do Mar (PESM).

Tabela 1. Áreas de amostragem dos indivíduos de *Cryptocarya moschata* Nees, com as informações de suas características físicas.

Local	Solo	Clima ¹	Vegetação ²	Altitude (m)	Área (ha)
Parque Estadual de Carlos Botelho	Latossolo Vermelho-amarelo	Cfb	Floresta Ombrófila Densa Montana	700-800	37.644
Parque Estadual Intervales - Núcleo Saibadela	Podzólico Vermelho-amarelo	Cfa	Floresta Ombrófila Densa Submontana	60-150	46.086
Parque Estadual da Serra do Mar - Núcleo de Desenvolvimento de Picinguaba	—	Af	Floresta Ombrófila Densa Submontana	100-110	820
Parque Estadual da Serra do Mar - Núcleo Santa Virgínia	Latossolo Vermelho-amarelo, Cambissolo, Litossolo	Af	Floresta Ombrófila Densa Montana	870-1.100	4.894

1. Segundo Köppen (1948)

2. Segundo Veloso & Góes-Filho (1982)

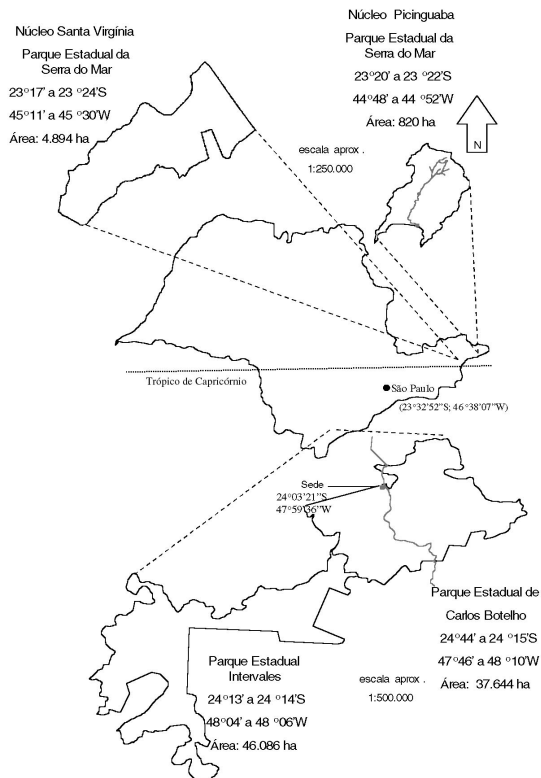


Figura 1. Mapa de localização das quatro áreas de estudo no estado de São Paulo.

O material utilizado neste trabalho constou de folhas de árvores adultas de *C. moschata*, cuja coleta foi efetuada em plantas individuais, tendo em vista o tipo de análise envolvendo locos enzimáticos. Coletou-se pelo menos um ramo foliar portador de folhas maduras, que forem acondicionado em sacos plásticos, armazenado em caixas de isopor com gelo para o transporte até o laboratório. Uma vez no laboratório, foi mantido em geladeira ($\cong 5^{\circ}\text{C}$), por aproximadamente dois dias, até sua extração e análise.

No PECB, foram amostradas 141 árvores adultas, distribuídas ao acaso, englobando indivíduos tanto agrupados como isolados, ao longo do sistema de trilhas disponíveis em uma área de aproximadamente 647 ha. No Núcleo Saibadela do PEI, foram coletadas 36 árvores adultas ao longo de três trilhas, a saber: Quilombo, Rio Saibadela e Azul. No Núcleo Picinguaba do PESH, foram coletadas 10 árvores adultas ao longo de aproximadamente 1.000 metros de extensão da trilha do Corisco, a partir de cerca de 500 metros para frente da Casa da Farinha. No Núcleo Santa Virgínia do PESH, foram coletadas 27 árvores adultas em três locais distintos: Poço do Pito, Itamambuca e Salto Grande.

A partir do emprego de marcadores alozimicos, revelados pela eletroforese em gel de amido, realizou-se a caracterização genética das populações analisadas, seguindo-se as recomendações de Alfenas et al. (1991).

Foram testados 16 sistemas enzimáticos, dos quais fosfatase ácida (ACP), fosfatase alcalina (ALP), catalase (CAT), glutamato-oxaloacetato transaminase (GOT), polifenoloxidase (PPO) e peroxidase (PRX) foram os empregados, pois mostraram-se polimórficos e com uma revelação adequada para análise.

Para cada alelo identificado, fez-se uma análise de variância, conforme proposto por Weir (1996), obedecendo ao modelo hierárquico desbalanceado, estruturado com três níveis de hierarquia, a saber: região, população e indivíduo. Desta forma, o significado genético dos componentes de variâncias pode ser entendido em termos de correlações intraclasse, nos diferentes níveis de hierarquia. Assim, com base em Weir (1996), foram obtidas estimativas dos seguintes parâmetros:

F = coeficiente de endogamia de todas as plantas nas populações analisadas, ao nível da espécie;
 f = coeficiente médio de endogamia dentro das populações;
 θ_p = correlação de frequências alélicas entre indivíduos da mesma população, abrangendo todas as regiões;
 θ_R = correlação de frequências alélicas entre indivíduos de populações diferentes, da mesma região;

A análise de variância com modelo hierarquizado e desbalanceado foi realizada empregando-se o procedimento NESTED do programa estatístico SAS (SAS Institute 1989).

De forma semelhante, porém sem a hierarquização de populações dentro de regiões, foram computados os valores das estatísticas F de Wright, a partir de seus estimadores não viesados ($F = F_{IT}$, $\theta_p = F_{ST}$ e $f = F_{IS}$; Cockerham & Weir 1993), com os respectivos testes de permutação para verificar suas significâncias, através do programa FSTAT (Goudet 1995). Os intervalos de confiança foram calculados através de procedimentos de reamostragem do tipo *bootstrap* sobre os locos, para a média dos mesmos, e através de *jackknifing* sobre as amostras, para cada loco.

Testou-se o modelo de isolamento pela distância, conforme Slatkin (1993), com a realização de um teste de Mantel conforme Manly (1985), através do coeficiente de correlação de Spearman, empregando-se os programas GENEPOP (Raymond & Rousset 1995) e FSTAT (Goudet 1995), que calculam $\hat{\theta}_p$ e o número de migrantes por geração (Nm) entre pares de populações.

Para a estimativa indireta de Nm , a quantidade de migrantes por geração, empregou-se o método de Crow & Aoki (1984), para um modelo de ilhas, com: $F_{ST} = 1/(4\alpha Nm + 1)$, onde $\alpha = [n/(n-1)]^2$ e n é o número de subpopulações. Utilizou-se o estimador $\hat{\theta}_p$ no lugar de F_{ST} , conforme demonstração de Cockerham & Weir (1993), por ser este menos viesado. A partir da estimativa de Nm , calculou-se o valor do tamanho de vizinhança, N_b , conforme fórmula proposta por Slatkin & Barton (1989), a saber: $N_b = 2\pi Nm$ (Eguiarte et al. 1993). Desta forma, considerando-se a densidade de indivíduos reprodutivos por área (d), define-se a área de vizinhança como: $A = N_b/d$ (Eguiarte et al. 1993).

As densidades dos indivíduos utilizadas para o cálculo das áreas de vizinhança, para as quatro populações de adultos, foram extraídas de informações existentes nos trabalhos de fitossociologia desenvolvidos nas mesmas. Esses trabalhos foram executados nas mesmas áreas de amostragem das árvores de *C. moschata* do presente estudo. Tem-se, então, que para o PECB a densidade encontrada foi de 12 indivíduos adultos.ha⁻¹ (A.C. Dias, dados não publicados); para o PEI-NS foi de 15,4 ind. adultos.ha⁻¹ (R.J. Almeida-Scabbia, dados não publicados); para o PESH-NP foi de 7,5 ind. adultos.ha⁻¹ (M. Sanchez, dados não publicados) e 2,5 ind. adultos.ha⁻¹ (E. Gianotti, dados não publicados) e para o PESH-NSV foi de 2 ind. adultos.ha⁻¹ (M. Tabarelli, dados não publicados).

O tamanho efetivo populacional foi obtido através dos componentes da variância, por ser o mais comumente utilizado para fins conservacionistas, de acordo com a metodologia apresentada por Vencovsky (1997).

Para o caso de uma única população, com ausência de estruturação genética, o tamanho efetivo de população foi calculado por: $\hat{N}_e = N/(1 + \hat{f})$ (Vencovsky 1997), com N

sendo o número de plantas adultas e \hat{f} o coeficiente de endogamia intrapopulacional. Para o caso de indivíduos de várias populações, em um modelo de infinitas populações (sem correção para tamanho finito de populações), tem-se que:

$$\hat{N}_e = \frac{0,5}{\hat{\theta}_p \left(\frac{1+C_p}{P} - \frac{1}{N} \right) + \frac{1+\hat{F}}{2N}}$$

onde $\hat{\theta}_p$ é o coeficiente de coancestralidade relativo a populações, \hat{F} é coeficiente médio de endogamia de todas as plantas nas populações analisadas, N é o número de indivíduos amostrados nas P populações; $N = \sum N_i$; $i = 1, 2...P$, e C_p é o quadrado do coeficiente de variação do número de indivíduos (N_i) entre as populações (Vencovsky 1997).

Resultados e Discussão

Na tabela 2, apresentam-se as estimativas dos coeficientes de coancestralidade (θ_R e θ_p) e dos parâmetros F e f , das quatro populações de *C. moschata*, a partir de 18 locos isoenzimáticos, no modelo hierarquizado em três níveis. Apreende-se que os valores de $\hat{\theta}_R$ foram extremamente reduzidos e negativos (-0,028 para a média dos locos e -0,023

para a média dos alelos), indicando não haver diversidade adicional devida a regiões. Com isto, as estimativas das estatísticas F de Wright, sem hierarquização de populações dentro de regiões, através de seus estimadores não viesados, por si só são suficientes para explicar a estrutura genética dessas populações.

Nas figuras 2, 3 e 4, observam-se os valores médios de \hat{F} , $\hat{\theta}_p$ e \hat{f} , com os respectivos intervalos de confiança, obtidos através de reamostragem numérica (*jackknife*) sobre amostras para todas as populações, e reamostragem numérica tipo *bootstrap* sobre os locos para a média. Os valores médios de 0,142 (Intervalo de confiança (95%) = 0,015 a 0,259), 0,140 (Intervalo de confiança (95%) = 0,055 a 0,230) e 0,002 (Intervalo de confiança (95%) = -0,111 a 0,101), encontrados respectivamente para, \hat{F} , $\hat{\theta}_p$ e \hat{f} , indicam que os indivíduos das populações se cruzam aleatoriamente e que a diversidade interpopulacional é consideravelmente alta, comparável a uma situação com valor de θ_F para famílias

Tabela 2. Estimativas dos coeficientes de coancestralidade (θ) e dos parâmetros F e f de quatro populações naturais de *Cryptocarya moschata* Nees, empregando-se 18 locos isoenzimáticos. N = 214

Loco	$\hat{\theta}_R$	$\hat{\theta}_p$	\hat{F}	\hat{f}
ACP-3	-0,02407	0,08002	0,06728	-0,01385
ALP-1	-0,07168	0,04472	0,11348	0,07197
ALP-3	0,02336	0,15553	-0,14369	-0,35435
ALP-4	-0,10903	0,07416	-0,05568	-0,14024
ALP-5	0,00000	0,00000	0,08207	0,08207
CAT-1	-0,13465	0,09373	-0,06879	-0,17934
CAT-2	-0,34216	0,30609	0,37612	0,10091
CAT-3	0,07992	0,06906	0,03964	-0,03160
CAT-4	0,00248	0,01845	0,33796	0,32551
GOT-1	0,09181	0,48246	0,51189	0,05687
GOT-2	-0,01737	0,00098	0,16024	0,15941
PPO-4	-0,10656	0,06373	-0,44834	-0,54693
PPO-5	-0,00078	-0,01342	0,01792	0,03092
PRX-1	0,06992	0,07928	0,30017	0,23991
PRX-2	-0,04245	0,03083	-0,02104	-0,05353
PRX-3	0,02453	0,03835	0,00076	-0,03908
PRX-4	0,02253	0,02798	0,21486	0,19226
PRX-5	0,07612	0,09478	0,19159	0,10694
média locos	-0,02791	0,11460	0,09629	-0,02068
média alelos	-0,02349	0,12304	0,11594	-0,00809

$\hat{\theta}_R$ = coeficiente de coancestralidade de regiões; $\hat{\theta}_p$ = coeficiente de coancestralidade de populações; \hat{F} = coeficiente de endogamia de todas as plantas nas quatro populações analisadas, ao nível da espécie; \hat{f} = coeficiente de endogamia intrapopulacional

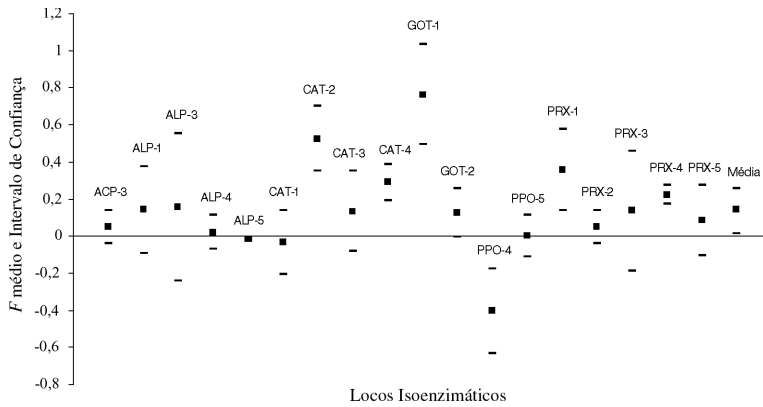


Figura 2. Média das estimativas de F por locos isoenzimáticos, a partir de quatro populações naturais de *Cryptocarya moschata* Nees. Intervalos de confiança obtidos por reamostragem numérica do tipo *jackknife* sobre as amostras; para a média, reamostragem numérica do tipo *bootstrap* sobre os locos.

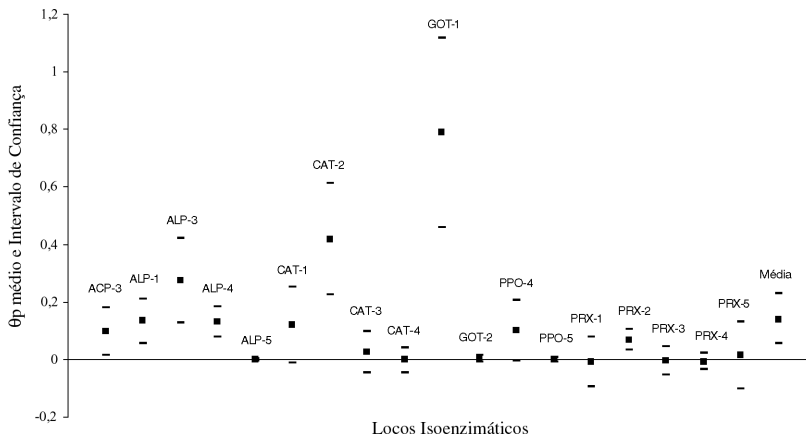


Figura 3. Média das estimativas de θ_p por locos isoenzimáticos, a partir de quatro populações naturais de *Cryptocarya moschata* Nees. Intervalos de confiança obtidos por reamostragem numérica do tipo *jackknife* sobre as amostras; para a média, reamostragem numérica do tipo *bootstrap* sobre os locos.

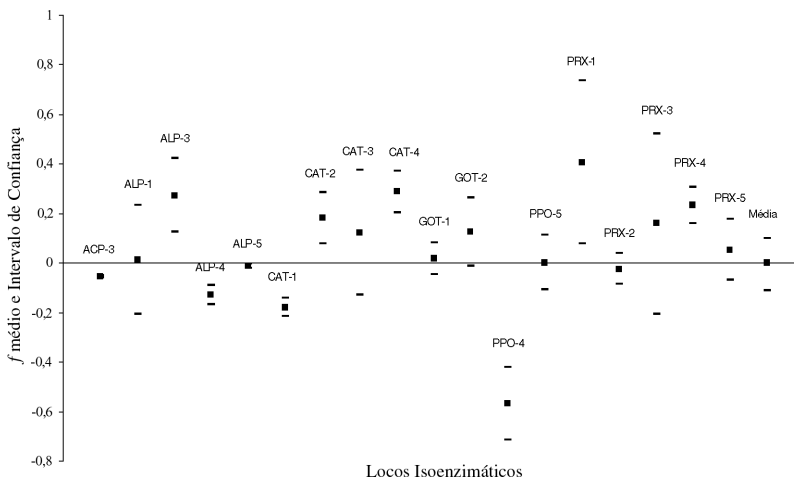


Figura 4. Média das estimativas de f por locos isoenzimáticos, a partir de quatro populações naturais de *Cryptocarya moschata* Nees. Intervalos de confiança obtidos por reamostragem numérica do tipo *jackknife* sobre as amostras; para a média, reamostragem numérica do tipo *bootstrap* sobre os locos.

de meios-irmãos ($\theta_F = 0,125$). Apreende-se, também, uma grande heterogeneidade entre os locos, sendo que, pelos testes de permutação, os valores de \hat{f} dos locos CAT-4, GOT-2, PRX-1 e PRX-4 foram significativamente diferentes de zero, indicando haver desvios de panmixia. Da mesma forma, os valores de $\hat{\theta}_p$ dos locos ACP-3, ALP-1, ALP-3, ALP-4, CAT-1, CAT-2, CAT-3, GOT-1, PPO-4, PRX-1 e PRX-5 foram significativamente diferentes de zero, assim como os valores de \hat{F} para os locos CAT-2, CAT-4, GOT-1, GOT-2, PRX-1, PRX-4 e PRX-5. O valor médio de \hat{F} significativamente diferente de zero sugere uma deficiência de heterozigotos, considerando-se as quatro populações como uma única população panmítica. O valor médio de \hat{f} , por não ser significativamente diferente de zero, sugere que a maioria dos locos dentro das populações está dentro das proporções esperadas de Hardy-Weinberg.

A alta diversidade genética encontrada entre as populações de *C. moschata* é consistente com a tendência observada em táxons arbóreos (Hamrick & Godt 1989), sendo que 86% da variabilidade genética populacional é compartilhada pelas quatro populações analisadas. A comparação dos valores de *C. moschata* com os apresentados em revisões de diversidade alozímica em táxons arbóreos, em geral (Hamrick et al. 1992), e em táxons arbóreos tropicais, em particular (Hamrick & Loveless 1986, Loveless 1992), mostra que *C. moschata* possui uma diversidade genética populacional típica de uma espécie arbórea tropical. Além disto, o valor encontrado é bastante próximo do apresentado por outra espécie de Lauraceae da Costa Rica, *Ocotea tenera* (Gibson & Wheelwright 1995).

Os valores de $\hat{\theta}_p$ calculados entre os pares de populações foram 0,160 (PECB/PEI-NS), 0,124 (PECB/PESM-NSV), 0,117 (PECB/PESM-NP), 0,114 (PEI-NS/PESM-NSV), 0,098 (PEI-NS/PESM-NP), e 0,060 (PESM-NSV/PESM-NP), todos significativamente diferentes de zero. Apreende-se que o único valor de $\hat{\theta}_p$ discrepante, em relação ao esperado a partir das distâncias geográficas entre os pares de populações, foi o do PECB/PEI-NS, uma vez que foi a maior divergência encontrada, sendo que esperar-se-ia que a mesma fosse baixa, por serem populações relativamente próximas e contíguas. Além disso, em um modelo de alpodras bidimensional (i.e., dispersão entre os vizinhos mais próximos), populações que nunca trocam migrantes

não deveriam exibir valores $\hat{\theta}_p$ muito maiores do que as que trocam (Rousset 1997). Todavia, uma possível explicação para esta divergência elevada seria a presença de uma barreira física (Serra dos Agudos Grandes) entre estas populações, que estaria promovendo um impedimento de fluxo gênico.

Porém, pelo teste de Mantel, houve correlação positiva de $\hat{\theta}_p$ versus a distância geográfica, indicando haver diferença significativa entre os valores dos pares de populações analisadas. A presença de correlação significativa entre os valores de $\hat{\theta}_p$ e as distâncias geográficas entre os pares era esperada, a partir de um modelo de isolamento pela distância clássico pois, devido a um fluxo limitado de pólen e de sementes, seria esperado um aumento de $\hat{\theta}_p$ com o aumento da distância entre os pares (Raybould et al. 1995).

Da mesma maneira, pelo gráfico em escala logarítmica de $\hat{\theta}_p$ versus a distância geográfica (figura 5), era esperada uma regressão aproximadamente linear em uma população em equilíbrio e com dispersão restrita. No entanto, o coeficiente de regressão foi de -0,132, com o coeficiente de determinação explicando apenas 9,6% da variância total de $\log(\hat{N}m)$, pela regressão. Estes resultados mostram que o padrão obtido exibe uma tendência de que a espécie apresente isolamento pela distância, estando em equilíbrio com migração e deriva, apesar da pouca sensibilidade encontrada na regressão, devido ao número pequeno de populações analisadas. Uma ausência aparente de um padrão de isolamento pela

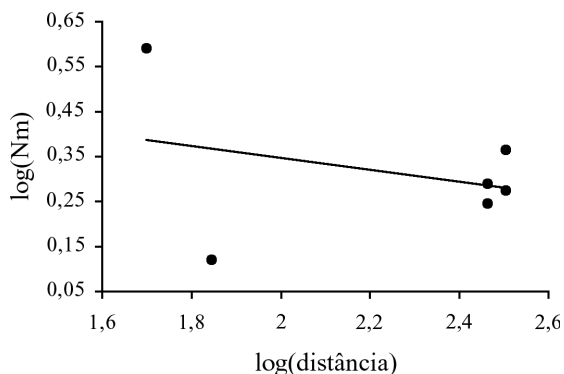


Figura 5. Log($\hat{N}m$) plotado contra log(distância em km) para as populações de *Cryptocarya moschata* Nees. $\log(\hat{N}m) = 0,60910 - 0,1315 \log(\text{distância})$. Correlação: $r = -0,3107$

distância pode ocorrer, também, devido a uma amostragem a grandes distâncias, uma vez que pode haver dependência da amplitude dos (logaritmos dos) valores das distâncias investigadas, e da variância dos estimadores, que são provavelmente menores a curtas distâncias (Rousset 1997). Com isso, tem-se que um estudo mais aprofundado sobre o assunto aliado a uma amostragem populacional sistematizada poderiam responder estas questões de forma mais conclusiva. A constante de regressão foi de 0,609, sugerindo um valor \hat{Nm} de 4,1 migrantes por geração, sendo que a estimativa de Nm obtida desta forma pode ser tomada, também, como um tamanho de vizinhança (Slatkin & Maddison 1990).

O mesmo parâmetro (Nm), calculado pelo método de Crow & Aoki (1984), por ser indicado para o caso de poucas subpopulações, resultou num \hat{Nm} de 0,9, com um tamanho de vizinhança de 5,5 indivíduos, a partir da fórmula para um modelo de alpodras (Slatkin & Barton 1989).

Os valores de Nm e N_b determinam se a deriva genética, por si só, pode produzir variabilidade genética substancial entre locais. Se Nm for maior que 1,0, o fluxo gênico será alto o suficiente para prevenir uma diferenciação devido à deriva (Slatkin & Barton 1989). Neste trabalho, o número médio de migrantes por geração (\hat{Nm}) foi levemente inferior a 1,0 e o tamanho de vizinhança (\hat{Nb}) foi de 5,5 indivíduos. Os valores de \hat{Nm} estimados separadamente a partir das populações do litoral sul e norte foram de 0,3 e 1,0, e valores \hat{Nb} de dois e seis indivíduos, respectivamente.

Dessa forma, estes valores indicam que o fluxo gênico não é suficiente para evitar uma diferenciação populacional devido à deriva genética, podendo ser considerado relativamente baixo quando comparado aos valores obtidos de outras espécies de Angiospermas arbóreas tropicais. Indicam, também, que o número de genitores que trocam genes ao acaso está em torno de cinco indivíduos, sendo que um número menor de indivíduos em uma mesma unidade de área implicaria em um aumento da divergência entre as vizinhanças, em decorrência do aumento interno dos níveis de endogamia, alterando a estrutura genética das populações no médio prazo (M.S. Reis, dados não publicados).

Portanto, a única população que potencialmente pode apresentar diminuição nos níveis de heteroziguidade e perda de alelos de baixa frequência é a

do PESM-NSV (2 indivíduos reprodutivos.ha⁻¹). Todavia, a baixa densidade encontrada para a espécie nesse parque deve-se ao fato de a área de amostragem (M. Tabarelli, dados não publicados) de floresta madura estar situada em local de encosta, sendo que a predominância da mesma é observada em locais úmidos de baixadas ou ao longo de cursos d'água (P.L.R. Moraes, dados não publicados). Isso fica evidenciado pela observação dos dados apresentados por Gianotti (2 ind. reprodutivos.ha⁻¹), cuja área amostrada no PESM-NP localiza-se em terreno relativamente distanciado do rio da Fazenda, enquanto que na área amostrada por Sanchez, nesse mesmo parque, ao longo do referido rio, a densidade encontrada foi de 7,5 ind. reprodutivos.ha⁻¹. Cabe ressaltar, ainda, que em área de sucessão secundária do PESM-NSV, Tabarelli encontrou oito indivíduos de *C. moschata* com DAP acima de 2 cm, em uma área amostrada de 0,2 ha, o que daria uma densidade absoluta de 40 indivíduos.ha⁻¹.

O alto valor de $\hat{\theta}_p$ e o baixo de \hat{Nm} indicam um fluxo gênico restrito entre estas populações, que estão distanciadadas dezenas a centenas de quilômetros umas das outras. Para *Cryptocarya moschata* não há informação sobre biologia floral. Contudo, cada espécie de planta possui um conjunto de características (síndrome) que está adaptado a um modo particular de polinização (Primack 1987). Com isso, as flores minúsculas de *C. moschata*, esbranquiçadas, com pequena recompensa alimentar aos polinizadores (nectários florais pequenos) e presença de odor, dentre outras características, estão provavelmente adaptadas à polinização por pequenos insetos, como moscas e pequenas abelhas, o que promoveria um fluxo de pólen a curtas distâncias.

No entanto, Moraes (1992) estimou que a distância de dispersão de sementes de *C. moschata* pelo mono-carvoeiro (*Brachyteles arachnoides*; Primates) no PECB, um dos dispersores potenciais dessa espécie, foi de 200 a mais de 1.100 m, dependendo do período. Adicionalmente, considerando-se que a população estudada desses animais é composta por cerca de 31 indivíduos (Moraes et al. 1998), cuja área de uso é exatamente a mesma do presente estudo, e que cada indivíduo pode dispersar, em média, cerca de 50 frutos.dia⁻¹ dessa espécie (Moraes 1992), tem-se que uma quantidade relativamente grande de diásporos estaria sendo depositada em locais distantes das árvores-mãe, o que teoricamente

sugere maior probabilidade de recrutamento de novos indivíduos na população (Janzen 1969).

Aliado a isso, o comportamento alimentar desses animais compreende desde a alimentação de frutos de uma única árvore, subseqüentemente depositando vários diásporos (ao menos meio-irmãos) em locais que podem ser adequados para um novo recrutamento, até a alimentação de frutos de várias árvores, com a deposição dos diásporos ao longo da área. O primeiro comportamento pode promover uma alta heterogeneidade genética entre esses locais de recrutamento que, no entanto, pode ser amenizada se vários eventos independentes ocorrerem (Hamrick et al. 1993), fato esse observado para a presente espécie (P.L.R. Moraes, dados não publicados), uma vez que existe recorrência de defecação em determinados locais que são rotas de deslocamento desses macacos. Espera-se que o segundo comportamento promova uma heterogeneidade genética menor que o primeiro, entre os locais de recrutamento (Hamrick et al. 1993). Todavia, conforme apontado por Endler (1977), o fluxo gênico é provável e consideravelmente mais restrito espacialmente que a dispersão e geralmente mais restrito que a migração, fazendo uma clara distinção entre estes três fenômenos. Mesmo assim, tendo em vista que *C. moschata* apresenta formação de banco de plântulas no sub-bosque e que a taxa de mortalidade das mesmas é menor nos locais de dispersão pelos primatas, quando comparada com as observadas sob as árvores-mãe (Moraes & Paoli 1995, P.L.R. Moraes, dados não publicados), pode-se esperar que a probabilidade de recrutamento de novos indivíduos para a fase reprodutiva seja maior nos primeiros, o que implicaria em um fluxo gênico efetivo que, mesmo ocorrendo em taxas baixas, é esperado seja suficiente para evitar estruturação populacional (confirmado por P.L.R. Moraes, dados não publicados).

A partir dos valores de N_b , estimaram-se as áreas de vizinhança para cada uma das populações de adultos, obtendo-se uma média para a espécie, a partir das mesmas. Assim sendo, a área foi de 4.170 m², para o PECB, adotando-se uma densidade de 12 ind. reprodutivos.ha⁻¹. Para o PEI-NS a área foi de 3.250 m², com uma densidade de 15,4 ind.ha⁻¹. Para o PESM-NP a área foi de 6.670 m², com densidade de 7,5 ind.ha⁻¹ e, para o PESM-NSV, foi de 25.000 m², com uma densidade de 2 ind.ha⁻¹. Conseqüentemente, a área

de vizinhança média encontrada foi de 9.770 m², a partir de $\hat{\theta}_p$. Isso significa que seriam necessários cerca de 5 ind. reprodutivos.ha⁻¹ para manter a estrutura genética atual nas populações investigadas de *C. moschata*, em termos médios (equivale ao cálculo da média harmônica das densidades).

Conseqüentemente, essa abordagem implica em resultados variáveis em relação à demografia local, para cada situação de ocorrência das populações (M.S. Reis, dados não publicados), sendo desejável o conhecimento da densidade efetiva das mesmas através de suas extensões geográficas, para que possam ser obtidas melhores conclusões e decisões sobre sua conservação.

Uma outra limitação apresentada por Cockerham & Weir (1993) é que essa abordagem baseia-se em medidas de diferenciação populacional pressuposta de ter sido causada pelo fluxo gênico, sem nenhuma observação direta do mesmo, com as inferências estando necessariamente restritas aos pressupostos do modelo, incluindo a neutralidade dos alelos e a existência de equilíbrio. Segundo os mesmos autores, não há nenhum embasamento para a distinção entre os eventos do modelo de migração assumido e quaisquer outros cenários evolutivos que poderiam levar ao mesmo padrão de freqüências gênicas dentro e entre grupos. A menos que se tenha a verificação por observações diretas da ocorrência dos vários pressupostos dos modelos, tal qual o modelo de ilhas, sempre haverá dúvidas sobre as análises embasadas nos pressupostos teóricos.

Para tanto, a obtenção de uma estimativa da área de vizinhança que se aproxime do mínimo para a manutenção da estrutura genética existente, o que seria desejável para o manejo de populações naturais, deve ser direta e independente. Nesse contexto, as estimativas que envolvem o fluxo de pólen e a dispersão de sementes, como as propostas por Levin & Kester (1969), seriam desejáveis.

Sob um contexto intrapopulacional, para a amostragem dos indivíduos adultos do PECB, os 141 indivíduos amostrados correspondem a N_e de 138,5 indivíduos. De forma semelhante, os tamanhos efetivos encontrados para os PEI, PESM-NP e PESM-NSV foram 37,8, 10,0 e 28,2 indivíduos, respectivamente, para os 36, 10 e 27 indivíduos amostrados em cada parque, indicando que houve uma adequada representatividade genética das amostras obtidas, a partir das freqüências

alélicas dos locos analisados. Com isto, a partir da formulação $\hat{N}_e = N / (1 + \hat{f})$, observa-se também, que a endogamia reduz o tamanho efetivo populacional, e o valor negligível encontrado de \hat{f} faz com que \hat{N}_e seja praticamente igual ao número de indivíduos amostrados.

No entanto, sob um contexto metapopulacional, considerando-se as quatro populações de adultos amostradas para a espécie (populações como unidades amostrais), assumindo que a mesma é composta por infinitas populações, o tamanho efetivo populacional resultante é de 10,5 indivíduos, para os 214 amostrados. Para o limite, com $C_p = 0$ e N suficientemente grande, $N_e \rightarrow (0,5 P)/\theta$, sendo igual a 14,3 indivíduos. Com isto, apreende-se que a amostragem realizada para a espécie correspondeu a 73,43% do tamanho efetivo máximo obtido a partir de quatro populações com um θ_p de 0,14, correspondendo a apenas 5% dos indivíduos amostrados. Contudo, fica evidente que o tamanho efetivo obtido para a espécie foi bastante pequeno, visto que a divergência entre as populações foi relativamente elevada, indicando que a amostragem de diferentes populações é uma estratégia importante, mesmo quando a divergência entre elas for relativamente pequena, conforme apontado por Vencovsky (1997).

Convém ressaltar que as estimativas dos tamanhos efetivos populacionais, da maneira como foram apresentadas, são indicadores instantâneos da representatividade genética das amostras obtidas, a partir das frequências alélicas dos locos analisados. Com isso, vários fatores dinâmicos da distribuição de frequências alélicas não estão sendo levados em consideração, tais como: 1) flutuações do tamanho populacional entre gerações; 2) variação de fertilidade entre os indivíduos; 3) estrutura de idades e sobreposição de gerações; e 4) tamanho de vizinhança, como apontado por Frankel et al. (1995).

Todavia, o conhecimento do tamanho efetivo populacional é fundamental para a conservação de longo termo de uma espécie, como mencionado anteriormente, sendo o fator central para a determinação de uma “população mínima viável” (PMV). O conceito de PMV surgiu como base para a conservação de espécies individuais. Uma das definições propostas é a de Frankel (1974): “o(a) (área e) tamanho populacional requerido(a) para a sobrevivência de uma espécie; o tamanho que provavelmente produza o nível requerido de variação que suporte uma flexi-

bilidade para a persistência evolutiva”. Apesar da vaguidade dessa definição e de outras encontradas na literatura, aliada a uma série de incertezas e arbitrariedades que envolvem o conceito de PMV, por englobar processos de natureza estocástica, esse é um meio de se avaliar e trabalhar a questão da conservação de populações e, por conseqüência, de espécies.

Assim sendo, a estimativa de uma PMV tem um contexto ecológico e se aplica a um hábitat particular. Essa estimativa refere-se a um período específico e a uma probabilidade máxima tolerável de extinção, uma vez que uma população está sujeita à incerteza e a probabilidade de sua sobrevivência decresce com o tempo. Conseqüentemente, a persistência de uma população por um período particular é um conceito probabilístico, sendo que há uma interação entre o espaço de tempo selecionado para a conservação e a probabilidade de persistência populacional. Dessa forma, o tamanho requerido para se ter 90% de certeza de que uma população persistirá por 100 anos deve ser equivalente ao tamanho requerido para uma probabilidade de sobrevivência menor (p.ex., 50%), porém persistindo por um período maior (500 anos). Ainda, a estimativa possui um contexto genético que, devido às mudanças inevitáveis do ambiente, requer uma modificação adaptativa na população, que deve possuir uma variabilidade genética necessária para satisfazer as alterações ambientais futuras. Quando essa estimativa baseia-se em considerações genéticas, usualmente é feita em termos do tamanho efetivo populacional, ou N_e . Para tanto, recomenda-se que o tamanho real equivalente a tal tamanho efetivo populacional deva ser cinco a 10 vezes maior que N_e (Nunney & Campbell 1993). Relativamente à espécie como um todo, a estimativa tem um contexto “metapopulacional”, requerendo clareza acerca de sua aplicabilidade para as muitas populações que se interrelacionam ao longo de sua distribuição geográfica (Frankel et al. 1995).

Tomando-se por base a população amostrada de indivíduos adultos de *C. moschata* do PECB (141), que pode ser considerada uma boa amostra (2% do total de indivíduos reprodutivos, a partir de uma densidade de 12 ind. reprodutivos.ha⁻¹, em 600 ha), e estabelecendo-se um número efetivo de 500 indivíduos como sendo o mínimo necessário para uma população mínima viável de longo termo (Frankel et al. 1995), tem-se que o tamanho real da população

deveria ser de 2.545 a 5.080 indivíduos (5 a 10 vezes para a conversão), o que resultaria em áreas mínimas de conservação de 212 a 423 ha, respectivamente, não levando em consideração a necessidade de se amostrar várias populações. Para um tamanho efetivo de 1.000 indivíduos, seriam necessários 5.089 a 10.177 indivíduos da população real, em áreas de 424 a 848 ha, respectivamente.

Utilizando-se desse mesmo procedimento para as demais populações amostradas de indivíduos adultos, tem-se que seriam necessários 2.620 a 5.240 indivíduos da população real, em áreas de 170 a 340 ha do PEI, 2.490 a 4.980 indivíduos em 332 a 664 ha do PESM-NP, e 2.610 a 5.220 indivíduos em 1.305 a 2.610 ha do PESM-NSV, a partir de um tamanho efetivo de 500 indivíduos.

Considerando-se as quatro populações de indivíduos adultos amostrados para a espécie, tem-se que o tamanho real da população deveria ser composto por 4.875 a 9.750 indivíduos em áreas de 956 a 1.912 ha, respectivamente, assumindo-se uma densidade média harmônica de 5,1 ind. reprodutivos.ha⁻¹.

Os resultados obtidos a partir dos indivíduos adultos de *C. moschata*, em que foram encontradas altas quantidades de diversidade gênica, aliadas às altas taxas de cruzamento (P.L.R. Moraes, dados não publicados), não estão de acordo com a hipótese “não adaptativa” de Fedorov. Os tamanhos efetivos grandes e a baixa endogamia encontrados para as populações analisadas indicam uma conformidade com a hipótese de Ashton, sugerindo que uma conservação viável seja feita *in situ*, através da preservação de grandes reservas ecológicas, uma vez que envolve a possibilidade de evolução contínua dentro de ambientes naturais (Martins 1987).

Portanto, como *C. moschata* apresenta uma distribuição geográfica predominantemente dentro dos domínios da floresta pluvial tropical atlântica (Mata Atlântica), a conservação da espécie deve ocorrer através da preservação de grandes áreas desse ecossistema. Como, atualmente, a condição encontrada para essa formação vegetal é a de sua quase total circunscrição a fragmentos remanescentes da outrora vegetação primitiva, incorporados preponderantemente em áreas de parques e reservas governamentais, não há muito que se possa fazer para uma reversão desse processo de fragmentação da matriz contínua dessa floresta, uma vez que esse já se encontra praticamente consumado. Espera-se, no

entanto, que essas áreas que se encontram sob proteção legal, estejam sendo protegidas efetivamente contra novas derrubadas da floresta e diversos danos ambientais provocados pelo homem. Com isso, pela preservação das áreas atuais dos quatro parques estaduais amostrados no estado de São Paulo, bem como de outros desse e de outros estados da federação, pode-se admitir, pelo exposto acima, que as populações de *C. moschata* teriam condições de persistência por longos períodos.

Agradecimentos - Ao Instituto Florestal e à Fundação Florestal de São Paulo, pela autorização da coleta de material deste trabalho. Ao Prof. Dr. Paulo Sodero Martins (*in memoriam*), por todo apoio oferecido. À CAPES pela bolsa de doutorado a PLRM.

Referências bibliográficas

- ALFENAS, A.C., PETERS, I., BRUNE, W. & PASSADOR, G.C. 1991. Eletroforese de proteínas e isoenzimas de fungos e essências florestais. Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.
- ASHTON, P.S. 1981. Techniques for the identification and conservation of threatened species in tropical forests. In *The biological aspects of rare plant conservation* (H. Synge, ed.). John Wiley & Sons, New York, p.155-164.
- BAWA, K.S. 1990. Plant pollinator interactions in tropical rain forests. *Annual Review of Ecology and Systematics*. 21:399-422.
- BAWA, K.S. 1992. Mating systems, genetic differentiation and speciation in tropical rain forest plants. *Biotropica* 24:250-255.
- CHASE, M.R., BOSCHER, D.H. & BAWA, K.S. 1995. Population genetics of *Cordia alliodora* (Boraginaceae), a neotropical tree. I. Genetic variation in natural populations. *American Journal of Botany*. 82:468-475.
- COCKERHAM, C.C. WEIR, B.S. 1993. Estimation of gene flow from *F*-statistics. *Evolution* 47:855-863.
- CROW, J.F. & AOKI, K. 1984. Group selection for polygenic behavioral trait: estimating the degree of population subdivision. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 81:6073-6077.
- EGUIARTE, L.E. & PIÑERO, D. 1990. Genética de la conservación: leones vemos, genes no sabemos. *Ciencias* 4:34-47.
- EGUIARTE, L.E., PEREZ-NASSER, L. & PIÑERO, D. 1992. Genetic structure, outcrossing rate and heterosis in *Astrocaryum mexicanum* (tropical palm): implications for evolution and conservation. *Heredity* 69:217-228.
- EGUIARTE, L.E., BURQUEZ, A., RODRÍGUEZ, J., MARTÍNEZ-RAMOS, M., SARUKHÁN, J. & PIÑERO, D. 1993. Direct and indirect estimates of neighborhood and effective population size in a tropical palm, *Astrocaryum mexicanum*. *Evolution* 47:75-87.
- ENDLER, J.A. 1977. Geographic variation, speciation, and clines. Princeton University Press, Princeton.
- ENDLER, J.A. 1979. Gene flow and life history patterns. *Genetics* 93:263-284.
- FEDOROV, A.A. 1966. The structure of the tropical rain forest and speciation in the humid tropics. *Journal of Ecology*. 54:1-11.
- FRANKEL, O.H. 1974. Genetic conservation: our evolutionary responsibility. *Genetics* 78:53-65.

- FRANKEL, O.H., BROWN, A.H.D. & BURDON, J.J. 1995. The conservation of plant biodiversity. Cambridge University Press, Cambridge.
- GIBSON, J.P. & WHEELWRIGHT, N.T. 1995. Genetic structure in a population of a tropical tree *Ocotea tenera* (Lauraceae): influence of avian seed dispersal. *Oecologia* 103:49-54.
- GOUDET, J. 1995. FSTAT (version 1.2): a computer program to calculate *F*-statistics. *Journal of Heredity* 86:485-486.
- HALL, P., ORRELL, L.C. & BAWA, K.S. 1994. Genetic diversity and mating system in a tropical tree, *Carapa guianensis* (Meliaceae). *American Journal of Botany* 81:1104-1111.
- HAMRICK, J.L. & GODT, M.J.W. 1989. Allozyme diversity in plant species. In *Plant population genetics, breeding and germplasm resources* (A.H.D. Brown, M.T. Clegg, A.L. Kahler & B.S. Weir, eds.). Sinauer Associates, Sunderland, p.43-63.
- HAMRICK, J.L. & LOVELESS, M.D. 1986. Isozyme variation in tropical trees: procedures and preliminary results. *Biotropica* 18:201-207.
- HAMRICK, J.L., GODT, M.J. & SHERMAN-BROYLES, S.L. 1992. Factors influencing levels of genetic diversity in woody plant species. In *Population genetics of forest trees* (W.T. Adams, S.H. Strauss, D.L. Copes & A.R. Griffin, eds.) Kluwer Academic, Dordrecht, The Netherlands, p.95-124.
- HAMRICK, J.L., MURAWSKI, D.A. & NASON, J.D. 1993. The influence of seed dispersal mechanisms on the genetic structure of tropical tree populations. *Vegetatio* 107-108:281-297.
- JANZEN, D.H. 1969. Seed eaters versus seed size, number, toxicity and dispersal. *Evolution* 23:1-27.
- KÖPPEN, W. 1948. *Climatología*. Fondo de Cultura Económica, México.
- KOSTERMANS, A.J.G.H. 1957. Lauraceae. *Reinwardtia* 4:193-256.
- LEVIN, D.A. & KESTER, H.W. 1969. The dependence of bee-mediated pollen and gene dispersal upon plant density. *Evolution* 23:560-571.
- LINHART, Y.B., MITTON, J.B., STURGEON, K.B. & DAVIS, M.L. 1981. Genetic variation in space and time in a population of ponderosa pine. *Heredity* 46:407-426.
- LOVELESS, M.D. 1992. Isozyme variation in tropical trees: patterns of genetic organization. *New Forest* 6:67-94.
- LOVELESS, M.D. & HAMRICK, J.L. 1984. Ecological determinants of genetic structure in plant populations. *Annual Review of Ecology and Systematics* 15:65-95.
- MANLY, B.F.J. 1985. *The statistics of natural selection on animal populations*. Chapman and Hall, London.
- MARTINS, P.S. 1987. Estrutura populacional, fluxo gênico e conservação *in situ*. *IPEF* 35:71-78.
- MORAES, P.L.R. 1992. Dispersão de sementes pelo mono-carvoeiro (*Brachyteles arachnoides* E. Geoffroy, 1806) no Parque Estadual de Carlos Botelho. In *Congresso Nacional sobre Essências Nativas*, 2. Anais. *Revista do Instituto Florestal* 4:1193-1198.
- MORAES, P.L.R. & PAOLI, A.A.S. 1995. Dispersão e germinação de sementes de *Cryptocarya moschata* Nees & Martius ex Nees, *Ocotea catharinensis* Mez e *Endlicheria paniculata* (Sprengel) MacBride (Lauraceae). *Arquivos de Biologia e Tecnologia* 38:1119-1129.
- MORAES, P.L.R., CARVALHO, O., JR. & STRIER, K.B. 1998. Population variation in patch and party size in muriquis (*Brachyteles arachnoides*). *International Journal of Primatology* 19:325-337.
- NUNNEY, L. & CAMPBELL, K.A. 1993. Assessing minimum viable population size: demography meets population genetics. *Trends in Ecology and Evolution* 8:234-239.
- PRIMACK, R.B. 1987. Relationships among flowers, fruits, and seeds. *Annual Review of Ecology and Systematics* 18:409-430.
- RAYBOULD, A.F., GOUDET, J., MOGG, R.J., GLIDDON, C.J. & GRAY, A.J. 1995. Genetic structure of a linear population of *Beta vulgaris* ssp. *maritima* (sea beet) revealed by isozyme and RFLP analysis. *Heredity* 76:111-117.
- RAYMOND, M. & ROUSSET, F. 1995. GENEPop (Version 1.2): population genetics software for exact tests and ecumenicism. *Journal of Heredity* 86:248-249.
- ROHLF, F.J. & SCHNELL, G.D. 1971. An investigation of the isolation-by-distance model. *The American Naturalist* 105:295-324.
- ROUSSET, F. 1997. Genetic differentiation and estimation of gene flow from *F*-Statistics under isolation by distance. *Genetics* 145:1219-1228.
- SAS Institute. 1989. SAS/STAT® user's guide. Version 6, 4th ed., v. 1. SAS Institute Inc., Cary.
- SLATKIN, M. 1993. Isolation by distance in equilibrium and non-equilibrium populations. *Evolution* 47:264-279.
- SLATKIN, M. & BARTON, N.H. 1989. A comparison of three indirect methods for estimating average levels of gene flow. *Evolution* 43:1349-1368.
- SLATKIN, M. & MADDISON, W.P. 1990. Detecting isolation by distance using phylogenies of genes. *Genetics* 123:603-613.
- VELOSO, H.P. & GÓES-FILHO, L. 1982. Fitogeografia brasileira - classificação fisionômica-ecológica da vegetação neotropical. *Boletim Técnico, Série Vegetação* n. 1. Projeto RADAM BRASIL, Salvador.
- VENCOVSKY, R. 1997. Biometrical approaches for molecular markers: estimation of effective population size. In *International Workshop on Agricultural Biotechnology, 1997. Proceedings*. ESALQ-USP, Piracicaba, Cook College - New Jersey Agricultural Experiment Station, The State University of New Jersey, Rutgers. 2p.
- WEIR, B.S. 1996. *Genetic data analysis II: methods for discrete population genetic data*. Sinauer Associates, Sunderland.
- WHITMORE, T.C. 1980. The conservation of tropical rain forest. In *Conservation biology: an evolutionary-ecological perspective* (M.E. Soulé & B.A. Wilcox, eds.). Sinauer Associates, Sunderland, p.303-318.
- WRIGHT, S. 1932. The roles of mutation, inbreeding, cross-breeding, and selection in evolution. *Proceedings of the 6th International Congress of Genetics* 1:356-366.
- WRIGHT, S. 1943. Isolation by distance. *Genetics* 28:114-138.
- WRIGHT, S. 1951. The genetical structure of populations. *Annals of Eugenics* 15:323-354.
- WRIGHT, S. 1969. *Evolution and the genetics of populations*. v.2. The theory of gene frequencies. The University of Chicago Press, Chicago.