
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ECOLOGIA E BIODIVERSIDADE

**INFLUÊNCIA DA PAISAGEM NA ESTRUTURA E DIVERSIDADE GENÉTICA DE
UMA ESPÉCIE PIONEIRA EM FRAGMENTOS DA MATA ATLÂNTICA**

RENATA FABREGA GONÇALVES

**Rio Claro
Abril - 2018**

RENATA FABREGA GONÇALVES

**INFLUÊNCIA DA PAISAGEM NA ESTRUTURA E DIVERSIDADE GENÉTICA DE
UMA ESPÉCIE PIONEIRA EM FRAGMENTOS DA MATA ATLÂNTICA**

Dissertação apresentada ao Instituto de Biociências do Câmpus de Rio Claro, Universidade Estadual Paulista, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ecologia e Biodiversidade.

Orientadora: Prof^a Dr^a Marina Corrêa Côrtes
Co-orientador: Prof. Dr. Milton Cezar Ribeiro

**Rio Claro
Abril - 2018**

581.5 Gonçalves, Renata Fabrega
G635i Influência da paisagem na estrutura e diversidade
 genética de uma espécie pioneira em fragmentos da Mata
 Atlântica / Renata Fabrega Gonçalves. - Rio Claro, 2018
 53 f. : il., figs., tabs., quadros, mapas

 Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista,
 Instituto de Biociências de Rio Claro
 Orientadora: Marina Corrêa Côrtes
 Coorientador: Milton Cezar Ribeiro

 1. Ecologia vegetal. 2. Cecropia hololeuca. 3. Mata
 Atlântica. 4. Genética da paisagem. 5. Espécie pioneira. 6.
 Estruturação genética. I. Título.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: Influência da paisagem na estrutura e diversidade genética de uma espécie pioneira em fragmentos da Mata Atlântica

AUTORA: RENATA FABREGA GONÇALVES

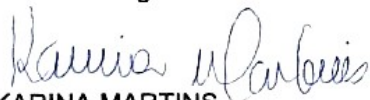
ORIENTADORA: MARINA CORREA CORTES

COORIENTADOR: MILTON CEZAR RIBEIRO

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Mestra em ECOLOGIA E BIODIVERSIDADE, área: BIODIVERSIDADE pela Comissão Examinadora:



Profa. Dra. MARINA CORREA CORTES
Departamento de Ecologia / Instituto de Biociências de Rio Claro - SP



Profa. Dra. KARINA MARTINS
Departamento de Biologia / Universidade Federal de São Carlos - Campus Sorocaba / SP

Prof. Dr. RODOLFO JAFFÉ RIBBI
ITV / Instituto Tecnológico Vale - Belém / PA

Rio Claro, 05 de dezembro de 2017

Agradecimentos

Antes de mais nada, gostaria de agradecer a minha família por todo apoio, em especial minha mãe, que contribuiu ativamente desde logísticas de campo, quanto no extensivo mapeamento da área e por sempre acreditar em mim.

Minha sincera gratidão à Prof^ª Dr^ª Marina Côrtes, pela sua impecável orientação, por ser sempre solícita e presente em todos os momentos e ao Prof. Dr. Milton Ribeiro (Miltinho) por socorrer nos momentos necessários, pela inspiração e apoio;

à Prof^ª Dr^ª Rosane Collevatti, por me receber no LGBio e contribuir com os recursos e ensinamentos necessários para o desenvolvimento desta pesquisa, bem como à Prof^ª Dr^ª Mariana Telles, por todo auxílio na genotipagem;

ao Urucum, que tornou possível e otimizou as coletas em campo, pelas contribuições referentes à área de estudo e por sempre acreditar em mim;

à Carol Carvalho, que me ensinou e acompanhou nas atividades do laboratório, por me ajudar sempre que precisei e por ser um ícone de inspiração;

à Fernanda Rosa, por me receber tão bem durante minha estadia na UFG, me ensinar e ajudar no LGBio, pelo companheirismo e por todas as conversas;

a todo pessoal do LaBiC, LEEC e LGBio, pelos *meetings* que acrescentaram bastante em minha formação e senso crítico, pelas ajudas pontuais e pelo apoio;

a todos meus amigos, que durante essa caminhada estavam ao meu lado, incentivando e tornando esta caminhada tão mais fácil e agradável.

Agradeço também às agências financiadoras que tornaram possível a realização desta dissertação: CAPES pela bolsa de mestrado e pelo auxílio moradia durante minha missão de estudos na UFG (Procad nº 071/2013) e FAPESP (processo 2013/50421-2) pelos recursos para trabalho de campo e materiais laboratoriais.

Resumo

Florestas secundárias são produtos da degradação de vegetação primária e subsequente regeneração natural e se destacam como um componente florestal dominante em paisagens tropicais, contribuindo para o restabelecimento das funções ecológicas e com o fornecimento de serviços ecossistêmicos. Porém, a capacidade de restauração depende primariamente da chegada e estabelecimento de plantas pioneiras, enquanto a manutenção das populações florestais depende de condições ambientais propícias, como a ocorrência de dispersão de sementes e fluxo gênico entre os fragmentos florestais e regenerantes. Com o intuito de avaliar como espécies vegetais pioneiras abundantes respondem à composição da paisagem o presente estudo analisou a variação espacial genética de *Cecropia hololeuca* Miq. (Urticaceae) ao longo de uma região heterogênea e com diferentes graus de fragmentação. O estudo foi realizado em 18 paisagens ao longo de um gradiente de cobertura florestal de 21% a 90% dentro da região do Corredor Cantareira-Mantiqueira. A partir de oito marcadores microsatélites, foi possível identificar três grandes agrupamentos genéticos, indicando fraca estruturação genética de *C. hololeuca* ao longo da região estudada. Os atributos da paisagem que mais contribuíram à diferenciação genética entre os grupos de indivíduos (populações espaciais) foram distância geográfica, proporção de área urbana e presença de rodovias e, também contribuindo de forma positiva, mas em menor intensidade, o eucalipto. Embora a cobertura florestal tenha diminuído a diferenciação genética entre as manchas, contribuindo na conectividade entre elas, esta contribuição foi a mais fraca dentre as variáveis testadas nos modelos. Desta forma, é importante considerar estruturas relacionadas à urbanização ao se tratar de conectividade funcional, já que o fluxo gênico parece estar respondendo de forma negativa aos impactos antrópicos recentes. Ainda assim, a utilização de *C. hololeuca* em programas de restauração ecológica para esta região apresenta grande potencial de sucesso, desde o seu estabelecimento em áreas abandonadas, devido às sementes que podem ser dispersas a longas distâncias, até contribuindo com condições favoráveis para o desenvolvimento da sucessão ecológica.

Abstract

Secondary forests are products of primary vegetation degradation and subsequent natural regeneration and stand out as a dominant forest component in tropical landscapes, contributing to the restoration of ecological functions and the provision of ecosystem services. Restoration depends first on the arrival and establishment of pioneer trees and second on favorable environmental conditions and maintenance of ecological processes such as pollen and seed dispersal from within and across forest patches. In order to evaluate how abundant pioneer species respond to the landscape composition, the present study analyzed the genetic spatial variation of *Cecropia hololeuca* Miq. (Urticaceae) along the heterogeneous region of the Cantareira-Mantiqueira Corridor, in Northeast São Paulo. The study was conducted in 18 landscapes, with forest cover varying from 21% to 90%. Using data on eight microsatellites markers we identified three genetic clusters, indicating weak genetic structure of *C. hololeuca* throughout the studied region. The landscape attributes that had the greatest contribution to genetic differentiation between groups of individuals (spatial populations) were geographic distance, proportion of urban area and presence of highways and, with a positive but with weaker effect, proportion of eucalyptus plantations. Contrary to our expectations, forest cover was considered less important to both genetic diversity and genetic differentiation between spatial populations. Recent anthropogenic land uses, such as urbanization, seem to affect more strongly the functional connectivity across the region. The utilization of *C. hololeuca* in ecological restoration programs holds great success potential. Pollen and seeds can travel long distances and transverse a myriad of land uses and covers, therefore can contribute significantly to the natural regeneration in abandoned and degraded pastures creating favorable conditions to ecological succession.

Sumário

1 INTRODUÇÃO.....	7
2 PERGUNTAS E PREDIÇÕES.....	10
3 MATERIAIS E MÉTODOS.....	13
3.1 Espécie de estudo.....	13
3.2 Área de estudo.....	14
3.3 Desenho amostral.....	15
3.4 Coleta de dados.....	17
3.5 Caracterização da paisagem.....	18
3.6 Análise genética	19
<u>3.6.1 Extração de DNA.....</u>	<u>19</u>
<u>3.6.2 Desenvolvimento de marcadores microsatélites para <i>Cecropia hololeuca</i>.....</u>	<u>19</u>
<u>3.6.3 Análise molecular.....</u>	<u>21</u>
<u>3.6.4 Análise dos <i>loci</i>.....</u>	<u>21</u>
3.7 Análise dos dados	21
4 RESULTADOS.....	28
5 DISCUSSÃO.....	35
6 CONCLUSÃO.....	40
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	41
APÊNDICES.....	48

1 INTRODUÇÃO

Durante a formação de paisagens antropizadas, o processo de fragmentação do habitat causa três efeitos sobre os remanescentes florestais: aumento do número, diminuição do tamanho e aumento do isolamento entre as manchas (Fahrig, 2003). Após o distúrbio ocasionado por este processo, a regeneração natural forma florestas secundárias, as quais se destacam como um componente florestal dominante em paisagens tropicais (FAO, 2007). Mais do que recompor a vegetação, as florestas secundárias contribuem para o restabelecimento das funções ecológicas dos locais impactados e também com o fornecimento de serviços ecossistêmicos, tais como manutenção dos corpos d'água, ciclagem de nutrientes, polinização e dispersão de sementes (Barlow *et al.*, 2007; Brown e Lugo, 1990; Lamb *et al.*, 2005; Rudel *et al.*, 2005). Entretanto, apesar de seu papel reconhecido na manutenção da biodiversidade, a regeneração natural e as florestas secundárias tropicais continuam pouco compreendidas em relação às suas respostas à paisagem (Chazdon *et al.*, 2007; Rocha, 2014).

A sucessão secundária é iniciada com vegetação herbácea, mas a mudança drástica na estrutura e composição da vegetação se dá com a colonização de espécies lenhosas durante a primeira década de sucessão (Chazdon, 2008). Este processo pode ser originado em áreas naturais, após a abertura de clareiras por quedas de árvores ou deslizamentos de solo, e também em áreas que sofreram impacto antrópico no passado, mas foram abandonadas. O sucesso de colonização depende de fatores que determinam o grau de isolamento do local em relação à fonte de propágulos (pólen e sementes), como dispersão de sementes, características biofísicas e vegetação remanescente na área (Guariguata e Ostertag, 2001; Lamb *et al.*, 2005, Wunderle-Jr, 1997). Uma vez estabelecidas, as espécies pioneiras de plantas são as primeiras a contribuir para a sucessão ecológica, pois modificam as condições abióticas no solo (Medellín, 1994) e disponibilizam recursos para a fauna, seja através da produção de flores, frutos carnosos, oferta de poleiros ou refúgio (Peña-Domene *et al.*, 2013; Rocha, 2014). Espécies pioneiras zoocóricas são particularmente importantes na regeneração natural, pois podem atrair animais frugívoros de outros locais da paisagem, favorecendo a refaunação e imigração de outras espécies de plantas (Tabarelli e Peres, 2002; Muscarella e Fleming, 2007), aumentando assim a complexidade de interações do sistema.

A capacidade de dispersão de propágulos é um fator determinante na conectividade genética e na estrutura espacial de populações de plantas (Hamrick e Trapnell, 2011; Nathan e Muller-Landau, 2000; Sork e Smouse, 2006; Wang e Smith, 2002) e o fluxo gênico, ao longo de gerações, é necessário para a restauração da diversidade genética dessas populações (Sezen

et al., 2005). A maioria das espécies lenhosas tropicais é polinizada e dispersa por animais (Bawa *et al.*, 1985; Jordano, 2000) e, portanto, a diversidade e estrutura genética populacional dessas plantas dependem da capacidade de movimentação de animais ao longo de paisagens com diferentes configurações e composições (Ouborg *et al.*, 1999; Sezen *et al.*, 2005; Van Dyck e Baguette, 2005).

A composição genética atual de uma população é resultado de processos microevolutivos, principalmente fluxo gênico e deriva genética. A partir da estrutura genética interpopulacional é possível inferir a existência de conectividade funcional entre populações (Holsinger e Weir, 2009; Raeymaekers, 2012), que por sua vez pode ser influenciada pelos elementos da paisagem (Sork *et al.*, 1999). Nesse contexto, a genética da paisagem surgiu como uma área da ciência que procura integrar genética de populações com os fundamentos da ecologia de paisagens (Manel *et al.*, 2003) e se baseia nos métodos moleculares, os quais possibilitam quantificar a diversidade e variação genética ao longo das paisagens (Segelbacher *et al.*, 2010). De forma geral, a genética da paisagem tem como objetivo compreender os processos de fluxo gênico e adaptação local, estudando as interações entre as variações genética, espacial e ambiental (Manel e Segelbacher, 2009).

Considerando a importância de espécies pioneiras no processo de regeneração natural e o atual estado de fragmentação das florestas tropicais, mais especificamente a Mata Atlântica, buscamos entender como a variação genética de árvores pioneiras está relacionada com a composição da paisagem. Assim, o presente estudo visou analisar a diversidade e estrutura genética de populações espaciais de *C. hololeuca* distribuídas em fragmentos florestais ao longo de uma região heterogênea. A embaúba-prateada, *Cecropia hololeuca* Miq. (Urticaceae), foi escolhida como espécie de estudo devido a sua importância para a regeneração de áreas degradadas (Tabarelli *et al.*, 1993; Figueiredo *et al.*, 2011; Peña-Domene *et al.*, 2013) e à grande abundância na área de estudo. Essa espécie é característica de estágio inicial de sucessão ecológica, constituindo um importante recurso para diversos animais (Marcondes-Machado e Oliveira, 1988; Gandolfi, 2000). Para Borges e Stouffer (1999), espécies do gênero *Cecropia* são promissoras nos programas de restauração da paisagem. Assim, é esperado que a presença de embaúbas em diversos estágios de crescimento, no contexto de áreas altamente fragmentadas, possa sugerir uma função de recuperação do próprio ecossistema, frente aos inúmeros impactos antrópicos sofridos.

O Corredor Cantareira-Mantiqueira foi escolhido como área de estudo devido à presença de fragmentos florestais de diferentes tamanhos e níveis de conservação, onde é possível estabelecer um gradiente de cobertura florestal. Além disso, a região é de grande

relevância para a manutenção da biodiversidade da Floresta Atlântica em uma escala macro-regional e existe uma necessidade urgente de desenvolver estratégias mais realísticas e efetivas para sua conservação.

2 PERGUNTAS E PREDIÇÕES

O presente estudo avaliou a estruturação genética de populações espaciais de *Cecropia hololeuca*, buscando entender como os atributos da paisagem influenciam a variação e diversidade genética. Especificamente, as seguintes perguntas são levantadas:

I. Como é a variação genética dos indivíduos de *C. hololeuca* ao longo de uma paisagem fragmentada?

Esperamos encontrar uma autocorrelação espacial genética fraca devido ao fluxo gênico extenso gerado pela polinização e dispersão de sementes por uma ampla riqueza de animais, incluindo aves grandes e morcegos com capacidade de movimentação a longas distâncias. Esta autocorrelação espacial na variabilidade genética pode estar relacionada a dois tipos principais de isolamento: i) isolamento por distância: em que indivíduos próximos (que formam uma população espacial) são mais geneticamente similares do que indivíduos distantes, e ii) isolamento por barreira: maior diferenciação entre indivíduos separados por possíveis obstáculos ao fluxo gênico, como por exemplo o relevo (Figura 1).

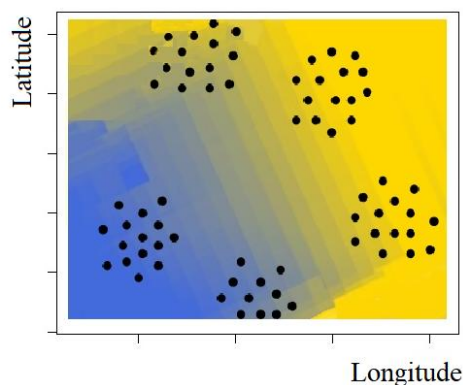


Figura 1: Representação espacial hipotética da variabilidade genética, onde os pontos pretos indicam os indivíduos e os agregados de pontos indicam as populações espaciais amostradas nas paisagens. A diferenciação genética, indicada pelas mudanças nas frequências alélicas ao longo dos indivíduos, é representada pela variação da cor ao longo do espaço bi-dimensional. Uma mudança mais abrupta na coloração pode indicar barreiras ao fluxo gênico. Fonte: Elaborada pela autora.

II. Como populações estão agrupadas geneticamente?

Similar à primeira questão, mas considerando agora um maior nível hierárquico, sendo as populações espaciais (grupos de indivíduos espacialmente próximos) os objetos da análise. As populações espaciais se enquadram no paradigma ecológico de Waples e Gaggiotti (2006), em que as forças coesivas são demográficas e é enfatizada a co-ocorrência de indivíduos no espaço e no tempo, relacionando as interações entre eles. Assim, espera-se que o número de

agrupamentos genéticos seja menor do que de populações espaciais inseridas nas paisagens definidas (Figura 2A e 2B), indicando possível fluxo gênico e conectividade funcional entre algumas populações espaciais ou que essas populações ainda não se diferenciaram suficientemente após a fragmentação florestal.

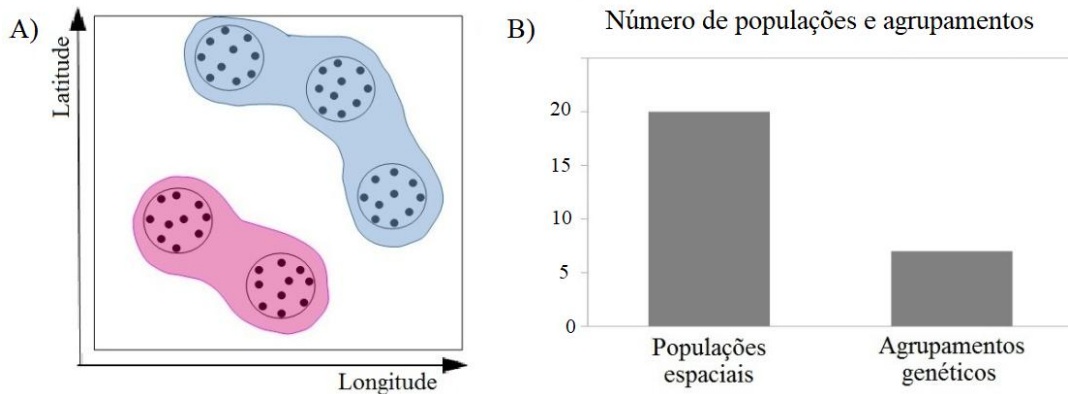


Figura 2: (A) Projeção espacial hipotética dos agrupamentos genéticos (representados pelos polígonos coloridos). Círculos pretos simbolizam as paisagens, as quais delimitam as populações espaciais de indivíduos (pontos pretos), aqui chamados de populações espaciais. (B) Gráfico hipotético do número de populações espaciais e agrupamentos genéticos. Fonte: Elaborado pela autora.

III. Como a composição da paisagem influencia a diversidade e diferenciação genética entre as populações espaciais?

A) *Diversidade*

Prevemos duas possíveis relações. Primeiro, a quantidade de habitat remanescente está relacionada à conectividade estrutural da paisagem, facilitando a movimentação dos animais entre os fragmentos florestais, além de contribuir para uma maior diversidade de dispersores, os quais podem ser mais sensíveis a áreas degradadas. Segundo, a heterogeneidade (variedade de usos e cobertura do solo) pode implicar no aumento da diversidade de recursos e, conseqüentemente, de animais dispersores generalistas. Desta forma, ambas variáveis podem contribuir para a conectividade funcional entre as manchas, seja facilitando a movimentação de animais sensíveis, ou garantindo a existência de dispersores generalistas que se movem mesmo em ambientes antropizados. Assim, espera-se encontrar maior diversidade genética em populações imersas em paisagens com maior cobertura florestal ou heterogeneidade da matriz (Figura 3).

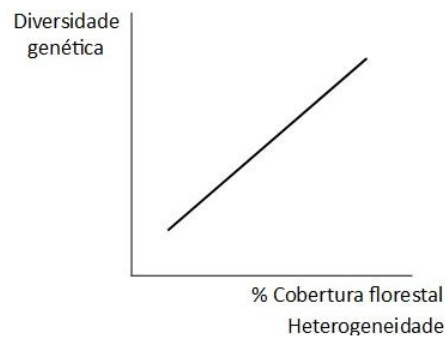


Figura 3: Relação esperada da diversidade genética em função da porcentagem de cobertura florestal e heterogeneidade ambiental. Fonte: Elaborada pela autora.

B) Distância genética

Espera-se encontrar uma maior distância genética quanto menor for a cobertura florestal conectando populações distintas (quantidade de habitat) (Figura 4A). Em contrapartida, atributos como distância entre as paisagens, presença de rodovias pavimentadas e urbanização devem estar positivamente relacionados com a distância genética entre as populações espaciais, já que podem aumentar a dificuldade dos animais se movimentarem entre as paisagens e, assim, prejudicar o fluxo gênico (Figura 4B).

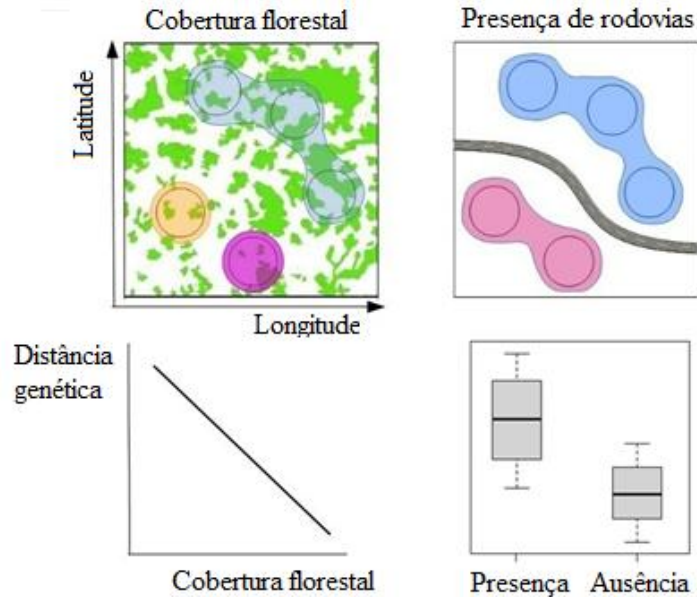


Figura 4: Projeções espaciais dos resultados esperados e seus respectivos gráficos, mostrando a relação da distância genética entre pares de populações e os atributos da paisagem. Os círculos correspondem às paisagens que abrigam o que chamamos de populações espaciais e o contorno em cores diferentes representam agrupamentos genéticos distintos. (A) Baixa quantidade de habitat entre as populações podem contribuir com a diferenciação genética entre elas pela falta de conectividade. A paisagem está composta por habitat (verde) e não-habitat (branco); (B) presença de rodovia pavimentada dificultando a conectividade genética entre as populações espaciais. Fonte: Elaborado pela autora.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Espécie de estudo

O gênero *Cecropia* Loefl. é composto por espécies de árvores pioneiras, de crescimento rápido e associadas à fase inicial de sucessão (Whitmore, 1989). As embaúbas, como são popularmente conhecidas no Brasil, representam um papel muito importante no processo de sucessão ecológica, visto que são as primeiras espécies pioneiras com síndrome de dispersão zoocórica a se estabelecer em áreas em regeneração (Tabarelli *et al.*, 1993), funcionando assim como poleiros naturais e contribuindo para o estabelecimento de espécies zoocóricas de estágio sucessional avançado (Figueiredo *et al.*, 2011; Peña-Domene *et al.*, 2013). Além de colaborar com mudanças abióticas no solo de áreas abertas, devido ao sombreamento, maior tempo de retenção de água e acúmulo de biomassa (Chazdon, 2008; Riginos *et al.*, 2009) as embaúbas também são fonte de recursos durante todo o ano para muitas espécies de animais (Wei e Dick, 2014), como aves (Marcondes-Machado e Oliveira, 1988) e mamíferos frugívoros, entre eles morcegos (Lobova *et al.*, 2003; Sato *et al.*, 2008; Silveira *et al.*, 2011), marsupiais (Cantor *et al.*, 2010; Medellín, 1994; Grelle e Garcia, 1999) e primatas (Giraldo *et al.*, 2007; Palacios *et al.*, 1997; Russo *et al.*, 2005), os quais são potenciais dispersores das sementes.

Dentre as diversas espécies pertencentes ao gênero, apenas três possuem ocorrência na Mata Atlântica: *C. hololeuca*, *C. pachystachya* e *C. glaziovii* (Gandolfi, 2000). A espécie modelo estudada neste projeto é *C. hololeuca*, escolhida principalmente pela ampla distribuição na área de estudo e fácil identificação, visto que os indivíduos podem chegar até 25 metros de altura, apresentando folhas brancas e flores e frutos de cor roxa/preta (Lorenzi, 2000). Segundo Carvalho (2003), a espécie ocorre naturalmente em toda região Sudeste e parte da região Nordeste, vegetando em solos ácidos e de baixa fertilidade, com relevo ondulado a fortemente ondulado. Floresce mais de uma vez por ano, com maior intensidade entre os meses de março e outubro e é dioica, com a polinização realizada por abelhas e diversos insetos pequenos. Sua frutificação tem início a partir dos seis anos de idade, sendo de julho a setembro no estado de São Paulo.

Os poucos estudos que avaliaram a frugivoria de *Cecropia* spp. no Brasil encontraram relação com três espécies de morcegos (Aguiar *et al.*, 2007; Andrade *et al.*, 2013; Mello *et al.*, 2008a; Prone *et al.*, 2012), treze famílias de aves (Galetti *et al.*, 2000; Manhaes *et al.*, 2003; Marcondes-Machado e Oliveira, 1988), uma espécie de tartaruga (Jerozolinski *et al.*, 2009) e

uma de peixe (Pilati *et al.*, 1999). Porém estes estudos dizem respeito principalmente às espécies *C. pachystachya* e *C. glaziovi* e foram realizados na Amazônia, Cerrado e Mata Atlântica, mostrando assim uma lacuna de conhecimento a respeito da espécie *C. hololeuca*.

Embora existam poucos estudos genéticos sobre o gênero, a espécie *Cecropia obtusifolia* foi utilizada para estudos no México, nos quais além de apresentar baixa estruturação genética populacional, não foi encontrado um padrão de isolamento por distância (Alvarez-Buylla e Garay, 1994; Epperson e Alvarez-Buylla, 1997). Este padrão, porém, foi evidente na análise de paternidade, que avaliou apenas a contribuição de pólen de populações naturais desta espécie (Kaufman *et al.*, 1998), o que evidencia a importância dos dispersores de sementes na manutenção do fluxo gênico.

3.2 Área de estudo

O Corredor Cantareira-Mantiqueira (CCM; Figura 5) é uma área que compreende os fragmentos florestais presentes entre a Serra da Cantareira (situada a nordeste do estado de São Paulo) e a Serra da Mantiqueira (sul de Minas Gerais). A região é rica em morros de alta declividade, o que favorece a permanência dos remanescentes florestais, e sua ampla rede de drenagem tem grande colaboração no abastecimento de água das cidades interioranas da região e também da cidade de São Paulo, fazendo com que esta seja uma área de grande importância e prioritária para a conservação. Além disso, a região CCM encontra-se próxima à Serra do Mar, maior porção intacta da Mata Atlântica (Ribeiro *et al.*, 2009).

Porém, o bioma exibe uma ampla variedade de condições ambientais ao longo de seus 150 milhões de hectares. Ao se distanciar da costa em direção às florestas interiores e interface com o cerrado, há um altíssimo nível de degradação, com poucas regiões possuindo 20% de cobertura florestal e a maioria das áreas tendo menos de 10% (Ribeiro *et al.*, 2009). Esta porção restante está bastante fragmentada e seus pequenos remanescentes, isolados uns dos outros, são compostos de florestas secundárias em estágios primários e secundários de regeneração (Tabarelli *et al.*, 2010; Ribeiro *et al.*, 2011).

Em relação à área de estudo, a fragmentação teve um impulso com a expansão urbana que ocorreu na década de 60, quando houve a inauguração da rodovia Fernão Dias, que liga as capitais paulista e mineira, e também a implantação dos reservatórios que compõem o Sistema Cantareira. Em 1972 foi inaugurada a Rodovia Dom Pedro I, ligando o Vale do Paraíba à região metropolitana de Campinas. Na década de 90, com a duplicação destas duas importantes rodovias e devido à ótima localização, o desenvolvimento econômico da região

foi impulsionado, fazendo com que a área se tornasse de grande interesse para o estabelecimento de grandes indústrias e especulação imobiliária (Hoeffel *et al.*, 2008). Muitos dos fragmentos presentes na região, mesmo possuindo pelo menos 70 anos de idade, ainda são compostos por florestas em regeneração, demonstrado pelo baixo estoque de carbono (d'Albertas *et al.*, 2018).

A área de estudo compreende paisagens distribuídas ao longo de um gradiente de cobertura florestal, variando de áreas que são relativamente bem protegidas e conectadas a áreas com níveis intermediários de conservação com diferentes padrões de conectividade, e áreas extremamente degradadas. Entre os fragmentos, as matrizes compreendem diferentes usos da terra, como pasto, agricultura e pecuária, compondo uma diversidade de ambientes que refletem na heterogeneidade ambiental.

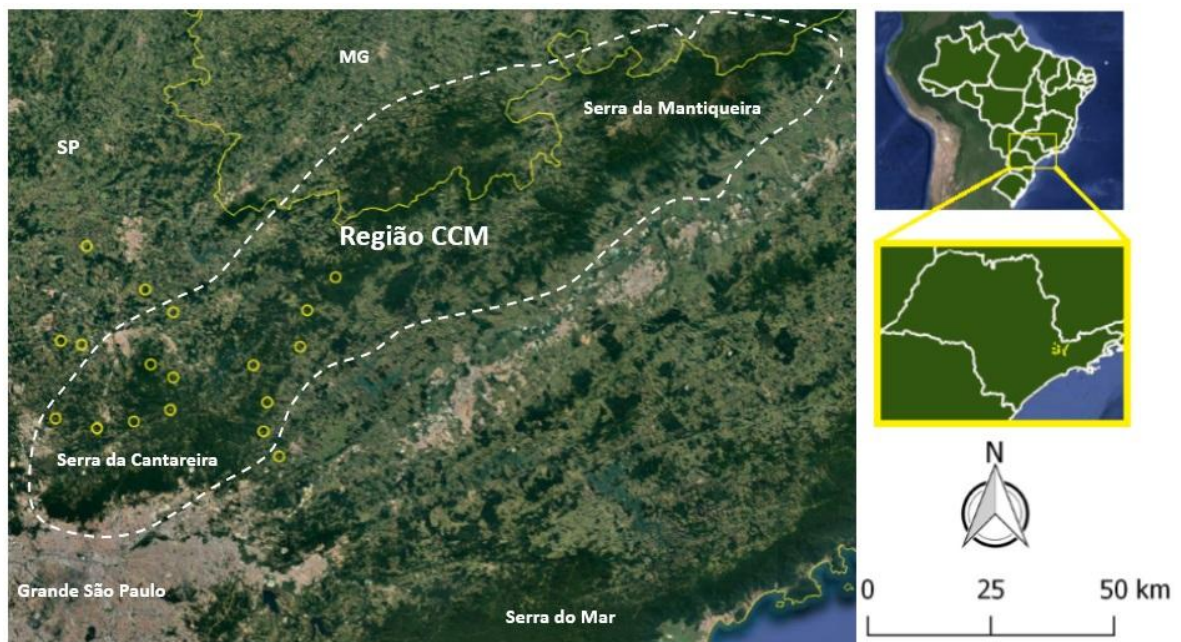


Figura 5: Localização da região de estudo, com cerca de 3500 km², que compreende o Corredor Cantareira-Mantiqueira (CCM) no Estado de São Paulo. Os círculos amarelos correspondem às paisagens selecionadas de acordo com a porcentagem de cobertura florestal, formando um gradiente de 21 a 90%. Fonte: Elaborado pela autora.

3.3 Desenho amostral

O desenho amostral compreendeu dezoito paisagens definidas como círculos com 1 km de raio. Os indivíduos amostrados dentro de cada paisagem foram considerados como sendo uma população espacial, devido à proximidade entre os indivíduos inseridos nela. Esta dimensão foi escolhida para que seja possível avaliar os efeitos indiretos da movimentação

animal sobre a dispersão da espécie em uma escala de paisagem. Como exemplo, indivíduos da espécie de morcego *Sturnira lilium*, os quais se alimentam de frutos de embaúba, podem voar até 760 m (Mello *et al.*, 2008a; Mello *et al.*, 2008b).

Para garantir que populações de *C. hololeuca* estivessem presentes em todas as paisagens selecionadas, foi realizado *a priori* o mapeamento dos locais de ocorrência da espécie. O *software* QGIS foi utilizado com o *plugin* OpenLayers, o qual permite carregar as imagens de satélite do *Google Earth*, possibilitando uma interpretação mais atualizada e refinada das áreas e, assim, a visualização da copa das árvores. Tal visualização é possível pois os indivíduos da espécie tendem a alcançar extratos mais altos do dossel e apresentam folhas bem conspícuas que refletem a cor branca (Figura 6). Essa técnica de identificação remota de ocorrência de *C. hololeuca* foi validada em campo. A partir do mapeamento dos indivíduos, foram calculados *buffers* com 1 km de raio em torno de um baricentro, formando uma área que abrangesse no mínimo 15 indivíduos de *C. hololeuca*, procurando paisagens que compreendessem um gradiente de cobertura florestal (21 a 90%; Figura 7).

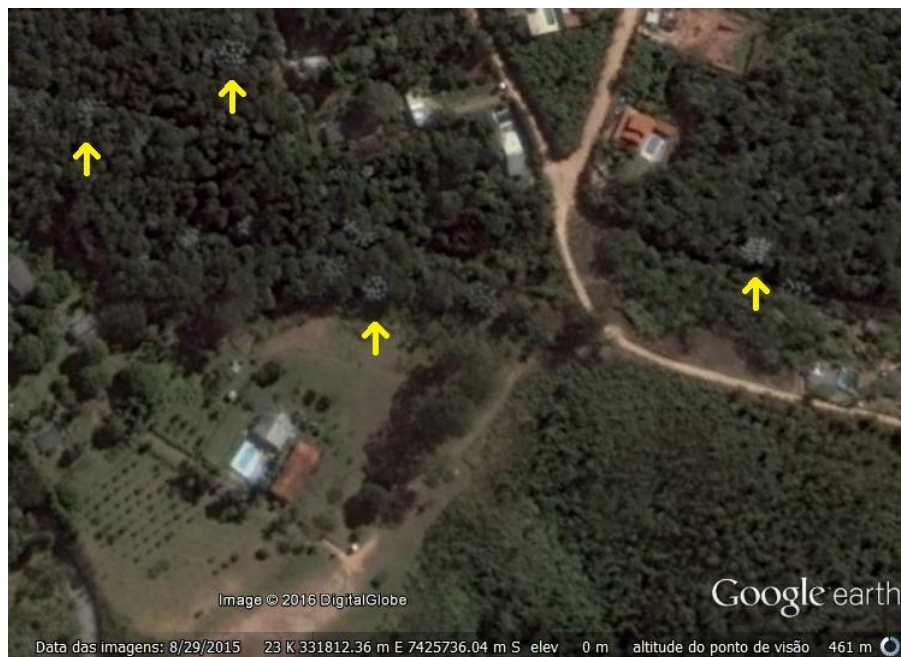


Figura 6: Visualização de indivíduos de *Cecropia hololeuca* (indicados pelas setas amarelas) através de imagens de satélite. Imagem: *Google Earth*. Acesso em: 31/05/2016.

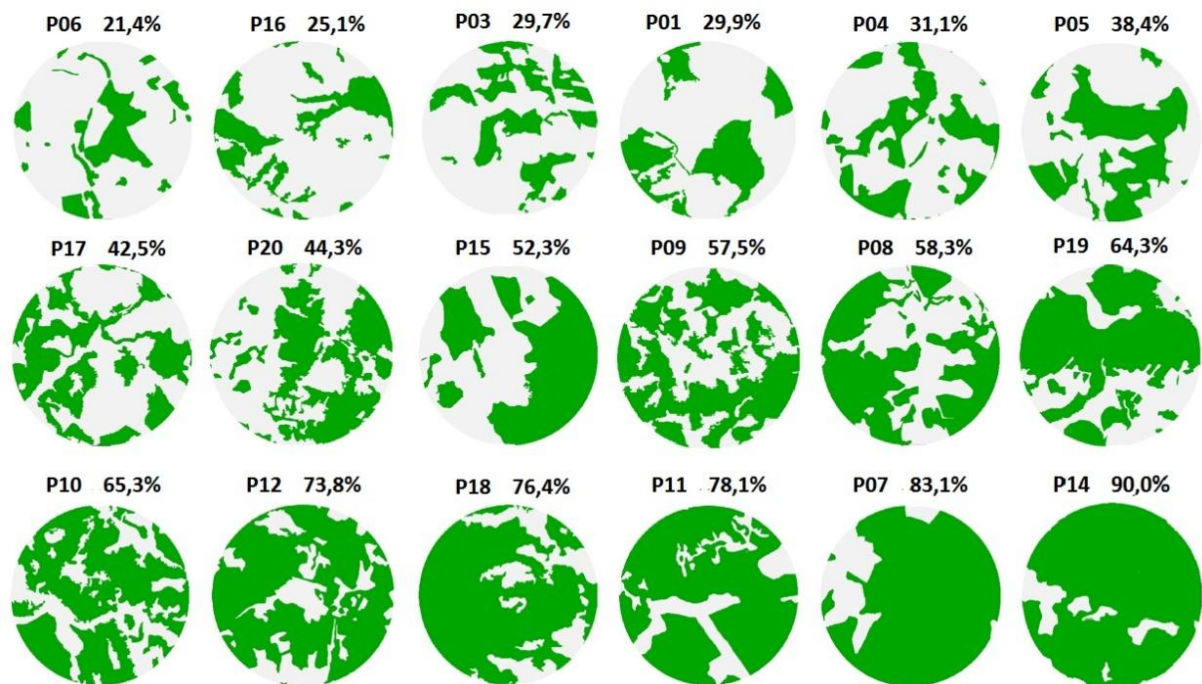


Figura 7: Representação das paisagens selecionadas de acordo com a porcentagem de vegetação florestal. Paisagens ordenadas em ordem crescente de cobertura florestal. Fonte: Elaborado pela autora.

3.4 Coleta de dados

Diante da dificuldade em obter as amostras de tecidos foliares por conta da altura das árvores, fragmentos de caule foram coletados e testados em relação à qualidade da extração de DNA. O teste indicou que amostras do parênquima cortical oferecem DNA de boa qualidade e, mesmo que em menor quantidade que o obtido de amostras foliares, foi suficiente para o trabalho a qual se destinava.

Foram amostrados apenas indivíduos adultos, visto que a altura e a coloração branca das folhas, que permitem a identificação pela imagem de satélite, não são tão evidentes em indivíduos jovens.

A amostragem dos quinze indivíduos foi feita de maneira a melhor representar cada uma das paisagens, amostrando pontos distintos da área. Porém, a grande maioria dos indivíduos mapeados encontrava-se dentro de propriedades particulares, fazendo com que a coleta fosse possível apenas quando a nossa entrada era permitida. Este impasse nos impediu de chegar a alguns indivíduos, os quais foram substituídos por outros não planejados, mas que se encontravam dentro da mesma paisagem. O contato com proprietários e reconhecimento prévio da área foi fundamental para este tipo de pesquisa, que envolve ampla amostragem espacial. A coleta do material botânico foi realizada com a autorização do SISBIO por meio

da licença Nº 55192-1.

3.5 Caracterização da paisagem

O mapeamento do uso e cobertura da terra foi realizado através de interpretação visual de imagens de satélite (Esri, Digital Globe, GeoEye, Earthstar Geographics, CNES/Airbus DS, USDA, USGS, AEX, Getmapping, Aerogrid, IGN, IGP, swisstopo, e/ou GIS User Community) com menos de 1 m de resolução, disponíveis na extensão *Basemap* (ArcGIS 10.2). As imagens foram analisadas em uma escala de 1:5.000 para a classificação dos usos de solo (Figura 8). Cada uma das paisagens selecionadas foi visitada no campo durante a coleta das amostras, para garantir que os padrões de cobertura reais coincidissem com os mapas utilizados para caracterizar a estrutura da paisagem.

Em cada paisagem foi calculada a porcentagem de cobertura florestal e heterogeneidade ambiental através do programa GRASS 6.4 (GRASS Development Team 2014). A heterogeneidade foi calculada com base no Índice de Diversidade de Shannon (Shannon e Weaver, 1949), que combina componentes de riqueza e uniformidade em uma única medida e é útil na comparação de diferentes paisagens (McGarigal *et al.*, 2012). O índice é resultado da equação:

$$H' = - \sum_{i=1}^S p_i \ln p_i$$

em que p_i é a proporção da paisagem ocupada pelo tipo i de uso e cobertura da terra. Para este cálculo, classes de uso do solo estruturalmente semelhantes entre si foram agrupadas (Apêndice 1). Dos oito agrupamentos de classes, quatro foram considerados nas análises de composição da paisagem: cobertura florestal (grupo B), pasto (grupo F), eucalipto (grupo E) e área urbana (grupo H), os quais apresentavam valores mais representativos na paisagem. Além destes atributos, foi considerada também a presença de rodovias pavimentadas, como uma barreira física à movimentação animal.

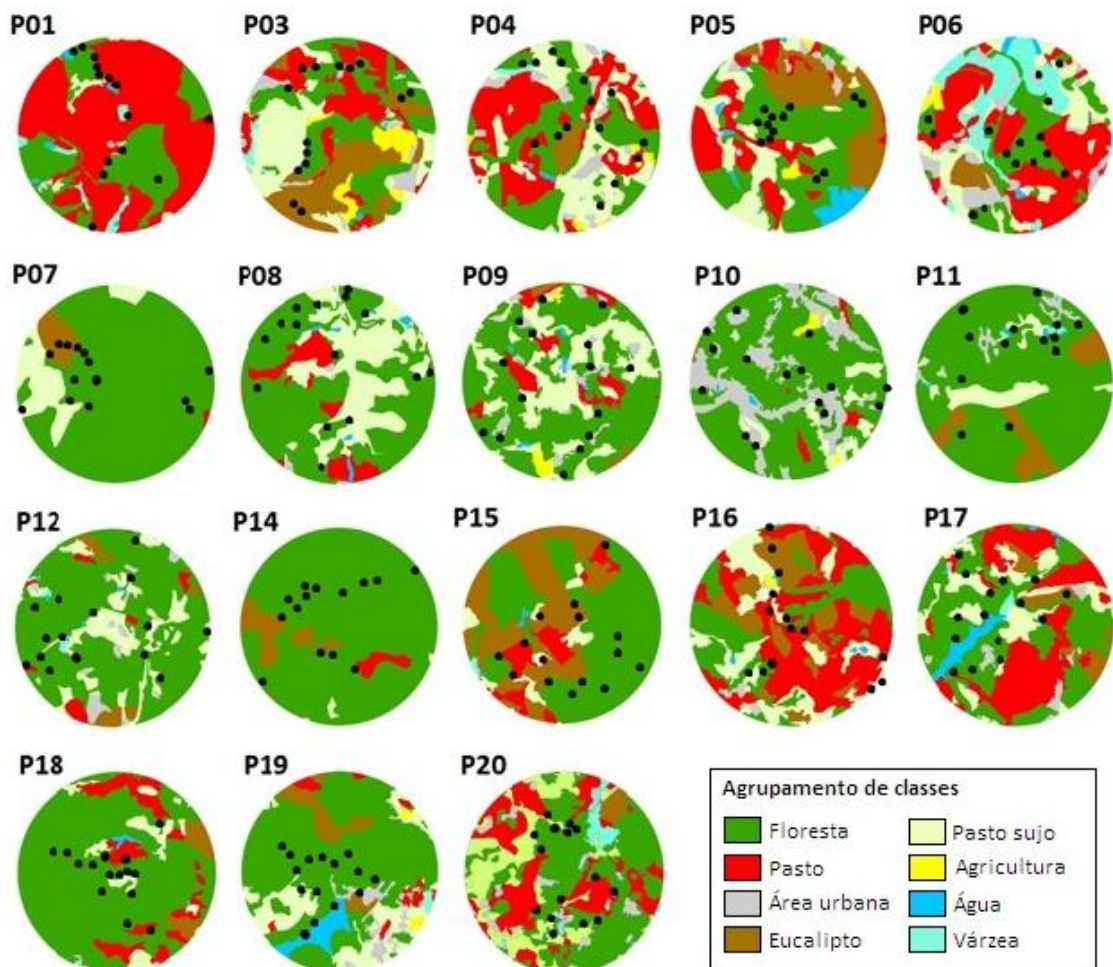


Figura 8: Imagem das paisagens classificadas de acordo com as classes de agrupamento de uso e cobertura do solo (Apêndice 1). Pontos pretos representam os indivíduos coletados. Apenas consideramos nas análises os tipos: floresta, pasto, eucalipto, área urbana. Fonte: Elaborado pela autora.

3.6 Análise genética

3.6.1 Extração de DNA

Os fragmentos de caule coletados em campo foram dessecados em estufa de secagem e, posteriormente, armazenados a -20°C . O DNA foi extraído do parênquima cortical do tecido, a partir do protocolo de extração com tampão CTAB 2% (Doyle e Doyle, 1990).

3.6.2 Desenvolvimento de marcadores microssatélites para *Cecropia hololeuca*

Marcadores microssatélites (SSR) são repetições em série de 1-6 nucleotídeos encontrados em alta frequência nos genomas nucleares da maioria dos organismos (Selkoe e

Toonen, 2006). O sucesso dos microssatélites é devido à sua abundância e ampla distribuição por todo o genoma, elevado grau de polimorfismo, custo relativamente baixo e por prover resolução ao nível de população (Mijangos *et al.*, 2015). Além disso, possui multialelismo, herança mendeliana e codominância, que permitem a identificação de heterozigotos (Selkoe e Toonen, 2006).

O desenvolvimento dos marcadores específicos foi feito pela empresa *Ecogenics* (Balgach, Suíça; Tabela 1). Para isso, enviamos à empresa 10 µg de DNA isolado de amostra foliar de um indivíduo. A extração foi feita utilizando o kit *DNA Plant Mini kit Qiagen*, que permite uma extração com maior qualidade e quantidade de material genético. Além de desenvolver a biblioteca de microssatélites de *C. hololeuca*, a empresa indicou os pares de *primers* para dez microssatélites os quais se mostraram polimórficos para amostras de 15 indivíduos de diferentes paisagens, que foram enviadas para o teste de polimorfismo. No entanto, em laboratório, dois dos *loci* de microssatélites não apresentaram bons resultados na amplificação e foram descartados. Desta maneira, o estudo foi desenvolvido com um total oito marcadores.

Tabela 1: Marcadores microssatélites desenhados e testados pela *Ecogenics* utilizados neste estudo. F e R representam *primers* dos tipos “forward” e “reverse”, respectivamente. *Primers* F foram sintetizados com fluoróforos do tipo HEX ou FAM. A amplitude foi definida a partir do teste de polimorfismo.

Multiplex - Locus	Sequência do Primer	Repetição	Amplitude (pb)
1 - L162	F-CAATCCAAAAACCTCCCCCG - HEX R-TGACCCCTAATTCCTCAAC	(GAAT) ₈	127-140
1 - L369	F-ACGATTATTGTGGCAGGAACG - FAM R-ACAGTGCTAGATGAGGAGGC	(TA) ₁₇	175-239
1 - L735	F-TCACCAAGTTATGCGATCACC - FAM R-GTTGTAGCTTCTCATCCGAGC	(AT) ₁₉	78-110
2 - L195	F-ATAATGCTGCAACACCCACC - FAM R-ACAACCTGTGAGGTGAGAAAAC	(TTTC) ₈	223-236
2 - L206	F-TTTCCATTATTTTATCTGACAACGTG - FAM R-GTGATTCAAGCCGAACCCTG	(TA) ₂₁	142-179
2 - L354	F-TACCGGATTAGGTCCCCTCG - HEX R-GGGGACTCCATAGTTAGCCG	(CT) ₂₉	90-133
3 - L449	F-TGTCCAAGTGGCAGACAGAG - FAM R-TAGTTGGAGGGACATGGGTG	(AT) ₁₃	171-185
3 - L506	F-GTGGCAATCAACTAAAACGACAAG - HEX R-TAATGTCAAACGCCCAAGCC	(AT) ₂₄	106-153

3.6.3 Análise molecular

Os protocolos por PCR (reação em cadeia de polimerase) e, em especial as temperaturas de anelamento, foram otimizados a partir do protocolo proposto pela empresa, de forma a garantir melhores ampliações com os reagentes disponíveis no laboratório, os quais estão descritos no Apêndice 2. De forma a otimizar a genotipagem, os marcadores microsatélites foram sintetizados com marcação de fluorescência do tipo HEX e FAM em seus *primers* “*forward*”, de forma a compor *multiplex* que não sobrepusessem a amplitude de tamanho dos fragmentos de mesma cor (Tabela 1).

A partir de pequenas quantidades de amostra de DNA (7,5 ng/reação), as regiões de interesse foram amplificadas com o termociclador Veriti Thermal Cycler (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA) e então genotipadas através da análise de fragmentos de DNA no sequenciador ABI 3500 (Applied Biosystems) com *GeneScan ROX 500 size standard* (Applied Biosystems) e a análise para atribuição de alelos foi feita no programa *GeneMapper* (Applied Biosystems).

3.6.4 Análise dos loci

Após a criação de uma tabela de genótipos, cinco indivíduos foram excluídos, pois apresentaram valores faltantes para 50% ou mais dos *loci*. O *software* Micro-Checker (Van Oosterhout *et al.*, 2004) foi utilizado para avaliar a existência de alelos nulos e o Genepop 4.2 (Rousset, 2008) foi usado para calcular o desequilíbrio de ligação através do método de Fisher; e o equilíbrio de Hardy-Weinberg através do método de cadeia de Markov (Apêndice 3). Os testes foram realizados para todas as populações espaciais e todos os *loci*.

3.7 Análise de dados

I. Como é a variação genética dos indivíduos de C. hololeuca em escala de paisagem?

Para investigar o padrão espacial da variabilidade genética entre os indivíduos usando dados de frequência alélica, foi utilizada a Análise Espacial de Componentes Principais (sPCA; Jombart *et al.*, 2008), um método multivariado que combina análise de PCA e autocorrelação espacial. A sPCA é uma ferramenta exploratória de genótipos multilocus georreferenciados que permite avaliar visualmente a estrutura genética de um conjunto de indivíduos, através da variação entre os indivíduos e suas autocorrelações espaciais (Índice de

Moran - I), que se baseia na comparação dos alelos de um indivíduo com os alelos de indivíduos vizinhos. Se estes valores são positivamente correlacionados, manchas com maior similaridade genética são formadas, gerando um valor de I altamente positivo, enquanto que vizinhos com maior variância genética geram valores de I altamente negativos (Jombart *et al.*, 2008). Os componentes principais (variáveis sintéticas de informações genéticas) obtidos na análise podem ser interpolados espacialmente e gerar mapas demonstrando a variação genética ao longo do espaço geográfico, sem considerar as premissas do Equilíbrio de Hardy-Weinberg ou equilíbrio de ligação (Widmer *et al.*, 2012). Esta interpolação foi feita sobre a área total de estudo (3.500 km²; Figura 5), abrangendo todos os indivíduos das 18 paisagens selecionadas. Além de uma superfície de variação genética espacial, os resultados desta análise podem revelar dois tipos de padrões: o global, que faz uma diferenciação entre grupos espaciais; e o local, que recupera maiores diferenças genéticas entre vizinhos do que entre pares aleatórios de entidades. A sPCA foi baseada na rede de conexão do “tipo 1” – triangulação de Delaunay e realizada com o pacote *adegenet* 2.0.1 (Jombart, 2008; Widmer *et al.*, 2012), do programa R (R Development Core Team, 2011).

Partindo do resultado da sPCA, dois testes de Monte Carlo foram feitos para embasar a consideração das estruturas global e local. Na hipótese nula (H_0), os genótipos dos indivíduos estão distribuídos aleatoriamente na rede de conexões, enquanto que na hipótese alternativa existe ao menos uma estrutura espacial (global ou local; Jombart *et al.*, 2008). Foram utilizadas 999 permutações espaciais dos indivíduos e o valor de p foi definido como a frequência relativa das simulações em que os alelos foram significativamente relacionados (definidas como valores máximos das médias dos coeficientes de determinação (t) dos Mapas de Autovetores de Moran – MEM). Estes testes foram feitos através das funções *global.rtest* e *local.rtest* do pacote *ade4* também do programa R.

II. Como populações estão agrupadas geneticamente?

Dado o grande número de frugívoros consumidores de frutos de *Cecropia* spp., bem como a capacidade de movimentação dos polinizadores, esperamos que a dispersão de sementes e pólen seja alta e que, possivelmente, o fluxo gênico entre populações seja extenso, minimizando a diferenciação genética entre populações (Alvarez-Buylla e Garay, 1994; Epperson e Alvarez-Buylla, 1997). Desta maneira, os agrupamentos genéticos podem compreender diversas populações espaciais. Para identificar o número de agrupamentos genéticos e a distribuição espacial dos mesmos utilizaremos dois métodos analíticos, de forma exploratória: Análise Bayesiana de Estrutura Populacional (BAPS; Corander *et al.*, 2003) e

análise espacial de variância molecular (SAMOVA; Dupanloup *et al.*, 2002).

A) Análise Bayesiana de Estrutura Populacional

O número de agrupamentos genéticos foi primeiramente inferido através do módulo “*Clustering of groups of individuals*” no *software* BAPS 6.0 (Corander *et al.*, 2006), no qual o modelo Bayesiano é baseado em simulações de dados populacionais de genótipos individuais, ou seja, os genótipos são descritos individualmente, mas são atribuídos apenas à população a qual se refere. O modelo descreve a composição dos grupos de populações e apresenta um número de agrupamentos que melhor caracterizam a estruturação genética da população (k), sendo esta definida entre 1 e 18 grupos, em 10 corridas independentes.

A estruturação espacial e a ocorrência de descontinuidade genética foi realizada através do módulo “*Spatial genetic mixture analysis*” também no *software* BAPS 6.0 (Corander *et al.*, 2008; Cheng *et al.*, 2013), a partir dos mesmos dados de microssatélites, juntamente às informações geográficas dos grupos de indivíduos pré-definidos (populações espaciais). O modelo foi realizado com o valor de k fixo, pré-estabelecido de acordo com o modelo anterior.

Nesta análise, o parâmetro de interesse principal é a partição entre os grupos, partindo do princípio de que todas combinações são consideradas igualmente prováveis (Corander *et al.*, 2003). Então, a estrutura genética obtida é associada aos polígonos de Voronoi construída a partir da informação geográfica das populações, gerando um mapa no qual as células são coloridas de acordo com a associação da classe da população em particular. É aplicado um algoritmo de busca estocástica semelhante ao MCMC (Cadeia Markov de Monte Carlo), porém computacionalmente menos intensivo e que utiliza movimentos inteligentes no que se refere à estrutura genética (desenvolvido por Corander *et al.*, 2006), a partir de uma análise espacial prévia.

A introdução da dependência espacial possibilita a criação de um modelo de especificação no qual a estrutura genética posterior pode ser obtida de forma analítica. De modo geral, a partição associada à máxima probabilidade posterior é uma estimativa Bayesiana direta para a estrutura genética sob o quadro atual, e passa por três operações: (1) realocação aleatória das populações a outras classes; (2) combinação aleatória das classes; e (3) divisão das classes em pelo menos duas subclasses definidas pelas distâncias genéticas de Hamming das populações para identificar subclasses com máxima homogeneidade. A distância de Hamming é definida pelo número de alelos diferentes que dois indivíduos transportam nos loci (Corander *et al.*, 2008).

B) Análise Espacial de Variância Molecular

Assim como no BAPS, a análise espacial de variância molecular (SAMOVA 2.0) considera um maior nível hierárquico e permite definir grupos de populações. O índice F_{CT} representa a proporção da variância genética total devido a diferenças entre grupos de populações (representando um nível hierárquico acima do F_{ST} , que representa a variância entre populações). Porém, nesta análise a informação geográfica das populações é considerada *a priori* para a partição dos grupos. Seu algoritmo pode ser decomposto da seguinte maneira (Dupanloup *et al.*, 2002):

1. A partir da localização geográfica das populações (neste caso definido pelo centroide das paisagens) é construído um conjunto de polígonos de Voronoi;
2. Uma partição arbitrária das n populações em k grupos (valor pré-definido) é escolhido aleatoriamente;
3. A barreira genética entre os k grupos é identificada como as bordas dos polígonos de Voronoi, separando assim grupos de populações;
4. O índice F_{CT} é computado;
5. Uma borda é selecionada aleatoriamente em uma dada barreira;
6. As populações localizadas em ambos os lados da borda são identificadas e uma delas é escolhida de forma aleatória e então atribuída ao grupo de outra população;
7. A barreira genética é realocada, separando os novos grupos de populações;
8. O novo valor de F_{CT} (F_{CT}^*) associado à nova partição é computado;
9. A nova estrutura é aceita com a probabilidade

$$p = \begin{cases} 1 & \text{if } F_{CT}^* \geq F_{CT} \\ e^{(F_{CT}^* - F_{CT})SA} & \text{if } F_{CT}^* < F_{CT} \end{cases}$$

em que S é o número de simulações de anelamento (passos 5 a 9) realizados e A uma constante arbitrária que controla a velocidade do processo de congelamento.

A análise foi realizada separadamente para valores de $k=2, 3, 4, 5$ e 6 e com os valores *default* de A (0,9158) e S (10000), para que a probabilidade p fosse igual a 1% quando a diferença entre F_{CT} e F_{CT}^* na 10.000ª iteração fosse igual a 0,001. O processo de simulação de anelamento foi realizado 100 vezes e então a configuração com maior valor associado de F_{CT} foi retida como o melhor agrupamento de populações, garantindo que a configuração final dos k grupos não tenha sido simplesmente devida a uma dada configuração inicial.

Em suma, este método é fundamentado em um procedimento de emparelhamento

simulado que tem como objetivo maximizar a proporção da variância genética total devido a diferenças entre grupos de populações, conduzindo a identificação de barreira genética. Além disso, SAMOVA não parte da premissa do Equilíbrio de Hardy-Weinberg e do equilíbrio de ligação, o que é importante considerando que os indivíduos encontram-se em um ambiente fragmentado e dinâmico e não se sabe a real extensão das populações ou se essas se encontram em equilíbrio.

III. Como a composição da paisagem influencia a diversidade e diferenciação genética entre as populações espaciais?

As análises do efeito da estrutura da paisagem sobre os parâmetros genéticos foram realizadas em dois níveis analíticos: nós e *links* (Wagner e Fortin, 2013) para avaliar a diversidade e diferenciação genética, respectivamente (por exemplo, Carvalho *et al.*, 2015).

A) Diversidade genética: Nível analítico de nós

O nível de nó diz respeito à variabilidade genética entre os indivíduos que compõem o que chamamos de população espacial. As seguintes variáveis respostas foram estimadas através da função *basic.stats* do pacote *hierfstat* (Goudet, 2005): diversidade gênica (H_e – heterozigiosidade esperada dentro do equilíbrio de Hardy-Weinberg, segundo Nei, 1978), heterozigiosidade observada (H_o), número médio de alelos por loco (AR; Mousadik e Petit, 1996) e riqueza alélica baseada em análise de rarefação (Rare).

Modelos lineares mistos generalizados (GLMM) com abordagem Bayesiana foram gerados usando o pacote *MCMCglmm* 2.24 (Hadfield, 2010) no ambiente R (R Development Core Team, 2011). A função *MCMCglmm* foi rodada com um milhão de iterações MCMC, *burn in* = 20000, *thinning* = 200, os *priors* das estruturas de variância (R e G) foram (co)variância esperada $V=1$ e parâmetro de confiança $nu = 0.002$, e considerando uma distribuição gaussiana dos dados, sendo a paisagem a variável aleatória (argumento *random*). As variáveis respostas foram então modeladas em função da porcentagem de cobertura florestal (CF) e heterogeneidade ambiental medida em cada paisagem (H), além do modelo nulo, onde a variável preditora é excluída. Estes modelos foram testados e comparados por meio dos valores de DIC (*deviance information criterion*), que é um critério hierárquico de generalização do critério de informação de Akaike (AIC).

B) Distância genética: Nível analítico de *link*

Ao nível de *link*, o primeiro passo foi estimar a diferenciação genética entre todos os pares de populações espaciais usando diferentes medidas: F_{ST} de Wright, obtido de análises de variância de frequências alélicas (Weir e Cockerham, 1984) e distância padronizada G_{ST} (Hedrick, 2005), baseado no F_{ST} , mas levando em conta a diversidade observada dentro da população e número de subpopulações. G_{ST} é uma ferramenta útil para estimar a quantidade de migração entre as populações (Jost, 2009), porém, assim como o F_{ST} , estas medidas assumem que populações estão em equilíbrio mutação-deriva, podendo não ser adequadas para populações que sofreram perturbação recente do habitat (Hall e Beissinger, 2014). Então também foi calculada a distância genética condicional (cGD; Dyer e Nason, 2004), que usa a covariância associada ao fluxo gênico direto e indireto e produz uma matriz de distância equivalente à utilizada na AMOVA (Análise de Variância Molecular). O F_{ST} foi calculado através do programa FSTAT 2.9.3 (Goudet, 2001); enquanto que os valores de G_{ST} e cGD foram obtidos através do pacote *gstudio* (Dyer, 2012) do programa R (R Development Core Team, 2011).

O segundo passo foi criar *buffers* de 1 km ao redor de uma linha reta que liga os baricentros das paisagens pareadas, dos quais foram extraídas as seguintes variáveis preditoras (Apêndice 4): porcentagem de cobertura florestal (proporcional à conectividade estrutural), heterogeneidade ambiental (proporcional à diversidade de recursos), isolamento por distância geográfica (custo para a movimentação entre populações), presença ou ausência de rodovias pavimentadas (isolamento por barreira: possível barreira para movimento), porcentagem de pasto, eucalipto e áreas urbanas (isolamento por resistência: maior custo ao movimento entre populações). Para evitar um super ajuste dos modelos descartamos variáveis correlacionadas entre si ($r > |0,6|$; Apêndice 5). Nesse caso, mantivemos as seguintes variáveis preditoras: distância euclidiana (D), porcentagem de floresta (F), eucalipto (E) e de área urbana (U), além de presença/ausência de rodovias pavimentadas (R).

Para avaliar como a distância genética entre as populações se relaciona aos atributos da paisagem, também foram utilizados os modelos generalizados lineares mistos Bayesianos. Para controlar o efeito de dependência entre populações devido à natureza pareada da análise de *link* incluímos as populações como efeito aleatório através do argumento *random* com elemento IDV no pacote *MCMCglmm* 2.24 (Hadfield, 2010). Esse tipo de modelo foi utilizado de forma análoga à abordagem da máxima verossimilhança de efeitos populacionais (MLPE, como usada em Clarke *et al.*, 2002), em que é possível incluir uma estrutura de efeito aleatório definindo as covariâncias entre as distâncias pareadas que envolvem populações

distintas e em comum (material Apêndice em Van Strien *et al.*, 2012). Foram construídos modelos concorrentes utilizando uma abordagem de *backward elimination* a partir do modelo saturado contendo todas as variáveis preditoras. O modelo nulo (sem variável preditora) também foi incluído. Os modelos foram comparados por meio dos valores de DIC. Modelos com Δ DIC menores do que duas unidades foram considerados plausíveis. No caso de encontrarmos mais de um modelo plausível, utilizamos uma abordagem de *model averaging* (Hoeting *et al.*, 1999) para estimar a média dos parâmetros posteriores obtidos para cada variável dentre os modelos selecionados. Essa abordagem foi utilizada pois estamos mais interessados em compreender a importância dos atributos ambientais do que obter um modelo preditivo único. A média dos coeficientes foi realizada por meio da função *model.avg*, do pacote *MuMIn* (Bartón, 2017) do programa R (R Development Core Team, 2011).

4 RESULTADOS

Análise dos loci

Alelos nulos estavam presentes em apenas uma população espacial para os *loci* L195, L354 e L506; em duas populações nos *loci* L162, L369 e L735; e em três populações espaciais no *locus* L206. O *locus* L449, bem como os agrupamentos populacionais P06, P07, P08, P10, P14, P15, P17, P18, P19 e P20 não apresentaram alelos nulos. Apenas seis populações espaciais (P06, P10, P14, P15, P19 e P20) não desviaram do Equilíbrio de Hardy-Weinberg para nenhum *loci*. Todas combinações de *loci* considerando todas populações espaciais estão em equilíbrio de ligação.

Os desvios encontrados nestes testes podem estar relacionados com o fato de que populações espaciais foram utilizadas como objetos de análise, as quais não correspondem necessariamente a populações biológicas. Os resultados dos três testes estão descritos no Apêndice 3.

I. Como é a variação genética dos indivíduos de C. hololeuca em escala de paisagem?

Os autovalores resultantes da sPCA indicam uma estrutura global predominante, como indicado no gráfico de barras (Figura 9A), em que os valores positivos são atribuídos a estruturas globais e os negativos a estruturas locais. Estes valores podem ser decompostos em um componente de variância e autocorrelação espacial (Índice de Moran - I). Como demonstrado no gráfico de dispersão (Figura 9), os autovalores mais espacialmente correlacionados foram λ_3 (positivamente) e λ_{102} (negativamente). Estruturas globais correspondem a autovalores positivos (explicando alta variância e apresentando autocorrelação espacial altamente positiva), já os autovalores negativos estão associados a estruturas locais (valores de alta variância e autocorrelação espacial altamente negativa).

Os dados de distribuição espacial da frequência alélica não foram significativos para a estrutura local ($p = 0,989$) nos testes de Monte Carlo, enquanto a estrutura global teve significância ($p = 0,033$), demonstrando assim que existe uma correlação espacial positiva, ou seja, uma fração dos alelos (referentes ao primeiro componente principal) está agregada espacialmente ao longo da paisagem (Figura 10).

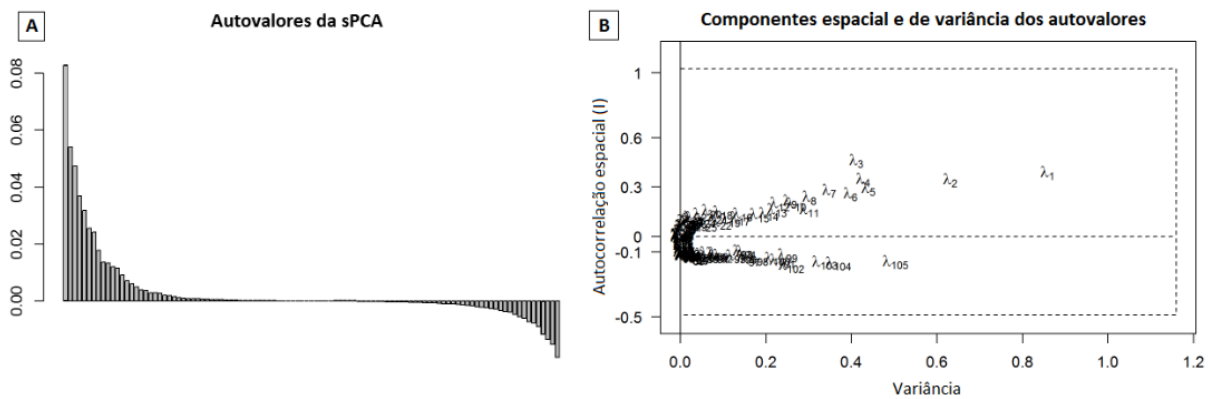


Figura 9: A) Gráfico de barras dos autovalores resultantes da sPCA. B) Gráfico de dispersão dos autovalores em relação ao Índice de Moran e variância. A linha tracejada vertical representa a máxima variância possível resultante de uma combinação linear de alelos (PCA comum), enquanto que as linhas tracejadas horizontais representam o intervalo de variação do Índice de Moran, de acordo com a matriz de ponderação espacial utilizada (Jombart, 2015).

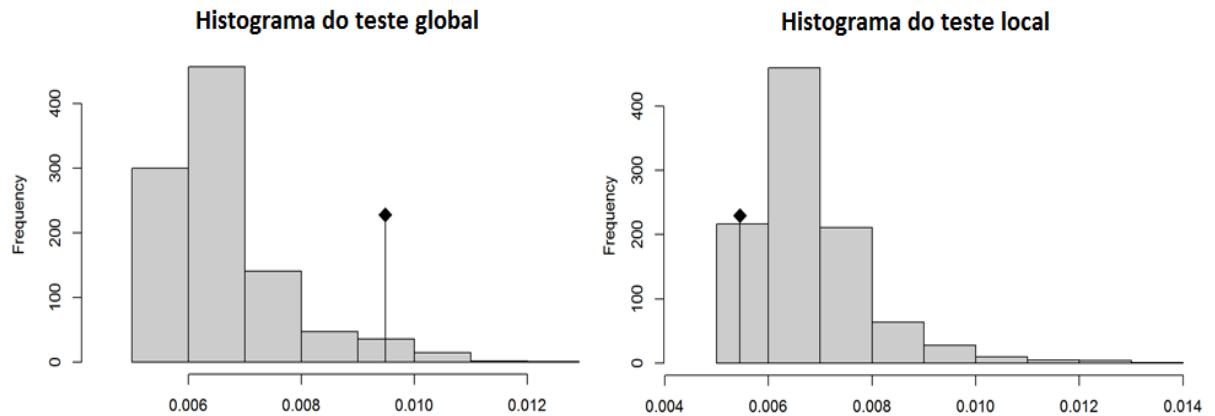


Figura 10: Histograma de testes de Monte Carlo para comparação das estruturas global e local. A marcação indica a estatística observada, que representa a média dos valores absolutos dos autovalores correspondentes em 999 permutações.

Após estas análises, foi possível gerar o mapa de distribuição geográfica da variação clinal através da interpolação dos componentes principais, representando a autocorrelação espacial dos genótipos individuais (Figura 11), no qual é possível distinguir a formação de dois grandes agrupamentos de populações.

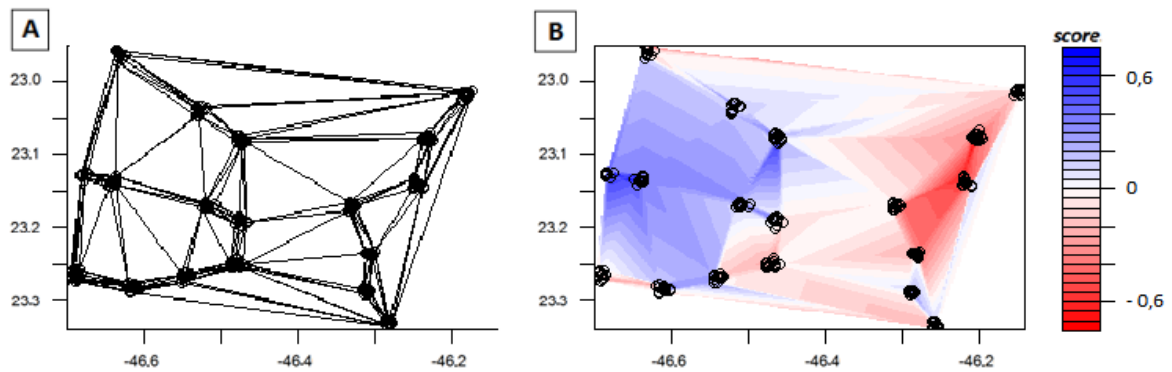


Figura 11: Mapas gerados pela função *spca* (Jombart et al., 2008), os eixos x e y representam longitude e latitude, respectivamente. A) Rede de conexões entre vizinhos do tipo triangulação de Delaunay na SPCA. B) Mapa de variação clinal. Mudanças de cores entre os indivíduos representam maior variância entre seus genótipos.

II. Como as populações estão agrupadas geneticamente?

A) Análise Bayesiana de Estrutura Populacional

Inicialmente, a definição do número de agrupamentos genéticos foi feita a partir apenas dos dados moleculares individuais que compõem as 18 populações amostrais. O resultado da análise apontou 99,5% de probabilidade de existir três agrupamentos que melhor compõem a variação genética de todas as populações (Tabela 2).

Tabela 2: Composição dos agrupamentos e os valores estimados de divergência Kullback-Leibler (KL) entre os três agrupamentos, segundo o programa BAPS 6.0

Agrupamento	Populações	Divergência (KL)		
		1	2	3
1	P09, P10, P14, P15, P16, P19, P20	0		
2	P05, P06	0.619	0	
3	P01, P03, P04, P07, P08, P11, P18	0.410	0.778	0

Partindo deste resultado, a análise espacial da estrutura genética foi realizada com um valor fixo de $k=3$ e número de iterações $i=50$. A associação da estrutura genética aos polígonos de Voronoi não alterou a composição dos agrupamentos sugerida pela análise dos dados moleculares dela foi gerado um mapa da localização espacial destas partições (Figura 12).

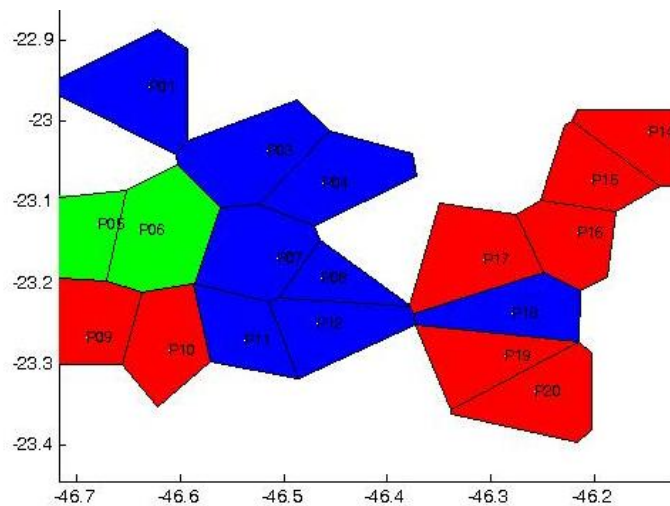


Figura 12: Mapa de agrupamentos genéticos resultante da associação dos polígonos de Voronoi à estrutura genética gerado pelo *software* BAPS 6.0. Cada polígono representa uma população espacial (com respectiva identificação) e cada cor representa cada um dos três agrupamentos genéticos (Vermelho = agrupamento 1; Verde = 2, Azul = 3).

B) Análise Espacial de Variância Molecular

Na SAMOVA, a análise parte da localização espacial das populações para a inferência dos agrupamentos genéticos e exige um valor para k (número de grupos desejado). Considerando que os *softwares* usam algoritmos diferentes para a modelagem dos dados, nesta análise foram rodados os modelos para $k=2, 3, 4, 5$ e 6 , de forma exploratória (Figura 13). O valor de F_{CT} não pode ser considerado como um bom preditor do melhor modelo, pois é esperado que quanto mais dividido os grupos, maior seja a porcentagem de variância genética entre eles. Desta forma, a progressão da partição dos grupos ao longo dos valores de k é mais informativa do que apenas avaliar a localização espacial dos agrupamentos e valores de F_{CT} .

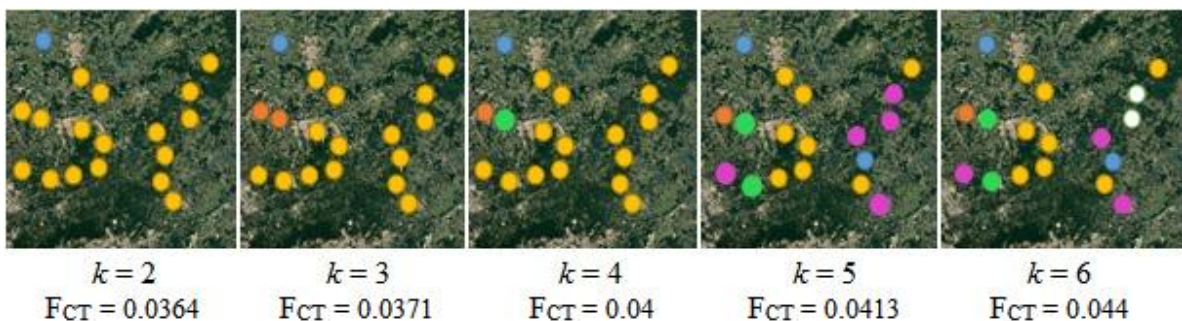


Figura 13: Distribuição espacial dos grupos de populações sobre imagem de satélite resultante de diferentes modelos realizados no *software* SAMOVA 2.0.

III. Como a composição da paisagem influencia a diversidade e diferenciação genética entre as populações espaciais?

A) Diversidade: Nível analítico de nós

A diversidade genética de *C. hololeuca* apresentou valores intermediários de heterozigosidade esperada (H_E) e número médio de alelos por loco (AR), as quais variaram de 0,56 a 0,71 e 4,5 a 6,7, respectivamente (Tabela 3).

Ao contrário do que se esperava, os valores brutos das métricas de diversidade genética para a paisagem (H_E , AR e Rare – Tabela 3) não apresentaram uma associação nítida com as variáveis ambientais (cobertura florestal e heterogeneidade), como representado nos gráficos de dispersão (Figura 14). Além disso, nenhum modelo com variável preditora se mostrou diferente do modelo nulo ($\Delta DIC < 2$), indicando que a diversidade genética não teve relação significativa com nenhuma variável testada (Tabela 4).

Tabela 3: Métricas genéticas e ambientais relativas às populações espaciais presentes nas paisagens. Legenda: CF: porcentagem de cobertura florestal; H: heterogeneidade ambiental (Diversidade de Shannon); N: número de indivíduos amostrados; H_E : heterozigosidade esperada; H_O : Heterozigosidade observada; AR: número médio de alelos por loco; Rare: riqueza alélica rarefeita.

Paisagem	CF (%)	H	N	H_E	H_O	AR	Rare
1	30	1,36	14	0,63	0,52	5,1	3,3
3	29	2,43	14	0,60	0,46	5,5	3,2
4	32	2,16	15	0,65	0,49	6,7	3,5
5	38	2,32	14	0,60	0,49	5,0	3,3
6	21	2,20	15	0,56	0,45	4,5	3,0
7	83	0,80	14	0,62	0,57	5,7	3,3
8	58	1,49	14	0,66	0,54	6,0	3,4
9	57	1,82	14	0,61	0,40	5,2	3,2
10	65	1,49	14	0,66	0,53	5,3	3,3
11	78	1,10	13	0,63	0,46	4,6	3,2
12	74	1,33	15	0,67	0,46	5,7	3,4
14	90	1,23	14	0,57	0,51	4,7	3,0
15	52	2,01	15	0,61	0,57	4,9	3,2
16	25	2,03	14	0,65	0,54	6,2	3,4
17	42	2,06	14	0,65	0,51	5,0	3,2
18	76	1,14	14	0,71	0,58	5,6	3,4
19	64	1,84	15	0,62	0,47	6,1	3,2
20	45	1,99	15	0,63	0,52	5,4	3,4

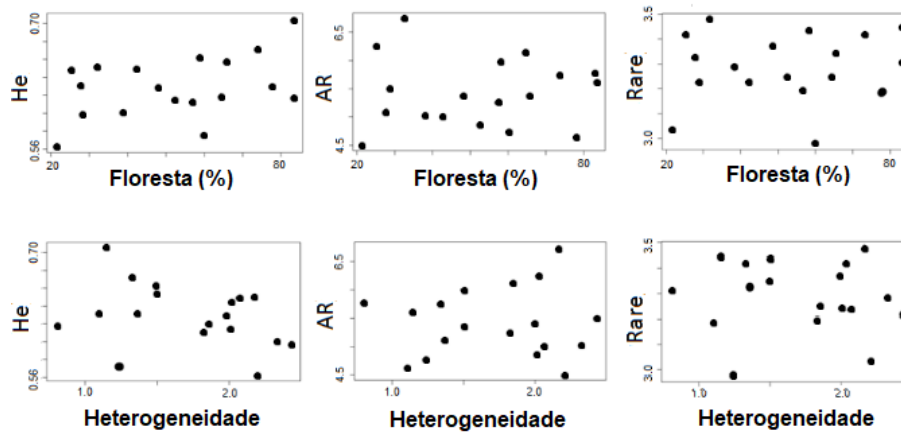


Figura 14: Gráficos de dispersão das métricas de diversidade genética em função das variáveis ambientais cobertura florestal e heterogeneidade (H_E : heterozigosidade esperada; AR: número médio de alelos por loco; Rare: riqueza alélica rarefeita).

Tabela 4: Valores de DIC para os modelos de diversidade genética gerados a partir de análise Bayesiana. Valores em negrito representam o modelo com melhor ajuste (menor DIC). Nenhum modelo se mostrou mais plausível do que o modelo nulo. H_E : heterozigosidade esperada; AR: número médio de alelos por loco; Rare: riqueza alélica rarefeita.

Modelo	H_E		AR		Rare	
	DIC	Δ DIC	DIC	Δ DIC	DIC	Δ DIC
CF	8,86	0	10,1	0,2	10,6	1,8
H	9,63	0,77	11,0	1,1	10,2	1,4
Nulo	9,78	0,92	9,9	0	8,8	0

B) Distância genética: Nível analítico de *link*

As matrizes com valores de F_{ST} , G_{ST} e cGD encontram-se no Apêndice 6. Ao testar a correlação entre as variáveis, a heterogeneidade e a porcentagem de pasto estavam fortemente correlacionadas de forma negativa com a porcentagem de cobertura florestal (Apêndice 5). Assim, os modelos testados foram combinações das cinco principais variáveis: distância geográfica euclidiana (D), porcentagem de floresta (F), eucalipto (E) e de área urbana (U), além de presença/ausência de rodovia (R).

Encontramos de dois a três modelos plausíveis para os parâmetros de distância genética (Tabela 5). Distância geográfica (D), porcentagem de área urbana (U) e presença de rodovias (R) foram positivamente relacionadas com a distância genética e estão presentes conjuntamente em todos os oito melhores modelos (Δ DIC < 2) para F_{ST} , G_{ST} e cGD (Tabela 5, Figura 14). Eucalipto (E) aparece em cinco dos oito modelos, também positivamente associado à distância genética, enquanto que floresta aparece em apenas três modelos e é a única variável que contribui para a menor diferenciação genética entre as populações (Tabela 5, Figura 15).

Tabela 5: Média dos melhores modelos (com $\Delta \text{DIC} < 2$) para cada um dos parâmetros de distância genética e a contribuição relativa posterior de cada uma das variáveis analisadas (D: distância geográfica, F: cobertura florestal, E: porcentagem de eucalipto, U: porcentagem de área urbana, R: presença de rodovias pavimentadas).

Distância genética	Modelo	DIC	ΔDIC	Peso	Média dos coeficientes				
					D	F	E	U	R
F_{ST}	D+E+U+R	-1542,6	0	0,46					
	D+U+R	-1542,0	0,64	0,33					
	D+F+E+U+R	-1541,0	1,59	0,21	0,004	-0,002	0,003	0,007	0,011
G_{ST}	D+U+R	-1986,9	0	0,45					
	D+F+U+R	-1986,1	0,79	0,30	0,003	-0,001	0,001	0,002	0,004
	D+E+U+R	-1985,7	1,21	0,25					
cGD	D+E+U+R	1822,0	0	0,73	1,669	0,175	1,940	0,870	2,855
	D+F+E+U+R	1824,0	1,95	0,27					

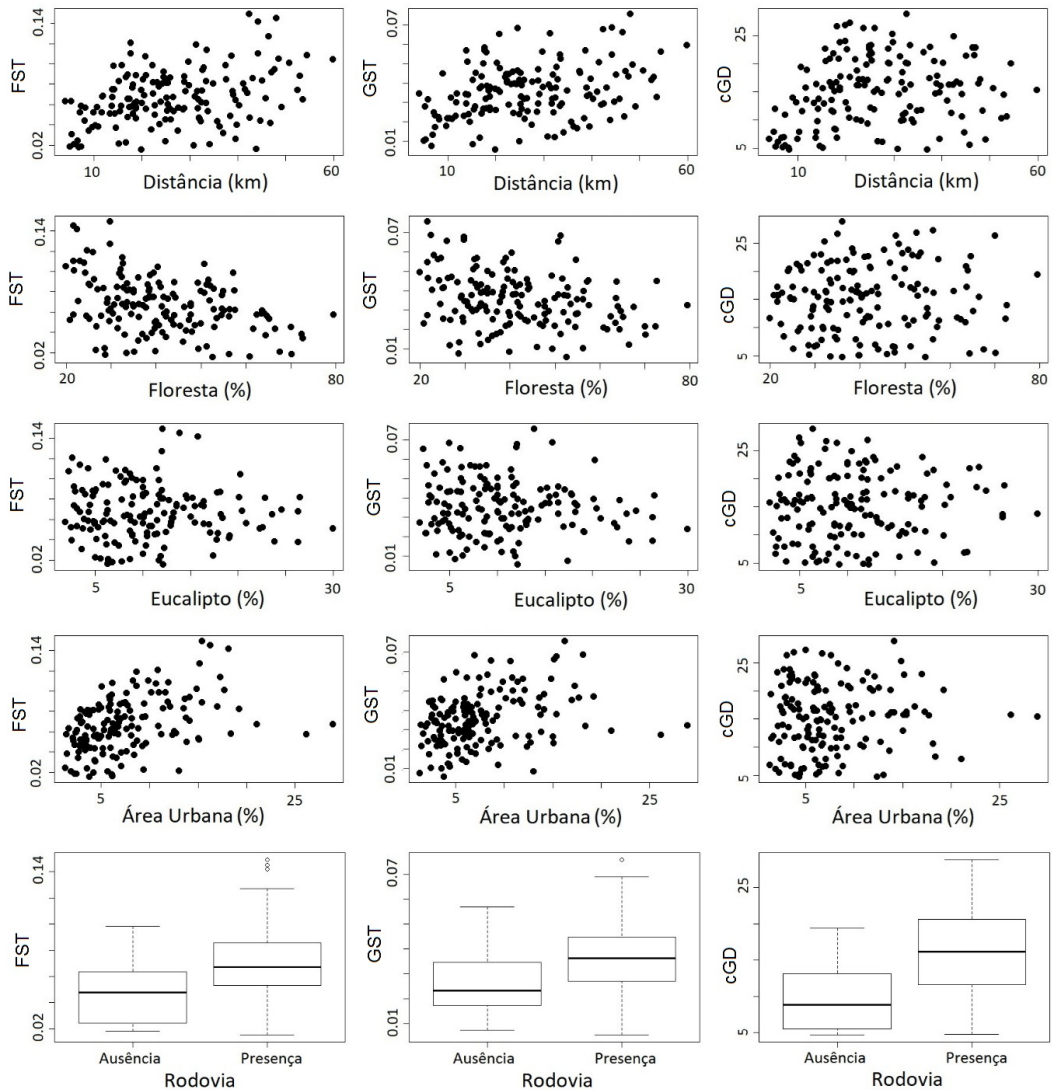


Figura 15: Gráficos de dispersão dos valores de distância genética em função das métricas de paisagens contidas nos *buffers*.

5 DISCUSSÃO

Nesse estudo visamos analisar a distribuição genética espacial e identificar os principais atributos ambientais que influenciam a conectividade funcional de uma espécie chave para a regeneração natural da Mata Atlântica. De modo geral, observamos que há uma baixa diferenciação genética de *C. hololeuca* ao longo da região do Corredor Cantareira-Mantiqueira, de maneira que os 18 grupos de indivíduos amostrados na realidade compõem cerca de três agrupamentos genéticos, indicando amplo fluxo gênico ao longo da paisagem. Além disso, contrariando a nossa hipótese inicial, demonstramos que a cobertura florestal não contribui fortemente para a diversidade genética e nem para a diferenciação genética entre populações. Os atributos de origem antrópica que agem como barreiras e aumentam a resistência da matriz parecem ser mais importantes para definir o padrão de distribuição genética de *C. hololeuca*.

Quando a espécie foi analisada geneticamente ao nível individual ao longo do espaço, foi apontada a existência de uma estruturação global, ou seja, que indivíduos próximos espacialmente tendem a ser mais geneticamente similares. Isso sugere que a polinização e dispersão podem ocorrer principalmente em escala local. Esta autocorrelação genética resultou em uma descontinuidade genética, formando dois grandes grupos na sPCA. Esse resultado corroborou parcialmente as análises populacionais (BAPS e SAMOVA) que indicaram aproximadamente três grandes agrupamentos de populações espaciais (configurando agrupamentos genéticos) e sugerindo assim a existência de conectividade funcional dentro delas.

Os mapas resultantes da análise Bayesiana de estrutura populacional (BAPS) e análise espacial de variância molecular (SAMOVA), apesar de diferentes, mostram uma tendência geral e condizente de que existe uma diferenciação genética das populações separadas por grandes centros urbanos que agem como barreiras para o fluxo gênico (como ocorre com as populações P01, P05 e P06; Figuras 12 e 13). Além disso, ao observar a evolução dos agrupamentos genéticos na SAMOVA, nota-se uma maior diferenciação genética entre aquelas populações presentes na área mais florestada. Isto pode ser explicado pelo fato de que tanto os polinizadores quanto os dispersores não precisam ir para áreas tão distantes quando possuem recursos suficientes em uma determinada área (Herrera *et al.*, 2011), o que justificaria maior estruturação na parte florestada; enquanto que em ambientes fragmentados, devido a menor densidade de recursos, os propágulos podem ser dispersos a maiores distâncias (Côrtes *et al.*, 2013). Importante pontuar que o comportamento de forrageio ao

longo da paisagem ocorre desde que não haja barreiras à movimentação específica, como os centros urbanos, visto que diferentes animais possuem diferentes capacidades de vôo e limitações quanto à mobilidade e ao uso da matriz antrópica (Uezu *et al.*, 2005; Fahrig, 2007), fazendo com que as diversas espécies associadas a *C. hololeuca* contribuam com o fluxo gênico de maneiras distintas.

Considerando a localização espacial dos agrupamentos genéticos de populações, os mapas gerados pela sPCA e BAPS estruturam as populações em um agrupamento composto por indivíduos que estão em uma área mais antropizada ou próximos à ela (representado pela cor azul na sPCA e azul e verde na BAPS), e um outro agrupamento onde as populações tem seus indivíduos em um ambiente mais florestado (representado em vermelho, para ambas análises). Esta estruturação pode ser explicada pelo fato da espécie possuir uma ampla variedade de dispersores e polinizadores, os quais possuem preferências a determinados habitats, podendo ser mais generalistas (como os que ocorrem em áreas mais degradadas) ou mais sensíveis (que se restringem às áreas mais conservadas). A utilização do espaço por estas espécies pode então não ser definida apenas pelo seu potencial de movimentação, mas sim pela preferência pelo habitat nativo (Davis e Stamps, 2004; Bolnick *et al.*, 2009). Desta forma, é possível que *C. hololeuca* tenha sua distribuição configurada por isolamento por ambiente (Wang e Bradburd, 2014), já que a distribuição espacial de sua variação genética parece estar relacionada com a resposta da sua rede de interações a determinadas características ambientais. A mudança gradual entre os dois grupos pode estar relacionada com o fato de que árvores de áreas florestadas contribuem com sementes para as áreas abertas, e esta contribuição diminui conforme a área se afasta da borda (González-Varo *et al.*, 2017), onde é comum a ocorrência das embaúbas.

Ao avaliar a relação da paisagem na estruturação genética de *C. hololeuca*, os atributos ambientais não parecem influenciar a diversidade genética dentro dos grupos de indivíduos pré-definidas, mas tiveram forte relação com a distância genética. O mesmo ocorreu para *Euterpe edulis*, importante palmeira da Mata Atlântica, que teve sua diversidade genética mais associada com o tamanho populacional efetivo histórico do que pelos processos contemporâneos relativos à paisagem, enquanto a diferenciação genética provavelmente está mais relacionada às mudanças recentes causadas pela perda de habitat e fragmentação (Carvalho *et al.*, 2015). A diversidade genética de *C. hololeuca* não variou com a cobertura florestal, de forma similar ao ocorrido com *Copaifera langsdorffii*, espécie longeva e também presente na Mata Atlântica, da qual não houve diferença significativa nos valores de diversidade genética entre populações presentes em fragmentos de diferentes tamanhos

(Martins *et al.*, 2016).

Após entender a estruturação e diversidade genética da *C. hololeuca*, a questão foi entender como a paisagem influencia a conectividade funcional entre as populações. Áreas urbanas, juntamente à presença de rodovias, apareceram como principais atributos que contribuem positivamente à diferenciação genética, aparecendo em todos os melhores modelos e sendo definidas então como potenciais barreiras (no caso das rodovias) e como matriz de maior resistência ao fluxo gênico (áreas urbanas). As plantações de eucalipto também contribuíram para a diferenciação genética, demonstrando que, mesmo por vezes ocorrendo em meio à vegetação natural, são perceptíveis e configuram matrizes de certa resistência à movimentação animal. Contrariando nossa hipótese de que a cobertura florestal contribuiria consideravelmente para a conectividade estrutural e funcional, esta variável teve a menor importância nos modelos. A heterogeneidade e a porcentagem de pasto não foram utilizadas no modelo, pois estavam negativamente correlacionadas à cobertura florestal, e também por não terem apresentado relação significativa às métricas de distância genética quando analisadas separadamente.

Outra variável ambiental de grande importância na diferenciação genética entre as populações e presente em todos os melhores modelos foi a distância geográfica (euclidiana), configurando assim a existência de isolamento por distância (*Isolation by Distance*, IBD - Wright, 1943). Este resultado foi condizente com o de *Miconia affinis*, espécie tropical pioneira com estratégias de dispersão semelhantes à de *C. hololeuca*, que apresentou amplo fluxo gênico mesmo em áreas antropizadas, sendo a distância geográfica combinada à elevação o modelo que melhor explicou o distanciamento genético (Castilla *et al.*, 2016). Entretanto, o mesmo não ocorreu com *Cecropia obtusifolia* em estudo realizado numa região tropical do México que, além de não apresentar um padrão claro de IBD, apresentou baixos valores de F_{ST} entre as populações (Alvarez-Buylla e Garay, 1994). A baixa estrutura espacial entre indivíduos adultos da espécie mexicana pode ser explicada então pelas análises genéticas baseadas em aloenzimas, já que este marcador molecular apresenta menores taxas de mutação e níveis de variação, dificultando a percepção dos efeitos da fragmentação. Sendo assim, marcadores microssatélites (utilizados nos casos de *C. hololeuca* e *M. affinis*) tem maior resolução para detectar mudanças na variação genética dentro e entre populações (Aguilar *et al.*, 2008). Desta forma, o presente estudo pode fornecer informações detalhadas e robustas a respeito da estruturação espacial e genética da espécie em questão.

É importante lembrar que, apesar de considerar a porcentagem de cobertura florestal no presente estudo, isto diz mais respeito ao sistema em que as populações estão envolvidas

do que à própria espécie, que foi usada como modelo. A ocorrência da embaúba está associada também a áreas degradadas e seus dispersores de pólen e sementes podem ser tanto generalistas quanto mais sensíveis ao ambiente. Porém, o intuito foi, a partir desta gama de possibilidades, inferir como é a conectividade funcional ao longo da paisagem, já que não se trata de apenas uma espécie ou gênero, e sim da comunidade como um todo. Assim, podemos ver que, dentre os atributos ambientais analisados, o desenvolvimento urbano (cidades e rodovias) está funcionando como barreira que dificulta a movimentação animal e, possivelmente, o fluxo gênico de plantas e animais. Apesar de espécies pioneiras terem ciclo de vida mais curto do que quando comparadas às espécies clímax, podendo demonstrar mais rapidamente o efeito dos distúrbios ocorridos (Young *et al.*, 1996), devido ao recente histórico da área e idade dos fragmentos (entre 40 e 70 anos), as populações de *C. hololeuca* possivelmente ainda não tiveram tempo suficiente para sofrer o efeito da deriva, levando as populações à diferenciação genética.

Desta forma, em termos de restauração ecológica e conservação, talvez seja mais importante manejar os atributos que dificultam o movimento dos polinizadores e dispersores, do que simplesmente investir na recomposição florestal da área. Esta abordagem é válida para a *Cecropia*, devido à sua associação com animais generalistas, que garantem o fluxo gênico mesmo em paisagens mais antropizadas, e pode ser aplicada visando à regeneração natural de áreas abandonadas. Entretanto, para admitir a existência da conectividade funcional, é necessário que a espécie estudada, bem como seus dispersores e a seleção de habitat sejam bem conhecidos (Baguette *et al.*, 2013). Além disso, no caso de programas de restauração, é importante considerar as funções ecológicas necessárias para a manutenção e permanência de uma floresta e, para isso, estudos com espécies de dispersão mais restrita (como exemplo, sementes grandes), bem como trabalhos envolvendo diretamente os possíveis dispersores, poderão trazer mais informações a respeito deste sistema.

A espécie aqui estudada serviu como ferramenta para avaliar a influência de diferentes configurações e composições da paisagem na movimentação dos dispersores de propágulos (pólen ou sementes), e assim foi possível indicar que áreas urbanas e rodovias, bem como plantações de eucalipto estão aumentando o distanciamento genético de populações, por mais que ainda não apresentem valores significativos de diferenciação. Além disso, dada a importância de espécies de estágio inicial no processo de regeneração natural e o atual estado de fragmentação da Mata Atlântica, a utilização de *C. hololeuca* em programas de restauração ecológica para esta região apresenta grande potencial de sucesso, desde o seu estabelecimento em áreas abandonadas, devido às sementes que podem ser dispersas a longas distâncias,

conectando os fragmentos às áreas regenerantes, e também contribuindo com condições favoráveis para o desenvolvimento da sucessão ecológica.

6 CONCLUSÃO

De forma geral, houve uma baixa diferenciação genética de *C. hololeuca* ao longo da região de estudo, e esta parece ser estruturada de acordo com o tipo de ambiente, sendo eles floresta (natural ou plantada) e áreas abertas/urbanas, como resposta à utilização e preferência da fauna por aquele tipo de habitat. Enquanto a diversidade genética não apresentou associação significativa com os atributos da paisagem, a distância genética foi influenciada pelas rodovias e urbanização, as quais aparecem como barreiras e maior resistência de matriz, respectivamente, já que contribuem para uma maior diferenciação genética entre as populações.

O fato da espécie utilizada como modelo ser generalista e relacionada a uma ampla gama de espécies animais possibilitou inferir que estes estão conseguindo se movimentar através da paisagem e que, desta forma, favorecem o fluxo gênico não apenas dos próprios dispersores e polinizadores, como também de todas as espécies vegetais associadas a eles. Esta capacidade de dispersão sugere uma conectividade funcional, por mais que existam matrizes de certa resistência, conferindo a esta importante região da Mata Atlântica um bom potencial de regeneração natural em toda sua extensão, bem como valoriza a utilização de *C. hololeuca* em programas de restauração e restabelecimento das funções ecológicas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGUIAR, L.M.S.; MARINHO-FILHO, J. (2007) Batfrugivory in a remnant of southeastern Brazilian Atlantic forest. **Acta Chiropterologica** 9, 251-260.
- AGUILAR, R.; QUESADA, N.; ASHWORTH, L. HERRERIAS-DIEGO, Y.; LOBO, J (2008) Genetic consequences of habitat fragmentation in plant populations: susceptible signals in plant traits and methodological approaches. **Molecular Ecology** 17, 5177-5188.
- ALVAREZ-BUYLLA, E.R.; GARAY, A.A. (1994) Population genetic structure of *Cecropia obtusifolia*, a tropical pioneer tree species. **Evolution** 48, 437-453.
- ANDRADE, T.Y.; THIES, W.; ROGERI, P.K.; KALKO, E.K.V.; MELLO, M.A.R. (2013) Hierarchical fruit selection by Neotropical leaf-nosed bats (Chiroptera: Phyllostomidae). **Journal of Mammalogy** 94, 1094-1101.
- BAGUETTE, M.; BLANCHET, S.; LEGRAND, D.; STEVENS, V.M.; TURLURE, C. (2013) Individual dispersal, landscape connectivity, and ecological networks. **Biological Reviews** 88, 310-326.
- BARLOW, J.; GARDNER, T.A.; ARAUJO, I.S.; ÁVILA-PIRES, T.C.; BONALDO, A.B.; COSTA, J.E.; ESPOSITO, M.C.; FERREIRA, L.V.; HAWES, J.; HERNANDEZ, M.I.M.; HOOGMOED, M.S.; LEITE, R.N.; LO-MAN-HING, N.F.; MALCOM, J.R.; MARTINS, M.B.; MESTRE, L.A.M.; MIRANDA-SANTOS, R.; MOTTA, C.S.; NUNES-GUTJAHR, A.L.; OVERAL, W.L.; PARRY, L.; PETERS, S.L.; RIBEIRO-JUNIOR, M.A.; DA SILVA, M.N.F.; PERES C.A. (2007) Quantifying the biodiversity value of tropical primary, secondary, and plantation forests. **Proceedings of the National Academy of Sciences** 104, 18555-18560.
- BARTÓN, K. Package 'MuMIn'. 2017. Disponível em: <https://cran.r-project.org/web/packages/MuMIn/index.html>
- BAWA, K.S.; BULLOCK, S.H.; PERRY, D.R.; COLVILLE, R.E.; GRAYUM, M.H. (1985) Reproductive biology of tropical lowland rainforest trees. Pollination mechanisms. **American Journal of Botany** 72, 346-356.
- BOLNICK, D.I.; SNOWBERG, L.K.; PATENIA, C.; STUTZ, W.E.; INGRAM, T.; LAU, O.L. (2009) Phenotype-dependent native habitat preference facilitates divergence between parapatric lake and stream stickleback. **Evolution** 63, 2004-2016.
- BORGES, S.H.; STOUFFER, P.C. (1999) Bird communities in two types of anthropogenic successional vegetation in central Amazonia. **The Condor** 101, 529-536.
- BROOKFIELD, J.F.Y. (1996). A simple new method for estimating null allele frequency from heterozygote deficiency. **Molecular Ecology** 5, 453-455.
- BROWN, S.; LUGO A.E. (1990). Tropical secondary forests. **Journal of Tropical Ecology** 6, 1-32.
- CANTOR, M.; FERREIRA, L.A.; SILVA, W.R.; SETZ, E.Z.F. (2010) Potential seed dispersal by *Didelphis albiventris* (Marsupialia, Didelphidae) in highly disturbed environment. **Biota Neotropica** 10, 45-51.
- CARVALHO, C.S; RIBEIRO, M.C.; CÔRTEZ, M.C.; GALETTI, M.; COLLEVATTI, R.G. (2015) Contemporary and historic factors influence differently genetic differentiation and diversity in a tropical palm. **Heredity** 115, 216-224.
- CARVALHO, P.E.R. (2003) **Espécies Arbóreas Brasileiras**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2003. v.1.
- CASTILLA, A.R.; POPE, N.; JAFFÉ, R.; JHA, S. (2016) Elevation, not deforestation, promotes genetic differentiation in a pioneer tropical tree. **PLoS ONE** 11, 1-22.

- CHAZDON, R.L. Chance and determinism in tropical forest succession. In: CARSON, W.; SCHNITZER, S.A. (Ed.) **Tropical forest community ecology**. Oxford: Wiley-Blackwell Publishing, 2008. p. 384-408.
- CHAZDON, R.L.; LETCHER, S.G.; BREUGEL, M.; MARTÍNEZ-RAMOS, M.; BONGERS, F.; FINEGAN, B. (2007) Rates of change in tree communities of secondary neotropical forests following major disturbances. **Biological Sciences** 362, 273-289.
- CHENG, L.; CONNOR, T.R.; SIRÉN, J.; AANENSEN, D.M.; CORANDER, J. (2013) Hierarchical and spatially explicit clustering of DNA sequences with BAPS software. **Molecular Biology and Evolution** 30, 1224-1228.
- CLARKE, R.T.; ROTHERY, P.; RAYBOULD, A.F. (2002) Confidence limits for regression relationships between distance matrices: estimating gene flow with distance, **Journal of agricultural, biological, and environmental statistics** 7, 361-372.
- CORANDER, J.; WALDMANN, P.; SILLANPÄÄ, M.J. (2003) Bayesian analysis of genetic differentiation between populations. **Genetics** 163, 367-374.
- CORANDER, J.; MARTINEN, P.; MÄNTYNIEMI, S. (2006) Bayesian identification of stock mixtures from molecular marker data. **Fishery Bulletin** 104, 550-558.
- CORANDER, J.; SIRÉN, J.; ARJAS, E. (2008) Bayesian spatial modeling of genetic population structure. **Computational Statistics** 23, 111-129.
- CÔRTEZ M.C.; URIARTE, M.; LEME, M.R.; GRIBEL, R.; KRESS, W.J.; SMOUSE, P.E.; BRUNA, E.M. (2013) Low plant diversity enhance gene dispersal in the Amazonian understory herb *Heliconia acuminata*. **Molecular Ecology** 22, 5716-5729.
- D'ALBERTAS, F.; COSTA, C.; ROMITELLI, I.; BARBOSA, J.M.; VIEIRA, S.A.; METZGER, J.P. (2018) Lack of evidence of edge age and additive edge effects on carbon stocks in a tropical forest. **Forest Ecology and Management** 407, 57-65.
- DAVIS, J.M.; STAMPS, J.A. (2004) The effect of natal experience on habitat preferences. **Trends in Ecology & Evolution** 19, 411-416.
- DOYLE, J.J.; DOYLE, J.L. (1990) Isolation of plant DNA from fresh tissue. **Plant Molecular Biology Reporter** 8, 8-12.
- DUPANLOUP, I.; SCHNEIDER, S.; EXCOFFIER, L. (2002) A simulated annealing approach to define the genetic structure of populations. **Molecular Ecology** 11, 2571-2581.
- DYER, R.J.; NASON, J.D. (2004) Population Graphs: the graph theoretic shape of genetic structure. **Molecular Ecology** 13, 1713-1727.
- DYER, R.J. (2012) **The gstudio package**. Richmond: Virginia Commonwealth University; 2012. Disponível em http://www2.uaem.mx/r-mirror/web/packages/gstudio/vignettes/Using_GStudio.pdf. Acesso em 17 agosto 2017.
- EPPERSON, B.K.; ALVAREZ-BUYLLA, E.R. (1997) Limited Seed Dispersal and Genetic Structure in Life Stages of *Cecropia obtusifolia*. **Evolution** 51, 275-282.
- FAHRIG, L. (2003) Effects of habitat fragmentation on biodiversity. **Annual Review of Ecology, Evolution and Systematics** 34, 487-515.
- FAHRIG, L. (2007) Non-optimal animal movement in human-altered landscapes. **Functional Ecology** 21, 1003-1015.
- FAO (Food and Agriculture Organization) (2007) **State of the world's forests**. FAO, Roma.
- FIGUEIREDO, P.H.A.; MIRANDO, C.C.; MATEUS, F.A.; VALCACEL, R. (2011) Avaliação do potencial seminal de *Cecropia pachystachya* Trécul no banco de sementes do solo de um fragmento florestal em restauração espontânea na Mata Atlântica, Pinheiral- RJ. **Revista de Biociências da Universidade de Taubaté** 17, 43-51.

- GALETTI, M.; LAPS, R.; PIZO, M.A. (2000) Frugivory by toucans (Ramphastidae) at two altitudes in the Atlantic Forest of Brazil. **Biotropica** 32, 842-850.
- GANDOLFI, S. **História natural de uma floresta estacional semidecidual no município de Campinas (São Paulo, Brasil)**. 2000. 520 f. Tese (Doutorado em Biologia Vegetal) - Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2000.
- GIRALDO, P.; GÓMEZ-POSADA, C.; MARTÍN, J.; KATTAN, G.H. (2007) Resource use and seed dispersal by red howler monkeys (*Alouatta seniculus*) in a Colombian Andean forest. **Neotropical Primates** 14, 55-64.
- GONZÁLEZ-VARO, J.P.; CARVALHO, C.S.; ARROYO, J.M.; JORDANO, P (2017) Unravelling seed dispersal through fragmented landscapes: Frugivore species operate unevenly as mobile links. **Molecular Ecology** 26, 4309-4321.
- GOUDET, J. (2005) HIERFSTAT, a package for R to compute and test hierarchical *F*-statistics. **Molecular Ecology Notes** 5, 184-186.
- GOUDET, J. **FSTAT, A program to estimate and test gene diversities and fixation indices version 2.9.3. 2001**. Disponível em <https://www2.unil.ch/popgen/software/fstat.htm>. Acesso em 13 agosto 2017.
- GRASS Development Team (2014) **Geographic Resources Analysis Support System (GRASS) Software, Version 6.4.4**. Open Source Geospatial Foundation. <http://grass.osgeo.org>
- GRELLE, C.E.V.; GARCIA, Q.S. (1999) Potential dispersal of *Cecropia hololeuca* by the commom opossum (*Didelphis aurita*) in Atlantic Forest, Southeastern Brazil. **Revue d'Ecologie Terre et Vie** 54, 327-332.
- GUARIGUATA, M.R.; OSTERTAG, R. (2001) Neotropical secondary forest succession: changes in structural and functional characteristics. **Forest Ecology Management** 148, 185-206.
- HADFIELD, J.D. (2010) MCMC methods for Multi-response Generalised Linear Mixed Models: The MCMCglmm R Package. **Journal of Statistical Software** 33, 1–22.
- HALL, L.; BEISSINGER, S. (2014) A practical toolbox for design and analysis of landscape genetics studies. **Landscape Ecology** 29, 1487-1504.
- HAMRICK, J.L.; TRAPNELL, D.W. (2011) Using population genetic analysis to understand seed dispersal patterns. **ActaOecologica** 37, 641-649.
- HEDRICK, P.W. (2005) A standardized genetic differentiation measure. **Evolution** 59, 1633-1638.
- HERRERA, J.M.; MORALES, J.M.; GARCIA, D. (2011) Differential effects of fruit availability and habitat cover for frugivore-mediated seed dispersal in a heterogeneous landscape. **Journal of Ecology** 99, 1100 - 1107.
- HOEFFEL, J.L.; FADINI, A.A.B.; MACHADO, M.K.; REIS, J.C. (2008) Trajetórias do Jaguar - unidades de conservação, percepção ambiental e turismo: um estudo na APA do Sistema Cantareira, São Paulo. **Ambiente & Sociedade** 11, 131-148.
- HOETING, J.A.; MADIGAN, D.; RAFTERY, A.E.; VOLINSKY, C.T. (1999) Bayesian model averaging: a tutorial (with discussion). **Statistical Science** 14, 382–417.
- HOLSINGER, K.E.; WEIR, B.S. (2009) Genetics in geographically structured populations: defining, estimating and interpreting *F*_{st}. **Nature Reviews Genetics** 10, 639-650.
- JEROZOLISMKI, A.; RIBEIRO, M.B.N.; MARTINS, M. (2009) Are tortoises important seed dispersers in Amazonian forests? **Oecologia** 161, 517-528.
- JOMBART, T. (2008) Adegnet: a R package for the multivariate analysis of genetic markers. **Bioinformatics** 24, 1403-1405.
- JOMBART J.; DEVILLARD S.; DUFOUR A.B.; PONTIER D. (2008) Revealing cryptic spatial patterns in genetic variability by a new multivariate method. **Heredity** 101, 92–103.

- JOMBART, T. **A tutorial for the spatial Analysis of Principal Components (sPCA) using adegenet 2.0.0.** (2015) Disponível em <http://adegenet.r-forge.r-project.org/files/tutorial-spca.pdf>. Acesso em 06 setembro 2017.
- JORDANO, P. Fruits and frugivory. In: FENNER, M. (ed.) **Seeds: the ecology of regeneration in plant communities**. 2ª edição. CABI Publ., Wallingford, UK, 2000. p. 125-166.
- JOST, L. (2009) D vs. GST': Response to Heller and Siegismund (2009) and Ryman and Leimar (2009). **Molecular Ecology** 18, 2088-2091.
- KAUFMAN, S.R.; SMOUSE, P.E.; ALVAREZ-BUYLLA, E.R. (1998) Pollen-mediated gene flow and differential male reproductive success in a tropical pioneer tree, *Cecropia obtusifolia* Bertol. (Moraceae): a paternity analysis. **Heredity** 81, 164-173.
- LAMB, D.; ERSKINE, P.D.; PARROTTA, J.A. (2005) Restoration of degraded tropical forests landscapes. **Science** 310, 1628-1632.
- LOBOVA, T.A.; MORI, S.A.; CLANCHARD, F.; PECKHAM, H.; CHARLES-DOMINIQUE, P. (2003) *Cecropia* as a food resource for bats in French Guiana and the significance of fruit structure in seed dispersal and longevity. **American Journal of Botany** 90, 388-403.
- LORENZI, H. **Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas do Brasil**. 2. ed. Nova Odessa: Instituto Plantarum (2000). 339 p.
- MANEL, S.; SCHWARTZ, M.K.; LUIKART, G.; TABERLET, P. (2003) Landscape genetics: combining landscape ecology and population genetics. **Trends in Ecology and Evolution** 18, 189-197.
- MANEL, S.; SEGELBACHER, G. (2009) Perspectives and challenges in landscape genetics. **Molecular Ecology** 18, 1821-1822.
- MANHAES, M.A. (2003) Dieta de Traupíneos (Passeriformes, Emberizidae) no Parque Estadual do Ibitipoca, Minas Gerais, Brasil. **Iheringia, Série Zoologia** 93, 59-73.
- MARCONDES-MACHADO, L.O.; OLIVEIRA, M.M.A. (1988) Comportamento alimentar de aves em *Cecropia* (Moraceae), em Mata Atlântica, no Estado de São Paulo. **Revista Brasileira de Zoologia** 4, 331-339.
- MARTINS, K.; KIMURA, R.K.; FRANCISCONI, A.F.; GEZAN, S.; KAINER, K.; CHRISTIANINI, A.V. (2016) The role of very small fragments in conserving genetic diversity of a common tree in a hyper fragmented Brazilian Atlantic forest landscape. **Conservation Genetics** 17, 509-520.
- MCGARIGAL, K.; CUSHMAN, S.A.; ENE, E.. **FRAGSTATS v4: Spatial pattern analysis program for categorical and continuous maps**. University of Massachusetts, Amherst. (2012) Disponível em <http://www.umass.edu/landeco/research/fragstats/fragstats.html>
- MEDELLÍN, R.A. (1994) Seed dispersal of *Cecropia obtusifolia* by two species of opossums in the Selva Lacandona, Chiapas, Mexico. **Biotropica** 26, 400-407.
- MELLO, M.A.R.; KALKO, E.K.V.; SILVA, W.R. (2008a) Diet and abundance of the bat *Sturnira lilium* (Chiroptera) in a Brazilian montane Atlantic Forest. **Journal of Mammalogy** 89, 485-492.
- MELLO, M.A.R.; KALKO, E.K.V.; SILVA, W.R. (2008b). Movements of the bat *Sturnira lilium* and its role as a seed disperser of Solanaceae in the Brazilian Atlantic forest. **Journal of Tropical Ecology** 24, 225-228.
- MIJANGOS, J.L.; PACIONI, C.; SPENCER, P.B.S.; CRAIG, M.D. (2015) Contribution of genetics to ecological restoration. **Molecular Ecology** 24, 22-37.
- MOUSADIK, A.; PETIT, R.J. (1996) High level of genetic differentiation for allelic richness among populations of the argan tree *Argania spinosa* (L.) skeels endemic to Morocco. **Theoretical Applied Genetics** 92, 832-839.
- MUSCARELLA, R.; FLEMING, T.H. (2007) The role of frugivorous bats in tropical forest

succession. *Biological Reviews* 82, 573-590.

NATHAN, R.; MULLER-LANDAU, H.C. (2000) Spatial patterns of seed dispersal, their determinants and consequences for recruitment. **Trends in Ecology & Evolution** 15, 278-285.

NEI, M. (1978) Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. **Genetics** 89, 583-590.

OUBORG, N.J.; PIQUOT, Y.; VAN GROENENDAEL, J.M. (1999) Population genetics, molecular markers and the study of dispersal in plants. **Journal of Ecology** 87, 551-568.

PALACIOS, E.; RODRÍGUEZ, A.; DEFLER, T.R. (1997) Diet of a group of *Callicebus torquatus lugens* (Humboldt, 1812) during the annual resource bottleneck in Amazonian Colombia. **International Journal of Primatology** 18, 503-522.

PEÑA-DOMENE, M.; MARTÍNEZ-GARZA, C.; HOWE, H.F. (2013) Early recruitment dynamics in tropical restoration. **Ecological Applications** 23, 1124-1134.

PILATI, R.; ANDRIAN, I.F.; CARNEIRO, J.W.P. (1999) Desempenho germinativo de sementes de *Cecropia pachystachya* Trec. (Cecropiaceae), recuperados do trato digestório de Doradidae, *Pterodoras granulatus* (Valenciennes, 1833), da planície de inundação do Alto do Rio Paraná. **Interciência** 24, 381-388.

PRONE, B.; ZANON, C.M.V.; BENEDITO, E. (2012) Bats (Chiroptera, Phyllostomidae) in urbanized area in South of Brazil. **Acta Scientiarum, Biological Sciences** 34, 155-162.

R DEVELOPMENT CORE TEAM (2011) **R: A Language and Environment for Statistical Computing**. Vienna, Austria: the R Foundation for Statistical Computing. ISBN: 3-900051-07-0. Disponível online em <http://www.R-project.org/>.

RAEYMAEKERS, J.A.M.; LENS, L.; VAN DEN BROECK, F.; VAN DONGEN, S.; VOLCKAERT, F.A.M. (2012) Quantifying populations structure on short timescales. **Molecular Ecology** 21, 3458-3473.

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

RIBEIRO, M.C.; MARTENSEN, A.C.; METZGER, J.P.; TABARELLI, M.; SCARANO, F.; FORTIN, M.J. The Brazilian Atlantic Forest: a shrinking biodiversity hotspot. In: ZACHOS, F.E.; HABEL, J.C. (Org.). **Biodiversity hotspots: Distribution and protection of conservation priority areas**. London New York: Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 2011. Vol. 1. p. 405-434.

RIGINOS, C.; GRACE, J.B.; AUGUSTINE, D.J.; YOUNG, T.P. (2009) Local versus landscape-scale effects of savanna trees on grasses. **Journal of Ecology** 97, 1337-1345.

ROCHA, G. **Regeneração natural inicial rápida em pastagens abandonadas após uso prolongado no sudoeste da Amazônia brasileira**. 2014. 51f. Dissertação (Mestrado em Botânica) – Universidade de Brasília, Brasília, 2014.

ROUSSET, F. (2008) Genepop'007: a complete re-implementation of the genepop software for Windows and Linux. **Molecular Ecology Resources** 8, 103-106.

RUDEL, T.K.; COOMES, O.T.; MORAN, E.; ACHARD, F.; ANGELSEN, A.; XU, J.; LAMBIN, E. (2005) Forest transitions: towards a global understanding of land use change. **Global Environmental Change** 15, 23-31.

RUSSO, S.E.; CAMPBELL, C.J.; DEW, J.L.; STEVENSON, P.R.; SUAREZ, S.A. (2005) A multi-forest comparison of dietary preferences and seed dispersal by *Ateles* spp.. **International Journal of Primatology** 26, 1017-1037.

SATO, T.M.; PASSOS, F.C.; NOGUEIRA, A.C. (2008) Frugivoria de morcegos (Mammalia, Chiroptera) em *Cecropia pachystachya* (Urticaceae) e seus efeitos na germinação de sementes. **Papéis Avulsos de Zoologia** 48, 19-26.

- SEGELBACHER, G.; CUSHMAN, S.A.; EPPERSON, B.K.; FORTIN, M.J.; FRANCOIS, O.; HARDY, O.J.; HOLDEREGGER, R.; TABERLET, P.; WAITS, L.P.; MANEL, S. (2010) Applications of landscape genetics in conservation biology: concepts and challenges. **Conservation Genetics** 11, 375-385.
- SELKOE, K.A.; TOONEN, R.J. (2006) Microsatellites for ecologists: a practical guide to using and evaluating microsatellite markers. **Ecology Letters** 9, 615-629.
- SEZEN, U.U.; CHAZDON, R.L.; HOLSINGER, K.E. (2005) Genetic consequences of tropical second-growth forest regeneration. **Science** 307, 891-901.
- SHANNON, C.E.; WEAVER, W. **The mathematical theory of communication**. University of Illinois Press: Urbana. 1949. pp 117.
- SILVEIRA, M.; TREVELIN, L.; PORT-CARVALHO, M.; GODOI, S.; MANDETTA, E.N.; CRUZ-NETO, A.P. (2011) Frugivory by phyllostomid bats (Mammalia: Chiroptera) in a restored area in Southeast Brazil. **Acta Oecologica** 37, 31-36.
- SORK, V.L.; SMOUSE, P.E. (2006) Genetic analysis of landscape connectivity in tree populations. **Landscape Ecology** 21, 821-836.
- SORK, V.L.; NASON, J.; CAMPBELL, D.R.; FERNANDEZ, J.F. (1999) Landscape approaches to historical and contemporary gene flow in plants. **Trends in Ecology and Evolution** 14, 219-224.
- TABARELLI, M.; AGUIAR, A.V.; RIBEIRO, M.C.; METZGER, J.P.; PERES, C.A. (2010) Prospects for biodiversity conservation in the Atlantic Forest: Lessons from aging human-modified landscapes. **Biological Conservation** 143, 2328-2340.
- TABARELLI, M.; PERES, C.A. (2002) Abiotic and vertebrate seed dispersal in the Brazilian Atlantic Forest: implications for forest regeneration. **Biological Conservation** 106, 165-176.
- TABARELLI, M.; VILLANI, J.P.; MANTOVANI, W. (1993) Aspectos de sucessão secundária em trecho da Floresta Atlântica no Parque Estadual da Serra do Mar, SP. **Revista do Instituto Florestal** 5, 99-112.
- UEZU, A.; METZGER, J.P.; VIELLIARD, J.M.E. (2005) Effects of structural and functional connectivity and patch size on the abundance of seven Atlantic Forest bird species. **Biological Conservation** 123, 507-519.
- VAN DYCK, H.; BAGUETTE, M. (2005) Dispersal behaviour in fragmented landscapes: routine or special movements? **Basic and Applied Ecology** 6, 535-54.
- VAN OOSTERHOUT, C.; HUTCHINSON, W.F.; WILLS, D.P.; SHIPLEY, P. (2004) MICRO-CHECKER: software for identifying and correcting genotyping errors in microsatellite data. **Molecular Ecology Notes** 4, 535-538.
- VAN STRIEN, M.J.; KELLER, D.; HOLDEREGGER, R. (2012) A new analytical approach to landscape genetic modelling: least-cost transect analysis and linear mixed models. **Molecular Ecology** 21, 4010-4023.
- WAGNER, H.H.; FORTIN, M. (2013) A conceptual framework for the spatial analysis of landscape genetic data. **Conservation Genetics** 14, 253-261.
- WANG, B.C.; SMITH, T.B. (2002) Closing the seed dispersal loop. **Trends in Ecology & Evolution** 17, 379-386.
- WANG, I.J.; BRADBURD, G.S. (2014) Isolation by environment. **Molecular Ecology** 23, 5649-5662.
- WAPLES, R.S.; GAGGIOTTI, O. (2006) What is a population? An empirical evaluation of some genetic methods for identifying the number of gene pools and their degree of connectivity. **Molecular Ecology** 15, 1419-1439.
- WEI, N.; DICK, C.W. (2014) Characterization of twenty-six microsatellite markers for the tropical pioneer tree species *Cecropia insignis* Liebm (Urticaceae). **Conservation Genetics Resources** 6, 987-

989.

WIDMER, I.; DAL GRANDE, F.; EXCOFFIER, L.; HOLDEREGGER, R.; KELLER, C.; MIKRYUKOV, V.S.; SCHEIDEGGER, C. (2012) European phylogeography of the epiphytic lichen fungus *Lobaria pulmonaria* and its green algal symbiont. **Molecular Ecology** 21, 5827-5844.









WHITMORE, T.C. (1989) Canopy gaps and the two major groups of forest trees. **Ecology** 70, 536-538.

WRIGHT, S. (1943) Isolation by distance. **Genetics** 28, 114-138.

WUNDERLE-JR., J. M. (1997) The role of animal seed dispersal in accelerating native forest regeneration on degraded tropical lands. **Forest Ecology and Management** 99, 223-235.

YOUNG, A.G.; BOYLE, T.; BROWN, T. (1996) The population genetic consequences of habitat fragmentation for plants. **Trends in Ecology & Evolution** 11, 413-418.

Apêndice 1 – Tabela de agrupamento das classes de uso e cobertura do solo

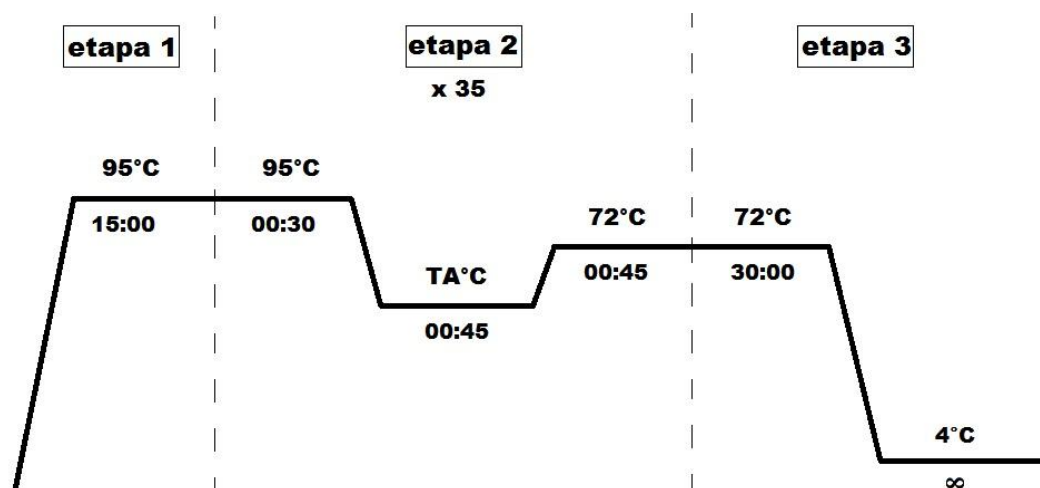
Cor	Grupo	Classes
	A	Água
	B	Floresta inicial Floresta avançada
	C	Floresta pioneira inicial Pasto sujo
	D	Agricultura anual Agricultura perene
	E	Silvicultura
	F	Solo exposto Pasto não manejado Área degradada
	G	Várzea Várzea com vegetação florestal em estágio inicial Várzea com vegetação herbáceo-arbustiva
	H	Vila rural/condomínios com baixo adensamento de construções Áreas urbanizadas

Apêndice 2 – Protocolo otimizado para cada par de primers

Tabela A2.1: Valores de volume dos reagentes (expressos em μL).

Reagente (concentração)	Primer							
	L162	L195	L206	L354	L369	L449	L506	L735
<i>Taq</i> (2 u/ μL)	0,2	0,2	0,25	0,2	0,25	0,2	0,25	0,2
<i>F primer</i> (2 μM)	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
<i>R primer</i> (2 μM)	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
Tampão (10 x)	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
MgCl_2 (5 μM)	-	-	-	-	-	0,1	0,1	-
BSA (0,25 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$)	1,0	1,0	1,2	1,0	1,2	1,0	1,2	1,0
DNTP (2 mM)	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
H_2O	1,8	1,8	1,55	1,8	1,55	1,7	1,45	1,8
Temperatura de anelamento	56°C	56°C	52°C	56°C	58°C	58°C	52°C	54°C
DNA (2,5 ng/ μL)	3,0	3,0	3,0	3,0	3,0	3,0	3,0	3,0

Figura A2.2: Esquema da programação do termociclador.



Apêndice 3 – Valores dos testes para análise dos *loci*

Tabela A3.1: Valores de p no teste de desequilíbrio de ligação entre pares de *loci* para todas populações segundo método de Fisher.

<i>Locus</i>	L162	L195	L206	L354	L369	L449	L506	L735
L162								
L195	0,98							
L206	0,83	1						
L354	0,98	0,9	0,75					
L369	0,99	1	1	0,52				
L449	0,41	0,88	0,98	1	0,98			
L506	0,97	1	1	0,98	0,99	0,68		
L735	0,39	0,98	0,99	0,88	1	0,77	0,55	

Tabela A3.2: Valores de p no teste estatísticos de Equilíbrio de Hardy-Weinberg (EHW) e teste de alelos nulos (AN) segundo a equação 1 de Brookfield (Brookfield, 1996) de cada *locus* para cada população espacial. Valores significativos de p e valores que indicam a presença de alelos nulos encontram-se em negrito.

<i>Locus</i>	L162		L195		L206		L354		L369		L449		L506		L735	
	EHW	AN	EHW	AN	EHW	AN	EHW	AN	EHW	AN	EHW	AN	EHW	AN	EHW	AN
P01	1	-0,08	0,62	0	0,01	0,15	1	-0,01	0,42	0,06	0,19	0	0,54	0,02	0	0,16
P03	1	-0,04	0,02	0,1	0	0,27	1	-0,01	0,11	0,05	0,03	-0,08	0,04	-0,07	0,01	0,13
P04	0	0,09	0,34	-0,02	0,08	0,06	0,02	0,15	0,03	0,13	0,39	0,01	0,14	0,07	0,24	0,05
P05	0,03	0,1	1	-0,09	0	0,23	0,12	0,04	0,36	0,08	0,72	0,05	0,89	-0,05	0,04	0,07
P06	NA	0	0,98	-0,09	0,11	0,11	0,46	0,05	0,44	0,04	0,43	0,07	0,54	0	0,32	0,07
P07	0,04	0,06	0,12	-0,18	0,29	0,06	NA	0	0,14	0,01	0,32	0,02	0,8	0,01	0,94	-0,01
P08	0,26	0,05	0,7	-0,13	0,08	0,09	0,11	0,05	0,23	0,05	0,74	0,02	0,04	0,09	0	0,12
P09	0,02	0,12	0,3	-0,06	0,75	-0,06	1	-0,03	1	-0,09	1	-0,07	0,1	0,09	0	0,25
P10	1	-0,01	1	0	0,15	0,09	1	0	0,35	-0,03	0,54	-0,04	0,22	-0,06	0,22	0,09
P11	0	0,21	0,03	0,21	0,94	0,04	1	-0,01	0,09	0,05	1	-0,06	0,73	-0,01	0,06	0,04
P12	0,23	-0,01	0,65	-0,23	0,09	0,08	1	-0,02	0	0,19	0,11	-0,03	0,31	0,03	0,01	0,12
P14	0,14	0,07	0,8	0,04	0,57	-0,04	NA	0	0,91	-0,04	0,12	0,12	0,98	-0,08	0,65	-0,01
P15	0,42	-0,11	0,89	-0,01	0,36	0,16	1	-0,02	0,48	-0,05	0,29	-0,06	0,6	-0,06	0,16	0,09
P16	0,26	0,06	0,32	-0,03	0,58	0,05	1	-0,02	0,51	0	0,62	-0,06	0	0,19	0,32	-0,1
P17	0,01	0,04	0,43	0,04	0,47	-0,07	0,04	0,1	0,41	-0,01	0,3	0,01	0	0,09	0,01	0,13
P18	0	-0,03	0,08	0,09	0,01	0,04	0,04	0,12	0,16	-0,05	0,69	-0,04	1	-0,09	0,66	-0,1
P19	1	-0,03	0,35	0,01	0,45	0,06	0,11	0,1	0,91	-0,01	0,78	-0,01	0,2	0,08	0,06	0,05
P20	0,15	0,06	0,09	0,09	0,69	0,05	0,46	0	0,75	-0,04	0,44	0,02	0,57	0	0,07	0

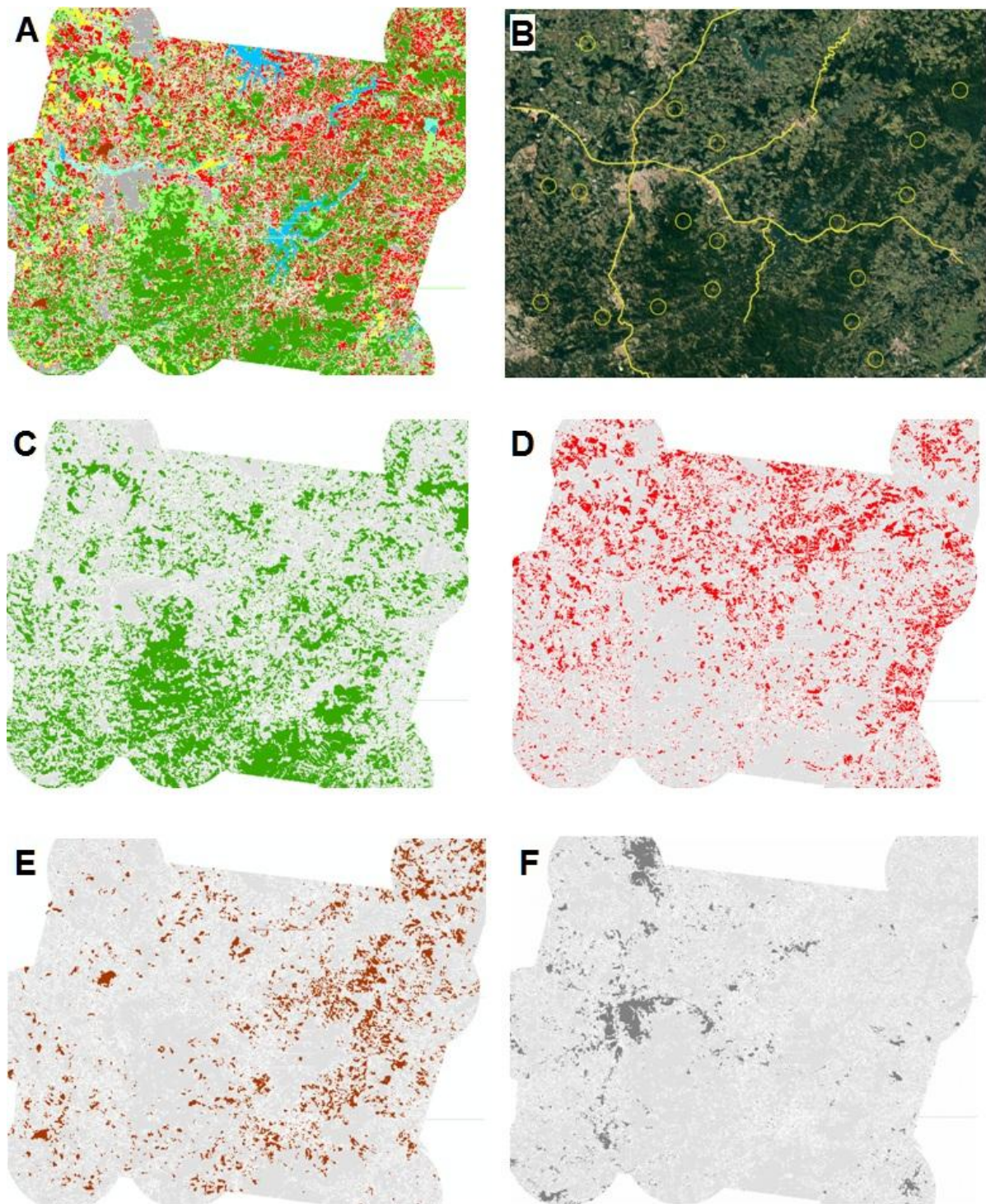
Apêndice 4 – Mapas de uso e ocupação do solo na área de estudo

Figura A4.1: A) Mapa de uso e ocupação da área; B) Rodovias presentes entre as paisagens (círculos amarelos); C) Cobertura florestal; D) Pasto; E) Eucalipto; F) Áreas urbanas.

Apêndice 5 – Teste de correlação entre as variáveis

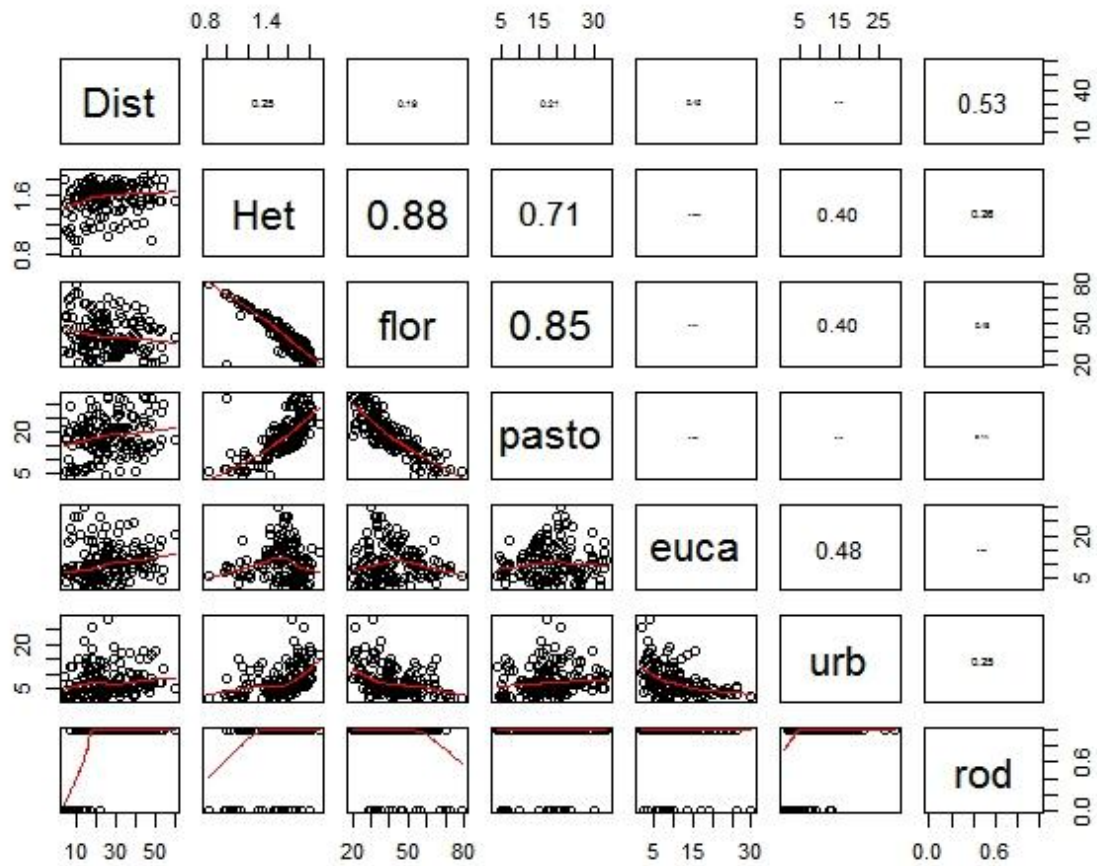


Figura A5.1: Teste de correlação entre pares de variáveis. **Dist:** distância euclidiana, **Het:** heterogeneidade, **flor:** porcentagem de cobertura florestal, **pasto:** porcentagem de pasto, **euca:** porcentagem de eucalipto, **urb:** porcentagem de áreas urbanas, **rod:** presença/ausência de rodovias pavimentadas

