

EFEITOS DA FRAGMENTAÇÃO FLORESTAL SOBRE A IMIGRAÇÃO DE SEMENTES E A ESTRUTURA GENÉTICA TEMPORAL DE POPULAÇÕES DE *Euterpe edulis* Mart.¹

Carlos Eduardo Sícoli SEOANE²
Paulo Yoshio KAGEYAMA³
André RIBEIRO^{4,5}
Renato MATIAS^{4,6}
Maurício Sedrez dos REIS⁷
Kamal BAWA⁸
Alexandre Magno SEBBENN⁹

RESUMO

A fragmentação florestal afeta processos genéticos populacionais como a deriva genética, o fluxo gênico e a reprodução. Trabalhos que comparem populações em locais com diferentes intensidades de perturbação antrópica ainda são escassos. *Euterpe edulis* Mart. é uma palmeira brasileira que pode ser considerada como uma espécie-chave, produzindo anualmente uma grande quantidade de frutos consumidos avidamente pela fauna. O estudo foi realizado em duas populações de *E. edulis* do Estado do Rio de Janeiro, uma localizada em um fragmento florestal de cerca de 1.000 hectares (População Isolada) e a outra em uma floresta relativamente contínua (População Contínua). O objetivo deste trabalho foi estudar os padrões genéticos entre gerações e verificar mudanças nestes padrões genéticos e no banco de plântulas, relacionadas à intensidade de perturbação das atividades humanas nos locais. A amostragem foi realizada em cinco subpopulações em cada uma das duas populações. Plântulas isoladas, matrizes locais e progênies foram genotipadas para seis locos microsatélites. Como resultados, obteve-se que: 1 - os níveis de diversidade genética são semelhantes aos de outras regiões de ocorrência, embora os níveis de endogamia detectados tenham sido bem superiores; 2 - existem diferenças genéticas nas frequências alélicas entre as plantas adultas e sementes em relação às plântulas, provavelmente devido à deriva genética; 3 - os índices de fixação dos adultos sugerem que a degradação ambiental não era significativamente diferente entre estas populações, quando de sua formação; 4 - o índice de fixação menor para as plântulas da População Contínua indica que o fluxo gênico é prejudicado com o isolamento populacional;

ABSTRACT

Forest fragmentation affects population genetic processes such as random drift, gene flow and mating system. Studies comparing populations situated at locations under different human disturbance intensities are still scarce. *Euterpe edulis* Mart., a heart-of-palm, produces a large quantity of fruits, which supports many animal species and can be considered a keystone species. This research was conducted at Rio de Janeiro State, Brazil, comparing two populations, one in a tropical forest fragment with an area of approximately 1,000 hectares and the other in a relatively continuous tropical forest. The objective of this work was to study the genetic patterns among different generations and to verify changes in these patterns related to different local human disturbance intensities. Seeds, seedlings and adults from both populations were assessed by microsatellites analyses. In each population the sampling was conducted in five subpopulations, isolated seedlings, local adults and progenies. The results obtained were: 1 - the genetic diversity levels were similar to those found at other occurrence regions of the species, although inbreeding levels were considerably superior; 2 - there were genetic differences in the allelic frequencies among adults and seeds when compared to the seedlings, probably due to the genetic drift; 3 - adults fixation indexes suggest that when their populations were formed there were no significant differences among the environment degradation at the two sites; 4 - the lower fixation index for the seedling from the continuous population indicated disturbances in the gene flow processes when a population becomes isolated;

(1) Aceito para publicação em junho de 2005.

(2) Embrapa Florestas, Caixa Postal 319, 83.411-000, Colombo, PR, Brasil. E-mail: eduardo@cnpf.embrapa.br

(3) ESALQ/USP, Departamento de Ciências Florestais, Av. Pádua Dias, 15, 13418-900, Piracicaba, SP, Brasil.

(4) IBRAS, Rua Ignez Peixoto, 565, Caixa Postal 319, 24346-070, Niterói, RJ, Brasil.

(5) UERJ, Departamento de Geografia, Faculdade Formação de Professores – FFP, Av. Brigadeiro Trompowski, s/nº, Cidade Universitária, 21941-590, Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

(6) UFRRJ, ICF, Departamento de Ciências Florestais, Av. Brigadeiro Trompowski, s/nº, Cidade Universitária, 21941-590, Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

(7) UFSC, Departamento de Genética, Campus Universitário, Trindade, 88040-900, Florianópolis, SC, Brasil.

(8) University of Massachusetts, UMass, Biology Department, 100 Morrissey Boulevard, Boston, MA 02125-3393, USA.

(9) Instituto Florestal, Caixa Postal 1322, 01059-970, São Paulo, SP, Brasil. E-mail: a.sebbenn@holz.uni-hamburg.de

5 - o valor maior para a divergência genética na População Contínua é devido ao maior número de genes advindos de fora das subpopulações amostradas; 6 - o pequeno valor da relação entre o número de plântulas e de adultos da População Isolada sugere perturbação na manutenção do banco de plântulas devido ao isolamento populacional, e 7 - a frugivoria foi proporcional à oferta de frutos, mas em números absolutos foi três vezes menor na População Isolada, o que sugere que, em populações isoladas, a longo prazo, há efeitos negativos na dinâmica do fluxo gênico da espécie e na sobrevivência local das espécies frugívoras associadas.

Palavras-chave: fragmentação florestal; *Euterpe edulis*; dispersão de sementes; fluxo gênico; banco de plântulas; estrutura genética temporal; microsatélites; conservação genética; equilíbrio de Hardy-Weinberg.

1 INTRODUÇÃO

O palmeiteiro, *Euterpe edulis* Mart., é uma palmeira nativa da Mata Atlântica que produz grande quantidade de frutos e que pode ser considerada como uma espécie-chave, pois seus frutos ficam maduros em uma época de escassez geral de alimentos, quando então são consumidos por um grande número de aves e mamíferos (Terborgh, 1986; Reis, 1995; Galetti & Aleixo, 1998; Reis & Kageyama, 2000). Neste sentido, possíveis alterações nas dinâmicas populacionais da espécie, decorrentes das atividades humanas, devem ser pesquisadas, monitoradas e atenuadas, para que em suas populações toda a gama de animais frugívoros continue a existir em suas áreas de ocorrência natural. Além disso, *E. edulis* é adequada para ser modelo das espécies comuns, climáticas e/ou daquelas sob intensa exploração extrativista (Seoane, 1998; Reis *et al.*, 2000b).

A fragmentação florestal é uma ameaça presente em todos os ecossistemas florestais do planeta. A redução no número de indivíduos, o declínio nos tamanhos populacionais médios e a separação de remanescentes florestais por áreas não florestadas afetam processos genéticos fundamentais ocorrentes nas populações, como a deriva genética, o fluxo gênico e a reprodução. Os três efeitos genéticos mais óbvios da fragmentação florestal são: *i*) perda de diversidade genética tanto ao nível populacional quanto de espécie; *ii*) aumento da estrutura interpopulacional, e *iii*) aumento da endogamia (Young & Boyle, 2000).

A fragmentação florestal leva à redução do tamanho populacional, criando gargalos genéticos ("bottlenecks"), pois os indivíduos que

5 - the higher levels of genetic divergence found for the continuous populations are due to the large number of genes coming from outside the sampled subpopulations; 6 - the smaller number of seedlings per adult found in the isolated population suggests disturbances to the maintenance of the seedling bank when a population becomes isolated, and 7 - frugivory was proportional to the fruit availability but in absolute numbers was three times smaller in the isolated population, which suggests that when a population becomes isolated there will be negative effects on the gene flow dynamics of the species and in the local survival of the associated frugivorous species, on the long run.

Key words: forest fragmentation; *Euterpe edulis*; seed dispersion; gene flow; seedling bank; temporal genetic structure; microsatellite; genetic conservation; Hardy-Weinberg equilibrium.

restam contém apenas uma pequena amostra do conjunto gênico original. Quando se têm poucas gerações, os resultados observados se devem ao efeito de gargalo genético (Young *et al.*, 1996), mas a pequena população remanescente, caso permaneça isolada por muitas gerações, terá contínua perda de alelos devido à deriva genética aleatória, diminuindo a variabilidade dentro de populações e aumentando a diferenciação entre populações (Barret & Kohn, 1991; Seoane *et al.*, 2000a). As conseqüências da deriva dependem do número de gerações que se passaram nos remanescentes. Tais efeitos apresentam implicações em relação à persistência da espécie. No curto prazo, a perda de heterozigosidade pode reduzir a aptidão individual da espécie, inviabilizando o remanescente populacional. No longo prazo, a redução da riqueza alélica deve limitar a habilidade das espécies a responderem às mudanças devidas à ação de forças seletivas (Charlesworth & Charlesworth, 1987; Seoane, 1998; Seoane *et al.*, 2000a). Outra conseqüência é a depressão endogâmica, ou seja, a redução da performance reprodutiva da espécie devido ao cruzamento entre indivíduos aparentados (Allard, 1971; Templeton *et al.*, 1990; Seoane *et al.*, 2000b).

O presente estudo, realizado em duas populações de *E. edulis* sujeitas a diferentes graus de isolamento, devido à intensidade da fragmentação florestal, na região centro-sul do Estado do Rio de Janeiro, concentra-se em uma importante estratégia natural da espécie: a dispersão de sementes e os efeitos da fragmentação florestal sobre esta.

Geralmente os estudos de genética de populações, incluindo aqueles que analisam os efeitos da fragmentação florestal, envolvem duas fases de vida dos vegetais: adultos reprodutivos e suas progênes, isto tanto no nível internacional (Bawa, 1973; Ellstrand, 1990; Hall *et al.*, 1996; Chase *et al.*, 1996a, b), quanto no Brasil (Seoane *et al.*, 2000a, b; Sebbenn *et al.*, 1998a, b, 2001) e mais especificamente para *E. edulis* (Reis *et al.*, 2000c; Gaiotto *et al.*, 2001; Seoane *et al.*, 2005a). Nesse sentido, poucos estudos de genética de populações abordam o fluxo gênico realizado pela dispersão de sementes nas espécies arbóreas tropicais (Hamrick & Loveless, 1986; Pacheco & Simonetti, 2000), pois muitas vezes a análise do fluxo gênico, via dispersão de sementes, é deixada de lado por ser de grande dificuldade experimental (Denslow & Hartshorn, 1994).

A análise genética dos adultos permite olhar sobre o fluxo gênico “histórico”, em que se mesclam vários fatores, inclusive a seleção de alelos não neutros. Já a análise das progênes, ou seja, de plântulas de sementes coletadas diretamente da árvore matriz, se concentra na migração de alelos potencialmente realizada pela polinização, e não a migração de alelos realizada pela dispersão de sementes, uma etapa seguinte, após a queda do fruto ao solo ou da sua retirada da planta matriz por um dispersor. No entanto, ao se estudar *E. edulis*, se torna imperativo analisar a dispersão de sementes, pois o fluxo gênico da espécie é provavelmente realizado, em grande parte, por ela através dos mais variados tipos de animais, muitos deles capazes de vôos longos. Já a polinização é realizada principalmente por pequenos insetos (Mantovani & Morellato, 2000), com o alcance de vôo provavelmente muito mais limitado (Nason *et al.*, 1996, 1998).

A grande produção de frutos em *E. edulis* resulta em um expressivo banco de plântulas sob os adultos reprodutivos, uma estratégia natural para a regeneração das populações da espécie (Reis, 1995; Reis *et al.*, 2000a). Esses frutos são altamente consumidos por animais que dispersam as sementes de *E. edulis* para longe da planta matriz e mesmo para outras localidades, sendo esta dispersão também uma estratégia natural da espécie, tanto para a manutenção da diversidade genética das populações quanto para a colonização de novas áreas.

No presente trabalho, seguindo a definição de Howe (1986) e Reis & Kageyama (2000), conceitua-se “dispersão de sementes” como o transporte das sementes para um local próximo ou distante da planta matriz, o que pode variar de centímetros a quilômetros.

Dentro das florestas tropicais, a síndrome de dispersão de sementes mais frequente é a zoocórica, sendo normalmente entre 60 e 90% as espécies adaptadas a este tipo de transporte (Howe & Smallwood, 1982; Levey *et al.*, 1994; Reis & Kageyama, 2000), o qual predomina nas palmeiras (Terborgh, 1986; Reis & Kageyama, 2000). O gênero *Euterpe* é classificado por Van der Pijl (1972) como um processo de dispersão de sementes entre a sinzoocoria (sem percorrer o trato digestivo do animal) e a endozoocoria (percorrendo o trato digestivo do animal, saindo nas fezes). Os frutos de *E. edulis* são do tipo drupa. Neste e em outros trabalhos o conjunto “semente mais endocarpo” é tratado como “semente”, formando a unidade de dispersão mais simples da espécie (Reis, 1995; Henderson, 2000; Queiroz, 2000; Reis & Kageyama, 2000).

Visando trazer subsídios para a elaboração das estratégias de conservação da floresta tropical, e mais especificamente das populações naturais de *E. edulis* ocorrentes na região centro-sul do Estado do Rio de Janeiro, o objetivo geral deste trabalho foi estudar os padrões genéticos entre gerações em duas populações da espécie e verificar os efeitos decorrentes da intensidade de perturbação das atividades humanas. Os objetivos específicos foram: 1 - verificar se as populações se encontram em conformidade com o princípio de equilíbrio de Hardy-Weinberg; 2 - quantificar a estrutura genética temporal das frequências alélicas; 3 - comparar os níveis de variabilidade genética entre gerações; 4 - analisar a densidade dos indivíduos no banco de plântulas, e 5 - Caracterizar a contribuição, para o banco de plântulas, vinda de plântulas originadas de sementes imigrantes.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Locais de Estudo

O estudo foi realizado em duas populações de *E. edulis* da floresta Atlântica, da região centro-sul do Estado do Rio de Janeiro, uma localizada em um fragmento florestal e outra em uma floresta relativamente contínua. A distância entre as duas populações é de aproximadamente 66 km. Ambos os locais apresentam cobertura vegetal de floresta tropical (Mata Atlântica), onde predomina uma floresta de estrutura secundária, em recuperação após interferência antrópica ocorrida há algumas décadas na forma de corte raso para implantação de ciclos de sistemas agrícolas (cana-de-açúcar, café e banana, entre os principais).

Principalmente na floresta contínua estudada, se apresentam alguns trechos de floresta tropical não diretamente antropizada (floresta primária), onde podem ser encontrados indivíduos de espécies arbóreas com distribuição de baixa densidade (raras) e outros elementos da flora e fauna indicadores de um alto grau de conservação da floresta. A presença desses trechos de floresta relativamente não perturbada proporcionou uma entrada de propágulos (chuva de sementes) nas áreas perturbadas adjacentes, o que foi fundamental para a recuperação dessas áreas e permitiu que, após algumas décadas, se encontrasse ali uma predominância de floresta de estrutura secundária.

A população do fragmento florestal, doravante denominada “População Isolada”, situa-se nas coordenadas 22°50’S e 42°53’W, em um fragmento florestal de área de 1.160 hectares, na elevação litorânea denominada “Serra do Macaco”, também conhecida localmente como “Morro da Torre”, no município de Maricá-RJ, na região conhecida como “Região dos Lagos”. Esse fragmento florestal doravante será denominado “fragmento florestal”. Ele está isolado de outros por pelo menos 700 metros, por um mosaico de pequenos sítios com matas em regeneração e pastos dominados por capim-colonião (*Panicum maximum*). Segundo o relato de habitantes, havia florestas com populações de *E. edulis* nos locais onde hoje se encontram esses pequenos sítios. Essa e as demais “serras” das redondezas são tombadas como parte da “Reserva da Biosfera da Mata Atlântica do Estado do Rio de Janeiro” (Instituto Estadual de Florestas do Rio de Janeiro - IEF/RJ, 1994). O fragmento florestal tem indivíduos adultos ocorrendo somente no local onde foi feita a amostragem e em um outro local distante cerca de 400 metros. Foi estimada a presença de 240 indivíduos adultos em todo o fragmento florestal e, na ocorrência, uma densidade de 192 indivíduos adultos por hectare, ou seja, há em todo o fragmento florestal apenas dois pequenos trechos, somando um pouco mais de um hectare, com a presença altamente agrupada de indivíduos de *E. edulis*.

A população da floresta contínua, doravante denominada “População Contínua”, situa-se nas coordenadas 22°24’S e 42°31’W, em um fragmento florestal de aproximadamente 25.900 hectares, na localidade de Macaé de Cima, município de Nova Friburgo-RJ. Esse fragmento doravante será denominado “floresta contínua”. A população estudada encontra-se em propriedade particular, denominada “Sítio do Sr. Glin”. A floresta contínua é cortada por diversas estradas não pavimentadas e nela se encontram inseridos muitos sítios com pequenas lavouras e também casas de veraneio.

Segundo relatos de habitantes, na População Contínua nunca houve uma extração significativa de palmito nem redução das florestas que a cercam. Legalmente, o local onde se encontra a população estudada integra a Reserva Ecológica de Macaé de Cima (Lima *et al.*, 1999). Foram estimadas, através de transectos, a presença de 1.315.360 indivíduos adultos na floresta contínua e, através de transectos plotados no local de ocorrência da espécie, uma densidade local de 189 indivíduos adultos por hectare, o que mostra que nesse fragmento florestal há indivíduos ocorrendo em muitos locais além de onde foi feita a amostragem. A floresta contínua é contígua a vários fragmentos florestais, separados por estradas pavimentadas e não pavimentadas, que no somatório perfazem um total de cerca de 150.000 hectares florestados na porção central da Serra do Mar do Estado do Rio de Janeiro.

2.2 Amostragem

Sementes, plântulas e adultos foram coletados em ambas as populações e genotipados para seis locos microsatélites: EE05, EE15, EE23, EE45, EE48 e EE54. Esses locos são parte do conjunto de locos desenvolvidos por Gaiotto *et al.* (2001) e utilizados para essas mesmas sementes e adultos em Seoane *et al.* (2005a). Toda a amostragem para a genotipagem foi realizada em dez parcelas, doravante denominadas subpopulações, cinco em cada uma das duas populações. O critério de escolha para os locais estabelecidos para essas parcelas, ou subpopulações, foi o de encontrar, dentro das populações, locais de máxima presença dos elementos estudados. As parcelas variaram em tamanho e forma, de acordo com os elementos locais que foram amostrados: plântulas isoladas, matrizes locais e progênies de algumas destas matrizes locais, conforme segue abaixo.

Em cada uma das subpopulações foram coletadas folhas de todas as plântulas que eram isoladas de outras por mais de 30 cm, doravante denominadas “plântulas isoladas”, evitando-se, assim, ter de genotipar o grande número de plântulas originado de sementes que chegaram ao banco de plântulas com a queda da infrutescência da qual originaram. Outro critério seguido foi o de coletar somente plântulas que ainda tivessem o fruto ou parte dele, evitando-se a coleta de plântulas originadas de sementes germinadas há mais de dois anos, que é, aproximadamente, o tempo que os resquícios das sementes continuam anexados às plântulas.

Para tornar possível a análise da imigração de sementes, amostrou-se e se genotipou apenas aquelas que aqui serão denominadas “matrizes locais”: aqueles adultos que eram árvores matrizes em potencial para a formação das plântulas genotipadas, caso estas, quando sementes, tivessem caído das infrutescências (barocoria) e não tivessem sofrido outra maneira de dispersão, como por exemplo a zoocoria. Distinguiram-se as matrizes locais dos demais adultos da população ao se considerar que a distância que a barocoria pode lançar o fruto raramente excede o dobro da altura das árvores (Eldridge *et al.*, 1993; Sebbenn, 2002), e que a altura máxima que os indivíduos de *E. edulis* alcançam é de 15 metros (Lorenzi, 2002; Henderson, 2000). Coletaram-se as folhas de todos os adultos dentro das parcelas e em um raio de 30 metros das bordas das parcelas, dobrando este raio morro acima, caso o terreno tivesse declividade maior que 30°. Foram amostrados tecidos foliares de 34 e 43 indivíduos adultos das populações Isolada e Contínua, respectivamente.

Sementes de polinização aberta foram coletadas em seis adultos na População Isolada e em nove na População Contínua. Todos esses adultos eram matrizes locais em suas subpopulações, como descrito acima. As sementes foram germinadas e dez plantas de cada árvore materna (progênies) foram genotipadas. Essas são as mesmas sementes analisadas em Seoane *et al.* (2005a).

2.3 Análise de Microssatélites (SSRs)

Tecidos foliares tiveram seu DNA extraído segundo a metodologia proposta por Ferreira & Grattaplagia (1996), adaptada por Gaiotto *et al.* (2001). Para se quantificar o DNA presente no material extraído correu-se 2,5 µl da amostra, adicionados de 2 µl de tampão TE e 7,5 µl de H₂O m.l.q., em gel de agarose, por cerca de 15 minutos em eletroforese. O resultado foi comparado com aqueles dos DNAs de concentrações conhecidas (50, 100 e 300 ng/µl) colocadas no mesmo gel. Para se chegar à concentração adequada para o estudo de polimorfismo de microssatélites, de cerca de 2,5 ng/µl, adicionou-se uma determinada quantidade de H₂O m.l.q., calculada com o auxílio de uma planilha do programa Excel. Para a amplificação das amostras em PCR (Polymerase Chain Reaction), utilizou-se 3 µl da amostra adicionados de 1,34 µl de H₂O, 1,3 µl de Tp10x, 1,3 µl de dNTP (2,5 mM), 1,3 µl de BSA (2,5 mg/ml), 4,3 µl de Primer (0,9 µM) e 0,2 µl de *Taq* polimerase (5 v/µl).

O programa utilizado para a amplificação foi o denominado “micro 56”: 96°C por 2 minutos, 30 ciclos de 94°C por um minuto, um ciclo em temperatura específica de anelamento do *primer* por um minuto, um ciclo em 72°C por um minuto, um ciclo em 72°C por sete minutos. Foram colocadas 3 µl das amostras amplificadas para correr por cerca de uma hora, em um gel de poliacrilamida 4% pré-aquecido e com corrente testada, contendo 8 M de uréia, por cerca de uma hora. Em cada gel correram cerca de 90 amostras. Na etapa da coloração foi utilizado o seguinte protocolo, adaptado de Ferreira & Grattaplagia (1996): “fix-stop” (formamida), por 20 minutos, três banhos de água, de dois minutos, banho em nitrato de prata, por 30 minutos, banho em água, por 10 segundos, banho em revelador por até sete minutos, banho em “fix-stop” por cinco minutos, e em água, por cinco minutos. Os géis eram interpretados depois de secarem por cerca de 24 horas, escaneados e devidamente descartados. As temperaturas de anelamento dos *primers* são as seguintes: EE05: 56°C; EE15: 56°C; EE23: 58°C; EE45: 56°C; EE48: 64°C; EE 54: 56°C (Gaiotto *et al.*, 2001).

2.4 Análises Estatísticas

2.4.1 Índices de diversidade intrapopulacionais e teste de Equilíbrio de Hardy-Weinberg

A diversidade genética, dentro das populações, foi analisada pela heterozigosidade observada (\hat{H}_o), heterozigosidade esperada em equilíbrio de Hardy-Weinberg (\hat{H}_e), número médio de alelos por loco (\hat{A}) e número médio efetivo de alelos por loco (\hat{A}_e), estimativas obtidas a partir do programa GDA (Lewis & Zaykin, 2000).

O modelo de equilíbrio de Hardy-Weinberg postula que em populações de cruzamentos aleatórios, na ausência de seleção, deriva genética, mutação e fluxo gênico, as frequências alélicas e genotípicas não se alteram com o passar das gerações. Assim, a população se mantém em um estado estável, até que alguma força evolutiva, por ventura, venha a ocorrer. Neste estudo três gerações foram avaliadas quanto ao ajuste das populações ao modelo de EHW. O teste de aderência dos locos individuais e da média entre locos ao modelo de EHW foi realizado com base no índice de fixação, \hat{f} .

A vantagem de abordar o EHW por esse método é que além de ele poder indicar a presença de desvios do modelo, mostra o sentido dos desvios em termos de excesso ou deficiência de heterozigotos.

Na presença de EHW, o índice \hat{f} não é diferente de zero e valores positivos e significativos indicam excesso de homozigotos, enquanto valores negativos e significativos indicam excesso de heterozigotos em relação ao modelo de EHW. O índice \hat{f} foi estimado pela expressão (Weir, 1996):

$$\hat{f} = \frac{(\hat{H}_o - \hat{H}_e) + \frac{1}{2n} \hat{H}_o}{\hat{H}_e - \frac{1}{2n} \hat{H}_o}.$$

O índice de fixação foi estimado em nível de progênies (\hat{F}_p), banco de plântulas (\hat{F}_j) e indivíduos adultos (\hat{F}_a), para cada população e seus respectivos intervalos de confiança por 10.000 reamostragens *bootstrap*, usando o programa GDA (Lewis & Zaykin, 2000).

2.4.2 Estrutura genética entre gerações

A divergência genética entre gerações foi avaliada pela estimativa da medida de divergência genética proposta por Slatkin (1985) para dados de locos microssatélites, baseado no número de pares de base, \hat{R}_{HO} , utilizando o programa R_{ST} de Goodman (1997). Para obter-se o intervalo de confiança, a 95% de probabilidade da média entre locos de \hat{R}_{HO} , utilizou-se 1.000 reamostragens *bootstrap*.

2.5 Análise da Densidade dos Indivíduos no Banco de Plântulas

Foi realizada a amostragem da densidade de plântulas nas duas populações, a partir de três parcelas de 160 metros quadrados localizadas em pontos centrais da ocorrência de indivíduos adultos da espécie. Nessas parcelas foram contabilizadas as plântulas, assim consideradas: aqueles indivíduos com no máximo a terceira e quarta folhas, que são as duas primeiras folhas fotossintetizantes a emergir, já desenvolvidas, de acordo com Queiroz (2000). A partir dos dados calculou-se a estimativa do número de plântulas por hectare e a relação entre o número de plântulas e o número de adultos por hectare de população.

Foi também calculada a porcentagem do banco de plântulas, composta por plântulas isoladas, ao se comparar a densidade por hectare do banco de plântulas com a densidade por hectare de plântulas isoladas.

2.6 Análise da Imigração de Sementes

Para o estudo da imigração de sementes foram comparados os genótipos de plântulas e adultos, tanto na População Isolada quanto na População Contínua, fazendo-se testes de exclusão de paternidade usando o programa CERVUS 2.0. A estimativa da imigração de sementes foi baseada em duas comparações, em cada população: 1 - na comparação dos genótipos dos indivíduos adultos com os das plântulas de toda a população (análise populacional), e 2 - na comparação dos genótipos dos indivíduos do banco de plântulas com os das matrizes locais, para averiguar qual seria a proporção de plântulas que não teriam como matriz nenhuma das matrizes locais (análise subpopulacional). As análises foram conduzidas a partir dos genótipos de 77 árvores adultas (34 da População Isolada e 43 da Contínua) e de 79 plântulas (47 da População Isolada e 32 da Contínua), caracterizados para os seis locos microssatélites.

O programa CERVUS 2.0 calcula, para cada um dos locos, uma razão entre as probabilidades de duas hipóteses alternativas (*likelihood ratio*) para cada candidato a parental masculino ou feminino, de modo que a razão de máxima verossimilhança (*likelihood ratio*) é $LR = H_{(1)}/H_{(0)}$, onde a hipótese $H_{(1)}$ representa que o candidato é o verdadeiro parental e $H_{(0)}$ representa que o parental é de ocorrência aleatória na população. Um LR total para cada candidato é calculado por multiplicação dos LRs de cada loco individual, assumindo-se segregação independente entre locos (locos em equilíbrio de ligação). O logaritmo natural (\log_e) desse LR total é denominado *LOD score*. *LOD score* positivo implica dizer que o candidato é mais provável de ser o verdadeiro pai do que um outro macho selecionado aleatoriamente. Quando dois ou mais candidatos apresentam um *LOD score* positivo, uma estatística Δ é aplicada. O parâmetro Δ é definido como a diferença do *LOD score* entre o mais provável pai (maior *LOD score* positivo) e o segundo mais provável pai (segundo maior *LOD score* positivo). A significância dos valores de Δ é acessada por testes de paternidade simulados pelo programa.

A simulação baseia-se nas frequências alélicas observadas na população (baseada nos genótipos de todas as árvores adultas e plântulas de ambas as populações) com o objetivo de gerar distribuições do Δ . A simulação gera valores críticos, de modo que a significância dos valores de Δ , encontrados nos testes de paternidade conduzidos na população estudada, possa ser determinada. O parental com o maior *LOD score* será assinalado como o pai se a diferença entre o seu *LOD score* e o do segundo candidato a parental (Δ score) for maior do que o Δ crítico. Os parâmetros usados nas inferências de paternidade foram os seguintes: admitiu-se que cada árvore matriz tinha dez árvores vizinhas (vizinhança reprodutiva), que a proporção de árvores amostradas foi de 50% e que a taxa de erro de genotipagem foi de 0,01. Foram usadas 10.000 repetições nas simulações e os níveis de confiança restrito de 95% e relaxado de 80% para determinar um verdadeiro parental, conforme sugerem Marshal *et al.* (1998).

A metodologia aqui realizada para detectar a imigração de sementes permite que a estimativa do número de plântulas da área amostrada, que foram originadas de sementes imigrantes, seja também uma estimativa da dispersão de sementes via zoocoria ocorrente, mas com cautela, visto que seria uma estimativa provavelmente subestimada, por várias razões, entre elas a mortalidade entre a fase semente e a fase plântula, a não contagem das sementes dispersadas para fora da população, a não contagem de possíveis sementes dispersadas via zoocoria em grupo,

manipuladas na própria infrutescência ou, coincidentemente, caindo perto de outras sementes e/ou plântulas, e a não contagem de sementes dispersadas via zoocoria, mas com alelos iguais aos dos adultos locais. É possível, também, que entre as populações estudadas haja diferenças de taxa de mortalidade entre as fases de semente e plântula e/ou diferenças de ocorrência de um ou mais dos fatores de não contagem de plântulas, que estariam distorcendo os resultados.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Equilíbrio de Hardy-Weinberg

As estimativas do índice de fixação foram positivas e estatisticamente diferentes de zero (TABELA 1), indicando excesso de homozigotos, na População Isolada, para adultos em cinco locos, para plântulas em seis locos e para progênies em quatro locos, sendo a média entre locos também positiva e significativamente diferente de zero para os três estágios; na População Contínua, para adultos em quatro locos, plântulas em cinco locos e progênies em quatro locos, sendo a média entre locos positiva e também significativamente diferente de zero para os três estágios. O índice de fixação foi negativo e estatisticamente diferente de zero, indicando excesso de heterozigotos em dois locos das progênies da População Contínua.

TABELA 1 – Estimativas dos índices de fixação (\hat{f}) para locos microssatélites em adultos, progênies e plântulas de *Euterpe edulis* Mart.

| População | Estágio | EE05 ^a | EE15 ^a | EE23 ^a | EE45 ^a | EE48 ^a | EE54 ^a | Média ^b |
|-----------|-----------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|--------------------|
| Isolada | Adultos | 0,194** | 0,523** | 0,344** | -0,022 | 0,062* | 0,197** | 0,224** |
| | Progênies | 0,140** | -0,023 | 0,193** | 0,301** | 0,411** | -0,070 | 0,165* |
| | Plântulas | 0,104** | 0,748** | 0,432** | 0,172** | 0,114** | 0,273** | 0,338** |
| Contínua | Adultos | 0,230** | 0,109 | 0,175** | 0,098 | 0,397** | 0,343** | 0,223** |
| | Progênies | -0,066** | 0,464** | 0,185** | 0,329** | 0,144** | -0,054** | 0,212* |
| | Plântulas | 0,324** | – | 0,348** | 0,232* | 0,264** | 0,127** | 0,257** |

(*) $P < 0,05$.

(**) $P < 0,01$.

(a) $\chi^2 = n\hat{f}(a-1)$; GL = (a-1), sendo n o tamanho amostral e a o número de alelos no loco; GL = graus de liberdade.

(b) A significância estatística da estimativa populacional de \hat{f} , média, entre locos, foi obtida por 10.000 reamostragens *bootstrap*.

Com esses resultados se verifica que apenas 3 dos 18 valores individuais do índice de fixação na População Isolada (16,7%) e 2 dos 17 valores na População Contínua (11,8%) não foram estatisticamente diferentes de zero, ou seja, estavam ajustados ao modelo de equilíbrio de Hardy-Weinberg. Por outro lado, todos os valores médios estimados entre locos foram significativamente diferentes de zero. Esses resultados mostram clara ausência de EHW nas populações e indicam desvios de cruzamentos aleatórios e/ou a atuação de forças evolutivas como deriva genética ou fluxo gênico. Exclui-se o caso de seleção natural, visto que locos microssatélites são teoricamente neutros, portanto não estariam sobre os efeitos de tal fator evolutivo. Valores positivos e estatisticamente diferentes de zero indicam excesso de homozigotos e podem ser associados, mais comumente, a algum tipo de endogamia e/ou deriva genética aleatória. Já valores negativos significativamente diferentes de zero indicam excesso de heterozigotos e podem estar associados, mais comumente, a fluxo gênico.

Os valores médios do índice de fixação para a classe de adultos, de ambas as populações (0,223 e 0,224), foram positivos, estatisticamente diferentes de zero e muito semelhantes. A hipótese inicial era de que o índice de fixação seria semelhante para a classe de adultos de ambas as populações, o que de fato ocorreu, sugerindo que a degradação ambiental do fragmento florestal onde está a População Isolada, quando dos eventos reprodutivos que formaram os indivíduos adultos, ainda não era intensa o bastante a ponto de influenciar no processo reprodutivo da espécie, dando indícios de que nessa época a População Isolada não era uma população “dreno”, pois provavelmente não estava experimentando uma deriva genética maior do que aquela atuando na População Contínua (Barton & Whitlock, 2000).

As plântulas da População Contínua apresentaram um índice de fixação (0,257) menor do que as plântulas da População Isolada (0,338), sendo que esta diferença indica que o fluxo gênico, via dispersão de sementes por zoocoria, está muito prejudicado para a População Isolada,

o que acarretaria uma atuação da deriva genética aleatória maior para as plântulas desta população, levando a índices de fixação de valores maiores. No tocante às progênies se encontraram valores com uma diferença de cerca 28,5%, com um índice de fixação maior para População Contínua; no entanto, dos seis valores do índice de fixação medidos para locos individuais, nas progênies da População Contínua, dois foram negativos e estatisticamente diferentes de zero, aliás, os únicos do experimento, indicando excesso de heterozigotos.

A comparação dos índices de fixação em três diferentes gerações permite avaliar os possíveis efeitos da seleção sobre as estruturas genóticas das populações. Aqui não foram detectados indícios de seleção entre as gerações. Nas três gerações das duas populações os índices de fixação foram positivos e significativamente diferentes de zero (TABELA 1), indicando endogamia. O padrão de índices de fixação foi o mesmo nas duas populações, com maior índice de fixação na geração jovem, seguido das árvores adultas e, finalmente, das progênies. Na População Isolada, as diferenças entre gerações foram maiores, mas na População Contínua os valores do índice de fixação foram, em geral, semelhantes em magnitude entre as gerações, sugerindo que esta população se encontra em equilíbrio de endogamia.

Gaiotto *et al.* (2001) também estudaram três gerações de *E. edulis* em duas populações no Distrito Federal e, tal como no presente trabalho, detectaram maiores indícios de endogamia na geração de plântulas, seguida da geração de adultos e finalmente pela geração de progênies. Entretanto, Conte (2004) estudou três gerações de *E. edulis* em quatro populações no Estado de Santa Catarina e não observou diferenças significativas no índice de fixação entre gerações. Contudo, na média das quatro populações, o autor detectou menor índice de fixação nas árvores jovens (0,024), seguido da geração adulta (0,034) e da geração de plântulas (0,071), com sutil tendência de seleção contra homozigotos entre a geração de plântulas para a adulta, embora as diferenças não tenham sido significativas.

3.2 Estrutura Genética entre Gerações

Quando analisada toda a população, a divergência genética (TABELA 2) assumiu um valor consideravelmente maior na População Contínua (0,087) do que na População Isolada (0,053), o que pode ser explicado por uma contribuição maior de sementes imigrantes originadas de indivíduos na própria população que não foram amostrados, de outras populações do próprio fragmento e de populações em fragmentos florestais vizinhos.

As divergências genéticas entre as frequências alélicas de adultos e plântulas não foram diferentes de zero em nenhuma das populações (Isolada: $\hat{R}_{HO} = 0,005$; Contínua: $\hat{R}_{HO} = 0,014$), indicando a mesma estrutura genética para ambas as gerações. Por outro lado, as divergências genéticas entre adultos e progênies (Isolada: $\hat{R}_{HO} = 0,087$; Contínua: $\hat{R}_{HO} = 0,074$) e plântulas e progênies (Isolada: $\hat{R}_{HO} = 0,081$; Contínua: $\hat{R}_{HO} = 0,165$) foram significativamente diferentes de zero em ambas as populações, indicando alterações na estrutura genética da geração de progênies em relação às gerações de adultos e plântulas.

Essas alterações podem ser causadas por seleção natural, deriva genética e migração. Descarta-se a seleção, considerando-se que essas diferenças foram observadas a partir de um marcador neutro, microssatélite. A causa mais provável é a deriva genética aleatória, que está ocorrendo no processo de reprodução e o provável fluxo de genes para as populações. Seoane *et al.* (2005a), estudando o sistema de reprodução nessas populações, detectaram, comparando a frequência alélica do pólen cruzado com a frequência alélica presente nos óvulos cruzados, desvios de cruzamentos aleatórios e que a proporção de progênies de irmãos-completos era de aproximadamente 10% na População Isolada e 20% na População Contínua. Desvios de cruzamentos aleatórios e cruzamentos biparentais são indicativos de deriva genética no processo de reprodução. Ainda, o fluxo gênico, via pólen, também pode ocasionar diferenças nas frequências alélicas entre a geração parental e suas progênies. Assim, as divergências genéticas observadas entre as gerações adultas e plântulas, em relação às progênies, devem ter surgido, provavelmente, devido à ocorrência de deriva genética no processo de reprodução, combinado com fluxo gênico de fora da população. Outra explicação pode ser que a população reprodutiva é maior do que a população amostrada.

TABELA 2 – Comparação da estimativa da divergência genética entre gerações pelo método de Slatkin (\hat{R}_{HO}), em duas populações de *Euterpe edulis*.

| População | Comparação | \hat{R}_{HO} |
|-----------|-----------------------|-------------------------|
| Isolada | Adultos e Plântulas | 0,005 (-0,007 a 0,077)* |
| | Adultos e Progênies | 0,087 (0,043 a 0,166)* |
| | Plântulas e Progênies | 0,081 (0,032 a 0,169)* |
| | Toda a população | 0,053 (0,033 a 0,112)* |
| Contínua | Adultos e Plântulas | 0,014 (-0,001 a 0,139)* |
| | Adultos e Progênies | 0,074 (0,036 a 0,116)* |
| | Plântulas e Progênies | 0,165 (0,102 a 0,280)* |
| | Toda a população | 0,087 (0,062 a 0,161)* |

(*) Os valores entre parênteses indicam o intervalo de confiança a 95% de probabilidade, obtido por 10.000 reamostragens *bootstrap*.

3.3 Diversidade Genética Intrapopulacional

A População Contínua, em termos gerais, apresentou maiores níveis de diversidade genética em relação à População Isolada (TABELA 3). O número médio de alelos por loco foi menor na População Contínua ($\hat{A} = 10,7$), em relação à Isolada ($\hat{A} = 11,3$), mas o número efetivo de alelos por locos, que mede a diversidade alélica em termos de diferentes alelos e frequências dos alelos, foi maior na População Contínua ($\hat{A}_e = 4,7$) em relação à Isolada ($\hat{A}_e = 3,9$). As heterozigosidades médias esperadas em equilíbrio de Hardy-Weinberg (\hat{H}_e) e observadas (\hat{H}_o) foram maiores na População Contínua do que na Isolada.

Comparando esses resultados com os relatados por Gaiotto *et al.* (2001) estudando duas populações de *E. edulis* no Distrito Federal, verificam-se valores muito semelhantes. Os autores detectaram, para a média das populações, que o número médio de alelos por locos foi 10,8, que a heterozigosidade esperada foi 0,749 e a observada foi 0,690, valores próximos aos aqui obtidos.

Contudo, na comparação dos resultados deste estudo com os detectados por Conte (2004) para quatro populações de *E. edulis*, no Estado de Santa Catarina, verifica-se que os níveis de diversidade genética aqui são, em geral, inferiores. O autor detectou para as médias das populações de plântulas, progênies e adultos, número médio de alelos por locos variando de 14,1 a 14,5, heterozigosidade esperada variando de 0,781 a 0,785 e heterozigosidade observada variando de 0,678 a 0,709. Nas populações aqui estudadas e nas citadas, os níveis de heterozigosidades são altos, sugerindo que *E. edulis* tem alto potencial evolutivo. Altas heterozigosidades são desejáveis, considerando o grande número de recombinações genotípicas possíveis de ocorrer nas próximas gerações, capacitando as populações a melhor adaptação local e colonização de novos ambientes (Sebbenn *et al.*, 1998a; Seoane *et al.*, 2000a). Os altos níveis de diversidade genética detectados e o conseqüente alto potencial evolutivo da espécie podem ser explicados pela sua ampla distribuição geográfica, que vai do Estado da Bahia ao do Rio Grande do Sul e de sua alta densidade populacional que varia de 50 a 150 indivíduos adultos por hectare.

TABELA 3 – Estimativas de índices de diversidade genética com base em quatro locos microssatélites em indivíduos adultos, plântulas e progênies, em duas populações de *Euterpe edulis* no Estado do Rio de Janeiro.

| População | Fase | <i>n</i> | \hat{A} | \hat{A}_e | \hat{H}_e | \hat{H}_o |
|-----------|-----------|----------|-----------|-------------|-------------|-------------|
| Isolada | Adultos | 34 | 12,2 | 5,3 | 0,813 | 0,677 |
| | Plântulas | 47 | 12,7 | 4,6 | 0,781 | 0,541 |
| | Progênies | 57 | 9,0 | 2,7 | 0,636 | 0,553 |
| | Média | | 11,3 | 3,9 | 0,743 | 0,590 |
| Contínua | Adultos | 43 | 10,7 | 6,1 | 0,835 | 0,625 |
| | Plântulas | 32 | 11,0 | 6,6 | 0,848 | 0,636 |
| | Progênies | 86 | 10,5 | 3,1 | 0,674 | 0,566 |
| | Média | | 10,7 | 4,7 | 0,786 | 0,609 |

n = tamanho amostral; \hat{A} = número médio de alelos por loco; \hat{A}_e = número médio efetivo de alelos por loco; \hat{H}_e = heterozigosidade média esperada em equilíbrio de Hardy-Weinberg, e \hat{H}_o = heterozigosidade média observada.

3.4 Banco de Plântulas

De acordo com os dados da TABELA 4, alguma perturbação na manutenção do banco de plântulas pode estar ocorrendo na População Isolada que, apesar de ter uma estimativa do número de plântulas por hectare de valor alto (3.210 plântulas por hectare de população), teve uma estimativa da relação entre o número de plântulas e o número de adultos por hectare com valor pequeno (17 plântulas por adulto); para as nove populações estudadas por Seoane *et al.* (2005b), a média da estimativa desta relação foi de 67 plântulas por adulto. Assim, era esperado que o grande número de adultos por hectare de população estivesse gerando mais plântulas do que o encontrado. Deve-se reconhecer a possibilidade de que o ano amostrado, 2000, ter sido um ano atípico em termos de formação de plântulas e que o valor pequeno na relação entre adultos e plântulas pode não ser reflexo de perturbações que levem a problemas de regeneração na população, nos médio e longo prazos. Neste sentido, dois dados interessantes que não foram amostrados seriam comparar, entre as populações estudadas, a porcentagem de adultos com infrutescência do total de adultos e o número de frutos por infrutescência, e se para a População Isolada fosse confirmada uma diminuição desta porcentagem ou deste número, então haveria indícios de que a fragmentação florestal estaria influenciando na polinização ou na formação de inflorescências; no entanto, tal influência não ocorreu nos parâmetros do sistema de reprodução amostrado (Seoane *et al.*, 2005a).

Além do mais, os resultados encontrados em Seoane *et al.*, (2005b) mostram a maioria das populações estudadas (cinco das nove) com valores em torno de três ou quatro mil plântulas por hectare, não tendo sido constatada uma uniformidade de valores, nem tampouco uma diferenciação entre o número de plântulas por hectare relacionado com o grau de isolamento da população, sendo que outras condições ambientais locais, que não o isolamento, poderiam explicar tal variação.

3.5 Imigração de Sementes

A análise da contribuição da imigração de sementes para a formação do banco de plântulas foi realizada de duas maneiras: 1 - considerando a contribuição do conjunto de adultos de todas as subpopulações para a constituição genética das plântulas de cada uma das subpopulações (TABELA 5), e 2 - considerando a contribuição dos adultos de uma determinada subpopulação para a constituição genética das plântulas daquela subpopulação (TABELAS 7 e 8). Os resultados encontram-se resumidos na TABELA 9. A metodologia utilizada provavelmente subestimou o número de plântulas originadas de sementes imigrantes, pois existe a possibilidade de sementes imigrantes coincidentemente caírem perto de outras sementes e/ou plântulas.

Conforme os resultados da TABELA 5, das 47 plântulas isoladas avaliadas na População Isolada, 20 plântulas, ou seja 43%, tiveram um parental, provavelmente a mãe, determinado dentro do conjunto de subpopulações amostradas, enquanto na População Contínua apenas uma plântula, equivalente a 3%, das 32 avaliadas, teve um dos parentais determinado dentro do conjunto de subpopulações amostradas.

Os resultados da TABELA 5 refletem a densidade e a distribuição de indivíduos adultos nas duas localidades estudadas, levantadas por Seoane *et al.* (2005b) pela metodologia de transectos. As densidades de indivíduos adultos no local das duas populações são semelhantes, cerca de 190 indivíduos por hectare, mas as quantidades e distribuições de indivíduos em toda a área do fragmento florestal e em toda a área da floresta contínua são muito diferentes, com uma média de um indivíduo por hectare no fragmento florestal e de 46 indivíduos por hectare na floresta contínua. Essas densidades e distribuições de indivíduos seriam explicadas pelas diferentes condições climáticas encontradas nas regiões onde as duas populações se encontram, e por influências de fatores antrópicos, como a fragmentação florestal e o extrativismo do palmito.

TABELA 4 – Estimativas das densidades de plântulas de *Euterpe edulis* em duas populações naturais do Estado do Rio de Janeiro.

| População | Densidade de plântulas/ha | Densidade de plântulas isoladas/ha | Relação plântulas/adultos |
|-----------|---------------------------|------------------------------------|---------------------------|
| Isolada | 3.210 | 716 (22%) ¹ | 17 |
| Contínua | 10.710 | 2.072 (19%) ¹ | 137 |

(1) Porcentagem de plântulas isoladas no banco de plântulas.

TABELA 5 – Análise de paternidade de plântulas de duas populações de *E. edulis*, considerando o pool gênico do conjunto de adultos das subpopulações amostradas.

| População Isolada | | | | | | População Contínua | | | | | |
|-------------------|---------|----------|-------|-------|----|--------------------|---------|----------|------|-------|----|
| Plântulas | Probab. | Parental | LOD | Delta | C. | Plântulas | Probab. | Parental | LOD | Delta | C. |
| 1 | 0,062 | 2 | 0,717 | 0,430 | - | 1 | 0,143 | 36 | 1,11 | 0,00 | - |
| 2 | 0,006 | 11 | 1,527 | 0,617 | + | 2 | 0,116 | 40 | 1,47 | 0,13 | - |
| 3 | 0,027 | 17 | 1,557 | 0,463 | + | 3 | 0,019 | 71 | 2,27 | 0,72 | - |
| 4 | 0,000 | 15 | 1,059 | 0,145 | - | 4 | 0,081 | 49 | 1,00 | 0,01 | - |
| 5 | 0,000 | 25 | 1,460 | 0,141 | - | 5 | 0,006 | 66 | 0,72 | 0,02 | - |
| 6 | 0,001 | 18 | 1,001 | 0,283 | - | 6 | 0,036 | 49 | 1,10 | 0,59 | - |
| 7 | 0,014 | 16 | 0,911 | 0,059 | - | 7 | 0,008 | 57 | 1,31 | 0,34 | - |
| 8 | 0,054 | 22 | 2,406 | 0,205 | - | 8 | 0,038 | 56 | 1,66 | 0,25 | - |
| 9 | 0,002 | 15 | 1,167 | 0,087 | - | 9 | 0,010 | 48 | 1,14 | 0,39 | - |
| 10 | 0,013 | 22 | 2,180 | 0,479 | + | 10 | 0,004 | 71 | 1,41 | 0,30 | - |
| 11 | 0,003 | 7 | 1,375 | 0,027 | - | 11 | 0,031 | 58 | 1,88 | 0,23 | - |
| 12 | 0,009 | 7 | 1,441 | 0,222 | - | 12 | 0,052 | 37 | 1,62 | 0,66 | - |
| 13 | 0,008 | 24 | 1,851 | 0,419 | - | 13 | 0,049 | 68 | 1,06 | 0,19 | - |
| 14 | 0,002 | 30 | 0,900 | 0,089 | - | 14 | 0,059 | 58 | 2,58 | 1,05 | + |
| 15 | 0,023 | 20 | 3,121 | 1,194 | - | 15 | 0,181 | 71 | 1,79 | 0,67 | - |
| 16 | 0,023 | 21 | 2,063 | 0,284 | - | 16 | 0,000 | 39 | 1,09 | 0,26 | - |
| 17 | 0,013 | 21 | 2,486 | 0,363 | - | 17 | 0,016 | 72 | 1,37 | 0,56 | - |
| 18 | 0,029 | 21 | 2,379 | 1,033 | + | 18 | 0,067 | 71 | 1,01 | 0,38 | - |
| 19 | 0,002 | 29 | 1,637 | 0,001 | - | 19 | 0,147 | 56 | 1,80 | 0,05 | - |
| 20 | 0,017 | 17 | 1,789 | 0,759 | + | 20 | 0,005 | 36 | 1,16 | 0,05 | - |
| 21 | 0,002 | 29 | 3,544 | 1,881 | * | 21 | 0,030 | 56 | 1,37 | 0,13 | - |
| 22 | 0,001 | 23 | 2,587 | 1,132 | + | 22 | 0,006 | 66 | 1,85 | 0,22 | - |
| 23 | 0,001 | 27 | 1,737 | 0,942 | + | 23 | 0,002 | 53 | 1,67 | 0,09 | - |
| 24 | 0,001 | 27 | 1,768 | 0,559 | + | 24 | 0,058 | 71 | 1,80 | 0,70 | - |
| 25 | 0,017 | 17 | 2,606 | 0,911 | + | 25 | 0,068 | 40 | 1,47 | 0,38 | - |
| 26 | 0,004 | 14 | 2,027 | 0,528 | + | 26 | 0,093 | 72 | 2,02 | 0,47 | - |
| 27 | 0,134 | 5 | 1,843 | 0,075 | - | 27 | 0,062 | 75 | 2,08 | 0,49 | - |
| 28 | 0,008 | 22 | 0,714 | 0,064 | - | 28 | 0,011 | 36 | 0,88 | 0,14 | - |
| 29 | 0,002 | 29 | 3,078 | 0,138 | - | 29 | 0,035 | 71 | 1,20 | 0,36 | - |
| 30 | 0,011 | 33 | 1,735 | 0,208 | - | 30 | 0,010 | 63 | 0,79 | 0,28 | - |
| 31 | 0,000 | 17 | 0,965 | 0,569 | + | 31 | 0,010 | 72 | 1,69 | 0,24 | - |
| 32 | 0,016 | 7 | 0,778 | 0,068 | - | 32 | 0,037 | 63 | 1,55 | 0,59 | - |
| 33 | 0,009 | 16 | 1,907 | 0,293 | - | | | | | | |
| 34 | 0,028 | 32 | 2,748 | 1,486 | + | | | | | | |
| 35 | 0,003 | 7 | 1,520 | 0,372 | - | | | | | | |
| 36 | 0,018 | 26 | 1,611 | 0,031 | - | | | | | | |
| 37 | 0,037 | 6 | 1,165 | 0,020 | - | | | | | | |
| 38 | 0,046 | 30 | 1,681 | 0,067 | - | | | | | | |
| 39 | 0,030 | 33 | 1,053 | 0,269 | - | | | | | | |
| 40 | 0,001 | 32 | 3,077 | 0,698 | + | | | | | | |
| 41 | 0,013 | 11 | 3,339 | 1,632 | * | | | | | | |
| 42 | 0,026 | 16 | 1,958 | 1,094 | + | | | | | | |
| 43 | 0,003 | 34 | 1,487 | 0,957 | + | | | | | | |
| 44 | 0,019 | 24 | 1,057 | 0,528 | + | | | | | | |
| 45 | 0,004 | 2 | 0,777 | 0,077 | - | | | | | | |
| 46 | 0,000 | 34 | 1,125 | 0,356 | - | | | | | | |
| 47 | 0,025 | 32 | 1,812 | 1,060 | + | | | | | | |

Resultados:

População Isolada
Número de plântulas = 47
Número de paternidades determinadas = 20
Indivíduo parental dentro da área total amostrada = 0,43
Indivíduo parental fora da área total amostrada = 0,57

População Contínua
Número de plântulas = 32
Número de paternidades determinadas = 1
Indivíduo parental dentro da área total amostrada = 0,03
Indivíduo parental fora da área total amostrada = 0,97

Em que: * = paternidade determinada em $P < 0,05$, delta = 1,93; + = paternidade determinada em $P < 0,02$, delta = 0,95; - = sem paternidade determinada.

Utilizando os dados da estimativa de número de adultos por hectare e as estimativas de área de fragmento florestal ou de floresta contínua (Seoane *et al.*, 2005b), pode-se estimar o número de adultos nestas áreas (TABELA 6). Disto resulta que há mais de um milhão de adultos reprodutivos nesta floresta contínua, sem barreiras antrópicas para ocorrer a polinização e a dispersão de sementes entre seus indivíduos, enquanto no fragmento florestal haveria apenas 240 indivíduos adultos reprodutivos participando dos eventos reprodutivos e de dispersão sem serem atrapalhados por aquelas barreiras. Portanto, era esperado que a proporção da contribuição de genes advindos de adultos de fora das subpopulações amostradas, na floresta contínua, fosse proporcionalmente muito maior, e assim o foi, como mostra o resultado de que apenas 3% das plântulas amostradas têm um dos progenitores dentro das subpopulações amostradas, comparado com 43% no fragmento florestal (TABELA 9).

Já os resultados das TABELAS 7 e 8, resumidos na TABELA 9, consideram a contribuição dos adultos de uma determinada subpopulação para a constituição genética das plântulas daquela subpopulação, ou seja, apresentam a proporção das plântulas que, no estágio de semente, imigraram para a subpopulação, onde posteriormente germinaram e se desenvolveram até o estágio de plântula. Na População Isolada, 89% das plântulas isoladas vieram, quando no estágio de semente, de fora da subpopulação e ali se estabeleceram com sucesso. Uma vez que 89% das plântulas isoladas sofreram imigração e estas equivalem a 22% de todas as plântulas do banco (TABELA 4), 20% de todas as plântulas do banco de plântulas da População Isolada, quando ainda no estágio de semente, imigraram para dentro da subpopulação.

Já na População Contínua, 100% das plântulas isoladas vieram, quando no estágio de semente, de fora da subpopulação e ali se estabeleceram com sucesso. Considerando-se que todas as plântulas isoladas sofreram imigração e estas equivalem a 19% de todas as plântulas do banco, também 19% de todas as plântulas do banco de plântulas da População Contínua, quando ainda no estágio de semente, imigraram para dentro da subpopulação.

Assim é que, apesar de uma diferença de mais de 10% entre a imigração de sementes para as plântulas genotipadas entre a População Isolada e a População Contínua, pelo fato de haver uma pequena diferença entre a proporção de plântulas isoladas no banco de plântulas entre estas duas populações, temos uma proporção semelhante do total do banco de plântulas que sofreu imigração, de cerca de 20%.

Considerando os animais como os principais vetores para a imigração de sementes de *E. edulis* para as subpopulações amostradas, através da associação entre frugivoria e zoocoria, pode-se afirmar que a primeira foi proporcional à oferta de frutos da população, não importando os valores absolutos de oferta de frutos. Apesar da amostragem ter sido somente em duas populações, sendo assim recomendável aumentá-la em futuros estudos, poder-se-ia associar essa proporcionalidade encontrada a uma possível consequência da coevolução entre *Euterpe edulis* e seus dispersores frugívoros, que levasse a uma estratégia de “fuga da predação”, fazendo com que a proporção ótima de sementes dispersas distantes da planta matriz, em termos evolutivos, fosse de um determinado valor que acarretasse em um banco de plântulas da espécie, composto por cerca de 20% de sementes produzidas por indivíduos adultos de outros locais.

TABELA 6 – Estimativas do número de indivíduos adultos de *E. edulis* por hectare na população, número de indivíduos adultos por hectare da floresta como um todo e número de indivíduos adultos da floresta como um todo.

| População | Nº de adultos por hectare na população | Nº de adultos por hectare de fragmento florestal/Floresta contínua* | Nº de adultos no fragmento florestal/Floresta contínua* |
|-----------|--|---|---|
| Isolada | 192 | 1 | 240 |
| Contínua | 189 | 46 | 1.315.360 |

(*) O cálculo utilizado considera a área núcleo da floresta, conforme Seoane *et al.* (2005b).

TABELA 7 – Análise de paternidade de plântulas da População Isolada de *Euterpe edulis*, separando o pool gênico de cada subpopulação amostrada.

| Subpopulação 1 | | | | | | Subpopulação 3 | | | | | |
|----------------|---------|----------|-------|-------|----|----------------|---------|----------|-------|-------|----|
| Plântulas | Probab. | Parental | LOD | Delta | C. | Plântulas | Probab. | Parental | LOD | Delta | C. |
| 1 | 0,094 | 2 | -1,28 | 0,00 | - | 27 | 0,070 | 23 | 1,92 | 1,50 | + |
| 2 | 0,080 | 11 | 8,99 | 8,99 | - | 28 | 0,187 | 28 | 1,16 | 2,97 | - |
| 3 | 0,010 | 8 | 9,99 | 9,99 | - | 29 | 0,001 | 24 | 1,45 | 9,44 | - |
| 4 | 0,029 | 3 | 1,07 | 1,07 | - | 30 | 0,001 | 24 | 1,70 | 1,23 | + |
| 5 | 0,000 | 12 | 9,91 | 9,91 | - | 31 | 0,018 | 25 | 1,64 | 1,35 | + |
| 6 | 0,253 | 12 | 9,05 | 9,05 | - | 32 | 0,007 | 27 | 1,18 | 8,26 | - |
| 7 | 0,048 | 6 | 1,49 | 9,00 | - | 33 | 0,133 | 24 | 1,03 | 7,19 | - |
| 8 | 0,000 | 12 | 1,36 | 1,06 | - | 34 | 0,323 | 24 | -2,72 | 0,00 | - |
| 9 | 0,002 | 12 | 5,93 | 5,93 | - | 35 | 0,007 | 22 | 1,71 | 1,71 | - |
| 10 | 0,024 | 8 | -1,19 | 0,00 | - | 36 | 0,002 | 26 | 3,10 | 1,43 | - |
| 11 | 0,056 | 6 | 6,47 | 3,02 | - | 37 | 0,017 | 25 | 2,62 | 2,62 | - |
| 12 | 0,003 | 12 | 1,35 | 1,25 | + | 38 | 0,000 | 23 | 2,41 | 2,41 | - |
| 13 | 0,025 | 12 | 1,76 | 3,62 | - | 39 | 0,031 | 26 | 1,33 | 4,71 | - |
| 14 | 0,005 | 6 | 1,62 | 2,09 | - | 40 | 0,011 | 22 | 9,91 | 3,70 | - |
| 15 | 0,008 | 4 | 1,58 | 5,69 | - | 41 | 0,049 | 26 | 3,83 | 1,73 | - |
| 16 | 0,012 | 8 | 1,79 | 7,57 | - | 42 | 0,006 | 24 | -2,46 | 0,00 | - |
| | | | | | | 43 | 0,020 | 25 | 1,66 | 8,01 | - |
| | | | | | | 44 | 0,045 | 22 | 1,13 | 1,11 | - |
| | | | | | | 45 | 0,056 | 27 | 1,52 | 4,48 | - |
| | | | | | | 46 | 0,028 | 25 | 3,31 | 9,41 | - |
| Subpopulação 2 | | | | | | Subpopulação 4 | | | | | |
| Plântulas | Probab. | Parental | LOD | Delta | C. | | Probab. | Parental | LOD | Delta | C. |
| 17 | 0,001 | 14 | 6,15 | 4,75 | - | 47 | 0,001 | 29 | 3,14 | 7,80 | - |
| 18 | 0,038 | 17 | 3,19 | 1,42 | + | 48 | 0,011 | 30 | 1,83 | 1,83 | + |
| 19 | 0,018 | 16 | 1,74 | 1,14 | - | 49 | 0,023 | 30 | 3,83 | 3,83 | - |
| 20 | 0,044 | 17 | 1,63 | 1,24 | - | 50 | 0,003 | 29 | -1,69 | 0,00 | - |
| 21 | 0,018 | 18 | 2,21 | 3,75 | - | 51 | 0,023 | 29 | -9,24 | 0,00 | - |
| 22 | 0,026 | 18 | 2,28 | 1,07 | - | 52 | 0,004 | 30 | 8,16 | 8,16 | - |
| 23 | 0,003 | 14 | 1,53 | 1,53 | - | 53 | 0,001 | 29 | -4,54 | 0,00 | - |
| 24 | 0,021 | 14 | 1,28 | 6,60 | - | | | | | | |
| 25 | 0,001 | 15 | -2,12 | 0,00 | - | | | | | | |
| 26 | 0,001 | 20 | 2,56 | 1,05 | - | | | | | | |
| Subpopulação 5 | | | | | | | | | | | |
| Plântulas | Probab. | Parental | LOD | Delta | C. | | | | | | |
| 54 | 0,035 | 31 | 1,16 | 1,16 | - | | | | | | |
| 55 | 0,005 | 31 | -5,21 | 0,00 | - | | | | | | |
| 56 | 0,219 | 31 | 9,53 | 9,53 | - | | | | | | |

Resultados

Número de plântulas = 56

Número de paternidades determinadas = 6

Proporção de plântulas originadas de sementes imigrantes à parcela = 0,89

Proporção de plântulas originadas de sementes oriundas de adultos de dentro da parcela = 0,11

Em que: + = paternidade determinada em $P < 0,02$, delta = 0,95; - = sem paternidade determinada.

SEOANE, C. E. S. *et al.* Efeitos da fragmentação florestal sobre a imigração de sementes e a estrutura genética temporal de populações de *Euterpe edulis* Mart.

TABELA 8 – Análise de paternidade de plântulas da População Contínua de *Euterpe edulis*, separando o pool gênico de cada subpopulação amostrada.

| Subpopulação 1 | | | | | | Subpopulação 5 | | | | | |
|----------------|---------|----------|-------|-------|----|----------------|---------|----------|-------|-------|----|
| Plântulas | Probab. | Parental | LOD | Delta | C. | Plântulas | Probab. | Parental | LOD | Delta | C. |
| 1 | 0,170 | 2 | 1,02 | 2,34 | - | 24 | 0,151 | 30 | 6,09 | 7,91 | - |
| 2 | 0,200 | 6 | 8,50 | 2,48 | - | 25 | 0,005 | 37 | 1,38 | 9,65 | - |
| 3 | 0,123 | 6 | 1,10 | 1,84 | - | 26 | 0,061 | 34 | 7,94 | 7,94 | - |
| 4 | 0,020 | 8 | 1,70 | 9,38 | - | 27 | 0,003 | 35 | 1,52 | 1,09 | - |
| 5 | 0,103 | 7 | 3,79 | 3,79 | - | 28 | 0,030 | 35 | 7,99 | 2,00 | - |
| 6 | 0,202 | 8 | 8,82 | 8,82 | - | 29 | 0,329 | 35 | 4,60 | 1,27 | - |
| | | | | | | 30 | 0,255 | 34 | 6,01 | 1,41 | - |
| | | | | | | 31 | 0,072 | 34 | 6,01 | 9,99 | - |
| | | | | | | 32 | 0,112 | 33 | 1,84 | 9,04 | - |
| | | | | | | 33 | 0,065 | 36 | 2,07 | 5,91 | - |
| | | | | | | 34 | 0,011 | 34 | 5,68 | 4,22 | - |
| | | | | | | 35 | 0,034 | 32 | 1,18 | 3,60 | - |
| | | | | | | 36 | 0,013 | 28 | 5,19 | 2,92 | - |
| | | | | | | 37 | 0,245 | 34 | 1,03 | 5,84 | - |
| | | | | | | 38 | 0,011 | 33 | 1,81 | 1,07 | - |
| | | | | | | 39 | 0,034 | 37 | 8,13 | 5,86 | - |
| Subpopulação 2 | | | | | | Subpopulação 3 | | | | | |
| Plântulas | Probab. | Parental | LOD | Delta | C. | Plântulas | Probab. | Parental | LOD | Delta | C. |
| 7 | 0,006 | 9 | 5,48 | 5,48 | - | 10 | 0,033 | 16 | 7,67 | 1,25 | - |
| 8 | 0,034 | 9 | 2,75 | 2,75 | - | 11 | 0,009 | 15 | 1,05 | 3,19 | - |
| 9 | 0,325 | 9 | 1,66 | 1,66 | - | 12 | 0,053 | 17 | 4,59 | 2,87 | - |
| | | | | | | 13 | 0,048 | 17 | 8,26 | 1,71 | - |
| | | | | | | 14 | 0,061 | 19 | -1,73 | 0,00 | - |
| | | | | | | 15 | 0,181 | 11 | 4,77 | 4,77 | - |
| Subpopulação 4 | | | | | | | | | | | |
| Plântulas | Probab. | Parental | LOD | Delta | C. | | | | | | |
| 16 | 0,164 | 24 | 2,61 | 1,82 | - | | | | | | |
| 17 | 0,000 | 23 | -8,66 | 0,00 | - | | | | | | |
| 18 | 0,017 | 25 | 4,42 | 4,42 | - | | | | | | |
| 19 | 0,056 | 24 | 6,08 | 1,57 | - | | | | | | |
| 20 | 0,359 | 23 | 6,70 | 2,56 | - | | | | | | |
| 21 | 0,125 | 24 | 1,82 | 3,08 | - | | | | | | |
| 22 | 0,006 | 23 | 1,02 | 7,38 | - | | | | | | |
| 23 | 0,025 | 24 | 1,30 | 8,74 | - | | | | | | |

Resultados

Número de plântulas = 39

Número de paternidades determinadas = 0

Proporção de plântulas originadas de sementes imigrantes à parcela = 1,00

Proporção de plântulas originadas de sementes oriundas de adultos de dentro da parcela = 0,00

Em que: + = paternidade determinada em $P < 0,02$, delta = 0,95; - = sem paternidade determinada.

TABELA 9 – Resultados da análise da imigração de sementes em duas populações de *Euterpe edulis*.

| Parâmetro | População Isolada | População Contínua |
|---|-------------------|--------------------|
| Plântulas isoladas com parentais de fora do conjunto das subpopulações amostradas | 57% | 97% |
| Plântulas isoladas originadas de sementes imigrantes à sua subpopulação | 89% | 100% |
| Proporção do banco de plântulas que sofreu imigração | 20% | 19% |

Segundo a hipótese de Janzen-Connell, a maioria das sementes produzidas caem perto da planta matriz, onde a probabilidade de mortalidade causada por predação e ataque de fungos é mais alta, diminuindo com o aumento da distância da planta matriz, devendo aparecer um pico de recrutamento a alguma distância dela, determinado, por um lado, pela menor chance de mortalidade pela distância da planta matriz, e por outro, pelo número de sementes que chegam nos locais, o que vai diminuindo com o aumento desta distância (Janzen, 1970; Connell, 1971, 1979). Assim, uma frugivoria e a conseqüente dispersão de uma quantidade de frutos para longe da planta matriz que acarretasse em cerca de 20% do total das plântulas sendo imigrantes, poderia representar uma estratégia adaptativa ótima para *E. edulis*, pois a densidade alta de indivíduos perto da planta matriz se traduziria em uma mortalidade muito alta tanto das sementes quanto das plântulas originadas destas. Portanto, uma intensa dispersão de sementes para longe da planta matriz evitaria a predação destes indivíduos “fora do padrão” (*outliers*) e ao mesmo tempo produziria uma quantidade suficiente destes. Pelo lado do frugívoro, o próprio sucesso da manutenção ótima das populações de *E. edulis* seria a vantagem evolutiva.

Mas vale atentar que, em números absolutos, cerca de duas mil sementes por hectare da População Contínua imigraram para o banco de plântulas local, comparadas com cerca de 600 sementes por hectare da População Isolada, ou seja, os processos de zoocoria e de frugivoria associada foram três vezes mais atuantes na População Contínua do que na População Isolada, o que, provavelmente, influirá na dinâmica do fluxo gênico da espécie *E. edulis* a longo prazo e na sobrevivência das espécies frugívoras associadas.

4 CONCLUSÕES

1. Os níveis de diversidade genética detectados nas populações de *E. edulis* são semelhantes aos detectados em outras regiões de ocorrência da espécie, embora os níveis de endogamia detectados tenham sido bem superiores.
2. Existem diferenças genéticas nas frequências alélicas entre as gerações de plantas adultas e suas sementes, em relação à geração de plântulas, provavelmente devido à atuação de alguma forma evolutiva, como a deriva genética.
3. Índices de fixação semelhantes para a classe de adultos, de ambas as populações, sugerem que a degradação ambiental do fragmento florestal onde está a População Isolada ainda não era intensa o bastante a ponto de influenciar no processo reprodutivo da espécie, quando dos eventos reprodutivos que formaram os indivíduos adultos.
4. Um índice de fixação menor para as plântulas da População Contínua, em comparação ao das plântulas da População Isolada, indica que o fluxo gênico via dispersão de sementes por zoocoria está muito prejudicado para a População Isolada, acarretando em uma atuação da deriva genética aleatória maior para as plântulas, com o isolamento populacional.
5. A divergência genética assumiu um valor consideravelmente maior na População Contínua do que na População Isolada, o que pode ser explicado por uma contribuição maior de sementes imigrantes originadas de indivíduos na própria população que não foram amostrados, de outras populações da própria floresta contínua e de populações em fragmentos florestais vizinhos. Concordantemente, na análise da imigração de sementes, a contribuição de genes advindos de adultos de fora das subpopulações amostradas, na População Contínua, foi proporcionalmente muito maior do que na População Isolada.
6. O pequeno valor encontrado para a estimativa da relação entre o número de plântulas e o número de adultos por hectare da População Isolada sugere a atuação de alguma perturbação na manutenção do banco de plântulas, talvez devida ao isolamento populacional. No entanto, deve-se reconhecer a possibilidade de que o ano amostrado ter sido um ano atípico em termos de formação de plântulas.
7. A frugivoria sobre *E. edulis* foi proporcional à oferta de frutos da população, não importando os valores absolutos. No entanto, em números absolutos, os processos de zoocoria e da frugivoria associada foram três vezes mais atuantes na População Contínua do que na População Isolada, o que sugere que, em populações isoladas, a longo prazo, há efeitos negativos na dinâmica do fluxo gênico da espécie e na sobrevivência local das espécies frugívoras associadas.

5 AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem aos Srs. Glin e Marçal, pela autorização de entrada em suas propriedades; à Equipe do LARGEA/USP, em especial às Sras. Andréa Beltrão e Elza Martins; aos Srs. Rick Kesseli e Cameron Moller, pelo auxílio em laboratório, e à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo - FAPESP, pela concessão de bolsa ao primeiro autor.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALLARD, R. W. **Princípios do melhoramento genético das plantas**. São Paulo: Edgard Blucher, 1971. 381 p.
- BARRETT, S. C. H.; KOHN, J. R. Genetic and evolutionary consequences of small population size in plants: implications for conservation. In: FALK, D. A.; HOLSINGER, K. E. (Ed.). **Genetics and conservation of rare plants**. New York: Oxford University Press, 1991. p. 3-30.
- BARTON, N. H. ; WHITLOCK, M. C. The evolution of metapopulations. In: HANSKI, I; GILPIN, M. E. **Metapopulation biology: ecology, genetics and evolution**. San Diego: Academic Press, 2000. p. 183 - 210.
- BAWA, K. S. Breeding systems of tree species of a lowland tropical community. **Evolution**, San Francisco, v. 28, p. 85-92, 1973.
- CHARLESWORTH, D.; CHARLESWORTH, B. Inbreeding depression and its evolutionary consequences. **Annual Review of Ecology and Systematics**, Davis, v. 18, p. 237-268, 1987.
- CHASE, M.; KESSELI, R.; BAWA, K. S. Microsatellite markers for population and conservation genetics of tropical trees. **American Journal of Botany**, Oklahoma, v. 8, p. 351-57, 1996a.
- CHASE, M. *et al.* Distant gene flow in tropical trees. **Nature**, London, v. 383, p. 398-399, 1996b.
- CONNELL, J. H. On the role of natural enemies in preventing competitive exclusion in some marine animals and rain forests trees. In: DEN BOER, P. J.; GRADWELL, G. R. (Ed.). **Dynamic populations**. Wageningen: Center for Agricultural Publishing and Documentation, 1971. p. 298-312.
- CONNELL, J. H. Tropical rain forests and coral reefs as open non equilibrium systems. In: ANDERSON, L. R.; TURNER, B. D.; TAYLOR, L. R. (Ed.). **Population dynamics - Symposium of British Ecol. Soc.** Oxford: Blackwell Scientific Publications, 1979. p. 141-163.
- CONTE, R. **Estrutura genética de populações de *Euterpe edulis* Mart. submetidas à ação antrópica utilizando marcadores alozímicos e microssatélites**. 2004. 124 f. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba.
- DENSLOW, J. S.; HARTSHORN, G. S. Tree fall gap environments and forest dynamics processes. In: McDADE, L. A. *et al.* (Ed.). **La selva: ecology and natural history of a neotropical rain forest**. Chicago: University of Chicago Press, 1994. p. 120-127.
- ELLSTRAND, N. C. Gene flow of pollen: implication for plant conservation genetics. **Oikos**, Lund, v. 63, p. 77-86, 1990.
- ELDRIDGE, K. *et al.* **Eucalypt domestication and breeding**. Oxford: Clarendon Press, 1993. 288 p.
- FERREIRA, M. E.; GRATTAPAGLIA, D. **Introdução ao uso de marcadores moleculares em análise genética**. Brasília, D.F.: Embrapa-Cenargen, 1996. 220 p.
- GAIOTTO, F. A.; GRATTAPAGLIA, D.; VENCOSKY, R. Genetic structure, mating system, and long-distance gene flow in Heart of Palm (*Euterpe edulis* Mar.). **Journal of Heredity**, Cary, v. 94, n. 5, p. 399-406, 2001.
- GALETTI, M; ALEIXO, A. Effects of palmheart harvesting on avian frugivores in the Atlantic rain forest of Brazil. **Journal of Applied Ecology**, London v. 35, p. 286-293, 1998.
- GOODMAN, S. J. RST CALC: a collection of computer programs for calculating unbiased estimates of genetic differentiation and determining their significance for microsatellite data. **Molecular Ecology**, Oxford, v. 6, p. 881-885, 1997.
- HALL, P.; WALKER, S.; BAWA, K. S. Effect of forest fragmentation on genetic diversity and mating system in tropical tree, *Pithecelobium elegans*. **Conservation Biology**, San Francisco, v. 10, n. 3, p. 757-768, 1996.

HAMRICK, J. L.; LOVELESS, M. D. The influence of seed dispersal mechanism on the genetic structure of plant populations. In: ESTRADA, A.; FLEMING, T. H. (Ed.). **Frugivores and seed dispersal**. Dordrecht: Dr. Junk Publications, 1986. p. 211-223.

HENDERSON, A. The genus *Euterpe* in Brazil. In: REIS, M. S.; REIS, A. (Ed.). ***Euterpe edulis* Martius – (palmitreiro):** biologia, conservação e manejo. Itajaí: Herbário Barbosa Rodrigues, 2000. p. 1-22.

HOWE, H. F. The implications of seed dispersal by animals for tropical reserve management. **Biological Conservation**, San Francisco, v. 30, n. 3, p.261-282, 1986.

_____.; SMALLWOOD, J. Ecology of seed dispersal. **Ann. Rev. Ecol. Syst.**, Davis, v. 13, p. 201-228, 1982.

INSTITUTO ESTADUAL DE FLORESTAS - IEF (Rio de Janeiro). **Mapa da Reserva da Biosfera do Estado do Rio de Janeiro**. Rio de Janeiro, 1994. Escala 1:4550.000.

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

LIMA H.; MORIM, M. P.; GUDES-BRUNI, R. R. Estudos florísticos em Unidades de Conservação: a experiência do Jardim Botânico do Rio de Janeiro na Reserva Ecológica de Macaé de Cima, Nova Friburgo, Rio de Janeiro. In: CONGRESSO NACIONAL DE BOTÂNICA, 50., 1999, Florianópolis. **Anais...** Blumenau: Sociedade Botânica do Brasil, 1999. p. 306-307.

LEVEY, D. J.; MOERMOND, T. C.; DENSLOW, J. S. Frugivory: an overview. In: McDADE, L. A. *et al.* (Ed.). **La selva: ecology and natural history of a neotropical rain forest**. Chicago: University of Chicago Press, 1994. p. 282-294.

LEWIS, P. O.; ZAYKIN, D. **GDA – Genetic Data Analysis:** version 1.1 for windows 95/NT. Disponível em: <<http://www.lewis.eeb.ucom.edu/lewishome/>> Acesso em: 18 abr. 2000.

LORENZI, H. **Árvores brasileiras:** manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil. Nova Odessa: Plantarum, 2002. v. 1, 385 p.

MANTOVANI, A.; MORELLATO, P. Fenologia da floração, frutificação, mudança foliar e aspectos da biologia floral do palmitreiro. In: REIS, M. S.; REIS, A. (Ed.). ***Euterpe edulis* Martius – (palmitreiro):** biologia, conservação e manejo. Itajaí: Herbário Barbosa Rodrigues, 2000. p. 23-38.

MARSHAL, T. C. *et al.* Statistical confidence for likelihood-based paternity inference in natural populations. **Molecular Ecology**, Oxford, v. 7, p. 639-655, 1998.

NASON J. D., HERRE, E. A.; HAMRICK, J. L. Paternity analysis of the breeding structure of strangler fig populations: evidence for substantial long-distance wasp dispersal. **Journal of Biogeography**, Oxford, v. 23, p. 501-512, 1996.

_____. The breeding structure of a tropical keystone plant resource. **Nature**, London, v. 391, p. 685-687, 1998.

PACHECO, L. F.; SIMONETTI, J. A. Genetic structure of a mimosoid tree deprived of its seed disperser, the spider monkey. **Conservation Biology**, San Francisco, v. 1, p. 1766-1775, 2000.

QUEIROZ, M. H. Biologia do fruto, da semente e da germinação do Palmitreiro (*Euterpe edulis* Martius). In: REIS, M. S.; REIS, A. (Ed.). ***Euterpe edulis* Martius – (palmitreiro):** biologia, conservação e manejo. Itajaí: Herbário Barbosa Rodrigues, 2000. p. 39-59.

REIS, A. **Dispersão de sementes de *Euterpe edulis* Martius (Palmae) em uma Floresta Ombrófila Densa Montana da encosta Atlântica em Blumenau - SC.** 1995. 154 f. Tese (Doutorado em Biologia Vegetal) - Universidade Estadual de Campinas, Campinas.

_____.; KAGEYAMA, P. Y. Dispersão de sementes de *Euterpe edulis* Martius. In: REIS, M. S.; REIS, A. (Ed.). ***Euterpe edulis* Martius – (palmitreiro):** biologia, conservação e manejo. Itajaí: Herbário Barbosa Rodrigues, 2000. p. 202-224.

REIS, M. S. *et al.* Manejo sustentável e produtividade do palmitreiro (*Euterpe edulis* Martius Arecaceae). In: REIS, M. S.; REIS, A. (Ed.). ***Euterpe edulis* Martius – (palmitreiro):** biologia, conservação e manejo. Itajaí: Herbário Barbosa Rodrigues, 2000a. p. 202-224.

SEOANE, C. E. S. *et al.* Efeitos da fragmentação florestal sobre a imigração de sementes e a estrutura genética temporal de populações de *Euterpe edulis* Mart.

REIS, M. S. *et al.* Distribuição geográfica e situação atual das populações na área de ocorrência de *Euterpe edulis* Martius. In: REIS, M. S.; REIS, A. (Ed.). ***Euterpe edulis* Martius – (palmitheiro):** biologia, conservação e manejo. Itajaí: Herbário Barbosa Rodrigues, 2000b. p. 324-335.

REIS, M. S. *et al.* Variação genética em populações naturais de *Euterpe edulis* Martius na floresta ombrófila densa. In: REIS, M. S.; REIS, A. (Ed.). ***Euterpe edulis* Martius (palmitheiro):** biologia, conservação e manejo. Itajaí: Herbário Barbosa Rodrigues, 2000c. p. 131-149.

SEBBENN, A. M. Número de árvores matrizes e conceitos genéticos na coleta de sementes para reflorestamentos com espécies nativas. **Rev. Inst. Flor.**, São Paulo, v. 14, n. 2, p. 115-132, 2002.

_____. *et al.* Estrutura genética em populações de *Tabebuia cassinoides*: implicações para o manejo florestal e a conservação genética. **Rev. Inst. Flor.**, São Paulo, v. 13, n. 2, p. 99-113, 2001.

SEBBENN, A. M.; KAGEYAMA, P. Y.; VENCOSKY, R. Estrutura genética de subpopulações de *Genipa americana* L. (Rubiaceae) em mata ciliar a partir de isoenzimas. **Rev. Inst. Flor.**, São Paulo, v. 10, n. 1, p. 95-108, 1998a.

_____. Variabilidade genética, sistema reprodutivo e estrutura genética espacial em *Genipa americana* L. através de marcadores isoenzimáticos. **Scientia Forestalis**, Piracicaba, v. 53, p. 15-30, 1998b.

SEOANE, C. E. S. **Efeitos da fragmentação florestal em populações de guarantã - *Esenbeckia leiocarpa* Engl., um exemplo de espécie arbórea tropical climática de distribuição agregada.** 1998. 221 f. Dissertação (Mestrado em Biologia Vegetal) - Universidade Estadual de Campinas, Campinas.

_____.; SEBBENN, A. M.; KAGEYAMA, P. Y. Efeitos da fragmentação florestal em populações de *Esenbeckia leiocarpa* Engl. **Scientia Forestalis**, Piracicaba, n. 57, p. 123-139, 2000a.

_____. Sistema de cruzamento em *Esenbeckia leiocarpa* Engl. **Rev. Inst. Flor.**, São Paulo, v. 13, n. 1, p. 19-26, 2000b.

_____. Sistema de reprodução em duas populações naturais de *Euterpe edulis* Martius sob diferentes condições de fragmentação florestal. **Rev. Inst. Flor.**, São Paulo, 2005a. (submetido).

SEOANE, C. E. S.; RIBEIRO, A.; SEBBENN, A. M. Ocorrência e conservação de *Euterpe edulis* Martius na região central do Estado do Rio de Janeiro. **Floresta e Ambiente**, Rio de Janeiro, 2005b. (submetido).

SLATKIN, M. Gene flow in natural population. **Annual Review of Ecology and Systematics**, Davis, v. 16, p. 393-430, 1985.

TEMPLETON, A. R. *et al.* The genetics consequences of habitat fragmentation. **Ann. Rev. Missouri Bot. Gard.**, St. Louis, v. 77, p. 13-27, 1990.

TERBORGH, J. Keystone plant resources in tropical forests. In: SOULÉ, M. E. (Ed.). **Conservation biology: the science of scarcity and diversity.** Sunderland: Sinauer, 1986. p. 330-44.

VAN DER PIJL, L. **Principles of dispersal in higher plants.** Berlin: Springer-Verlag, 1972. 153 p.

WEIR, B. S. **Genetic data analysis.** II. Methods for discrete population genetic data. Sunderland: Sinauer, 1996. 445 p.

YOUNG, A. G.; BOYLE, T. J. Forest fragmentation. In: YOUNG, A. G., BOSCHER, D.; BOYLE, T. J. **Forest conservation genetics: principles and practice.** Melbourne: CSIRO Publishing, 2000. p. 123-134.

YOUNG, A.; BOYLE, T.; BROWN, T. The population genetic consequences of habitat fragmentation for plants. **Tree**, Victoria, v. 11, n. 10, p. 413-418, 1996.