



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE SANTA CRUZ

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ECOLOGIA E CONSERVAÇÃO DA
BIODIVERSIDADE**



ALESANDRO SOUZA SANTOS

**GENÉTICA DE *EUTERPE EDULIS* MART EM PAISAGENS ANTROPIZADAS NO
SUL DA BAHIA**

**ILHÉUS, BAHIA
2015**

ALESANDRO SOUZA SANTOS

**GENÉTICA DE *EUTERPE EDULIS* MART EM PAISAGENS ANTROPIZADAS
NO SUL DA BAHIA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Conservação da Biodiversidade da Universidade Estadual de Santa Cruz, para a obtenção do Título de Mestre em Ecologia e Conservação da Biodiversidade.

Orientadora: Dra. Fernanda Amato Gaiotto

Co-Orientadora: Dra. Eliana Cazetta

Ilhéus, Bahia,

2015

- S231 Santos, Alesandro Souza.
Genética de *Euterpe edulis* Mart em paisagens antropizadas no Sul da Bahia / Alesandro Souza Santos. – Ilhéus, BA: UESC, 2015.
xi, 49 f. : il.
- Orientadora: Fernanda Amato Gaiotto.
Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual de Santa Cruz. Programa de Pós-graduação em Ecologia e Conservação da Biodiversidade.
Inclui referências.
1. Genética vegetal. 2. Ecologia das florestas tropicais – Bahia. 3. Paisagens florestais. 4. Plantas tropicais. 5. Palmeira. I. Título.
- CDD 581.35

ALESANDRO SOUZA SANTOS
Bacharel em ciências biológicas

**GENÉTICA DE *EUTERPE EDULIS* MART EM PAISAGENS ANTROPIZADAS
NO SUL DA BAHIA**

Ilhéus, 27/02/2015

Banca avaliadora:

Dra. Fernanda Amato Gaiotto
Universidade Estadual de Santa Cruz
(Orientadora)

Dra. Eliana Cazetta
Universidade Estadual de Santa Cruz
(Co-orientadora)

Dr. Rogério Gribel
Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia

Dra. Mariana Pires de Campos Telles
Universidade Federal de Goiás



*Dedico á todos que me acompanharam e se mantiveram presentes,
nesta caminhada,
aos meus pais, irmãos e amigos.*

Agradecimentos

Agradeço à minha família, por ser o alicerce de minha vida, me apoiando e incentivando em todas decisões! Amo muito cada um de vocês, por compreender cada momento de ausência nos momentos bons e também nos momentos difíceis! Sei que a caminhada é árdua, mas não existe sucesso sem alguns sacrifícios! Cada palavra dessa dissertação leva contigo, muito amor, carinho e compreensão de todos vocês!

Agradeço ao grupo de genética da conservação da UESC, essa família científica incrível! Sou imensamente grato por fazer parte desse grupo de profissionais competentes, mas acima de tudo, queridos amigos! Agradeço a todos vocês pela amizade, discussões científica, confraternizações e muitas resenhas compartilhadas na bancada de laboratório! Esses momentos, tornaram essa jornada prazerosa! Tenho imensa gratidão por cada membro desse grupo: Fernanda, Acácia, Caio, Rodrigo, Flora, Júnior, Dani loira (Daniella Bitencout), Dani morena (Danielle França), Matheus, Juliana, Livia e Carlos.

Gostaria de agradecer ao programa de pós-graduação em Ecologia e Conservação da Biodiversidade. Em especial ao corpo docente por compartilhar um pouco de seus conhecimentos e ensinamentos. Às secretárias Iky e Amáville, pela amizade, compreensão, pela agilidade e eficiência! Vocês foram essenciais neste processo!

Agradeço aos colegas e amigos da turma de mestrado e doutorado em ecologia da turma de 2013, pelos ensinamentos acadêmicos e principalmente pela amizade e convivência maravilhosa! Em especial: Rodrigo, Igor, Ícaro, Caio, Patrícia, Ramires, Bruna, Henrique e Luciano.

Agradeço à Universidade Estadual de Santa Cruz (nº: 0022011001320) e CNPq (nº: 563216/2010) pelo financiamento do projeto e CAPES pela concessão da bolsa de mestrado. À equipe da rede de pesquisa SISBIOTA, pela concepção teórica do projeto, principalmente, à coordenadora Dra. Deborah Faria, pelas valiosas contribuições teóricas e incríveis discussões que contribuíram para qualidade do trabalho.

Aos amigos, Zé da cabruca (Zé Carlos) e Ícaro Menezes, pela amizade, auxílio nas coletas e intermináveis e valiosas discussões acadêmicas. Vocês foram fundamentais para o desenvolvimento deste trabalho, sem vocês, eu não teria conseguido! Obrigado por me aguentar durante esse período! Obrigado pelas conversas, pelas resenhas que não foram poucas! Vocês foram essenciais na minha formação como

ecólogo da conservação e principalmente, contribuindo para que me tornasse uma pessoa melhor!

Agradeço à Jéssica Souza pelo inestimável auxílio nas análises laboratoriais e amizade em todos os momentos! Você é muito especial, obrigado pela força e acreditar que tudo acabaria bem! Agradeço também, ao técnico Liz 500 (Horlei Ribeiro), pela amizade, eficiência, por ser tão prestativo e atencioso nas genotipagens! Agradeço a coordenadora do Laboratório de Biologia Molecular, Dra. Fabienne Micheli e ao PosDoc Daniel Oliveira, por permitir a utilização do laboratório de Biologia Molecular nas análises genéticas.

Deixo os mais sinceros agradecimentos à minha co-orientadora Dra. Eliana Cazetta, pela amizade, ensinamentos, discussões acadêmicas e por estar presente em todos os momentos durante o desenvolvimento do trabalho.

Agradeço à minha querida orientadora Dra. Fernanda Gaiotto, seus ensinamentos no âmbito profissional e pessoal, levarei por toda vida! Muito obrigado pela paciência, dedicação e por nos contagiar com seus “brilhos nos olhos” em fazer ciência! Certamente, sou um indivíduo com muita sorte em conviver com uma pessoa tão maravilhosa!

Por fim, mas não menos importante, gostaria de agradecer ao Dr. Roberto Tarazi, pela amizade, discussões acadêmicas, ensinamentos no âmbito profissional e pessoal. Serei eternamente grato por tudo, você mudou minha concepção de pesquisa e ensino!

Peço desculpas, caso não tenha realizado os merecidos agradecimentos à todos! Mas, certamente, todos que contribuíram para realização desse trabalho de forma direta ou indireta, de minha formação como ecólogo da conservação, estão todos em meu coração!

“Se vi mais longe foi por estar de pé sobre os ombros de gigantes”

Issac Newton (1676)

Resumo: A redução de floresta ameaça florestas tropicais, influenciando negativamente na dinâmica populacional e em última instância na extinção de espécies. A perda de floresta impacta a biodiversidade através da redução na disponibilidade de recursos e com efeitos sinérgico da fragmentação florestal, esses impactos negativos podem ser intensificados. Portanto, entender como a redução de floresta impacta processos microevolutivos é importante para gestão e conservação de recursos genéticos. Contudo, existem poucos estudos com genética da paisagem para plantas em ambientes tropicais. Nosso estudo avaliou empiricamente os efeitos da redução da cobertura florestal em escala de paisagem sobre diversidade e estrutura genética, fluxo gênico e estrutura genética espacial de *Euterpe edulis* Mart (Arecaceae). A pesquisa foi conduzida em paisagens da Mata Atlântica na região sul do estado da Bahia, nordeste do Brasil. Foram selecionadas aleatoriamente 16 paisagens florestais, cada uma com 2km² e porcentagem de cobertura florestal variando entre 6–83 %. Foram coletadas folhas de todos os indivíduos adultos em uma parcela 15 x 400m e de todas as plântulas em uma parcela de 2 x 400m, no centro desta maior. Observou-se que o gradiente de remanescente florestal na paisagem não influencia nos parâmetros de diversidade genética mensurados por qualquer descritor analisado e cada sítio amostrado ainda mantém populações com alto nível de variabilidade genética. Contudo, foi detectado a presença de dois grupos genéticos com grande mistura de pool gênico entre eles. Estes resultados diferem entre adultos e plântulas, sendo acentuados em paisagem com baixa porcentagem de floresta. Além disso, a redução de floresta na paisagem não influencia a estrutura genética espacial de plântulas e adultos. Foi observada uma redução na distância de fluxo gênico em paisagens com baixa porcentagem de floresta. A consequência desta observação seria um impacto negativo na diversidade genética nas futuras gerações, através do aumento de parentesco (endogamia) que diminuiria a adaptabilidade individual e aumentaria os riscos de extinção local.

Abstract: Forest loss threatens tropical forests due to alteration on population dynamics and ultimately on local extinction of species. Loss of forest also impacts on biodiversity by reducing the availability of resources and by synergistic effects of forest fragmentation, which can intensify these negative impacts. Therefore, understanding how the reduction of forest impacts processes related on microevolution is important for management and conservation of genetic resources. However, there are few studies on landscape genetic for plants in tropical environments. Our study empirically evaluated the effects of reduction of forest cover in landscape scale on diversity and genetic structure, gene flow, and spatial genetic structure of *Euterpe edulis* Mart (Arecaceae). The research was conducted in landscapes of the Atlantic Forest in the southern Bahia, northeastern Brazil. We randomly selected 16 forest landscapes, each with 2km² and percentage of forest cover ranging from 6-83%. We collect leaves of all adults in a main plot of 15 x 400m and of all seedlings in a subplot of 2 x 400m, designed inside of the main plot. The remaining forest gradient in the landscape does not influence genetic diversity parameters measured by any descriptor analyzed and all analyzed populations still maintain with high level of genetic variability. However, we detected the presence of two genetic groups with large mixing gene pool among them. This pattern differs between adults and seedlings, especially in landscape with low percentage of forest. In addition, the reduction of forest in landscape does not influence the spatial genetic structure of seedlings and adults. We also observed a reduction in the distance of gene flow in landscapes with low percentage of forest, which can negatively affect the genetic diversity in future generations, through the increasing the relatedness (inbreeding) and decreasing individual fitness and enlarging the local extinction risk.

LISTA DE FIGURAS

Capítulo 1

Figura 1: Mapa da área de estudo no sul da Bahia, nordeste do Brasil, mostrando: a) Distribuição espacial do remanescente de floresta nativa (áreas em cinza) dentro dos 16 sítios de amostragem e a porcentagem de cobertura florestal no raio de 2 km² ao redor de cada sítio de amostragem; b) Mapeamento detalhado das 16 paisagens, ressaltando a porcentagem de cobertura florestal em cada uma (áreas em cinza).....20

Figura 2: Número de indivíduos de *Euterpe edulis* em relação a porcentagem de floresta remanescente na paisagem, amostrados em nove fragmentos imersos em paisagens ao longo da Mata Atlântica do sul da Bahia, Brasil, variando entre 19% - 83% de cobertura florestal remanescente na paisagem (~13 km²) a) Adultos; b) Plântulas.....20

Figura 3: Valores de F_{ST} estimados (♦) e intervalo á 95% de confiança baseado em 10.000 valores de *Euterpe edulis* amostrados em nove sítios localizados em paisagens antrópicas ao longo da Mata Atlântica no Sul da Bahia, Brazil, correlacionada com distância geográfica (km). a) F_{ST} estimado entre pares de populações de adultos; b) F_{ST} estimado entre pares de populações de plântulas.....21

Figura 4: Resumo da figura do programa STRUCTURE, onde cada indivíduo amostrado de *E. edulis* é representado por uma única linha vertical. Destacando dois pool gênico (clusters) representados pela cor verde e pela cor vermelha para adultos (a) e plântulas (b), amostrados em nove fragmentos florestais no sul da Bahia, Brazil, cada um imerso em paisagem (~13 km²) com diferentes quantidades de cobertura florestal remanescentes (19–83 %)......21

Capítulo 2

Figura 1: Estrutura genética espacial em *Euterpe edulis* (N = número de indivíduos genotipados em paisagens ao longo da Mata Atlântica no sul da Bahia, com porcentagem de floresta na paisagem variando entre 19% - 83%). As linhas pontilhadas

indicam intervalo de confiança de 95% para coeficiente de parentesco médio (Fij) observado (♦). A) Plântulas de *Euterpe edulis* amostradas em oito fragmentos inseridos em paisagens variando de 19% -83% de floresta; B) Adultos de *Euterpe edulis* amostrados em nove fragmentos inseridos em paisagens variando de 19% -83% de floresta.....37

Figura 2: Porcentagem de plântulas com parental (Pai ou mãe) dentro de remanescentes florestais inseridos no gradiente de floresta na paisagem.....39

Figura 3: Distância geográfica média (m) de fluxo gênico de *Euterpe edulis* dentro de remanescentes florestais inseridos no gradiente de floresta na paisagem.....40

LISTA DE TABELAS

Capítulo 1

Tabela 1: Diversidade genética de adultos e plântulas de *Euterpe edulis*, amostrados em nove fragmentos imersos em paisagens ao longo da Mata Atlântica do sul da Bahia, Brasil, variando entre 19% - 83% de cobertura florestal em paisagens com 2 km², mostrando os valores mínimos, médios e máximos de cinco parâmetros de diversidade genética e o coeficiente (r^2) com p valor associado entre diversidade genética e remanescente de cobertura florestal.....22

Capítulo 2

Tabela 1: Tabela 1: Fluxo gênico entre paisagens: %^a = Porcentagem de floresta na paisagem da progênie; %^b = Porcentagem de floresta na paisagem do genitor; P = 0.5 Probabilidade de paternidade ou maternidade obtida a partir da probabilidade a priori(P) de 0.5; Distância (Km) = Distância geográfica entre as paisagens.....40

Sumário

Introdução geral	1
Referências	6
Capítulo 1	9
Lessons from a palm tree: Genetic diversity and structure in anthropogenic landscapes from Atlantic Forest, Brazil	9
Abstract	10
Introduction.....	11
Materials and Methods.....	12
Results	15
Discussion	16
References.....	23
Capítulo 2	28
Genética da paisagem de uma palmeira tropical: Consequências da redução de floresta em paisagens originalmente dominadas por Mata Atlântica.....	28
Resumo.....	29
Introdução	30
Material e métodos.....	32
Resultados	35
Discussão.....	40
Referências	45
Conclusão geral	49

Introdução geral

Quando os primeiros colonizadores chegaram ao Brasil, em 1500, o domínio Mata Atlântica abrangia todo o leste do Brasil, se estendendo pelo Paraguai e Argentina, sendo a segunda maior floresta tropical do mundo (RIBEIRO et al. 2009). Neste período, a Mata Atlântica brasileira correspondia a cerca de 1.3953.849 km² do território (RIBEIRO et al. 2009), distribuído em 17 estados brasileiros: Alagoas, Bahia, Ceará, Espírito Santo, Goiás, Minas Gerais, Mato Grosso do Sul, Paraíba, Pernambuco, Piauí, Paraná, Rio de Janeiro, Rio Grande do Norte, Rio Grande do Sul, Santa Catarina, São Paulo e Sergipe. A grande amplitude de mais de 27 graus de latitude sul, 25 graus de longitude leste, associado à grande variação na composição de solos e com precipitação variando entre 1000 à 4000 mm ao ano (CÂMERA, 2003). Essas características possibilitaram a formação de complexo de fitofisionomias e ecossistemas associados, permitindo a evolução de elevada diversidade e endemismo de *taxa* na Mata Atlântica (LEITÃO-FILHO, 1982; SILVA & TABARELLI, 2000). Associado ao elevado índice de riqueza de plantas, onde pode ser encontrado até 454 espécies lenhosas em um único hectare (MARTINI, 2002), onde estima-se que exista mais de 20.000 espécies de plantas, 936 espécies de aves, 475 espécies de anfíbios, 306 espécies de répteis e 263 espécies de mamíferos (MITTERMEIER et al. 2005). Sendo que uma parcela significativa dessas espécies são endêmicas, podendo atingir taxas entre 30% para aves à 44% em plantas (MITTERMEIER et al. 2005).

Apesar da elevada riqueza e endemismo de espécies, a Mata Atlântica encontra-se reduzida em relação a sua extensão original à aproximadamente 12% (163.377 km²) no Brasil (RIBEIRO et al. 2009), 25% (11,618 km²) no Paraguai (HUANG et al. 2007, 2009), e 39% (9,950 km²) na Argentina (CHEBEZ & HILGERT, 2003). Além disso, aproximadamente 83% dos remanescentes da Mata Atlântica estão representados por fragmentos menores que 50 hectares (RIBEIRO et al. 2011). Desta maneira, a perda de floresta representa a principal ameaça à elevada riqueza e endemismo de espécies desse domínio fitogeográfico. A grande relevância biológica da Mata Atlântica, associada às eminentes ameaças de extinções, levou a esse domínio fitogeográfico a ser classificado como prioritário para conservação, sendo considerado um *hotspot* de biodiversidade (MYERS et al. 2000). Esses remanescentes da Mata Atlântica, ainda estão sobre

constantemente riscos de serem suprimidos, pois, apenas 9.3% estão inseridos em unidades de conservação (RIBEIRO et al. 2011). Assim, os esforços de conservação devem ser direcionados para os remanescentes florestais não protegidos.

Neste contexto, a perda e fragmentação de florestas representam as principais ameaças para biodiversidade (BROOKS et al. 2002), que atingiu níveis históricos e extramamente preocupantes de perda de espécies (PIMM et al. 2014). Fragmentação causa mudança na configuração espacial dos remanescentes florestais e afeta a dinâmica de populações com pouca capacidade de dispersão ou sensíveis a distúrbios ambientais (CUSHMAN 2006; HERRERA & GARCÍA 2010; VETTER et al. 2011; PÉREZ-ESPONA et al. 2012; HALE et al. 2013). Por outro lado, redução de floresta na paisagem impacta a biodiversidade através da redução na disponibilidade de recursos, influenciando na capacidade de suporte das populações (FAHRIG 2002, 2003). A relação entre redução de floresta em escala de paisagem e variável biológica (tamanho populacional, riqueza de espécies, etc) pode ser: i) linear, ou seja, conforme ocorre redução de floresta ocorre redução da variável biológica; ii) não-linear, podendo ocorrer relação do tipo limiar ou diminuição abrupta na variável biológica a partir de valores específicos da variável explanatória (FAHRIG 2002, 2013). As diferentes respostas da variável biológica a redução da floresta é devido aos diferentes requerimentos (recursos e condições) e características da espécie em questão. Desta maneira, espera-se que espécies com similaridades nos requerimentos que caracterizam seu hábitat respondam de maneira mais similar a perda de hábitat do que espécies cujos requerimentos são distintos (GIRÃO et al. 2007; METZGER et al. 2009; TABARELLI et al. 2010; ARROYO-RODRÍGUEZ et al. 2013). Portanto, espera-se que espécies evolutivamente relacionadas (gênero ou da mesma família) apresentem respostas semelhantes a perda de floresta.

Estudos demonstram que os riscos de extinção populacional aumentam quando o tamanho do fragmento é menor que 60% (ANDRÉN 1994; HUGGETT 2005; PARDINI et al. 2010). Além disso, os efeitos negativos da redução e fragmentação de floresta sobre a biodiversidade podem ser potencializados, através de interações sinérgicas (TABARELLI et al. 2004). Essas interações sinérgicas são intensificadas quando resta menos de 30% de floresta na paisagem, provocando isolamento estrutural entre remanescentes florestais (PARDINI et al. 2010; LIMA & MARIANO-NETO 2014). Desta maneira, com a mudança na conexão estrutural entre paisagens, a dispersão das

populações de animais e plantas entre remanescentes florestais fica prejudicada (MARKL et al. 2012).

Neste contexto, estudos com abordagem de genética da paisagem possibilitam compreender como características da paisagem (fragmentação, perda de habitat, qualidade da matriz) influenciam nos processos de fluxo gênico e, por consequência, na distribuição da variabilidade genética no espaço (STORFER et al. 2010; HOLDEREGGER et al. 2010). A genética da paisagem é uma área multidisciplinar, envolvendo conhecimentos de genética de populações, ecologia da paisagem e análises espaciais (MANEL et al. 2003; HOLDEREGGER & WAGNER 2006; MANEL & HOLDEREGGER 2013; BOLLIGER et al. 2014). Desta maneira, permite identificar os fatores da paisagem que estão influenciando nos processos e padrões de fluxo gênico e potencialmente na dinâmica populacional, que por sua vez, podem interferir no destino evolutivo da espécie (FUNK & MURPHY 2010). Essas informações são estratégicas para conservação dos recursos genéticos de espécies endêmicas ou ameaçadas de extinção (SOMMER et al. 2013; BAGUETTE et al. 2013). Contudo, investigações científicas que abordem genética da paisagem ainda são pouco exploradas em estudos com plantas tropicais, sendo a maior parte dos estudos nesta temática referente a animais e apenas cerca de 18% com plantas de clima temperado (STORFER et al. 2010). Desta maneira, estudos para compreender como fatores da paisagem influenciam na conectividade e distribuição da variabilidade genética de plantas em climas tropicais são prementes (STORFER et al. 2010).

Estudos empíricos em genética da paisagem com foco na variação genética neutra, ou seja, quando a variabilidade genética não está associada ao fitness do indivíduo, tem utilizado principalmente marcadores moleculares do tipo microssatélites (MANEL et al. 2010; STORFER et al. 2010). Marcadores moleculares microssatélites são sequências de 1 a 6 nucleotídeos repetidos em tandem, são considerados evolutivamente neutros devido sua inserção entre regiões gênicas e, portanto não codificantes (FERREIRA & GRATTAPAGLIA, 1995; KAGEYAMA et al. 2003). Esses estudos empíricos tem demonstrado que os principais padrões da distribuição da variabilidade genética espacial tem sido a clina (mudança genética gradual entre populações), isolamento por distância (diferenciação genética aumenta com distância geográfica), descontinuidade genética entre populações, metapopulação e padrão

aleatório (MANEL et al. 2003). Sendo esses padrões associados com variáveis ambientais e da paisagem.

Portanto, decorrente da necessidade de estudos com genética da paisagem com plantas em florestas tropical, que permitam compreender como a perda de floresta impacta o fluxo gênico, diversidade genética e estrutura genética espacial, selecionamos como modelo biológico à espécie arbórea *Euterpe edulis* Mart, para investigar essas questões.

A espécie *Euterpe edulis*, constitui uma das mais representativas da família Arecaceae que possui distribuição pantropical, com cerca de 183 gêneros e 2.400 espécies (BAKER et al. 2011). No Brasil, são encontrados 38 gêneros e 278 espécies, sendo aproximadamente 43% destas espécies, endêmicas (LEITMAN et al. 2014). Na Mata Atlântica, são encontradas 61 espécies de Arecaceae (LEITMAN et al. 2014). Dentre estas espécies, encontra-se *Euterpe edulis*, que possui ampla distribuição geográfica, com ocorrência do Rio grande do Norte ao Rio Grande do sul (LEITMAN et al. 2014). Essa espécie desempenha importante função ecológica para manutenção da diversidade de frugívoros devido ao seu amplo período de frutificação (SILVA et al. 2008), fornecendo recursos alimentares para diversas espécies (GALETTI et al. 1999). Em termos econômicos, a espécie possui grande valor de mercado, devido sua utilização para extração de palmito (meristema apical) para consumo humano (SILVA et al. 1999). Esse extrativismo de *E. edulis*, é uma das causas que conduziu a espécie para lista da flora brasileira ameaçada de extinção. Além dos impactos negativos do extrativismo, a redução e fragmentação da Mata Atlântica, são as principais ameaças para espécie (GALETTI et al. 2006).

Desta maneira, esse estudo com abordagem de genética da paisagem avalia empiricamente como a perda de floresta tropical influencia em parâmetros genéticos da palmeira *E. edulis*. Essa dissertação está estruturada em dois capítulos. O primeiro capítulo intitulado “**Lessons from a palm tree: Genetic diversity and structure in anthropogenic landscapes from Atlantic Forest, Brazil**”, teve como objetivo geral avaliar a influência da redução de floresta na paisagem sobre o tamanho populacional e diferenciação genética nas populações de plântulas e adultos de *E. edulis*, testando as seguintes hipóteses:

1) Esperamos que ocorra diminuição na abundância de plântulas e adultos em paisagens com menor porcentagem de floresta e redução sobre a variabilidade genética e aumento nas taxas de endogamia.

2) Predizemos também que redução de cobertura florestal provoca mudança no padrão de diferenciação genética entre os grupos de plântulas e adultos. Comparado com plântulas, esperamos encontrar menos grupos genéticos (pool gênico) nos adultos como reflexo histórico da paisagem que era provavelmente mais florestada e menos fragmentada.

O segundo capítulo dessa dissertação intitulado “**Genética da paisagem de uma palmeira tropical: Consequências da redução de floresta em paisagens originalmente dominadas por Mata Atlântica**”, teve como objetivo geral avaliar os efeitos da redução de floresta na paisagem sobre fluxo gênico e estrutura genética espacial, testando as seguintes hipóteses:

1) Esperamos que redução de floresta na paisagem influencie negativamente na distância de fluxo gênico, sendo as menores distâncias encontradas em paisagens com menores porcentagens de floresta.

2) Esperamos ainda que populações em paisagens com maior porcentagem de floresta possua menos plântulas com genitor atribuído, como reflexo da maior fonte de pólen e sementes.

3) Imaginamos que a estrutura genética espacial seja inversamente relacionada com redução de floresta na paisagem para os dois estágios ontogenéticos. Populações de *E. edulis* adultos devem apresentar menor estrutura genética espacial se comparado às populações de plântulas. Para testar nossas hipóteses a priori, selecionamos aleatoriamente 16 paisagens de 2 km em remanescentes da Mata Atlântica na região sul do estado da Bahia, nordeste do Brasil. Para avaliar os parâmetros genéticos de *E. edulis* nessas áreas, utilizamos locos microssatélites previamente desenvolvidos para espécie (GAJOTTO et al. 2001).

Referências

- ANDRÉN, H. Effects of habitat fragmentation on birds and mammals in landscapes with different proportions of Suitable habitat: A review. **Oikos**, 71, 355 – 366, 1994.
- ARROYO-RODRÍGUEZ, V; RÖS, M; ESCOBAR, F et al. Plant β -diversity in fragmented rain forests: testing floristic homogenization and differentiation hypotheses. **Journal of Ecology**, 101(6), 1449–1458, 2013.
- BAGUETTE, M; BLANCHET, S; LEGRAND, D et al. Individual dispersal, landscape connectivity and ecological networks. **Philosophical Society**, 88, 310–26, 2013.
- BAKER, W; NORUP, M.V; CLARKSON, J.J et al. Phylogenetic Relationships Among Arecoide Palms (Arecaceae: Arecoideae). **Ann. Bot.** 108:1417-1432, 2011.
- BOLLIGER, J; LANDER, T; BALKENHOL, N. Landscape genetics since 2003: Status, challenges and future directions. **Landscape Ecology**, 29, 361–366, 2014.
- BROOKS, T.M; MITTERMEIER, R.A; MITTERMEIER, C.G et al. Habitat Loss and Extinction in the Hotspots of Biodiversity. **Conservation Biology**, 16, 909–923, 2002.
- CÂMARA, I.G. **Brief history of conservation in the Atlantic forest**. In: GALINDO-LEAL, C; CÂMARA, I.G. The Atlantic Forest of South America: biodiversity status, threats, and outlook. Island Press, Washington, DC, pp 31–42, 2003.
- CHEBEZ, J.C; HILGERT, N. **Brief history of conservation in the Parana Forest**. In: GALINDO-LEAL C; CÂMARA, I.G. The Atlantic Forest of South America: biodiversity status, threats, and outlook. Island Press, Washington, DC, pp 141–159, 2003.
- CUSHMAN, S.A. Effects of habitat loss and fragmentation on amphibians: A review and prospectus. **Biological Conservation**, 128, 231–240, 2006.
- FAHRIG, L. Effect of habitat fragmentation on the extinction threshold : A synthesis. **Ecological Applications**, 12, 346–353, 2002.
- FAHRIG, L. Effects of habitat fragmentation on biodiversity. **Evolution, and Systematics**, 34, 487–515, 2003.
- FAHRIG, L. Rethinking patch size and isolation effects: The habitat amount hypothesis. **Journal of Biogeography**, 40, 1649–1663, 2013.
- FERREIRA, M.E; GRATTAPAGLIA, D. **Introdução ao uso de marcadores moleculares em análise genética**. 2a. Edição. Brasília, DF: EMBRAPA-CENARGEN, 1995. 220p.
- FUNK, W.C; MURPHY, M.A. Testing evolutionary hypotheses for phenotypic divergence using landscape genetics. **Molecular ecology**, 19, 427–430, 2010.
- GAIOTTO, F.A; BRONDANI, R.P.V; GRATTAPAGLIA, D. Microsatellite markers for heart of palm — *Euterpe edulis* and *E. oleracea* Mart. (Arecaceae). **Molecular Ecology Notes**, 1, 86–88, 2001.
- GAIOTTO, F.A; GRATTAPAGLIA, D; VENCOSKY, R. Genetic structure , mating system , and long-distance gene flow in heart of palm (*Euterpe edulis* Mart). **Journal of Heredity**, 94, 399–406, 2003.
- GALETTI, M; ZIPARRO, V.B; MORELLATO, P. Fruiting phenology and frugivory on the palm *Euterpe edulis* in a lowland Atlantic Forest of Brazil. **Ecotropica** 5: 115-122, 1999.
- GALETTI, M; DONATTI, C.I; PIRES, A.S. Seed Survival and Dispersal of an Endemic Atlantic Forest Palm: The Combined Effects of Defaunation and Forest Fragmentation. **Bot. Journ. Linn. Soc.** 151:141-149, 2006.

- GALETTI, M; GUEVARA, R; CÔRTEZ, C.M et al. Functional Extinction of Birds Drives Rapid Evolutionary Changes in Seed Size. **Science**, 340, 1086–1090, 2013.
- GIRÃO, L. C; LOPES, A. V; TABARELLI, M et al. Changes in tree reproductive traits reduce functional diversity in a fragmented Atlantic forest landscape. **PloS One**, 2(9), e908, 2007.
- HALE J.M; HEARD G.W; SMITH K.L et al. Structure and fragmentation of growling grass frog metapopulations. **Conservation Genetics**, 14, 313–322, 2013.
- HERRERA, J.M; GARCÍA, D. Effects of forest fragmentation on seed dispersal and seedling establishment in ornithochorous trees. **Conservation biology**, 24, 1089–1098, 2010.
- HOLDEREGGER, R; BUEHLER, D; GUGERLI, F et al. Landscape genetics of plants. **Trends in plant science**, 15, 675–83, 2010.
- HOLDEREGGER, R; WAGNER, H.H. A brief guide to landscape genetics. **Landscape Ecology**, 21, 793–796, 2006.
- HUANG, C.Q; KIM, S; ALTSTATT, A. Rapid loss of Paraguay’s Atlantic Forest and the status of protected areas: A landsat assessment. **Remote Sens Environ** 106:460–466, 2007.
- HUANG, C.Q; KIM, S ;SONG, K. Assessment of Paraguay’s forest cover change using landsat observations. **Glob Planet Change** 67:1–12, 2009.
- HUGGETT, A.J. The concept and utility of “ecological thresholds” in biodiversity conservation. **Biological Conservation**, 124, 301–310, 2005.
- KAGEYAMA, P.Y. et al. Diversidade genética em espécies tropicais de diferentes estágios sucessionais por marcadores genéticos. **Scientia Forestalis** 64:93-107, 2003.
- LEITÃO FILHO, H. F. **Aspectos taxonômicos das florestas do estado de São Paulo**. In: Anais do Congresso Nacional Sobre Essências Nativas. Silvicultura em São Paulo – Instituto Florestal, Vol.16A, pt.1, p197. 1982.
- LEITMAN, P; SOARES, K; HENDERSON, et al. *Arecaceae* in **Lista de Espécies da Flora do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB53>>. Acesso em: 22 Dez. 2014.
- LIMA, M.M; MARIANO-NETO, E. Extinction thresholds for Sapotaceae due to forest cover in Atlantic Forest landscapes. **Forest Ecology and Management**, 312, 260–270, 2014.
- MANEL, S; HOLDEREGGER, R. Ten years of landscape genetics. **Trends in ecology & evolution**, 28, 614–21, 2013.
- MANEL, S; JOOST, S; EPPERSON, B.K et al. Perspectives on the use of landscape genetics to detect genetic adaptive variation in the field. **Molecular ecology**, 19, 3760–72, 2010.
- MANEL, S; SCHWARTZ, M.K; LUIKART et al. Landscape genetics: Combining landscape ecology and population genetics. **Trends in Ecology & Evolution**, 18, 189–197, 2003.
- MARKL, J.S; SCHLEUNING, M; FORGET, P.M et al. Meta-analysis of the effects of human disturbance on seed dispersal by animals. **Conservation Biology**, 26, 1072–81, 2012.
- MARTINI, A.M.Z. **Estrutura e composição da vegetação e chuva de sementes em sub-bosque, clareiras naturais e área perturbada por fogo em floresta tropical no sul da Bahia**. Campinas. Tese de doutorado: Universidade Estadual de Campinas. 2002.

METZGER, J. P; MARTENSEN, A. C; DIXO, M et al. Time-lag in biological responses to landscape changes in a highly dynamic Atlantic forest region. **Biological Conservation**, 142(6), 1166–1177, 2009.

MITTERMEIER, R.A; GILL, P.R; HOFFMANN, M. **Hotspots revisited: earth's biologically richest and most endangered terrestrial ecoregions**. CEMEX, Washington, 2005.

MANTOVANI, A; MORELLATO, L.P.C. Fenologia da floração, frutificação, mudança foliar e aspectos da biologia floral. **Sellowia**. 49–52:23–38, 2000.

MYERS, N; MITTERMEIER, R. A; MITTERMEIER, C.G et al. Biodiversity hotspots for conservation priorities. **Nature**, 403, 853–8, 2000.

PARDINI, R; BUENO, A. A; GARDNER, A.T et al. Beyond the fragmentation threshold hypothesis : Regime shifts in biodiversity across fragmented landscapes. **PloS ONE**, 5, e13666, 2010.

PÉREZ-ESPONA S; MCLEOD, J.E; FRANKS N.R. Landscape genetics of a top neotropical predator. **Molecular ecology**, 21, 5969–85, 2012.

PIMM, S.L; JENKINS, C.N; ABELL, R et al. The biodiversity of species and their rates of extinction, distribution, and protection. **Science**, 344, 1246752, 2014.

RIBEIRO, M.C; MARTENSEN, A.C; METZGER, J.P et al. The Brazilian Atlantic Forest: A Shrinking Biodiversity Hotspot. **Biodiversity Hotspot**, 405-434, 2011.

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

SILVA, J.Z.; FERREIRA, D. K.; MATTOS, A. G. & REIS, M. S. (2008). **Produção de frutos e fenologia reprodutiva de Euterpe edulis**. In: II Simpósio Brasileiro de Recursos Genéticos. v.Brasília. p. 240-240.

SILVA, J. M. C; TABARELLI, M. Tree species impoverishment and the future flora of the Atlantic forest of northeast Brazil. **Nature** 404, p. 72-74. 2000.

SILVA MATOS, D. M. S; FRECKLETON, R. P; WATKINSON, A. R. The role of density dependence in the population dynamics of a tropical palm. **Ecology**, 80(8): 2635- 2650, 1999.

SOMMER, S; MCDEVITT, A.D; BALKENHOL, N. Landscape genetic approaches in conservation biology and management. **Conservation Genetics**, 14, 249–251, 2013.

STORFER, A; MURPHY, M.A; SPEAR, S.F et al. Landscape genetics: where are we now?. **Molecular ecology**, 19, 3496–514, 2010.

TABARELLI, M; AGUIAR, A. V; GIRÃO, L. C. Effects of pioneer tree species hyperabundance on forest fragments in northeastern Brazil. Conservation Biology : **Conservation Biology**, 24(6), 1654–63, 2010.

TABARELLI, M; SILVA, J; GASCON, C . Forest fragmentation , synergisms and the impoverishment of neotropical forests. **Biodiversity and Conservation**, 13, 1419–1425, 2004.

VETTER, D; HANSBAUER, M.M; VÉGVÁRI, Z et al. Predictors of forest fragmentation sensitivity in Neotropical vertebrates: A quantitative review. **Ecography**, 34, 1–8, 2011.

Capítulo 1

Lessons from a palm tree: Genetic diversity and structure in anthropogenic landscapes from Atlantic Forest, Brazil

Lessons from a palm tree: Genetic diversity and structure in anthropogenic landscapes from Atlantic Forest, Brazil

Alessandro Souza Santos, Eliana Cazetta, José Carlos Morante Filho, Julio Baumgarten, Deborah Faria and Fernanda Amato Gaiotto

Alessandro Souza Santos and José Carlos Morante Filho

Pós-Graduação em Ecologia e Conservação da Biodiversidade, Universidade Estadual de Santa Cruz, Rodovia Ilhéus-Itabuna, km 16, Ilhéus, BA, Brazil, CEP 45662-900

Eliana Cazetta, Deborah Faria and Julio Baumgarten

Laboratório de Ecologia Aplicada à Conservação, Departamento de Ciências Biológicas, Universidade Estadual de Santa Cruz, Rodovia Ilhéus-Itabuna, km 16, Ilhéus, BA, Brazil, CEP 45662-900

Fernanda Amato Gaiotto

Laboratório de Marcadores Moleculares, Centro de Biotecnologia e Genética, Universidade Estadual de Santa Cruz, Rodovia Ilhéus-Itabuna, km 16, Ilhéus, BA, Brazil, CEP 45662-900

E-mail: gaiotto@uesc.br

Tel.: (73) 36805440

Fax: (73) 36805226

Submetido para Conservation Genetics

Abstract: Habitat loss threatens biodiversity in tropical forests, having harmful effects on population dynamics and ultimately determining the evolutionary destiny of species. Thus, understanding how habitat loss affects microevolutionary processes is an important step in the conservation of genetic resources. However, few studies have explored landscape genetics for plants in tropical environments. Our study evaluated the effects of a landscape-scale reduction in forest cover on genetic diversity and structure of *Euterpe edulis* (Arecaceae). The research was conducted in Atlantic Forest landscapes in Northeastern Brazil. We randomly chose 16 forest sites, each located in a 13 km² landscape with forest cover amount ranging from 6–83 %. After a survey of adults and seedlings in each sampling site, we found a minimum of five individuals of *E. edulis* at nine sites and sampled leaves from all adults within a 15 × 400 m plot and all seedlings within a 2 × 400 m subplot in each sampling site. The gradient of remaining forest cover at the landscape scale did not affect the genetic diversity measured by any of the

descriptors analyzed and each sampling site still harbored populations with high levels of genetic variability. However, we detected the presence of two distinct genetic groups with a mixed gene pool among them; the structural pattern of these groups differed between adults and seedlings, mainly in the less forested landscapes areas. We believe that *E. edulis* is a good example of a tropical tree that is experiencing local extirpation before suffering genetic alterations.

Keywords Habitat lost • Landscape genetics • Rainforest • Tree species

Introduction

Habitat loss is one of the main threats to biodiversity in tropical forests (Brooks *et al.* 2002). Considerable evidence has shown that biodiversity is important to the persistence of species in anthropogenic landscapes; these landscapes generally lead to population declines and ultimately to extinctions or extirpations of some species (Fahrig 2002, 2003). As habitat loss progresses, an increase in fragmentation, along with structural changes in the size and spatial arrangement of remnants in the landscape, further affects population dynamics by reducing the likelihood of migration among patches. As a result, populations of many species become more isolated. Although habitat loss and fragmentation are different landscape-level drivers of extinction and/or extirpation, the synergetic effect of processes related to both habitat loss and fragmentation can increase the loss of biodiversity in anthropogenic landscapes (Andrén 1994; Tabarelli *et al.* 2004).

Because most fragmentation indices are highly correlated with landscape scale habitat loss (Fahrig 2003), the combined effects of habitat loss and fragmentation affect overall patterns of plant and animal distribution, with clear consequences related to ecological processes (Tabarelli *et al.* 2004; L bo *et al.* 2011). For instance, habitat loss and fragmentation can strongly affect seed dispersal by modifying habitat composition and configuration, which in turn affects seed deposition patterns because of a decrease in population size or alterations in the behavior of frugivores (Herrera & García 2010). This drastic decline in seed removal can result in increased clumping and decreased genetic differentiation between populations as a result of a reduction in seed dispersal distance and changes in seedling recruitment (Cordeiro & Howe 2001; Terborgh *et al.* 2008). Therefore, landscape changes can ultimately affect patterns of genetic diversity, thus influencing microevolutionary processes such as gene flow, genetic drift and natural selection (Manel *et al.* 2003; Holderegger and Wagner 2008; Storfer *et al.* 2010; Holderegger *et al.* 2010; Cushman *et al.* 2012). Understanding how these processes potentially influence

the population dynamics and the evolutionary destiny of species is strategic to conservation of genetic resources (Funk & Murphy 2010; Sommer *et al.* 2013). However, few studies address genetics of plants in tropical habitats on a landscape scale (Storfer *et al.* 2010). Therefore, because tropical forests harbor most of the world's plant species and are facing particularly high rates of deforestation, a dire need exists to understand the effects of landscape on the genetic variability of plants (Balkenhol *et al.* 2009; Storfer *et al.* 2010) in these tropical landscapes.

Our study aimed to empirically evaluate the effects of forest reduction at the landscape scale, regarding the genetic diversity and structure of a keystone palm species, *Euterpe edulis* (Arecaceae). The species occurs widely in the Brazilian Atlantic Forest (Leitman *et al.* 2013), an area rich in plant diversity that is currently reduced to 11.4–16 % of its original extent (Ribeiro *et al.* 2009). *Euterpe edulis* plays an important role in maintaining high local diversity (Jordano *et al.* 2006) by providing food resources for many frugivorous species. The high quality of its apical meristem for human consumption (Matos *et al.* 1999) has caused overexploitation of *E. edulis* throughout its entire range in Atlantic Forest resulting in its current listing as a threatened species (Martinelli & Moraes 2013). Therefore, we sampled 16 forest sites located in landscapes ranging from 6–83 % of cover to evaluate the population size, genetic diversity and structure of seedlings and adults of *E. edulis*. We expected a decrease in abundance of seedlings and adults in the less forested landscapes and a reduction on genetic variability and increased rates of inbreeding. We also predicted that the reduction of forest cover would change the pattern of genetic group differentiation between adults and seedlings. Compared with seedlings we expected to find fewer genetic groups (gene pool) in adults as these reflect historical landscapes that were likely more forested and less fragmented.

Materials and Methods

Statement of Human and Animal Rights

The field studies had essentially no effect on local human or animal populations because only plant parts were harvested for analysis and no whole plants were removed.

Study area

The study was conducted in forest fragments of the Atlantic Forest of southern Bahia, a region still harboring the largest amount of forest remaining in Northeastern Brazil (Ribeiro *et al.* 2009a). Today, most of the remnant native forests are concentrated along a north–south belt with low fertility and sandy soils near the coast. The dominant vegetation is classified as lowland wet forest (Oliveira-filho & Fontes 2000), characterized by high levels of species richness and endemism of animals and plants (Thomas *et al.* 1998; Martini *et al.* 2007), making this region a major priority for conservation actions. The mean annual temperature is 24°C and mean annual rainfall is 1500 mm y⁻¹ with no defined seasonality, although a 1–3 month-long rainless period may occur from December to March (Mori *et al.* 1983).

Sampling design

This study is part of the REDE SISBIOTA, a research network addressing the effects of forest reduction on patterns of biodiversity in anthropogenic landscapes in southern Bahia Atlantic Forest, Brazil. After intensive field work and an analysis of satellite images, we identified areas still harboring large, representative forest tracts located between the Jequitinhonha and Contas rivers, because these forests are situated within similar conditions of soil, topography and floristic composition (Thomas *et al.* 1998).

Using satellite images (QuickBird and WorldView, from 2011 and RapidEye, from 2009–2010), we elaborated a map of the land use of 3.470 km² including the municipalities of Belmonte, Una, Santa Luzia, Mascote, and Canavieiras (Fig. 1). The remaining forest cover of the mapping region includes not only native forests in different successional stages, but also forest crops such as shade cacao (*Theobroma cacao*) and rubber (*Hevea brasiliensis*) plantations, as well as areas devoted to forestry such as *Eucalyptus* sp. Our map was used to visually identify and quantify the different forest categories at a scale of 1:10.000. For the present study, we considered only the amount of native vegetation in the landscape in our estimate of forest cover. All crops, including shaded cacao plantations were excluded from our quantification.

Based on this mapping we identified 48 forest sites with a minimum distance of 1 km from each other. Using ArcGIS (10.2), we calculated the native forest cover (%) within a 2 km radius landscape from the center of each selected forest site. From this sample we randomly chose 16 landscapes covering a wide variation of forest cover remaining, from 6–83 % (Fig. 1), and sampled populations of *E. edulis* in each of these 16 forest (sampling) sites.

In each sampling site, we placed one 15 × 400 m plot and collected leaf samples of all *E. edulis* adults and, in a 2 × 400 m plot located within the larger plot we collected samples of leaf tissue of all seedlings, here defined as individuals ≤15 cm tall. However, we only considered those sites in which we could detect at least five individuals in each ontogenetic stage, because five is the minimum number of samples required to perform population genetics analysis.

DNA extraction and genotyping with microsatellite loci

DNA extraction was performed using the CTAB protocol (Doyle and Doyle 1987). To perform genetic analysis, we genotyped all sampled individuals of *E. edulis*, both seedlings and adults, using ten microsatellite nuclear loci, previously developed for the species (Gaiotto et al. 2001). The genotyping was performed by PCR using predetermined conditions (Gaiotto et al. 2001). Multiplex PCR reactions were done with the following loci: duplex with EE43 and EE45; EE48 and EE54; EE8 and EE23. Single PCR was performed with several loci: EE32; EE15; EE8 and EE3. The PCR mix (13 µl) contained 7.5 ng of genomic DNA, 250 µM dNTPs (invitrogen), 0.75 µM MgCl₂ (invitrogen), 1X PCR buffer (invitrogen), (10 mM Tris-HCl, 50mM KCl, 1.5 mM MgCl₂ pH8.3), 2.5 µg/µl BSA (invitrogen), 0.2 µM of each primer (invitrogen) and 1 U of Taq DNA polymerase (invitrogen). Amplifications were performed in a Life Pro thermocycler, 96, gradient (TC-96/G/H(B) A, Bioneer Technology Co., Hangzhou, Zhejiang, China), under the following conditions: 96°C for 2 min; 30 cycles of 94°C for 1 min, the primer-specific annealing temperature for 1 min (see Gaiotto et al. 2001), 72°C for 1 min, and ending with 72°C for 7 min. Electrophoresis was performed in two multiload microsatellite loci according to the following combinations: i) Pentaload I, composed of loci EE15, EE32, EE3, EE8, and EE23; ii) Pentaload II, composed of loci EE43, EE45, EE48, EE54, and EE9. An equal volume mix containing PCR products of each locus was prepared. Later, we captured 2 µl of the aforementioned mix and added 0.2 µl of standard GeneScan-500 Liz (Applied Biosystems, Thermo-Fisher Scientific, Inc., Waltham, MA, USA) and 7.8µl of deionized formamide (Applied Biosystems). The genotyping was performed on an ABI 3500 Genetic Analyzer (Applied Biosystems) and the sizing of fragments was obtained with GeneMarker software Ver. 2.2 (SoftGenetics, State College, PA, USA).

Data analysis

The density of seedlings and adults of *E. edulis* was related to the remaining forest on the landscape based on simple linear regression analysis using R software (ver. 3.0.2).

Estimates of gene diversity (H_E), observed heterozygosity (H_O), number of effective alleles (N_e), fixation index (F_{IS}), and the number of exclusive alleles (A) of seedlings and adults of *E. edulis* in each sampling site were calculated using the GenAlex version 6.5 software (Peakall and Smouse 2012). The average genetic indices of ontogenetic stages of seedlings and adults were compared using a t-test for independent samples with R software. The genetic parameters were also evaluated according to remaining forest in the landscape using simple linear regression analysis in R software.

We inferred genetic population structure of *E. edulis* applying both the frequentist F statistics (F_{ST}) (Wright 1965) using the software GenAlex version 6.5 (Peakall and Smouse 2012) and the Bayesian clustering approaches. The latter assigns individuals to populations based on their genotypes and was carried out using STRUCTURE software, assuming the admixture model (Pritchard *et al.* 2000). This test was conducted from one to nine clusters ($K = 1-9$), using ten runs for each K , a running period length of 10,000 and 10,000 replications. The most appropriate K value was established using the methods of Evanno *et al.* (2005) implemented in Structure Harvester, a web-based program (Earl & VonHoldt 2012). The F_{ST} resulting from pairwise comparisons between sampling sites were related with their geographic distance (km) to detect if geographic distance influences the observed genetic structure pattern, using of simple linear regression analysis in R software. The statistical significance of F_{ST} estimates were tested by 10,000 bootstrapping with a 95 % confidence interval in GDA software version 1.1 (Lewis and Zaykin 1999).

Results

Unfortunately, the total survey conducted at the 16 sampling sites did not detect a minimum of five individuals of *E. edulis* at seven sites. These seven sites were all located within fragments immersed in landscapes with less than 28 % of forest cover remaining. Therefore, our genetic sampling was limited to the remaining nine forest fragments having 19 % and 83 % forest cover, with samples collected from 273 seedlings and 246 adults of *E. edulis*. The forest reduction, measured as a gradient of remaining forest cover across the landscape scale, did not influence the density of adults ($r^2 = 0.066$, $p = 0.504$, Fig. 2a) nor seedlings ($r^2 = 0.046$, $p = 0.580$, Fig. 2b). Similarly, forest reduction at the landscape scale did not

affect genetic diversity measured by any of the parameters analyzed here, even when both ontogenetic stages were considered separately. The mean values of genetic indices H_E , N_e and A did not differ between seedling and adult stages of *E. edulis*, but the mean value of H_O and F_{IS} in seedlings was significantly higher and lower than in adults, respectively (Table 1).

Considering the large distance between some pairs of sampling sites (up to 90 km, Fig. 1), we verified that geographic distance alone was a weak but significant variable explaining the patterns of genetic differentiation among populations of adults but not for seedlings of *E. edulis* populations (Fig. 3). However, the pairwise F_{ST} values comparing populations showed no genetic differentiation (i.e. when $F_{ST} = 0$ are included within any confidence intervals) between some populations of adults, both in close proximity (5, 8, 11, and 17 km) or far apart (82 and 87 km), but it showed significant genetic differentiation in all paired seedling populations.

Bayesian cluster analysis reveals the presence of two distinct genetic groups, with the structural pattern of these groups differing between adults and seedlings (Fig. 4). For adults, sites with 63 % and 70 % forest cover comprised a single genetic group separated from all the remaining forest sites that, together, consisted of another genetic group (Fig. 4a). Note that the structural patterns of seedlings and adults were different only at sites with less forested landscapes (those with 19, 28 and 34 % forest cover). The seedlings located in sites with more than 43 % of forest cover maintained the same gene pool pattern exhibited by the adult populations (Fig. 4b).

Discussion

The percentage of remnant forest at the landscape scale did not affect the population density of seedlings and adults of *Euterpe edulis* as expected theoretically (Andrén 1994) and for other organisms based on empirical studies (Fahrig 2002). Although this result may be linked with our limited number of sampling sites, fewer than previously planned, it is noteworthy that sites immersed in landscapes with less than 28 % of remaining forest had few (>5) or no *E. edulis* individuals detected during our sampling (data not shown). One exception was the landscape with 19 % of forest cover; here, the sampling site showed the highest local density of adults and with comparable densities of seedlings to those sites immersed in high-forested landscapes cover. In fact, this high population density was a direct result of a particular conservation-minded landowner who strictly protects the area from palm heart exploitation. Therefore, although we found no relationship between landscape scale forest loss and local *E. edulis* density, our

results indicate that unprotected populations found in less forested landscapes tended to experience rapid elimination of individuals of *E. edulis*. Probably the synergetic effects of habitat loss and palm harvesting explain the drastic reduction or even local extirpation of *E. edulis* adults in fragments within highly deforested landscapes. As habitat loss progresses, several changes in landscape structure increase the likelihood of disturbance within remnant patches and these environmental changes might ultimately prevent the germination and establishment of *E. edulis* seedlings, which depend on shade and humidity (Junior *et al.* 2003). Seed dispersal failure might explain the absence of seedlings on those landscapes.

Contrary to our initial hypothesis, forest loss at a landscape scale did not influence the genetic diversity of *E. edulis*. Our results indicate that, regardless of the amount of forest at the landscape level, the genetic diversity of *E. edulis* was still high at all sampling sites and was quantitatively similar to other populations of the same species (Gaiotto *et al.* 2003; Conte *et al.* 2008). This pattern may reflect the recent history of deforestation that, in this region overall, was more pronounced after the 1960s and during the last five decades (Alger and Caldas 1994). Because the pace of land-use change is often faster than those organisms change genetically (Holzhauer *et al.* 2006), small populations can still maintain high genetic diversity as a reflection of a very recent population decline (Klank *et al.* 2012). Given this time lag of deforestation impact, high levels of genetic diversity in populations can be maintained even in less forested landscapes than had previously existed in populations before anthropogenic actions affected the area. We believe that this is the case for *E. edulis* populations in southern Bahia; the relatively recent process of deforestation has yet caused a loss in genetic diversity through genetic drift (Landguth *et al.* 2010). However, note that those sampling sites located within more deforested landscapes (28 and 34 %) had the lowest values of genetic diversity. Again, the exception was the site located with 19 % forest cover at the landscape level that had genetic diversity estimates that were similar to sites located within more forested landscapes. Moreover, this result is probably associated with the high levels of protection already discussed for that particular forest site; within southern Bahia or the remaining Atlantic forest, this is an exception rather than the rule. We believe that if populations located in more deforested landscapes are not protected, then they will tend to be more susceptible to a loss of genetic diversity (Young *et al.* 1996; Lowe *et al.* 2005a). Furthermore, these results demonstrate that the historical use of *E. edulis* for economic purposes has implications for genetic diversity. Considering that genetic diversity is the basis for adaptation and that some features of this species are rapidly evolving (e.g. fruit size) (Galetti *et al.* 2013), maintaining the evolutionary potential is essential for long-term survival. This can be

done by maintaining high population levels that will help preserve the genetic diversity within the populations.

The results obtained by F_{st} indicate that geographic distance explained very little genetic differentiation observed among populations of adults and had no correlation with seedlings stage. Furthermore, the change in the pattern of genetic differentiation among adults to seedlings indicated a likely change in gene flow pattern is occurring when comparing these ontogenetic stages. We suggest that genetic differentiation may reflect evolutionary processes such as natural selection or the balance between migrations and genetic drift (Blanquart *et al.* 2012). Our global results of F_{IS} , H_o and F_{ST} show significant differences in the patterns of genetic diversity between adults and seedlings, with the latter ontogenetic stage showing an increase in heterozygosity and lower F_{IS} , when compared with adults. However, based on F_{ST} , the estimate values for seedlings were higher than for adults, indicating a probable temporal Wahlund effect (Vranckx *et al.* 2012). By definition, this effect increases the homozygous frequencies in the metapopulation, and in our case, among sampling sites. Furthermore, the increase of heterozygosity within populations can be explained by selection against homozygous individuals because of their low fitness when compared with hybrid vigor detected on heterozygous individuals. Thus, the global value of F_{IT} (inbreeding caused by mating system and subdivision of populations simultaneously) remains near to zero, which can be misinterpreted as panmixia and metapopulation connected by gene flow. An alternative hypothesis, not mutually exclusionary, to change in the pattern of genetic differentiation between adults and seedlings is that the lower genetic differentiation among adult populations reflects historic gene flow patterns (Klank *et al.* 2012). We believe that the efficiency in seed dispersal among forest remnants is possibly compromised by the low richness and abundance of seed dispersers (Moran & Catterall 2014). Of the 32 bird species that have been observed dispersing *E. edulis* seeds (Galetti *et al.* 2013), only 12 were found in our sampling sites, and even these were infrequently observed (unpublished data). Therefore, of the full range of known seed dispersers originally present, only a few will cross into open areas and efficiently perform gene flow through seed dispersal. Therefore, we suggest that probably only small generalist birds, which disperse small seeds over short distances, are present in our sampling sites. Such alteration in patterns of seed dispersal and composition of seed dispersing species reported elsewhere have been shown to trigger evolutionary changes in favor of species with smaller seeds that are more susceptible to desiccation (Galetti *et al.* 2013). The resistance to desiccation in their recalcitrant

seeds can be a threat to this species in disturbed areas with low forest cover that experience changes in microclimatic, (edge effect) often with increasing temperature within forest fragments (Pütz *et al.* 2011).

Bayesian analysis revealed a great interchange of genes among populations, and similar to the F statistics analysis, the structural pattern of genetic groups in adults was only weakly influenced by geographical distance among sampling sites, but not by the amount of remaining habitat at the landscape scale. Thus, less forested landscapes (19 %, 28 %, and 34 %) are geographically closer to the landscapes with 63 % and 70 % forest cover, but have similar gene pools to those of areas with 43 %, 50 %, 59 %, and 83 % forest cover that are geographically distant (Fig. 1). In this way, anthropogenic disturbances such as habitat loss that have previously been shown to alter the pattern of gene flow (Zellmer & Knowles 2009) are apparently not acting on adult populations of *E. edulis*. Interestingly, the pattern changes slightly in seedlings when the gene pool becomes fragmented in landscapes with 19 %, 28 % and 34 % of forest cover. This change in the gene pool of seedling populations within less forested landscapes could reflect a more recent process of genetic drift, because populations inserted into small and isolated fragments are known to tend to have higher rates of genetic drift (Ellstrand and Elam 1993; Lowe *et al.* 2005). We believe that forest loss is initiating a change in the genetic structure among *E. edulis* populations. However, the negative effects of habitat loss in the landscape are not clearly evident in the genetic structure at this moment, probably because of the time lag required to empirically detect this process in natural tree populations. Some species require more than 100 generations for populations to become isolated genetically (Landguth *et al.* 2010). For example, the intensification of deforestation of Atlantic forest in southern Bahia occurred after the 1960s (Alger and Caldas 1994). Probably an insufficient amount of time has passed for strong genetic differentiation to have occurred among the sampled populations. This is particularly true for the adults in which the observed structure of gene pool reflects the historical connectivity of populations in which a strong gene flow occurred in the past. The intensity of this mechanism was altered after habitat loss and fragmentation, which could explain the difference in the gene pool of populations of seedlings compared with adults inserted into less forested landscapes. Therefore, studies aiming to assess the contribution of historical and contemporary gene flow are needed to understand the effects of forest reduction on target species. This knowledge has become critical to predicting the evolutionary dynamics in this palm tree species that is threatened with extinction (Manel *et al.* 2010; Holderegger *et al.* 2010).

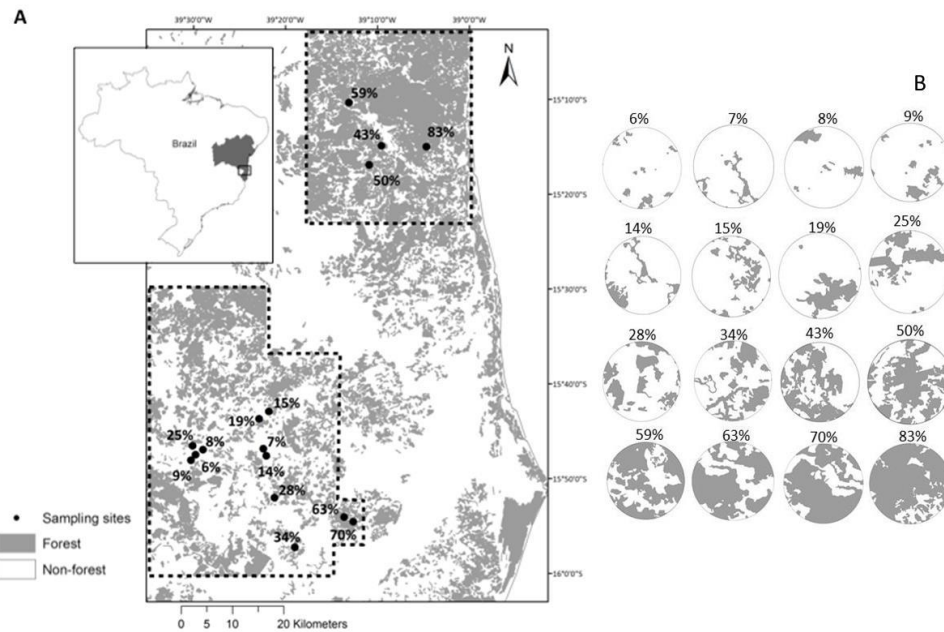


Fig. 1 Map of the study area in the southern Bahia, northeastern Brazil, showing: a) the spatial distribution of the native forest remnants (gray areas) within the 16 sampling sites (black dots) and the percentage of forest cover in a 2 km radius around each sampling site; b) detailed mapping of the 16 landscapes around the surveyed forest sites, highlighting the percentage of forest cover in each one (gray areas)

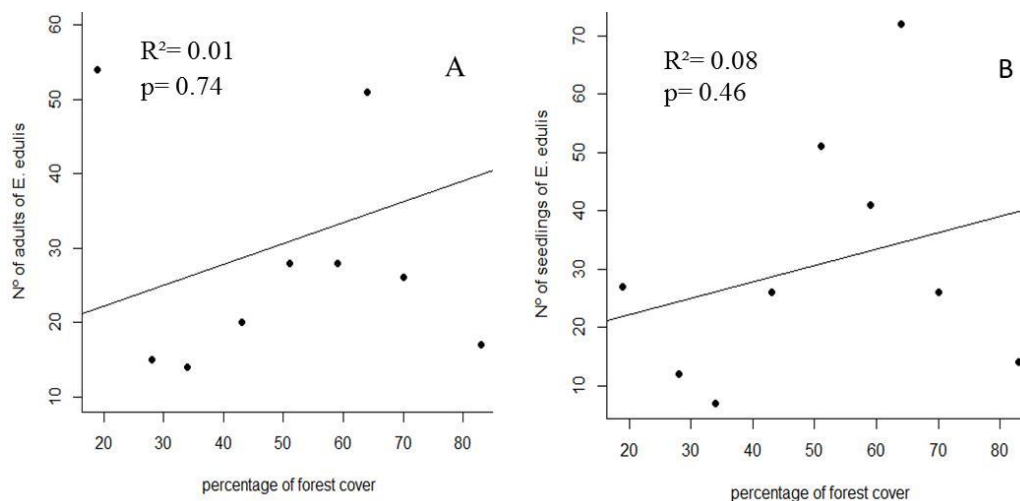


Fig. 2 Number of individuals of *Euterpe edulis* in relation to the percentage of remaining forest cover in the landscape, sampled in nine fragments immersed in landscapes along the Atlantic Forest of Southern

Bahia, Brazil, varying from 19 % up to 83 % of forest cover remaining at the landscape level (~13 km²).

a) adults; b) seedlings

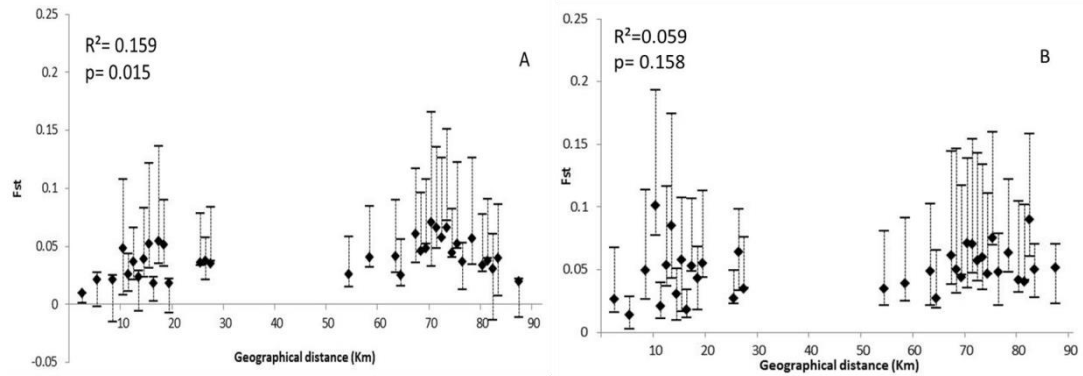


Fig. 3 F_{ST} estimated values (♦) and 95 % confidence intervals based on 10,000 bootstrap values of *Euterpe edulis*, sampled at nine sites located in anthropogenic landscapes along the Atlantic Forest of Southern Bahia, Brazil, correlated with geographical distance (km). a) F_{ST} estimated between pairwise populations of adults; b) F_{ST} estimated between pairwise populations of seedlings

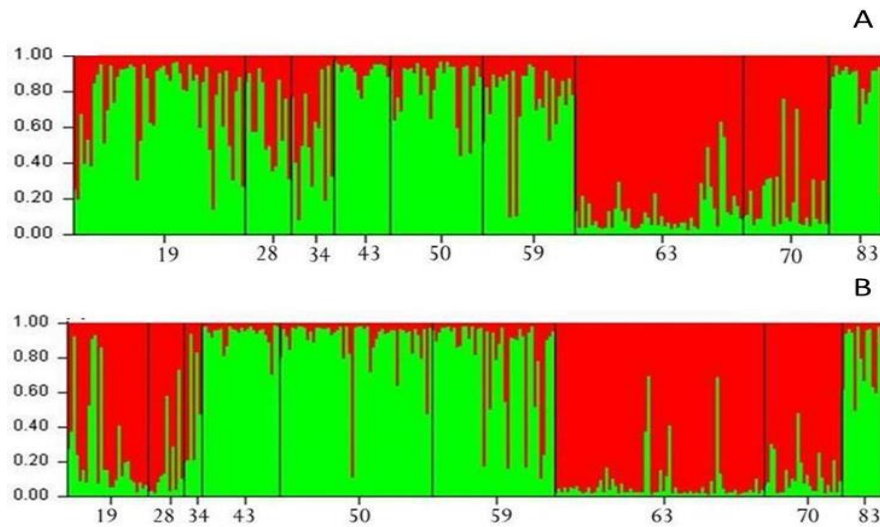


Fig. 4 Summary plot from STRUCTURE software for adults (a) and seedlings (b) of *Euterpe edulis* sampled in nine forest fragments from southern Bahia, Brazil, each one immersed in landscapes (~13 km²) with different amounts of forest cover remaining (19–83 %). Each sampled individual of *E. edulis* is

represented by a single vertical line broken into two predefined populations (clusters) here depicted in green and red, with lengths proportional to each of the inferred population

Table 1: Genetic diversity of adults and seedlings of *Euterpe edulis* sampled in nine fragments immersed in landscapes along the Atlantic Forest of Southern Bahia, Brazil, varying from 19 % up to 83 % in forest cover remaining at the landscape level (~13 km²), showing the mean values and the range (minimum and maximum values) of five parameters of genetic diversity and the regression coefficients (r^2) with associated p -values among genetic diversity and the remaining forest cover.

Genetic parameter ^a	Adults				Seedlings				t-test ^b
	Mean	Range (min–max)	r^2	p	Mean	Range (min–max)	r^2	p	
H_E	0.64	0.58–0.70	0.00	0.81	0.65	0.57–0.69	0.09	0.39	$p = 0.73$
H_O	0.58	0.49–.66	0.01	0.80	0.66	0.59–0.69	0.00	0.85	$p = 0.01$
F_{IS}	0.07	–0.04–0.17	0.01	0.78	–0.03	–0.22–0.12	0.08	0.43	$p = 0.01$
N_e	3.73	3.12–4.53	0.01	0.75	3.99	3.10–4.79	0.01	0.77	$p = 0.30$
A	3.67	0–8	0.00	0.98	3.22	0–10	0.02	0.68	$p = 0.76$

Note^a: H_E = Gene diversity; H_O = observed heterozygosity; F_{IS} = fixation index; N_e = effective alleles; A = exclusive alleles.

Note^b: T-test of genetic indices between adults and seedlings.

Acknowledgments

The authors thank Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) (Grant No. 563216/2010) and Universidade Estadual de Santa Cruz (UESC) (Grant No. 00220.1100.1320) for financing support. We also thank Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) for fellowships to the authors ASS and JCMF, and CNPq for fellowships to the authors DF and FAG. We acknowledge the team of REDE SISBIOTA and the conservation genetics group (UESC) for

their helpful scientific discussions, Jéssica Souza for her help with the laboratory analysis and Ícaro Menezes Pinto for his field assistance.

Conflict of Interest

The authors declare no conflicts of interest.

References

- Alger K, Caldas M (1994) The declining cocoa economy and the Atlantic forest of Southern Bahia, Brazil: conservation attitudes of cocoa planters. *Environment* 14:107–119
- Andrén H (1994) Effects of habitat fragmentation on birds and mammals in landscapes with different proportions of suitable habitat: A review. *Oikos* 71:355–366
- Balkenhol N, Gugerli F, Cushman SA, et al. (2009) Identifying future research needs in landscape genetics: Where to from here? *Landsc Ecol* 24:455–463. doi: 10.1007/s10980-009-9334-z
- Blanquart F, Gandon S, Nuismer SL (2012) The effects of migration and drift on local adaptation to a heterogeneous environment. *J Evol Biol* 25:1351–1363. doi: 10.1111/j.1420-9101.2012.02524.x
- Brooks TM, Mittermeier RA, Mittermeier CG, et al. (2002) Habitat loss and extinction in the hotspots of biodiversity. *Conserv Biol* 16:909–923. doi: 10.1046/j.1523-1739.2002.00530.x
- Doyle JJ, Doyle JL (1987) Isolation of plant DNA from fresh tissue. *Focus* 12:13–15.
- Conte R, Sedrez dos Reis M, Mantovani A, Vencovsky R (2008) Genetic structure and mating system of *Euterpe edulis* Mart. populations: A comparative analysis using microsatellite and allozyme markers. *Heredity* 99:476–482. doi: 10.1093/jhered/esn055
- Cordeiro NJ, Howe HF (2001) Low recruitment of trees dispersed by animals in African forest fragments. *Conserv Biol* 15:1733–1741. doi: 10.1046/j.1523-1739.2001.99579.x

- Cushman SA, Shirk A, Landguth EL (2012) Separating the effects of habitat area, fragmentation and matrix resistance on genetic differentiation in complex landscapes. *Landsc Ecol* 27:369–380. doi: 10.1007/s10980-011-9693-0
- Earl DA, VonHoldt BM (2012) StructurE Harvester: A website and program for visualizing structure output and implementing the Evanno method. *Conserv Genet Resour* 4:359–361. doi: 10.1007/s12686-011-9548-7
- Ellstrand NC, Elam DR (1993) Population genetic consequences of small population size: Implications for plant conservation. *Annu Rev Ecol Syst* 24:217–242. doi: 10.1146/annurev.es.24.110193.001245
- Evanno G, Regnaut S, Goudet J (2005) Detecting the number of clusters of individuals using the software Structure: a simulation study. *Mol Ecol* 14:2611–2620. doi: 10.1111/j.1365-294X.2005.02553.x
- Fahrig L (2002) Effect of habitat fragmentation on the extinction threshold: A synthesis. *Ecol Appl* 12:346–353.
- Fahrig L (2003) Effects of habitat fragmentation on biodiversity. *Annu Rev Ecol Evol Syst* 34:487–515. doi: 10.1146/annurev.ecolsys.34.011802.132419
- Funk WC, Murphy MA (2010) Testing evolutionary hypotheses for phenotypic divergence using landscape genetics. *Mol Ecol* 19:427–430. doi: 10.1111/j.1365-294X.2009.04466.x
- Gaiotto FA, Brondani RP V., Grattapaglia D (2001) Microsatellite markers for heart of palm—*Euterpe edulis* and *E. oleracea* Mart. (Arecaceae). *Mol Ecol Notes* 1:86–88.
- Gaiotto FA, Grattapaglia D, Vencovsky R (2003) Genetic structure, mating system, and long-distance gene flow in heart of palm (*Euterpe edulis* Mart.). *Heredity* 94:399–406. doi: 10.1093/jhered/esg087
- Galetti M, Guevara R, Côrtes CM, et al. (2013) Functional extinction of birds drives rapid evolutionary changes in seed size. *Sci* 340:1086–1090

- Herrera JM, García D (2010) Effects of forest fragmentation on seed dispersal and seedling establishment in ornithochorous trees. *Conserv Biol* 24:1089–1098. doi: 10.1111/j.1523-1739.2010.01459.x
- Holderegger R, Buehler D, Gugerli F, Manel S (2010) Landscape genetics of plants. *Trends Plant Sci* 15:675–83. doi: 10.1016/j.tplants.2010.09.002
- Holderegger R, Wagner HH (2008) Landscape genetics. *Biosci* 58:199. doi: 10.1641/B580306
- Jordano P, Galetti M, Pizo MA, Silva WR (2006) Ligando frugivoria e dispersão de sementes à biologia da conservação. *Biol da Conserv Essências*, Editor Rima, São Paulo, Brasil 1–26.
- Junior LRN, Fisch STV, Ballester SD (2003) Influência da umidade do solo no desenvolvimento inicial de plantas do palmito *Euterpe edulis* Mart. em Floresta Nativa. *Rev Biociênc*, Taubaté 9:7–13
- Klank C, Ghazoul J, Pluess AR (2012) Genetic variation and plant performance in fragmented populations of globe-flowers (*Trollius europaeus*) within agricultural landscapes. *Conserv Genet* 13:873–884. doi: 10.1007/s10592-012-0337-y
- Landguth EL, Cushman SA, Schwartz MK, et al. (2010) Quantifying the lag time to detect barriers in landscape genetics. *Mol Ecol* 4179–4191. doi: 10.1111/j.1365-294X.2010.04808.x
- Leitman P, Henderson A, Noblick L, Soares K (2013) Lista de Espécies da Flora do Brasil. In: Jardim Botânico do Rio de Janeiro. <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB15712>. Accessed 20 Mar 2014
- Lôbo D, Leão T, Melo FPL, et al. (2011) Forest fragmentation drives Atlantic Forest of northeastern Brazil to biotic homogenization. *Divers Distrib* 17:287–296. doi: 10.1111/j.1472-4642.2010.00739.x
- Lowe A, Boshier D, Ward M, et al. (2005) Genetic resource impacts of habitat loss and degradation; reconciling empirical evidence and predicted theory for neotropical trees. *Heredity (Edinb)* 95:255–73. doi: 10.1038/sj.hdy.6800725

- Manel S, Joost S, Epperson BK, et al. (2010) Perspectives on the use of landscape genetics to detect genetic adaptive variation in the field. *Mol Ecol* 19:3760–72. doi: 10.1111/j.1365-294X.2010.04717.x
- Manel S, Schwartz MK, Luikart G, Taberlet P (2003) Landscape genetics: Combining landscape ecology and population genetics. *Trends Ecol Evol* 18:189–197. doi: 10.1016/S0169-5347(03)00008-9
- Martinelli G, Moraes MA (2013) Livro vermelho da flora do Brasil. Instituto de Pesquisas Jardim Botânico do Rio de Janeiro, 1ed – Rio de Janeiro, pp 187–195.
- Martini AMZ, Fiaschi P, Amorim AM, Paixão JL da (2007) A hot-point within a hot-spot: A high diversity site in Brazil's Atlantic Forest. *Biodivers Conserv* 16:3111–3128. doi: 10.1007/s10531-007-9166-6
- Matos DMS, Freckleton RP, Watkinson AR (1999) The role of density dependence in the population dynamics of a tropical palm. *Ecol* 80:2635–2650
- Moran C, Catterall CP (2014) Responses of seed-dispersing birds to amount of rainforest in the landscape around fragments. *Conserv Biol* 00:1–10. doi: 10.1111/cobi.12236
- Mori SA, Boom BM, Carvalho AM de, Santos TS dos (1983) Southern Bahian moist forests. *Bot Rev* 49:155–232
- Oliveira-filho AT, Fontes MA (2000) Patterns of floristic differentiation among Atlantic Forests in southeastern Brazil and the influence of climate. *Biotropica* 32:793–810
- Pritchard JK, Stephens M, Donnelly P (2000) Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genet* 155:945–959
- Pütz S, Groeneveld J, Alves LF et al (2011) Fragmentation drives tropical forest fragments to early successional states: A modelling study for Brazilian Atlantic forests. *Ecol Modell* 222:1986–1997. doi: 10.1016/j.ecolmodel.2011.03.038

- Ribeiro MC, Metzger JP, Martensen AC et al (2009) The Brazilian Atlantic Forest: How much is left, and how is the remaining forest distributed? Implications for conservation. *Biol Conserv* 142:1141–1153. doi: 10.1016/j.biocon.2009.02.021
- Sommer S, McDevitt AD, Balkenhol N (2013) Landscape genetic approaches in conservation biology and management. *Conserv Genet* 14:249–251. doi: 10.1007/s10592-013-0473-z
- Storfer A, Murphy MA, Spear SF, et al (2010) Landscape genetics: Where are we now? *Mol Ecol* 19:3496–514. doi: 10.1111/j.1365-294X.2010.04691.x
- Tabarelli M, Silva J, Gascon C (2004) Forest fragmentation, synergisms and the impoverishment of neotropical forests. *Biodivers Conserv* 13:1419–1425
- Terborgh J, Nuñez-Iturri G, Pitman NC, et al (2008) Tree recruitment in an empty forest. *Ecol* 89:1757–68
- Thomas WMW, Carvalho AMV de, Amorim AA, et al (1998) Plant endemism in two forests in southern Bahia, Brazil. *Biodivers Conserv* 322:311–322
- Vranckx G, Jacquemyn H, Muys B, Honnay O (2012) Meta-analysis of susceptibility of woody plants to loss of genetic diversity through habitat fragmentation. *Conserv Biol* 26:228–237. doi: 10.1111/j.1523-1739.2011.01778.x
- Wright, S (1965) The interpretation of population structure by F-statistic with special regard to systems of mating. *Evol* 19:39–420
- Young A, Boyle T, Brown T (1996) Population genetic consequences of consequences of the population genetic habitat fragmentation for plants. *Tree* 11:413–418
- Zellmer AJ, Knowles LL (2009) Disentangling the effects of historic vs. contemporary landscape structure on population genetic divergence. *Mol Ecol* 18:3593–3602. doi: 10.1111/j.1365-294X.2009.04305.x

Capítulo 2

Genética da paisagem de uma palmeira tropical: Consequências da redução de floresta em paisagens originalmente dominadas por Mata Atlântica

Genética da paisagem de uma palmeira tropical: Consequências da redução de floresta em paisagens originalmente dominadas por Mata Atlântica

Alessandro Souza Santos, Eliana Cazetta, Deborah Faria and Fernanda Amato Gaiotto

Alessandro Souza Santos

Pós-Graduação em Ecologia e Conservação da Biodiversidade, Universidade Estadual de Santa Cruz, Rodovia Ilhéus-Itabuna, km 16, Ilhéus, BA, Brazil, CEP 45662-900

Eliana Cazetta, and Deborah Faria

Laboratório de Ecologia Aplicada à Conservação, Departamento de Ciências Biológicas, Universidade Estadual de Santa Cruz, Rodovia Ilhéus-Itabuna, km 16, Ilhéus, BA, Brazil, CEP 45662-900

Fernanda Amato Gaiotto

Laboratório de Marcadores Moleculares, Centro de Biotecnologia e Genética, Universidade Estadual de Santa Cruz, Rodovia Ilhéus-Itabuna, km 16, Ilhéus, BA, Brazil, CEP 45662-900

E-mail: gaiotto@uesc.br

Tel.: (73) 36805440

Fax: (73) 36805226

Resumo: A redução de floresta representa uma das principais ameaças em florestas tropicais, que atingiu níveis históricos e extremamente preocupantes de perda de espécies. A perda de floresta impacta a biodiversidade através da redução na disponibilidade de recursos e com os efeitos sinérgicos da fragmentação florestal, pode intensificar os impactos negativos. Desta maneira, compreender como a redução da floresta impacta os recursos genéticos é estratégico para conservação em nível de paisagem. Nosso objetivo foi avaliar empiricamente os efeitos da redução de floresta em escala de paisagem, sobre estrutura genética espacial e fluxo gênico da espécie *Euterpe edulis* Mart (Arecaceae). Selecionamos aleatoriamente 9 paisagens de 2 km cada e coletamos folhas de todos indivíduos adultos numa parcela 15 x 400m e de todas plântulas numa parcela de 2 x 400m no centro desta maior. O estudo foi desenvolvido em remanescentes da Mata Atlântica na região sul do estado da Bahia, nordeste do Brasil. Para avaliar os parâmetros genéticos de *E. edulis* nessas áreas, utilizamos 13 locos microssatélites. Nossos resultados mostraram que a redução de floresta na

paisagem não influencia a estrutura genética espacial de plântulas e adultos. Foi observado uma redução na distância de fluxo gênico em paisagens com baixa porcentagem de floresta, que pode impactar negativamente na diversidade genética nas futuras gerações, através do aumento de parentesco (endogamia) que pode diminuir a adaptabilidade (*fitness*) dos indivíduos e aumentar os riscos de extinção local. Para estratégias eficientes de conservação da variabilidade genética e manutenção do fluxo gênico de *E. edulis*, recomendamos manutenção de paisagens $\geq 43\%$ de floresta.

Palavras chave: Conectividade funcional, ecologia da paisagem, árvores tropicais.

Introdução

A perda de floresta representa a principal ameaça para extinção de espécies nos *hotspots* de biodiversidade (Brooks *et al.* 2002). Essas taxas de extinções de espécies atingiu níveis históricos e sem precedentes (Pimm *et al.* 2014). Portanto, compreender como a redução de floresta impacta a persistência de espécies é prioritário para conservação. Segundo estudos teóricos e empíricos, quando o fragmento é reduzido a cerca de 60% do seu tamanho original, aumentam os riscos de extinção local (Andrén 1994; Huggett 2005; Pardini *et al.* 2010). Além disso, é sabido que paisagens com grande proporção de habitat disponível, a configuração espacial desses remanescentes florestais interfere pouco na persistência da população (Andrén 1994). Contudo, paisagens com quantidade de floresta variando entre 10% – 30% do tamanho original, a fragmentação desempenha importante papel (Andrén 1994). Neste caso, ocorre o limiar de fragmentação, provocando isolamento estrutural entre remanescentes florestais (Andrén 1994; Pardini *et al.* 2010; Lima & Mariano-Neto 2014). Dessa maneira, em paisagens com baixa porcentagem de floresta remanescente pode ocorrer interações entre perda e fragmentação de floresta e gerar um efeito sinérgico potencializando a perda de biodiversidade (Tabarelli *et al.* 2004).

Neste contexto, a mudança na conexão estrutural pode influenciar na estrutura genética espacial (EGE) que depende da capacidade da dispersão de pólen e sementes das espécies (Hamrick *et al.* 1993; Hardy *et al.* 2006; Dick *et al.* 2008). A EGE refere-se à distribuição não aleatória dos genótipos no espaço, causada pela formação local de pedigree, onde existe maior semelhança genética entre indivíduos próximos entre si do

que entre indivíduos geograficamente distantes (Loiselle *et al.* 1995; Vekemans & Hardy 2004). Desta maneira, a EGE pode ser utilizada como medida indireta de fluxo gênico histórico e contemporâneo (Vekemans & Hardy 2004) e avaliar os impactos gerados pela redução e fragmentação florestal sobre populações remanescentes (Wang *et al.* 2011).

Por outro lado, estimativas de fluxo gênico contemporâneo podem ser acessadas através de testes de paternidade (Ashley 2010; Harrison *et al.* 2013). Estudos com abordagem de fluxo gênico contemporâneo tem demonstrado que a resposta à fragmentação florestal pode variar entre espécies (Kramer *et al.* 2008). Espécies com dispersão de sementes e pólen pelo vento ou que são dispersas por animais com ampla capacidade de dispersão, não são influenciadas pela fragmentação (Ahmed *et al.* 2009; Aavik *et al.* 2014). Estudos empíricos realizados em ampla escala espacial registraram fluxo gênico com distâncias variando entre 100 km (Robledo-Arnuncio 2011) e 220 km (Broeck *et al.* 2014) via dispersão de pólen em florestas temperadas. Nestas florestas, a dispersão ocorre principalmente pelo vento (Ahmed *et al.* 2009; Robledo-Arnuncio 2011; Broeck *et al.* 2014). Por outro lado, em florestas tropicais, onde a maioria das espécies são zoocóricas (Howe & smallwood 1982), estudos empíricos demonstrando fluxo gênico à longa distância são raros e de menor distância se comparado com florestas temperadas. Portanto, a dispersão à longa distância possui grande relevância ecológica, podendo impactar na dinâmica de populações, através da conexão funcional entre fragmentos florestais (Carlo *et al.* 2013). Portanto, este tipo de dispersão é importante para a conexão genética entre populações, diminuindo as chances de ocorrer endogamia e deriva genética em populações pequenas (Willi & Fischer 2005; Pickup & Young 2008). Desta maneira, estudos de fluxo gênico são estratégicos para o manejo e a conservação de espécies em florestas fragmentadas (Colabella *et al.* 2014). Considerando a atual taxa de supressão das florestas tropicais, entender como a perda e fragmentação de floresta atua sobre o padrão de fluxo gênico torna-se estratégico para prever respostas futuras das espécies frente à heterogeneidade de fatores ambientais e da paisagem (Carlo *et al.* 2013).

Nosso objetivo foi avaliar empiricamente os efeitos da redução de floresta em escala de paisagem, sobre estrutura genética espacial e fluxo gênico de *Euterpe edulis* (Arecaceae). A espécie possui ampla ocorrência na Mata Atlântica Brasileira (Leitman *et al.* 2013), uma floresta que apresenta elevada diversidade de plantas e atualmente está

reduzida a cerca de 12 – 16% de sua extensão original (Ribeiro *et al.* 2009). *E. edulis* desempenha importante papel em manter uma elevada diversidade local, fornecendo recursos alimentares para diversas espécies (Jordano *et al.* 2006). A apreciação do meristema apical para consumo humano tem provocado exploração predatória (Matos *et al.* 1999) e, em conjunto com a redução da Mata Atlântica, conduziu a espécie para a lista de ameaçadas de extinção (Martinelli & Moraes 2013). Realizamos amostragens em 9 sítios localizados em paisagens variando entre 19 - 83% de cobertura florestal para avaliar a estrutura genética espacial e o fluxo gênico. Esperamos que a redução de floresta na paisagem influencie negativamente na distância de fluxo gênico, sendo as menores distâncias encontradas em paisagens com menores porcentagens de floresta, aumentando a relação de parentesco entre os indivíduos próximos entre si. Esperamos ainda, que populações em paisagens com maior porcentagem de floresta possua menos plântulas com genitor atribuído, como reflexo da maior fonte de pólen e sementes. Nossa terceira hipótese é que a estrutura genética espacial seja inversamente relacionada com redução de floresta na paisagem para os dois estágios ontogenéticos. Considerando ainda, que o processo de perda e fragmentação da floresta na região em estudo foi intensificado nos últimos anos, esperamos maior efeito negativo da redução de floresta na estrutura genética espacial nas populações de plântulas se comparado aos adultos.

Material e métodos

Área de estudo

A pesquisa foi conduzida em paisagens da Mata Atlântica no sul da Bahia, onde estão inseridos os maiores remanescentes florestais da região nordeste do Brasil (Ribeiro *et al.* 2009), considerados prioritários para conservação, devido a elevada riqueza e centro de endemismo de espécies (Thomas *et al.* 1998; Martini *et al.* 2007). A floresta é classificada como tropical (Oliveira-filho & Fontes 2000) com temperatura anual média de 24°C e precipitação de 1.500mm (Mori *et al.* 1983).

Desenho amostral

Este estudo faz parte da REDE SISBIOTA, que tem como objetivo avaliar os efeitos da redução de floresta sobre padrões de biodiversidade em paisagens

antropogênicas no sul Bahia. Após intensivo trabalho de validação das paisagens em campo e análise de imagens de satélite, identificamos grandes remanescentes de florestas com similares condições de solo, topografia e composição florística (Thomas *et al.* 1998), localizadas entre os rios Jequitinhonha e de Contas. Usando imagem de satélite (QuickBird and WorldView, from 2011 and RapidEye, from 2009–2010), elaboramos um mapa do uso da terra de 3.470 km² incluindo os municípios de Belmonte, Una, Santa Luzia, Mascote, e Canavieiras.

A quantidade de cobertura florestal mapeada nessas regiões inclui não apenas florestas nativas em diferentes estágios de sucessão ecológica, mas também plantações de cacau (*Theobroma cacao*) no sistema agroflorestal cacau-cabruca, além de plantações de seringueiras (*Hevea brasiliensis*) e de eucalipto (*Eucalyptus* sp).

O mapa foi usado para identificar e quantificar visualmente as diferentes categorias de uso da terra na escala de 1:10.000. Neste estudo, consideramos apenas a quantidade de floresta nativa na paisagem em nossa estimativa de cobertura florestal, excluindo as demais classes de vegetação (*Theobroma cacao*, *Hevea brasiliensis* e *Eucalyptus* sp).

Com base neste mapeamento, identificamos 48 sítios de floresta com distância mínima de 1 km entre eles para garantir a independência amostral. Usando ArcGIS (10.2), calculamos a porcentagem de floresta nativa no raio de 2 km na paisagem destes 48 sítios a partir do ponto central de cada um. Destas paisagens, foram selecionadas aleatoriamente 16 sítios de amostragens com porcentagem de floresta variando entre 6-83%. Contudo, consideramos para amostragem os sítios onde detectamos pelo menos cinco indivíduos de cada estágio ontogenético, restando apenas 9 sítios, com porcentagem de floresta variando entre 19% - 83% (Santos *et al* 2014). Para amostrar as populações de *E. edulis* em cada sítio de amostragem, inserimos uma parcela de 15 x 400m para coleta de folhas de todos indivíduos adultos e uma parcela de 2 x 400m no centro desta maior, para coletar amostras de folhas de todas as plântulas com tamanho ≤ 15 cm de altura.

Extração de DNA e genotipagem com locos microssatélites

A extração de DNA de folhas de *E. edulis* foi realizada através do protocolo CTAB (Doyle & Doyle 1987). Para as análises genéticas, foram genotipadas todas as

amostras de plântulas e adultos, usando treze locos microssatélites nucleares desenvolvidos para espécie (Gaiotto *et al.* 2001). As condições laboratoriais e condições das reações de PCR seguiram o protocolo estabelecido por Gaiotto *et al.* (2001). As reações de PCR foram realizadas em multiplex com a seguinte composição de locos: (i) duplex com EE43 e EE45; EE48 e EE54; EE8 e EE23; (ii) PCR simples foram realizadas com os loci: EE32; EE15; EE8, EE3, EE47, EE59 e EE63. Foram realizadas eletroforeses em sistema capilar no analisador automático de DNA ABI3500 (Applied Biosystems), com base em três sistemas *multiload*: (i) *pentaload* I, composto dos loci EE15, EE32, EE3, EE8, e EE23; (ii) *pentaload* II, composto dos locos EE43, EE45, EE48, EE54, e EE9; (iii) *triload* com os loci EE47, EE59 e EE63.

Um mix contendo volumes iguais de produto de PCR de cada loco foi preparado. Depois, pegamos 2 µl desse mix com os respectivos loci e adicionamos 0,2 µl de padrão Liz GeneScan-500 (Applied Biosystems, Thermo-Fisher Scientific, Inc., Waltham, MA, USA) e 7,8µl de formamida deionizada (Applied Biosystems). Após a eletroforese, o tamanho dos fragmentos foram obtidos utilizando o programa GeneMarker Versão 2.2 (SoftGenetics, State College, PA, USA).

Análises de dados

Para análise de paternidade utilizou-se todas as plântulas (N=273) e todos indivíduos adultos (N=245), considerados como possíveis genitores. A paternidade foi determinada através da estatística Δ (Marshall *et al.* 1998) no programa Cervus versão 3.0 (Kalinowski *et al.* 2007). O valor crítico de Δ para cada intervalo de confiança foi obtido através de 10.000 simulações para determinar os prováveis genitores de sexo desconhecido, com proporção de 0.01 de erro de genotipagem por loco com intervalo de confiança restrito de 95%. Para as plântulas que apresentaram provável genitor a longa distância (≥ 2 km), realizou-se uma análise posterior de exclusão de paternidade. A análise de exclusão foi realizada por comparação dos genótipos do provável genitor contra sua provável plântula descendente. O índice de paternidade (PI) foi estimado para cada loco e o índice de paternidade combinada (CPI) entre os loci, foi utilizado para inferir a probabilidade de paternidade (PP). De acordo com o método descrito por Weir (1996). Foi utilizado uma probabilidade a priori (P) para estimativas de PP de 0.5. Esta P é utilizada para análise de PP em humanos, onde cada candidato a genitor tem 50% de chances de ser ou não o progenitor verdadeiro de um descendente (Gjertson &

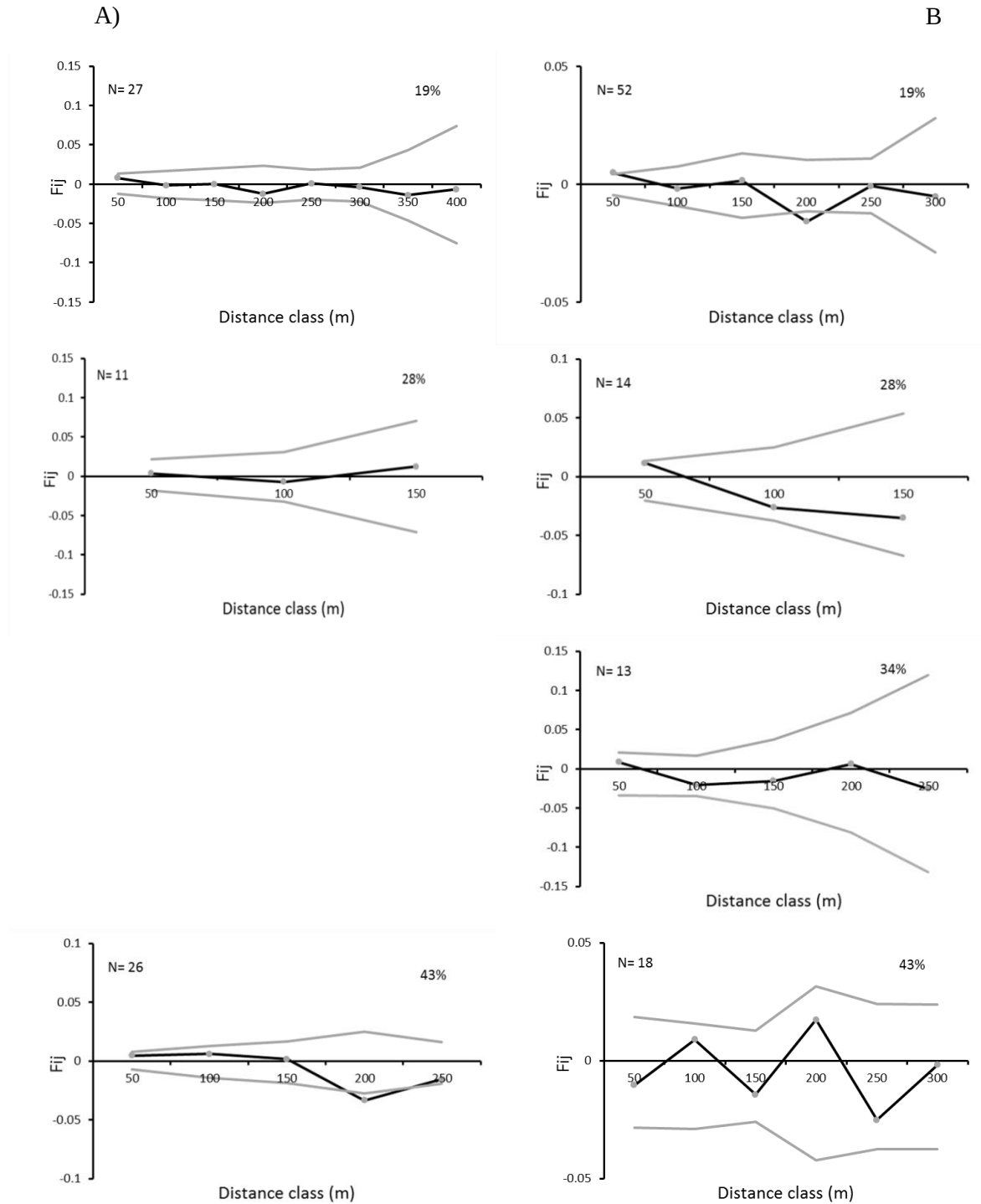
Morris 1995). Para estimar o PI de cada loco foram utilizadas as frequências alélicas dos 245 indivíduos adultos de *E. edulis*. A porcentagem de plântulas com genitor atribuído e distância geográfica de fluxo gênico de *E. edulis* dentro de cada sitio de amostragem, foi relacionada com o remanescente de floresta na paisagem, utilizando análise de regressão linear simples no programa R versão 3.0.2.

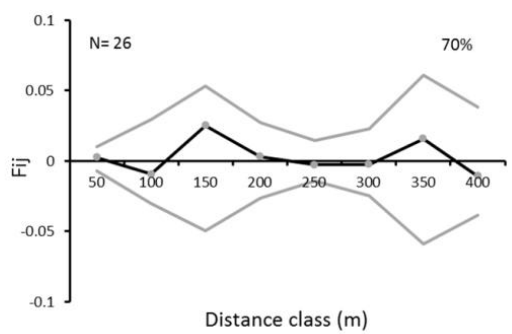
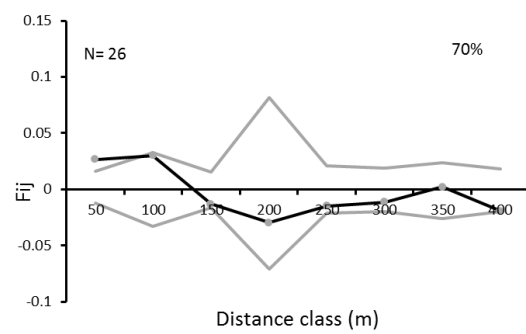
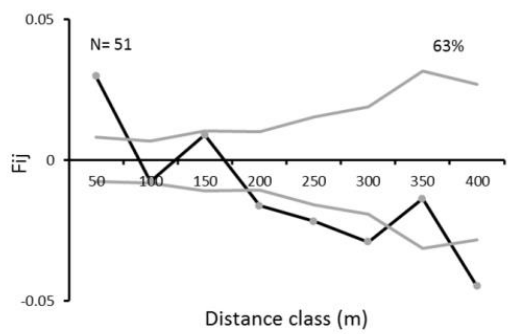
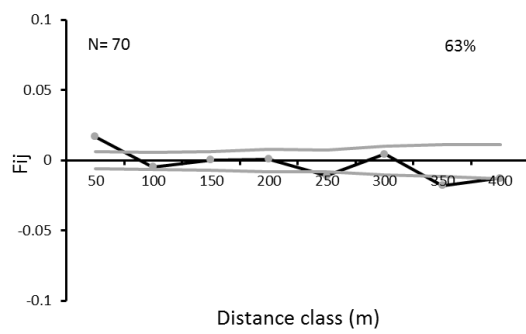
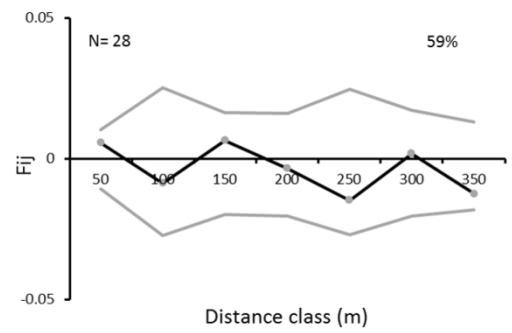
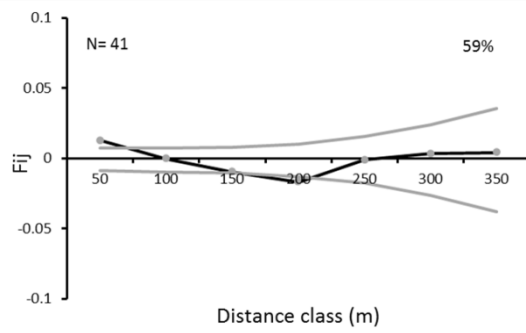
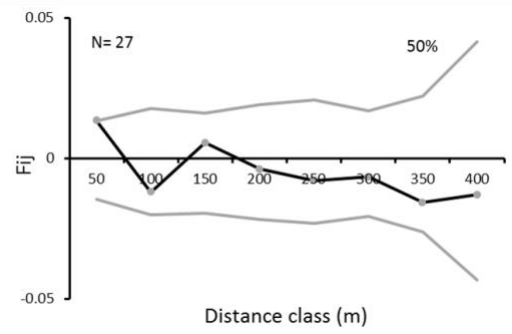
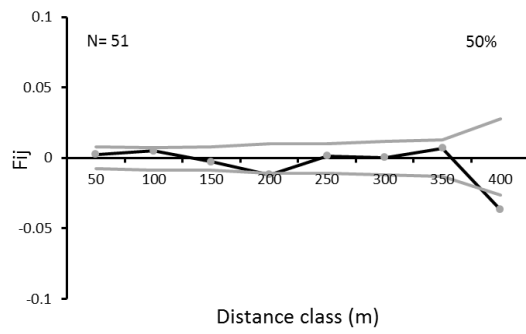
A estrutura genética espacial das populações de *E. edulis* foi estimada através do programa Spagedi versão 1.4 (Vekemans & Hardy 2004). Para avaliar a distância espacial entre os indivíduos, foi atribuído oito classes de distância com intervalo de 50m entre 0 – 400m e a média do coeficiente de parentesco (Fij) calculada segundo (Loiselle *et al.* 1995). O intervalo de confiança a 95% para cada classe de distância foi obtido através de 10.000 permutações sobre a localização de cada genótipo. A estrutura genética espacial média dos estágios ontogenéticos de plântulas e adultos foram comparados usando teste t para amostras independentes no programa R. A estrutura genética espacial média das plântulas e adultos também foi avaliada para o remanescente de floresta na paisagem através de análise de regressão linear simples no programa R.

Resultados

A estrutura genética espacial das populações de *E. edulis* adultos e plântulas avaliadas separadamente, apresentaram valores baixos de coeficiente de parentesco médio (Fij) em ambos estágios ontogenéticos (figura 1 A e B). No estágio de plântula, as paisagens com 59% e 63% de floresta, apresentaram estrutura genética observada maior que a esperada na primeira classe de distância (0-50m) ($p < 0,01$ para ambas). A paisagem com 70% de floresta apresentou estrutura genética maior que a esperada na primeira (0-50m) e segunda (50-100) classe de distância ($p < 0,01$ e $p = 0,03$ respectivamente). No estágio de adulto, as paisagens com 19%, 28%, 50% e 83% de floresta apresentaram estrutura genética observada maior que a esperada na primeira classe de distância (0-50m) ($p < 0,01$; $p = 0,03$; $p = 0,02$ e $p = 0,05$ respectivamente). A paisagem com 63% de floresta apresentou estrutura genética observada maior que a esperada na primeira (0-50m) e terceira (100-150) classe de distância ($p < 0,01$ e $p = 0,04$). O valor médio da estrutura genética espacial das populações de plântulas é baixo (0.001), porém, significativamente maior ($p = 0.034$) que a média das populações de adultos (-0.003). A redução de floresta na paisagem não influencia a estrutura genética

especial de plântulas e adultos ($R^2 = 0.11$, $p = 0.37$ e $R^2 = 0.00$, $p = 0.90$ respectivamente), apesar de se notar um aumento significativo nos níveis de parentesco entre as plântulas quando comparado ao parentesco entre adultos.





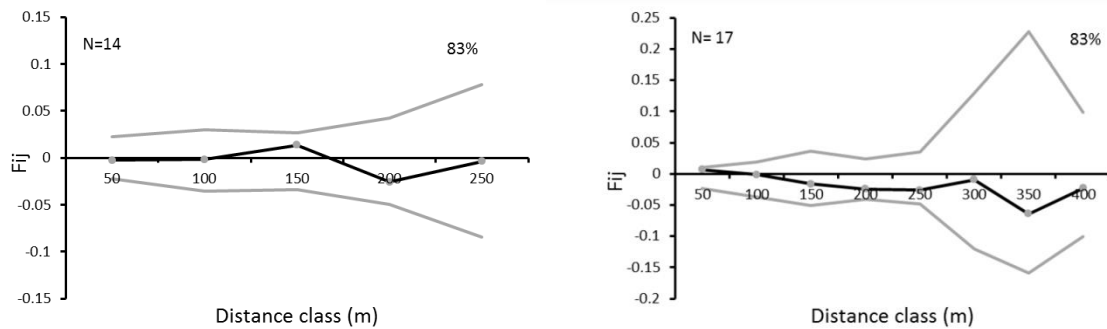


Figura 1: Estrutura genética espacial em *Euterpe edulis* (N = número de indivíduos genotipados em paisagens ao longo da Mata Atlântica no sul da Bahia, com porcentagem de floresta na paisagem variando entre 19% - 83%). As linhas cinza indicam intervalo de confiança de 95% para coeficiente de parentesco médio (F_{ij}) observado (●). A) Plântulas de *Euterpe edulis* amostradas em oito fragmentos inseridos em paisagens variando de 19% -83% de floresta; B) Adultos de *Euterpe edulis* amostrados em nove fragmentos inseridos em paisagens variando de 19% -83% de floresta.

Das 273 plântulas analisadas no teste de paternidade/maternidade foi atribuído um provável genitor para 17. A porcentagem de plântulas com genitor atribuído dentro dos sítios de amostragem possui uma relação inversa e significativa com a redução de floresta na paisagem (Figura 2). A distância geográfica de fluxo gênico de *E. edulis* dentro dos sítios de amostragem apresentou correlação positiva e não significativa com a porcentagem de floresta na paisagem (Figura3). Contudo, quando realizamos análises removendo a paisagem com 19%, observamos forte influencia da porcentagem de floresta sobre fluxo gênico ($R^2 = 0.719$ $p = 0.020$). Além disso, nossos resultados demonstram fluxo gênico entre populações inseridas em paisagem com porcentagem de floresta intermediária e alta com distância máxima de 13 km (Tabela1).

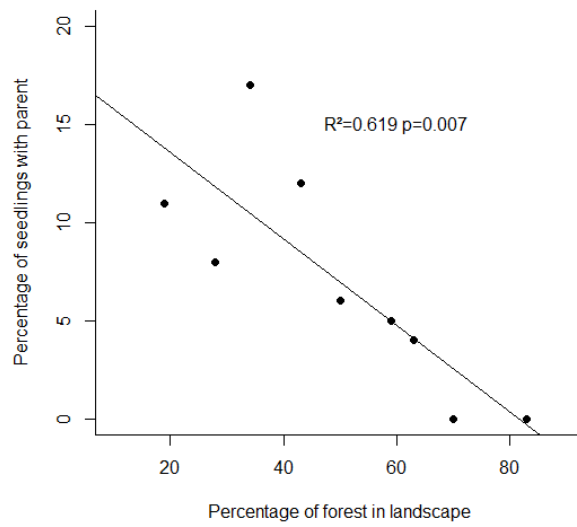


Figura 2: Porcentagem de plântulas com parental (Pai ou mãe) dentro de remanescentes florestais inseridos no gradiente de floresta na paisagem.

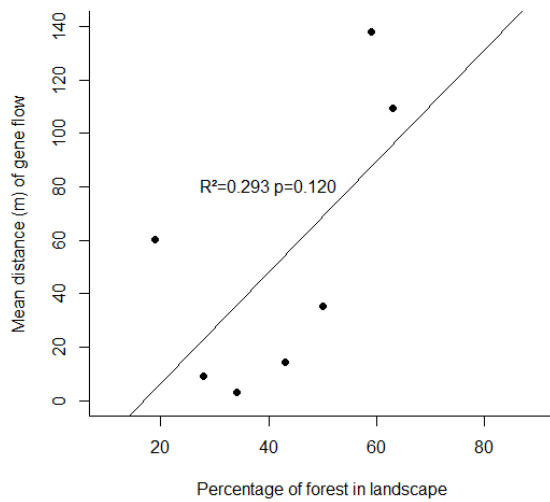


Figura 4: Distância geográfica média (m) de fluxo gênico de *Euterpe edulis* dentro de remanescentes florestais inseridos no gradiente de floresta na paisagem.

Tabela 1: Fluxo gênico entre paisagens: %^a = Porcentagem de floresta na paisagem da progênie; %^b = Porcentagem de floresta na paisagem do genitor; P = 0.5 Probabilidade de paternidade ou maternidade obtida a partir da probabilidade a priori(P) de 0.5; Distância (Km) = Distância geográfica entre as paisagens.

Progênie	% ^a	Genitor	% ^b	P= 0.5	Distância (Km)
P172	63	A185	70	0.998672931	2
P061	50	A003	43	0.999930484	5
P275	83	A018	43	0.998812611	8
P106	59	A016	43	0.999767368	10
P055	50	A080	59	0.999223400	13

Discussão

A porcentagem de cobertura florestal na paisagem não influenciou na estrutura genética espacial (EGE) de plântulas e adultos como previa nossa hipótese a priori e estudos teóricos e empíricos para padrões (Andrén 1994; Fahrig 2002) e interações ecológicas (Valiente-Banuet *et al.* 2014). Além disso, os valores de parentesco não diminuí com distância geográfica, como seria esperado pelo modelo de isolamento por distância (Barbujani 1987). A EGE das populações de plântulas e adultos de *E. edulis* é considerada baixa, como previsto para espécies vegetais com dispersão de pólen e sementes á longa distância (Loiselle *et al.* 1995). Os valores baixos do coeficiente de parentesco médio (Fij) nos dois estágios ontogenéticos, indicam que os indivíduos analisados são pouco aparentados e apresentam diversificada fonte de pólen e sementes (Hamrick & Trapnell 2011). Outro fator que pode explicar à baixa EGE em *E. edulis*, são os valores baixos ou não significativos de endogamia nessas populações (Santos *et al.* 2014). Desta maneira, o baixo índice de cruzamento entre indivíduos aparentados (Fis), contribui para baixa EGE. Por outro lado, o valor médio da EGE encontrado nas populações de plântulas foi significativamente maior que a média da EGE nas populações de adultos. Contudo, considerando que os valores das médias de EGE das plântulas (0.001) e adultos (-0.003) são baixas e muito próximas de zero, pode-se considerar que a interpretação biológica não difere. A pouca diferença encontrada entre os estágios ontogenéticos era esperado, pois, considerando que *E. edulis* é uma espécie

arbórea, seria necessário um longo período de tempo para ocorrer alterações genéticas (Landguth *et al.* 2010). Além disso, considerando que a redução de floresta na região de estudo ocorreu principalmente a partir da década de 60 (Alger and Caldas 1994), não teria decorrido tempo suficiente para grandes alterações genéticas. Portanto, provavelmente a EGE de plântulas e adultos é influenciada pela estrutura e composição genética das gerações do passado (Aguilar *et al.* 2008; Metzger *et al.* 2009; Landguth *et al.* 2010), quando a paisagem apresentava grandes manchas de floresta contínua.

A baixa porcentagem de plântulas com genitor atribuído indica que, apesar da perda e fragmentação da floresta na região em estudo, as populações ainda mantêm elevada diversidade de indivíduos, contribuindo na fonte de pólen e formação de sementes. Contudo, a amostragem incompleta dos possíveis genitores pode ter criado um viés nos resultados, subestimando a quantidade de plântulas com genitor atribuído (Harrison *et al.* 2013). Apesar desse fator, foi observado menor porcentagem de plântulas com genitor atribuído em paisagens com maior porcentagem de floresta. Esse resultado indica que estas populações inseridas em paisagens com maior porcentagem de floresta mantêm maior diversidade de indivíduos contribuindo na fonte de pólen e sementes se comparado às populações em baixa porcentagem de floresta. Além disso, o fato de paisagens com menos de 19% de floresta, apresentarem menos que cinco indivíduos de *E. edulis*, aumenta ainda mais a vulnerabilidade da espécie a fatores estocásticos (Santos *et al.* 2014). Portanto, nossos resultados indicam que pode ocorrer aumento da relação de parentesco entre os indivíduos, aumento da endogamia e redução da diversidade genética ao decorrer das gerações (Quesada *et al.* 2013), influenciando a viabilidade de populações em paisagens com baixa porcentagem de floresta.

Porcentagem de floresta na paisagem exerce forte influência na distância de fluxo gênico no raio de 2 km. Contudo, esse padrão é evidenciado apenas, quando a análise é realizada sem a paisagem com 19% de floresta. Essa paisagem foi removida dessa análise, por ser a única área que possui um histórico de “manejo”, onde os proprietários não permitem exploração de recursos da floresta remanescente (comunicação pessoal). Importante ressaltar, que mesmo com poucos pontos para análise de regressão, a influência da porcentagem de floresta sobre distância de fluxo gênico foi significativo. Isso demonstra claramente que perda de floresta é um importante *driver* para fluxo gênico de *E. edulis*. A menor distância média de fluxo gênico

encontrado em paisagens com as menores porcentagens de floresta indica uma provável limitação dos agentes dispersores de sementes e pólen (Scheepens *et al.* 2012). É sabido que a riqueza das aves frugívoras, que são as principais dispersoras de sementes de *E. edulis* na região, diminui abruptamente em paisagens com baixa porcentagem de floresta (Morante *et al.* 2014). Outra hipótese, é que paisagens com baixa porcentagem de floresta possua menos habitats disponíveis para recrutamento de plântulas (Santos *et al.* 2014), funcionando como *driver* em escala local para distância de fluxo gênico. Sendo assim, redução de fluxo gênico intrapopulacional pode impactar negativamente na diversidade genética nas futuras gerações, através do aumento de parentesco (coancestria) que diminui a adaptabilidade dos indivíduos e aumenta os riscos de extinção local (Scheepens *et al.* 2012).

A análise de paternidade revelou fluxo gênico contemporâneo com distância de 13 km entre populações (paisagens). A capacidade de dispersão à longa distância é fundamental para persistência de espécies, frente às mudanças antrópicas da paisagem (Trakhtenbrot *et al.* 2005), assim como mudanças climáticas (Mcconkey 2011). Desta maneira, decorrente ao atual estado crítico de redução e fragmentação da Mata Atlântica (Ribeiro *et al.* 2009), essa capacidade de fluxo gênico à longa distância é vital para persistência de *E. edulis*. O fluxo gênico esporádico entre remanescentes florestais pode contribuir para manutenção da dinâmica populacional, minimizando ou inibindo diferenciação genética entre populações e possivelmente uma futura redução da diversidade genética local (Hardesty *et al.* 2006; Kramer *et al.* 2008). Portanto, o fluxo gênico à longa distância é importante para manter conexão funcional (genética) entre populações (Matter *et al.* 2013; Colabella *et al.* 2014), diminuindo as chances de ocorrer endogamia e deriva genética, que aumentam as chances de extinção local (McCallum *et al.* 2014). Portanto, a dispersão à longa distância de genes (fluxo gênico), possibilita propor estratégias eficientes de conectividade ecológica (Carlo *et al.* 2013). Contudo, não sabemos se o fluxo gênico de longa distância se deu via pólen ou sementes. Considerando à existência de fluxo gênico com distância de 22 km para *E. edulis* que pode ter ocorrido através da dispersão de sementes por aves (Gaiotto *et al.* 2003), podemos supor que o fluxo gênico encontrado no presente estudo, provavelmente se deu por dispersão de sementes por aves, que são os principais dispersores de sementes da espécie (Galetti *et al.* 2013, material suplementar). Além disso, os principais polinizadores de *E. edulis* (i.e. abelhas da espécie *Trigona spinipes*), possuem curta

distância de deslocamento (Mantovani & Morellato, 2000). Acrescenta-se ainda, que os resultados de fluxo gênico contemporâneo apresentou resultados convergentes com as análises realizadas de F_{ST} (Santos *et al.* 2014) e EGE. As análises com F_{ST} demonstraram baixa diferenciação genética entre as populações, sendo um indicativo de fluxo gênico entre elas. Além disso, as populações apresentaram baixa EGE, característico de espécies com dispersão a longa distância, como registrado no presente estudo.

O registro de fluxo gênico à longa distância entre populações, ocorre apenas entre paisagens com porcentagem de floresta intermediária e alta. Esse resultado pode ser reflexo da maior riqueza de aves frugívoras nestas paisagens se comparado às paisagens de baixa porcentagem de floresta (Morante *et al.* 2014). Outra hipótese, é que às paisagens com baixa porcentagem de floresta apresentem poucos habitats adequados para germinação de sementes e estabelecimento de plântulas (Santos *et al.* 2014). Assim, as sementes podem chegar nessas paisagens e não conseguir se estabelecer (Lowe *et al.* 2005). Esse resultado, indica que populações inseridas em paisagens com baixa porcentagem de floresta são mais propensas a aumentar o grau de diferenciação genética em relação as demais populações e ocorrer mudança no pool gênico ao longo do tempo (Santos *et al.* 2014). Portanto, para estratégias de conservação a nível de paisagem, visando manutenção de processos microevolutivos e paisagens funcionalmente conectadas através de fluxo gênico, recomendamos paisagens com porcentagem de floresta remanescente $\geq 43\%$. Por outro lado, a paisagem com 19% de floresta demonstra uma “janela” de oportunidade para estratégias de conservação, quando restar pouca floresta na paisagem, buscando minimizar os efeitos deletérios causados pela redução de floresta. Deste modo, podendo ser utilizada como medida de emergência para manter diversidade genética (Santos *et al.* 2014) e fluxo gênico intrapopulacional, disponibilizando tempo para estratégias de conservação a longo prazo (p.e: Manejo da paisagem, restauração de habitat).

Em conclusão, a abordagem empírica de fluxo gênico contemporâneo e distribuição espacial da diversidade genética de *E. edulis* em remanescentes florestais de paisagens antrópicas, possibilitou compreender a influência da redução de floresta em escala de paisagem sobre processos ecológicos. Desta maneira, nosso estudo contribui para a compreensão da conectividade funcional de paisagens com diferentes

porcentagens de floresta remanescentes, que pode auxiliar na gestão e conservação eficiente da variabilidade genética de *E. edulis*, uma espécie ameaçada de extinção.

Referências

- Aavik T, Holderegger R, Bolliger J (2014) The structural and functional connectivity of the grassland plant *Lychnis flos-cuculi*. *Heredity*, **112**, 471–478.
- Aguilar R, Quesada M, Ashworth L *et al.* (2008) Genetic consequences of habitat fragmentation in plant populations : susceptible signals in plant traits and methodological approaches. *Molecular Ecology*, **17**, 5177–5188.
- Ahmed S, Compton SG, Butlin RK, Gilmartin PM (2009) Wind-borne insects mediate directional pollen transfer between desert fig trees 160 kilometers apart. *PNAS*, **106**, 20342–20347.
- Alger K, Caldas M (1994) The declining cocoa economy and the Atlantic forest of Southern Bahia, Brazil: conservation attitudes of cocoa planters. *Environment* **14**:107–119
- Andrén H (1994) Effects of habitat fragmentation on birds and mammals in landscapes with different proportions of Suitable habitat: a review. *Oikos*, **71**, 355 – 366.
- Ashley M V. (2010) Critical Reviews in Plant Sciences Plant Parentage , Pollination , and Dispersal : How DNA Microsatellites Have Altered the Landscape Plant Parentage , Pollination , and Dispersal : How DNA Microsatellites Have Altered the Landscape. *Critical Reviews in Plant Sciences*, **29**, 148–161.
- Barbujani G (1987) Autocorrelation of Gene Frequencies Under Isolation. *Genetics*, **117**, 777–782.
- Broeck V, Broeck A Vanden, Landuyt W Van *et al.* (2014) High levels of effective long-distance dispersal may blur ecotypic divergence in a rare terrestrial orchid High levels of effective long-distance dispersal may blur ecotypic divergence in a rare terrestrial orchid. *BMC Ecology*, **14:20**, 1–14.
- Brooks TM, Mittermeier RA, Mittermeier CG *et al.* (2002) Habitat Loss and Extinction in the Hotspots of Biodiversity. *Conservation Biology*, **16**, 909–923.
- Carlo TA, García D, Martínez D, Gleditsch JM, Morales JM (2013) Where do seeds go when they go far? Distance and directionality of avian seed dispersal in heterogeneous landscapes. *Ecology*, **94**, 301–307.
- Colabella F, Gallo LA, Moreno AC, Marchelli P (2014) Extensive pollen flow in a natural fragmented population of Patagonian cypress *Austrocedrus chilensis*. *Tree Genetics & Genomes*, 1519–1529.
- Côrtes MC, Uriarte M, Lemes MR *et al.* (2013) Low plant density enhances gene dispersal in the Amazonian understory herb *Heliconia acuminata*. *Molecular Ecology*, 5716–5729.
- Dick CW, Hardy OJ, Jones FA, Petit RJ (2008) Spatial Scales of Pollen and Seed-Mediated Gene Flow in Tropical Rain Forest Trees. *Tropical Plant Biology*, **1**, 20–33.
- Fahrig L (2000) Habitat loss : ecological , evolutionary. , **15**, 132–134.
- Fahrig L (2002) Effect of habitat fragmentation on the extinction threshold : A synthesis. *Ecological Applications*, **12**, 346–353.

- Gaiotto FA, Brondani RP V., Grattapaglia D (2001) Microsatellite markers for heart of palm — *Euterpe edulis* and *E. oleracea* Mart. (Arecaceae). *Molecular Ecology Notes*, **1**, 86–88.
- Gaiotto FA, Grattapaglia D, Vencovsky R (2003) Genetic structure, mating system, and long-distance gene flow in heart of palm (*Euterpe edulis* Mart.). *Journal of Heredity*, **94**, 399–406.
- Gjertson DW, Morris JW (1995) Assessing probability of paternity and the product rule in DNA systems. *Genetica*, **96**, 89–98.
- Hamrick AJL, Murawski DA, Nason JD (1993) The Influence of Seed Dispersal Mechanisms on the Genetic Structure of Tropical Tree Populations. *Vegetatio*, **107**, 281–297.
- Hamrick JL, Trapnell DW (2011) Using population genetic analyses to understand seed dispersal patterns. *Acta Oecologica*, **37**, 641–649.
- Hardesty BD, Hubbell SP, Bermingham E (2006) Genetic evidence of frequent long-distance recruitment in a vertebrate-dispersed tree. *Ecology Letters*, **9**, 516–525.
- Hardy OJ, Maggia L, Bandou E *et al.* (2006) Fine-scale genetic structure and gene dispersal inferences in 10 neotropical tree species. *Molecular ecology*, **15**, 559–71.
- Harrison HB, Saenz-agudelo P, Planes S, JONES GP, BERUMEN ML (2013) Relative accuracy of three common methods of parentage analysis in natural populations. *Molecular Ecology*, **22**, 1158–1170.
- Huggett AJ (2005) The concept and utility of “ecological thresholds” in biodiversity conservation. *Biological Conservation*, **124**, 301–310.
- Jordano P, Galetti M, Pizo MA, Silva WR (2006) Ligando Frugivoria e Dispersão de Sementes à Biologia da Conservação. *Biologia da conservação: essências. Editorial Rima, São Paulo, Brasil*, 1–26.
- Kalinowski ST, Taper ML, Marshall TC (2007) Revising how the computer program CERVUS accommodates genotyping error increases success in paternity assignment. *Molecular ecology*, **16**, 1099–1106.
- Kramer AT, Ison JL, Ashley M V, Howe HF (2008) The Paradox of Forest Fragmentation Genetics. *Conservation Biology*, **22**, 878–885.
- Landguth EL, Cushman S a, Schwartz MK *et al.* (2010) Quantifying the lag time to detect barriers in landscape genetics. *Molecular ecology*, 4179–4191.
- Leitman P, Henderson A, Noblick L, Soares K (2013) Lista de Espécies da Flora do Brasil. *Jardim Botânico do Rio de Janeiro*.
- Lima MM, Mariano-Neto E (2014) Extinction thresholds for Sapotaceae due to forest cover in Atlantic Forest landscapes. *Forest Ecology and Management*, **312**, 260–270.
- Loiselle BA, Sork VL, Nason J, Graham C (1995) SPATIAL GENETIC STRUCTURE OF A TROPICAL UNDERSTORY SHRUB, *PSYCHOTRIA OFFICINALIS* (RUBIACEAE). *American journal of botany*, **82**, 1420–1425.

- Lowe A, Boshier D, Ward M, Bacles C, Navarro C (2005) Genetic resource impacts of habitat loss and degradation; reconciling empirical evidence and predicted theory for neotropical trees. *Heredity*, **95**, 255–73.
- Marshall TC, Slate J, Kruuk LEB, Pemberton M (1998) Statistical confidence for likelihood-based paternity. *Molecular Ecology*, **7**, 639–655.
- Martinelli G, Moraes M. (2013) Livro vermelho da flora do Brasil. *Instituto de Pesquisas Jardim Botânico do Rio de Janeiro*, 1100.
- Martini AMZ, Fiaschi P, Amorim AM, Paixão JL da (2007) A hot-point within a hot-spot: a high diversity site in Brazil's Atlantic Forest. *Biodiversity and Conservation*, **16**, 3111–3128.
- Matos DMS, Freckleton RP, Watkinson AR (1999) The role of density dependence in the population dynamics of a tropical palm. *Ecology*, **80**, 2635–2650.
- Matter P, Kettle CJ, Ghazoul J, Pluess AR (2013) Extensive contemporary pollen-mediated gene flow in two herb species, *Ranunculus bulbosus* and *Trifolium montanum*, along an altitudinal gradient in a meadow landscape. *Annals of Botany*, 1–11.
- McCallum KP, Guerin GR, Breed MF, Lowe AJ (2014) Combining population genetics, species distribution modelling and field assessments to understand a species vulnerability to climate change. *Austral Ecology*, **39**, 17–28.
- Metzger JP, Martensen AC, Dixo M *et al.* (2009) Time-lag in biological responses to landscape changes in a highly dynamic Atlantic forest region. *Biological Conservation*, **142**, 1166–1177.
- Mori SA, Boom BM, Carvalho AM, Santos TS (1983) Southern Bahian moist forests. *Botan. Rev.*, **49**, 155–232.
- Oliveira-filho AT, Fontes MA (2000) Patterns of floristic differentiation among Atlantic Forests in southeastern Brazil and the influence of climate. *Biotropica*, **32**, 793–810.
- Pardini R, Bueno A de A, Gardner AT, Prado IP, Metzger PJ (2010) Beyond the fragmentation threshold hypothesis: Regime shifts in biodiversity across fragmented landscapes. *PloS ONE*, **5**.
- Pickup M, Young A G (2008) Population size, self-incompatibility and genetic rescue in diploid and tetraploid races of *Rutidosia leptorrhynchoides* (Asteraceae). *Heredity*, **100**, 268–274.
- Pimm SL, Jenkins CN, Abell, R Brooks TM *et al.* (2014) The biodiversity of species and their rates of extinction, distribution, and protection. *Science (New York, N.Y.)*, **344**, 1246752.
- Quesada M, Sánchez-Montoya IH-Djalgs-M, Rosas F, Aguilar R (2013) Long-term effects of habitat fragmentation on mating patterns and gene flow of a tropical dry forest tree, *Ceiba aesculifolia* (Malvaceae: Bombacoideae). *American Journal of Botany*, **100**, 1095–1101.
- Ribeiro MC, Metzger JP, Martensen AC, Ponzoni FJ, Hirota MM (2009a) The Brazilian Atlantic Forest: How much is left, and how is the remaining forest distributed? Implications for conservation. *Biological Conservation*, **142**, 1141–1153.
- Ribeiro MC, Metzger JP, Martensen AC, Ponzoni FJ, Hirota MM (2009b) The Brazilian Atlantic Forest: How much is left, and how is the remaining forest distributed? Implications for conservation. *Biological Conservation*, **142**, 1141–1153.

- Robledo-Arnuncio JJ (2011) Wind pollination over mesoscale distances : an investigation with Scots pine. *New Phytologist*, **190**, 222–233.
- Scheepens JF, Frei ES, Armbruster GFJ, Stocklin J (2012) Pollen dispersal and gene flow within and into a population of the alpine monocarpic plant *Campanula thyrsoidea*. *Annals of Botany* **110**, 1479–1488.
- Tabarelli M, Silva J, Gascon C (2004) Forest fragmentation , synergisms and the impoverishment of neotropical forests. *Biodiversity and Conservation*, **13**, 1419–1425.
- Thomas WMW, Carvalho AMV de, Amorim AA, Garrison J, L. AA (1998) Plant endemism in two forests in southern Bahia , Brazil. *Biodiversity and Conservation*, **322**, 311–322.
- Trakhtenbrot A, Nathan R, Perry G, Richardson DM (2005) The importance of long-distance dispersal in biodiversity conservation. *Diversity and Distributions*, **11**, 173–181.
- Valiente-Banuet A, Aizen MA, Alcántara JM *et al.* (2014) Beyond species loss : the extinction of ecological interactions in a changing world. *Functional Ecology*.
- Vekemans X, Hardy OJ. (2004) New insights from fine-scale spatial genetic structure analyses in plant populations. *Molecular Ecology*, **13**, 921–935.
- Wang R, Compton SG, Chen X-Y (2011) Fragmentation can increase spatial genetic structure without decreasing pollen-mediated gene flow in a wind-pollinated tree. *Molecular Ecology* (2011), **20**, 4421–4432.
- Willi Y, Fischer M (2005) Genetic rescue in interconnected populations of small and large size of the self-incompatible *Ranunculus reptans*. *Heredity*, **95**, 437–443.

Conclusão geral

A abordagem empírica de genética da paisagem da espécie *Euterpe edulis*, representa um importante avanço na compreensão da influencia da redução de floresta na paisagem sobre parâmetros genéticos de uma espécie arbórea de clima tropical. Em linhas gerais, a elevada diversidade genética encontrada para plântulas e adultos, reflete o recente histórico da redução de floresta na região. A redução da cobertura florestal na paisagem não influencia nos parâmetros genéticos de *E. edulis* avaliados. Contudo, existe mudança do pool gênico, ocorrendo aumento na estruturação genética em populações de plântulas em relação aos adultos em paisagens com baixa porcentagem de floresta. Além disso, ressaltamos que paisagens com menos de 19% de floresta, possuem menos que cinco indivíduos e não foram consideradas nas análises. Concluiu-se que houve colapso populacional ou extinção local nas paisagens com menos que 19% de cobertura florestal na região sul da Bahia.

Foi observado também, que o fluxo gênico contemporâneo possui relação inversa com porcentagem de cobertura florestal na paisagem. Essa relação, pode ser decorrente da redução da riqueza de frugívoros nas áreas em estudo. A estrutura genética espacial (EGE) de *E. edulis*, não teve relação com porcentagem de floresta na paisagem. Nossos resultados demonstram a necessidade de medidas de conservação antes que ocorra erosão da diversidade genética por endogamia, que não teria como mitigar a perda de diversidade nas gerações seguintes e por consequência comprometendo a persistência das populações. Desta maneira, nosso estudo pode auxiliar na gestão e conservação eficiente da variabilidade genética de *E. edulis*, uma espécie ameaçada de extinção.