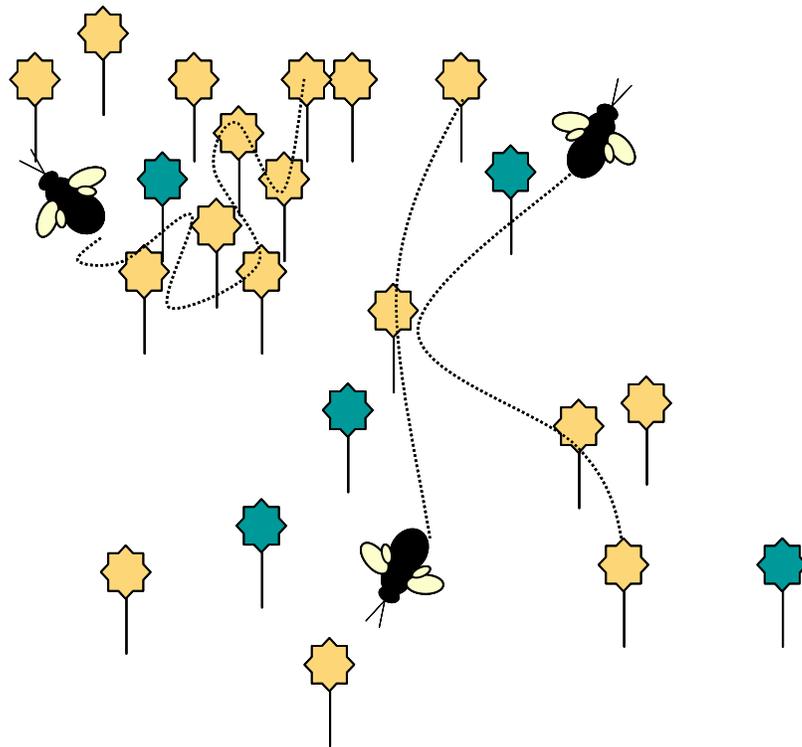


VIVIANE DA SILVA PEREIRA

FLUXO GÊNICO E ESTRUTURA GENÉTICA ESPACIAL EM MICROESCALA EM
CHAMAECRISTA BLANCHETII (LEGUMINOSAE) EM CAMPO RUPESTRE NA
CHAPADA DIAMANTINA, NORDESTE DO BRASIL



FEIRA DE SANTANA – BAHIA

2007

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE FEIRA DE SANTANA
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS PROGRAMA DE
PÓS-GRADUAÇÃO EM BOTÂNICA



**FLUXO GÊNICO E ESTRUTURA GENÉTICA ESPACIAL EM MICROESCALA EM
CHAMAECRISTA BLANCHETII (LEGUMINOSAE) EM CAMPO RUPESTRE NA
CHAPADA DIAMANTINA, NORDESTE DO BRASIL**

VIVIANE DA SILVA PEREIRA

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação
em Botânica da Universidade Estadual de Feira de
Santana como parte dos requisitos para a obtenção
do título de *Doutor em Ciências -Botânica*.

ORIENTADOR: PROF. DR. EDUARDO LEITE BORBA (UFMG)
CO-ORIENTADORA: PROFA. DRA. CLAUDIA MARIA JACOBI (UFMG)

FEIRA DE SANTANA – BA

2007

SUMÁRIO

AGRADECIMENTO

RESUMO

ABSTRACTS

INTRODUÇÃO GERAL.	1
CAPÍTULO 1: Estrutura espacial na fenologia de floração em microescala em <i>Chamaecrista blanchetii</i> (Leguminosae, Caesalpinioideae).	12
CAPÍTULO 2: Polinização em ricochete e biologia reprodutiva de <i>Chamaecrista blanchetii</i> (Leguminosae, Caesalpinioideae), no Parque Municipal de Mucugê, Chapada Diamantina, Brasil.	43
CAPÍTULO 3: Dispersão polínica em paisagem heterogênea, fluxo gênico e vizinhança genética em <i>Chamaecrista blanchetii</i> (Leguminosae, Caesalpinioideae), no Parque Municipal de Mucugê, Chapada Diamantina, Brasil.	64
CAPÍTULO 4: Estrutura genética espacial em microescala em população de <i>Chamaecrista blanchetii</i> (Leguminosae, Caesalpinioideae) em campo rupestre.	97
CONSIDERAÇÕES FINAIS.	130

AGRADECIMENTOS

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado da Bahia (FAPESB) pela bolsa de estudos e auxílio financeiro ao projeto (BOL 0367/2003 e APR 0123/2005). Ao Programa de Pós-Graduação em Botânica da Universidade Estadual de Feira de Santana (PPGB/UEFS) e ao Laboratório de Sistemática Molecular de Plantas (LAMOL) por proverem estrutura e condições adequadas ao desenvolvimento deste trabalho; ao Parque Municipal de Mucugê pelo apoio logístico e permissão do estudo dentro de seus limites.

Aos Funcionários do Parque Municipal de Mucugê, em especial aos colegas Oremildes, Euvaldo e Adenilton, por toda a ajuda nos estudos de campo durante estes quatro anos de trabalho no parque. Ao Cesinha do Observatório Antares/ UEFS pelo auxílio no mapeamento das plantas em campo. Aos colegas: Washington F. Rocha pelo auxílio com os mapas e programas em GIS; Mário de Almeida Neto pela colaboração nas análises espaciais empregadas no Capítulo 1; Favízia F. de Oliveira pela identificação das abelhas; Cristiana B. N. Costa pela colaboração no Capítulo 2 e pela companhia nas aventuras em campo; Sabrina M. Lambert pelo treinamento nas técnicas laboratoriais e auxílio na padronização dos sistemas aloenzimáticos utilizados no Capítulo 4. A todos os colegas do LAMOL pelo aprendizado compartilhado na bancada e no dia a dia. Aos professores e colegas Cássio van den Berg, Alessandra S. Schnadelbach e Adilva S. Conceição pelas discussões gerais durante a tese. A todos os colegas, funcionários e professores envolvidos com os trabalhos realizados no PPG-Bot/ UEFS.

Aos meus orientadores Eduardo Leite Borba e Claudia Maria Jacobi pela inestimável contribuição, estímulo e participação constante e fundamental na construção deste início de trabalho acadêmico. Agradeço ao Eduardo por ter lançado este desafio, e por ter me mostrado que também a interação professor-aluno pode ser mais construtiva e harmoniosa quando assumimos uma postura colaborativa em nossas relações de trabalho.

A todos os estimados amigos, em especial aos queridos Hilder, Rita Dórea, Danovan, Adriana e Silvana, pelo companheirismo e convivência durante nossa vida aqui na Bahia e a Ana Maria Giulietti Harley por nos encorajar e nos contagiar com sua fantástica dedicação à profissão que escolhemos.

Agradeço especialmente o carinho das minhas amadas famílias, os Silva Pereira e os Camargo Smidt, e dos amigos de longe e de tempos. Agradeço, sobretudo, a compreensão pela inevitável distância e pela habilidade em transformar o pouco convívio nos últimos anos em momentos tão intensos e inesquecíveis. Agradeço também a dedicação e ao trabalho compartilhado e construído com meu amado Eric durante todos esses anos.

Resumo

Neste trabalho foram investigados aspectos espaciais e ecológicos relacionados ao fluxo gênico e a estrutura genética local em uma população naturalmente fragmentada de *Chamaecrista blanchetii* (Caesalpinioideae, Leguminosae) em ambiente de campo rupestre. O estudo foi conduzido em quatro subpopulações completamente mapeadas ($n=990$), no Parque Municipal de Mucugê, Bahia, Brasil. Foram feitas análises da estrutura espacial local de plantas adultas, da fenologia de floração em dois anos consecutivos, e testada a ocorrência de autocorrelação espacial (AE) na produção de flores e frutos e características fenológicas entre vizinhos próximos. Foram feitos estudos sobre o sistema de polinização, biologia floral e reprodutiva, verificando se existe redução no número de sementes bem formadas originadas por autocruzamentos ou cruzamentos entre vizinhos espacialmente próximos. O fluxo gênico atual foi investigado combinando-se descrições quantitativas do comportamento do polinizador, dispersão de sementes e estimativas indiretas do tamanho da vizinhança genética. Foi investigado o efeito da distância entre vizinhos na estrutura genética espacial (EGE) em microescala, conforme o modelo de isolamento por distância, sendo estimado também o fluxo gênico histórico e tamanho da vizinhança genética em densidades populacionais distintas neste ambiente. O cenário reprodutivo encontrado nesta população permite considerar que a dinâmica de floração pode contribuir para a ocorrência de cruzamentos preferenciais entre vizinhos. Por outro lado, pode haver alternância entre grupos de plantas reprodutivas simultaneamente ao longo da florada e entre temporadas distintas, tanto dentro quanto entre subpopulações, favorecendo um padrão misto de fluxo gênico gamético entre grupos variados de plantas nesta população. Esta espécie é melitófila e operárias de *Bombus brevivillus* são os polinizadores principais. Embora as características florais e o comportamento do polinizador principal favoreçam a transferência polínica entre flores da mesma planta, com eventos geitonogâmicos frequentes, o estoque de sementes repostas na população a cada período reprodutivo pode ser composto preponderantemente por sementes oriundas de polinização cruzada, onde um sistema misto de reprodução é o mais provável de ocorrer nesta população. A alta plasticidade do comportamento de *B. brevivillus* parece contribuir de forma variável, gerando maior ou menor grau de endogamia durante a floração e em diferentes anos. O aumento nas taxas de fecundação cruzada e o tamanho de vizinhança genética estimados em áreas de alta densidade de plantas sugerem que o comportamento de vôo dos vetores pode atuar como um fator coesivo entre famílias genéticas dentro das subpopulações em condições

naturais de distribuição heterogênea desta espécie. A agregação de indivíduos em manchas de variadas densidades pode gerar aumento do nível de endogamia, estruturação genética intrapopulacional, com formação de famílias genéticas em microescala. Porém, o isolamento de subpopulações por distância geográfica não é significativo neste nível espacial. É provável que a forte coesão intrapopulacional seja resultado do movimento gênico em *stepping stones*, através do fluxo gamético promovido pelos polinizadores entre ilhas de plantas com recurso abundante, distribuídas ao longo do mosaico ambiental de afloramentos rochosos.

Abstract

This thesis deals with spatial and ecological aspects related to gene flow and fine-scale genetic structure in a naturally fragmented population of *Chamaecrista blanchetii* (Caesalpinioideae, Leguminosae) in “campo rupestre” vegetation. The investigation was carried out in four subpopulations, comprising 990 completed mapped plants, at the Parque Municipal de Mucugê, Chapada Diamantina, Northeastern Brazil. We performed analyses of the local spatial structure of adult plants, of the reproductive phenology patterns during two flowering seasons, and studied the spatial autocorrelation of flower and fruit set, and of phenological characteristics in an ecological neighborhood. Studies of floral biology, pollination and mating system were conducted to investigate the occurrence of seed abortion following experimental self and outcrossing pollinations among nearest plants and among plants at long distances. The current gene flow was investigated with studies addressing the spatial patterns of bumblebees’ flights, seed dispersion and indirect estimates of neighborhood size. The effect of between-neighbors distance on the small-scale spatial genetic structure was investigated according to the model of isolation by distance, together with indirect estimates of the historical gene flow and the genetic neighborhood size, in subpopulations with different densities in “campo rupestre”. The reproductive scenarios found in this population suggest that the flowering dynamics contributes to preferential mating between nearest plants. On the other hand, groups of reproductive plants could alternate the flower production during the season and among different seasons, and within the same subpopulation and among subpopulations, favoring a variable pattern of gametic gene flow among plant groups. This is a mellitophilous plant mainly pollinated by workers of *Bombus brevivillus*. Although the floral characteristics and the bumblebees behavior lead to an increase in geitonogamy, with frequent pollen transfer between flowers in a same plant, the amount of seeds replaced in the population at a given season may be predominantly constituted by seeds resulted from outcrosses, and a mixed mating system being most probable. The high foraging behavior plasticity of *B. brevivillus* seems to collaborate in either increasing or decreasing the endogamy levels during the flowering period and among successive seasons. The increase in outcross rate and the genetic neighborhood size at high density of plants suggest that the bumblebee flight behavior may act as a cohesive force between genetic families within the sub-populations in heterogeneous natural conditions of this species. The plants aggregation in patches with different densities could lead to an increase of endogamy levels and intrapopulation genetic structure, with

genetic families formed in a fine scale. However, the subpopulation isolation by distance was not significant at this spatial level. It is most probable that the strong intrapopulation cohesion could be a result of stepping stones gene movement, with gametic gene flow mediated by the main pollinator between abundant plant patches distributed throughout the environmental mosaic of rocky outcrops.

Introdução Geral

Contextualização e objetivo

As cadeias de montanhas brasileiras são ambientes heterogêneos e naturalmente fragmentados que abrigam grande diversidade vegetal e inúmeras espécies endêmicas ou microendêmicas (Giulietti & Pirani 1988). *Chamaecrista* sect. *Absus* (Caesalpinioideae, Leguminosae) possui quatro subseções com ocorrência comum em ambientes rupestres, sendo as montanhas do Nordeste e Sudeste brasileiro um dos principais centros de diversidade e de radiação explosiva deste grupo com diversos táxons endêmicos destas formações (Irwin & Barneby 1982, Conceição *et al.* 2001, Lewis 2005). *Chamaecrista* sect. *Absus* subsect. *Baseophyllum* (Collad.) H.S.Irwin & Barneby é um grupo que inclui espécies caracteristicamente rupícolas distribuídas ao longo da Cadeia do Espinhaço (Conceição 2006).

De acordo com os padrões florísticos descritos para os campos rupestres brasileiros, é esperado que a forte disjunção das populações neste ambiente seja um fator importante no surgimento e diversificação de linhagens devido a isolamentos geográficos das populações em escala regional (Giulietti & Pirani 1988). A hipótese de ocorrência freqüente de barreiras geográficas ao fluxo gênico e de divergência genética entre populações coespecíficas na Cadeia do Espinhaço é sustentada por padrões de alta estruturação genética interpopulacional descritos para diferentes grupos vegetais (Borba *et al.* 2001, Jesus *et al.* 2001, Machado 2005, Azevedo *et al.* 2007, Pereira *et al.* 2007). Porém, até o momento não são conhecidos os níveis de variabilidade e estruturação genética em microescala que podem ser encontrados intrapopulacionalmente em espécies de plantas ocorrentes nestes ambientes naturalmente fragmentados.

Neste contexto, esta tese foi norteada por duas questões principais: (i) se o isolamento por distância em microescala em populações naturalmente fragmentadas pode ser detectado em espécies vegetais ocorrentes nos campos rupestres; e (ii) como aspectos ecológicos e reprodutivos, como padrão de floração, sistemas de polinização e reprodução e dispersão de pólen e sementes podem estar relacionados ao processo microevolutivo de populações de plantas neste ambiente.

De modo geral, a estratégia de floração pode estar relacionada às chances de cruzamentos preferenciais entre plantas numa população e ao forrageamento de

polinizadores em busca de recursos florais. Estes, por sua vez, atuam como vetores na dispersão polínica e contribuem para a estruturação genética espacial em populações naturais de plantas. Para compreender como estes eventos podem atuar no processo microevolutivo em uma espécie de campo rupestre, foi proposto realizar estudos independentes, porém complementares sobre diferentes aspectos. Buscamos reunir informações que permitissem fazer estimativas da amplitude do fluxo gênico, tamanho da vizinhança genética, nível de endogamia e da estrutura genética espacial em pequena escala, fornecendo subsídios para a compreensão dos processos microevolutivos que podem determinar, em um segundo momento, a diversificação de linhagens características destes ambientes.

Para tanto, *Chamaecrista blanchetii* (Benth.) Conc., L.P. Queiroz & G.P. Lewis (Caesalpinioideae, Leguminosae) foi escolhida como modelo de estudos por se tratar de uma espécie de planta perene e que apresenta populações grandes e com distribuição aparentemente heterogênea ao longo da Cadeia do Espinhaço. Com base em observações preliminares, aspectos biológicos como reprodução sexuada e melitofilia foram características importantes na escolha desta espécie para a condução de experimentos de polinização e estudos sobre a dispersão polínica.

Os temas tratados nesta tese foram organizados em quatro capítulos com os seguintes objetivos específicos: (Capítulo 1) investigar se o padrão espaço-temporal de floração pode atuar como fator facilitador de cruzamentos preferenciais em uma vizinhança ecológica local; (Capítulo 2) verificar como eventos que ocorrem antes e depois da fecundação podem estar relacionados ao sistema reprodutivo e ao nível de endogamia na população; (Capítulo 3) estudar o padrão espacial de dispersão polínica atual e as possíveis implicações para o tamanho efetivo da população; (Capítulo 4) investigar processos microevolutivos em uma população de *Chamaecrista blanchetii* naturalmente fragmentada nos campos rupestres, verificando se o padrão de isolamento por distância em microescala pode ser detectado e conduzindo estimativas indiretas do fluxo gênico histórico e tamanho da vizinhança genética em diferentes densidades populacionais.

Abordagem espacial e vizinhança ecológica

O interesse pela interpretação dos padrões espaciais em estudos ecológicos tem sido crescente nas últimas décadas, na tentativa de se extrair informações presentes em sistemas complexos e investigar processos ecológicos e evolutivos na natureza (Epperson 2000, Liebhold & Gurevitch 2002, Perry *et al.* 2002, Fortin & Dale 2005). Particularmente em plantas, a diversidade dos padrões espaciais pode ser descrita por mapas categóricos ou por um conjunto de amostras tomadas em localidades espaciais específicas, constituindo um conjunto de pontos a ser estudado a partir de ferramentas da estatística espacial (Dale & Fortin 2002, Fortin *et al.* 2002a, 2002b, Perry *et al.* 2002, Wiegand & Moloney 2004, Wiegand *et al.* 2006). A autocorrelação espacial se refere à dependência que existe entre observações atribuídas a localidades específicas, ou ordenadas em duas dimensões, e os valores das variáveis em um espaço geográfico (Griffith 1992, Legendre 1993, Legendre & Legendre 1998, Sokal *et al.* 1998). Esta dependência pode produzir então agrupamentos de valores similares (autocorrelação espacial positiva) ou dissimilares (autocorrelação espacial negativa) das variáveis observadas (Griffith 1992, Sokal *et al.* 1998).

A área ocupada por uma planta contém vizinhos da mesma espécie que compreendem sua vizinhança espacial e que, normalmente, compartilham semelhanças genéticas e ecológicas entre si (Epperson 1990, Fortin & Dale 2005). Esta propriedade geral nas variáveis ecológicas pode ser investigada na natureza quando se pretende explorar os padrões ecológicos exibidos por um conjunto de plantas espacialmente correlacionadas em uma vizinhança. Nesta abordagem, a quantificação de certos parâmetros florais no nível individual e as análises de autocorrelação espacial em determinadas características fenológicas de floração podem trazer informações sobre a dinâmica de apresentação floral numa dada população. A partir disto é possível combinar o conhecimento do padrão de floração e do padrão de estrutura genética, e levantar hipóteses de como a dinâmica floral pode contribuir para cruzamentos preferenciais, nível de endogamia e variabilidade genética em estudos multidisciplinares em populações naturais de plantas.

Sistemas de polinização e estratégias reprodutivas em plantas

A atratividade floral eficiente e a garantia do sucesso de polinização das

diferentes espécies de plantas polinizadas por abelhas são determinadas, preponderantemente, pelo tipo e quantidade de recurso floral produzido, e de que forma este é apresentado ao polinizador (Frankie & Haber 1983, de Jong *et al.* 1992). O acesso dos polinizadores ao recurso floral demanda habilidade no manuseio da flor, capacidade de armazenamento e transporte adequado do recurso coletado (Thorp 2000). Especialmente em plantas onde o pólen constitui o único recurso disponível, o equilíbrio entre visitas constantes e transferência adequada e suficiente de grãos de pólen entre as peças reprodutivas é um ponto crítico para a reprodução da planta (Buchmann 1983). Diversos mecanismos e adaptações florais que mantêm este balanço na interação são registrados em diferentes famílias de plantas e podem resultar no polimorfismo das peças reprodutivas e/ou somáticas (Barrett *et al.* 2000, Jesson & Barrett 2002, 2003). Em plantas que utilizam abelhas como vetores e oferecem o próprio pólen como atrativo, é observado alto nível de constância floral. Neste sistema, o comportamento de coleta e utilização do recurso na flor pode estar associado ao padrão morfológico da flor e ao tipo de deiscência da antera (Buchmann 1983, Frankie & Haber 1983).

Não apenas a estrutura floral e a interação polinizador-flor estão relacionadas ao processo reprodutivo das plantas, mas também a variedade de mecanismos que controlam os eventos que ocorrem após a transferência polínica (Bertin 1988, Richards 1997). Fatores como a origem do pólen recebido (paternidade), o número de óvulos fecundados, o total de frutos formados e sementes viáveis que são lançadas na população são questões relacionadas ao sistema reprodutivo de cada espécie (Lee 1988, Richards 1997). Uma gama de estratégias reprodutivas tem sido historicamente reportada para grupos de plantas ocorrentes nos mais variados ambientes, onde padrões intermediários entre os extremos de autogamia e de alogamia exclusiva são os mais prováveis de serem encontrados na natureza (Bawa 1974, 1979, Briggs & Walters 1997, Richards 1997). A partir de estudos de campo e investigações experimentais, porém, têm-se observado uma marcada tendência à reprodução cruzada em uma grande variedade de grupos vegetais, seja através de mecanismos de auto-incompatibilidade ou estratégias reprodutivas que favoreçam a alogamia em plantas autocompatíveis (Karron 1989, Oliveira *et al.* 1991, Gibbs & Bianchi 1999, Gibbs *et al.* 1999, Borba *et al.* 2001, Smidt *et al.* 2006, Silva-Pereira *et al.* no prelo).

Dispersão polínica e fluxo gênico em plantas

Para os polinizadores a detecção visual do recurso e o modelo espacial de procura podem ser determinados pela quantidade e qualidade de recursos disponíveis no ambiente. Alguns fatores como diferenças na densidade populacional das plantas e a própria orientação do polinizador podem alterar o comportamento de forrageio e visitas florais para a coleta do recurso. Neste sentido, o padrão de transferência de pólen entre plantas pode estar relacionado à distância de vôo do polinizador, quantidade de pólen carregado e quanto e como este pólen é distribuído entre as flores visitadas (Morris *et al.* 1995, Cresswell 1997, 1999, 2000, Goulson 1999, Grindeland *et al.* 2005). Em sistemas onde a dispersão do pólen é mediada por animais, o tamanho efetivo da população e a amplitude de fluxo gênico atual podem ser estimados através de medidas do movimento dos polinizadores entre flores e plantas e da distância de dispersão das sementes (Levin 1979, Beattie 1979, Morris 1993). Essas estimativas nos permitem considerar a hipótese de que o espalhamento restrito do pólen entre vizinhos próximos pode contribuir para o aumento das taxas de cruzamentos endogâmicos e isolamento de populações locais. Por outro lado, a dispersão dos gametas a longas distâncias pode atuar como força coesiva entre subpopulações de plantas (Schmitt 1980, Morris *et al.* 1994).

Estrutura genética espacial em populações naturais

Um dos principais objetivos da genética de populações é descrever a quantidade da variação genética e estudar os mecanismos responsáveis por gerar e/ou manter esta variação nas populações. A variabilidade genética presente nas populações atuais fornece a matéria-prima para mudanças evolutivas futuras, e níveis diferentes de variação dentro e entre populações podem fornecer evidências sobre eventos evolutivos distintos no passado (Loveless & Hamrick 1984, Briggs & Walters 1997). As primeiras informações genéticas extraídas de marcadores codominantes neutros, como as aloenzimas, são aquelas do estado fenotípico, onde a análise direta do padrão de bandas leva a medidas simples de variação, como o número de alelos por loco e as frequências alélicas associadas. Mais recentemente, esses dados têm sido utilizados como parâmetros quantitativos para descrever a estrutura genética a partir de dados empíricos, considerando premissas evolutivas em um contexto espacial (Weir & Cockerham 1984,

Hardy & Vekemans 1999, Loiselle *et al.* 1995, Epperson 2000, Vekemans & Hardy 2004).

Considerando que a similaridade genética é maior entre vizinhos do que entre indivíduos geograficamente distantes, é esperado que o padrão de estrutura genética seja resultado do balanço entre o efeito da deriva genética e da dispersão gênica em uma população contínua (Wright 1965). Para um modelo de ilhas, como na estabelecida relação $F_{ST} = 1 / (1 + 4Nm)$ proposta por Wright (1965), a diferenciação entre populações (F_{ST}) depende do balanço entre a deriva genética local (N , o tamanho efetivo de uma população) e dispersão (m , taxa de migração por geração na população). O modelo de isolamento por distância (IPD), que trata explicitamente do espaço, faz previsões similares: a diferenciação genética aumenta com a distância a uma taxa proporcional a $1 / D\sigma^2$, onde D é a densidade efetiva da população e σ^2 expressa a extensão espacial da dispersão gênica. Neste contexto, o efeito da distância espacial entre indivíduos na estrutura genética espacial (EGE) pode ser investigado quando avaliamos a taxa de diminuição das relações de coancestralidade entre pares de indivíduos num gradiente espacial em escala local, segundo o modelo de IPD, em uma análise de regressão linear (Rousset 2000, Vekemans & Hardy 2004). A partir disto, quando a estrutura genética espacial de diferentes populações numa dada escala geográfica pode ser descrita e comparada quantitativamente é possível supor quais aspectos ecológicos atuam mais fortemente no processo evolutivo do sistema em foco. Nesta abordagem é possível, também, fazer estimativas indiretas do fluxo gênico histórico e levantar hipótese sobre possíveis eventos passados ou recentes que contribuem mais fortemente para um determinado padrão genético local (Hardy *et al.* 2006, Troupin *et al.* 2006, Xu *et al.* 2006).

Referências bibliográficas

- AZEVEDO, M.T.A., E.L. BORBA, J. SEMIR & V.N. SOLFERINI. 2007. High genetic variability in Neotropical myophilous orchids. *Botanical Journal of the Linnean Society* 153: 33-40.
- BARRETT, S.C.H., L.K. JESSON & A. BAKER. 2000. The evolution and function of stylar polymorphisms in flowering plants. *Annals of Botany* 85: 253-265.
- BAWA, K.S. 1974. Breeding systems of tree species of a lowland tropical community. *Evolution* 28: 85-92.

- BAWA, K.S. 1979. Breeding systems of trees in a tropical wet forest. *New Zealand Journal of Botany* 17: 521-524.
- BEATTIE, A.J. 1979. Plant-animal interactions affecting gene flow in *Viola*. Pp 151-164 in A.J. RICHARDS (ed.). *The pollination of flowers by insects*. Linnean Society, Academic Press, London.
- BERTIN, R.I. 1988. Paternity in plants. Pp 30-59 in: LOVETT DOUST, J. & L. LOVETT DOUST (eds.) *Plant reproductive Ecology*, Oxford University Press, New York.
- BORBA, E.L., J.M. FELIX, V.N. SOLFERINI & J. SEMIR. 2001. Fly-pollinated *Pleurothallis* (Orchidaceae) species have high genetic variability: evidence from isozyme markers. *American Journal of Botany* 88: 419-428.
- BRIGGS, D. & S.M. WALTERS. 1997. *Plant variation and evolution* 3rd ed. University Press, Cambridge.
- BUCHMANN, S.L. 1983. Buzz pollination in angiosperms. Pp 73-113 in JONES, C.E. & R.J LITTLE (eds.) *Handbook of experimental pollination biology*. Van Nostrand Reinhold Company, New York.
- CONCEIÇÃO, A.S., L.P. QUEIROZ & G.P. LEWIS. 2001. Novas espécies de *Chamaecrista* Moench (Leguminosae-Caesalpinioideae) da Chapada Diamantina, Bahia, Brasil. *Sitientibus série Ciências Biológicas* 1: 112-119.
- CONCEIÇÃO, A.S. 2006. Filogenia do gênero *Chamaecrista* (Leguminosae-Caesalpinioideae) e taxonomia do grupo *Baseophyllum*. Tese de doutorado, Universidade Estadual de Feira de Santana.
- CRESSWELL, J.E. 1997. Spatial heterogeneity, pollinator behaviour and pollinator-mediated gene flow: bumblebee movements in variously aggregated rows of oil-seed rape. *Oikos* 78: 546-556.
- CRESSWELL, J.E. 1999. The influence of nectar and pollen availability on pollen transfer by individual flowers of oil-seed rape (*Brassica napus*) when pollinated by bumblebees (*Bombus lapidarius*). *Journal of Ecology* 87: 670-677.
- CRESSWELL, J.E. 2000. A comparison of bumblebees' movements in uniform and aggregated distributions of their forage plant. *Ecological Entomology* 25: 19-25.
- DALE, M.R.T. & M.J. FORTIN. 2002. Spatial autocorrelation and statistical tests in ecology. *Ecoscience* 9: 162-167.
- DE JONG, T.J., P.G.L. KLINKHAMMER & M.J. VAN STAALDUINEN. 1992. The consequences of pollination biology for selection of mass or extended blooming. *Functional Ecology* 6: 606-615.

- EPPERSON, B.K. 1990. Spatial patterns of genetic variation within plant populations. Pp 229-253 in: BROWN, A.H.D., M.T. CLEGG, A.L. KAHLER & B.S. WEIR (eds.) *Plant population genetics, breeding, and genetic resources*. Sinauer, Sunderland.
- EPPERSON, B.K. 2000. Spatial genetic structure and non-equilibrium demographics within plant population. *Plant Species Biology* 15: 269-279.
- FORTIN M.J., G. M. JACQUEZ & B. SHIPLEY. 2002b. Computer-intensive methods. Pp 399-402 in: ABDEL H., A.H. EL-SHAARAWI & W.W. PIEGORSCH (eds.) *Encyclopedia of Environmetrics, Volume 1*. John Wiley & Sons Ltd., Chichester.
- FORTIN M.J., M.R.T. DALE & J. VER HOEF. 2002a. Spatial analysis in ecology. Pp 2051-2058 in: ABDEL H., A.H. EL-SHAARAWI & W.W. PIEGORSCH (eds.) *Encyclopedia of Environmetrics, Volume 4*. John Wiley & Sons, Chichester.
- FORTIN, M.J. & M.R.T DALE. 2005. *Spatial analysis – a guide for ecologists*. Cambridge University Press, Cambridge.
- FRANKIE, G.W. & W.A. HABER. 1983. Why bees move among mass-flowering neotropical trees. Pp 360-372 in JONES, C.E. & R.J LITTLE (eds.) *Handbook of experimental pollination biology*. Van Nostrand Reinhold Company, New York.
- GIBBS, P.E., P.E. OLIVEIRA & M.B. BIANCHI. 1999. Postzygotic control of selfing in *Hymenaea stigonocarpa* (Leguminosae – Caesalpinioideae), a bat-pollinated tree of the Brazilian cerrados. *International Journal of Plant Sciences* 160: 72-78.
- GIBBS, P.E. & M.B. BIANCHI. 1999. Does late-acting self-incompatibility (LSI) show family clustering? Tow more species of Bignoniaceae with LSI: *Dolichandra cynanchoides* and *Tabebuia nodosa*. *Annals of Botany* 84: 449-457.
- GIULIETTI, A.M. & J.R. PIRANI. 1988. Patterns of geographic distribution of some plant species from the Espinhaço Range, Minas Gerais and Bahia, Brazil. Pp. 39-69 in HEYER, W.R. & P.E. VANZOLINI (eds.) *Proceedings of a workshop on Neotropical distribution patterns*. Academia Brasileira de Ciências, Rio de Janeiro.
- GOULSON, D. 2000. Why do pollinators visit proportionally fewer flowers in large patches? *Oikos* 91: 485-492.
- GRIFFITH, D.A. 1992. What is spatial autocorrelation? Reflections on the past 25 years of spatial statistics. *L'Espace Géographique* 3: 265–280.
- GRINDELAND, J. M., N. SLETVOLD & R.A. IMS. 2005. Effects of floral display size and plant density on pollinator visitation rate in a natural population of *Digitalis purpurea*. *Functional Ecology* 19: 383–390.

- HARDY, O.J. & X. VEKEMANS. 1999. Isolation by distance in a continuous population: reconciliation between spatial autocorrelation analysis and population genetics models. *Heredity* 83: 145-154.
- HARDY, O.J., L. MAGGIA, E. BANDO, P. BREYNE, H. CARON, M.H. CHEVALLIER, A. DLIGEZ, C. DUTECH, A. KREMER, C. LATOUCHE-HALLÉ, V. TROISPOUX, V. VERON & B. DEGEN. 2006. Fine-scale genetic structure and gene dispersal inferences in 10 Neotropical tree species. *Molecular Ecology* 15: 559-571.
- IRWIN H.S. & R.C. BARNEBY. 1982. The American Cassinae: a synoptical revision of Leguminosae tribe Cassieae subtribe Cassinae in the New World. *Memories of the New York Botanical Garden* 35: 1-918.
- JESSON, L.K. & S.C.H. BARRETT. 2002. The genetics of mirror-image flowers. *Proceedings of The Royal Society of London* 169: 1835-1839.
- JESSON, L.K. & S.C.H. BARRETT. 2003. The comparative biology of mirror-image flowers. *International Journal of Plant Sciences* 164: S237-S249.
- JESUS, F.F, V.N. SOLFERINI, J. SEMIR & P.I. PRADO. 2001. Local genetic differentiation in *Proteopsis argentea* (Asteraceae), a perennial herb endemic in Brazil. *Plant Systematics and Evolution* 226: 59-68.
- KARRON, J.D. 1989. Breeding systems and levels of inbreeding depression in geographically restricted and widespread species of *Astragalus* (Fabaceae). *American Journal of Botany* 76: 331-340.
- LEE, T.D. 1988. Patterns of fruit and seed production. Pp 179-202 in: LOVETT DOUST, J. & L. LOVETT DOUST (eds.) *Plant reproductive Ecology*, Oxford University Press, New York.
- LEGENDRE, P. 1993. Spatial autocorrelation: trouble or new paradigm? *Ecology* 74: 1659-1673.
- LEGENDRE, P. & L. LEGENDRE. 1998. *Numerical ecology – Developments in environmental modeling*. Elsevier, Amsterdam.
- LEVIN, D.A. 1979. Pollinator behaviour and the breeding structure of plant populations. Pp 133-150 in A.J. RICHARDS (ed.). *The pollination of flowers by insects*. Linnean Society, Academic Press, London.
- LEWIS GP. 2005. Tribe Cassieae in: LEWIS G.P., B. SCHRIRE, B. MACKINDER, M. LOCK (eds.) *Legumes of the world*. Royal Botanical Gardens, Kew.
- LIEBHOLD, A.M. & J. GUREVITCH. 2002. Integrating the statistical analysis of spatial data in ecology. *Ecography* 25: 553-557.

- LOISELLE, B.A., V.L. SORK, J. NASON & C. GRAHAM. 1995. Spatial genetic structure of a tropical understory shrub, *Psychotria officinalis* (Rubiaceae). *American Journal of Botany* 82: 1420-1425.
- LOVELESS, M.D. & J.L. HAMRICK. 1984. Ecological determinants of genetic structure in plant populations. *Annual Review of Ecology and Systematics* 15: 65-95.
- MACHADO, M.C. 2005. O gênero *Discocactus* Pfeiff. (Cactaceae) no estado da Bahia, Brasil: variabilidade morfológica, variabilidade genética, taxonomia e conservação. Dissertação de Mestrado, Universidade Estadual de Feira de Santana.
- MORRIS, W.F. 1993. Predicting the consequences of plant spacing and biased movement for pollen dispersal by honey bees. *Ecology* 74: 493-500.
- MORRIS, W.F., M. MANGEL & F.R. ADLER. 1995. Mechanisms of pollen deposition by insect pollinators. *Functional Ecology* 9: 304-317.
- MORRIS, W.F., M.V. PRICE, N.M. WASER, J.D. THOMSON, B. THOMSON & D.A. STRATTON. 1994. Systematic increase in pollen carryover and its consequences for geitonogamy in plant populations. *Oikos* 71: 431-440.
- OLIVEIRA, P.E., P.E. GIBBS & M. BIANCHI. 1991. Pollination and breeding system of *Velozia squamata* (Liliales: Velloziaceae): a species of the Brazilian cerrados. *Botanica Acta* 104: 392-398.
- PEREIRA, A.C.S., E.L. BORBA & A.M. GIULIETTI. 2007. Genetic and morphological variability of endangered *Syngonanthus mucugensis* (Eriocaulaceae), from the Chapada Dimantina, Brazil: implications for conservation and taxonomy. *Botanical Journal of the Linnean Society* 253: 401-416.
- PERRY, J.N. A.M. LIEBHOLD, M.S. ROSENBERG, J. DUGAN, M. MIRITI, A. JAKOMULSKA & S. CITRON-POUSTY. 2002. Illustrations and guidelines for selecting statistical methods for quantifying spatial patterns in ecological data. *Ecography* 25: 578-600.
- RICHARDS, A.J. 1997 *Plant breeding systems*, 2^a ed. Chapman & Hall, London.
- ROUSSET, F. 2000. Genetic differentiation between individuals. *Journal of Evolutionary Biology* 13: 58-62.
- SCHMITT, J. 1983. Density-dependent pollinator foraging, flowering phenology, and temporal pollen dispersal patterns in *Linanthus bicolor*. *Evolution* 37: 1247-1257.
- SILVA-PEREIRA, V., E.C. SMIDT & E.L. BORBA. No prelo. Isolation mechanisms between two sympatric *Sophronitis* (Orchidaceae) species endemic to Northeastern Brazil. *Plant Systematics and Evolution*.

- SMIDT, E.C., V. SILVA-PEREIRA & E.L. BORBA. 2006. Reproductive biology of two *Cattleya* (Orchidaceae) species endemic to north-eastern Brazil. *Plant Species Biology* 21: 85-91.
- SOKAL, R.R., N.L. ODEN & B.A. THOMSON. 1998. Local spatial autocorrelation in biological variables. *Biological Journal of the Linnean Society* 65: 41-62.
- THORP, R.W. 2000. The collection of pollen by bees. *Plant Systematics and Evolution* 222: 211-223.
- TROUPIN, D., R. NATHAN & G. VENDRAMIN. 2006. Analysis of genetic structure in an expanding *Pinus halepensis* population reveals development of fine-scale genetic clustering over time. *Molecular Ecology* 15: 3617-3630.
- VEKEMANS, X. & O.J. HARDY. 2004. New insights from fine-scale spatial genetic structure analyses in plant populations. *Molecular Ecology* 13: 921-935.
- WEIR, B.S. & C.C. COCKERHAM. 1984. Estimating F-statistics for the analysis of population structure. *Evolution* 38: 1358-1370.
- WIEGAND T. & K.A. MOLONEY. 2004. Rings, circles, and null-models for point pattern analysis in ecology. *Oikos* 104: 209–229.
- WIEGAND T., W.D. KISSLING, P.A. CIPRIOTTI. & M.R. AGUIAR. 2006. Extending point pattern analysis for objects of finite size and irregular shape. *Journal of Ecology* 94: 825–837.
- WRIGHT, S. 1965. The interpretation of population structure by F-statistics with special regard to systems of mating. *Evolution* 19: 395-420.
- XU, X., B.R. LU, Y.H. CHEN, M. XU, J. RONG, P. YE, J. CHEN & Z. SONG. 2006. Inferring population history from fine-scale spatial genetic analysis in *Ozyra rufipogon* (Poaceae). *Molecular Ecology* 15: 1535-1544.

CAPÍTULO 1

Estrutura espacial na fenologia de floração em microescala em
Chamaecrista blanchetii (Leguminosae, Caesalpinioideae)

Resumo

Neste trabalho investigamos se a variação espaço-temporal nas características de floração de *Chamaecrista blanchetii* em campo rupestre pode atuar como fator facilitador de cruzamentos preferenciais, estudando a estrutura microespacial de plantas adultas, a fenologia de floração em dois anos consecutivos, e testando a ocorrência de autocorrelação espacial (AE) na produção de flores e frutos e características fenológicas entre vizinhos próximos. Foi utilizada a função K de Ripley para descrever a agregação espacial em quatro subpopulações completamente mapeadas ($n=990$), no Parque Municipal de Mucugê, Bahia, Brasil. Três das subpopulações (Áreas A, B e C) apresentam distribuição contígua, porém naturalmente fragmentada, e uma com localização disjunta das outras três (Área D). A produção floral, início, duração, fim e sincronia inter-individual no período de floração, e a produção de frutos nas plantas mapeadas foram avaliados mensalmente em 2004 e 2005. As áreas A, B e C apresentaram menor densidade, com 0,023, 0,019, 0,015 plantas/m² e a área D, maior densidade com 0,33 plantas/m². Agregação espacial foi significativamente positiva até pelo menos 20m de cada planta individual, nas quatro áreas, com ocorrência de manchas de agregação. O período de floração é unimodal ao longo do ano, com início em abril, pico de indivíduos em antese e máximo de flores produzidas em julho, e final em setembro. A maioria das plantas produz até 25% da capacidade floral por vez, permanece florida entre 1 e 7 meses e exibe alta sincronia floral, porém pode alternar períodos sem produção de flores numa mesma temporada. Houve AE significativamente positiva na produção floral, início, duração e sincronia reprodutiva e também na produção de frutos nas primeiras classes de distância em todas as áreas, exceto área A. No nível individual, a apresentação floral se conforma com uma estratégia de floração prolongada, porém a alta agregação entre plantas e um pico de floração bem marcado podem compor um padrão espacial de floração em massa, principalmente nos meses de maior produção floral. A AE nas características fenológicas sugere a ocorrência de uma vizinhança ecológica estruturada entre plantas próximas, que compartilham semelhanças quanto à estratégia de floração. Este cenário reprodutivo permite considerar que a dinâmica de floração pode contribuir para a ocorrência de cruzamentos preferenciais entre vizinhos. Por outro lado, pode haver alternância entre grupos de plantas reprodutivas simultaneamente ao longo da florada e entre temporadas distintas, tanto dentro quanto entre subpopulações, favorecendo um padrão misto de fluxo gênico gamético entre grupos variados de plantas nesta população.

Introdução

Sistemas ecológicos são espacialmente heterogêneos, exibem alta complexidade, variação no tempo e no espaço e podem ser descritos em diferentes escalas, como no arranjo local dos indivíduos ou na distribuição geográfica das populações e das espécies. A distribuição dos organismos pode se apresentar como aleatória, uniforme ou em diferentes níveis de agregação, em diferentes escalas espaciais. A interpretação das diferentes estruturas espaciais e das características genéticas e ecológicas associadas pode trazer informações sobre a dinâmica e a história evolutiva das populações (Epperson 1990, 2000, Hanski 2001, Silvertown 2001, Law *et al.* 2001). A diversidade dos padrões espaciais pode ser descrita por mapas categóricos ou por um conjunto de amostras tomadas em localidades espaciais específicas, constituindo um conjunto de pontos a ser estudado a partir de ferramentas da estatística espacial (Dale 1999, Dale & Fortin 2002, Fortin *et al.* 2002a, 2002b, Liebhold & Gurevitch 2002, Perry *et al.* 2002, Wiegand & Moloney 2004, Fortin & Dale 2005, Wiegand *et al.* 2006). Em plantas, diferentes distribuições podem resultar da dispersão limitada de sementes, recrutamento, competição intra e interespecífica, fragmentação e heterogeneidade ambiental, os quais operaram em diferentes escalas espaciais e contextos biológicos (Epperson 1990, 2000, Kelly 1992, Fonseca *et al.* 2004, Fortin & Dale 2005).

A área ocupada por uma planta contém vizinhos da mesma espécie que compreendem sua vizinhança espacial e que, normalmente, compartilham semelhanças genéticas e ecológicas (Epperson 1990, Fortin & Dale 2005). Em ecologia vegetal, um assunto intensamente debatido trata da natureza adaptativa das diferentes estratégias de floração, onde a disponibilidade floral e sincronia entre indivíduos podem favorecer ou reduzir o sucesso reprodutivo das plantas, ou gerar maior ou menor frequência de cruzamentos preferenciais (Bawa 1983, de Jong *et al.* 1992, Ollerton & Lack 1998, McIntosh 2002). Poucos são os estudos, porém, que investigam com maior detalhamento as relações dos padrões de floração com aspectos microevolutivos, considerando que a dinâmica floral pode muitas vezes estar relacionada com o padrão de fluxo gamético e a estrutura genética em populações naturais de plantas (Schmitt 1983, Kitamoto *et al.* 2006).

Em estudos sobre fenologia reprodutiva em determinada população, é conveniente considerar as diferentes características no nível populacional e individual. Em uma abordagem individual, plantas autocompatíveis que florescem durante um longo período, disponibilizando poucas flores por vez, podem apresentar maiores chances de polinização

cruzada do que plantas que apresentam curto período de floração e que produzem grande número de flores simultaneamente. Em uma abordagem populacional, espécies que apresentam indivíduos floridos simultaneamente, com alta sincronia, poderiam apresentar maiores chances de cruzamentos preferenciais do que espécies que apresentam plantas florescendo assincronicamente (Frankie & Haber 1983, Bawa 1983, Zimmerman 1988, Richards 1997).

Diversos autores sugerem que diferentes padrões de floração em espécies arbóreas tropicais podem ser ajustados por variações climáticas ou interações bióticas, ou estar relacionados à proximidade filogenética em um grupo de espécies (Frankie *et al.* 1974, Madeira & Fernandes 1999, Bencke & Morellato 2000, Morellato *et al.* 2000, Talora & Morellato 2000, San Martin-Gajardo & Morellato 2003). Estes e outros estudos indicam, porém, que os ciclos fenológicos em plantas são, de fato, mais complexos e variáveis do que aparentam e que, muitas vezes, diferentes fatores atuam em conjunto regulando os padrões florais.

Considerando que a variação de muitos aspectos da floração pode ser condicionada não apenas por fatores ambientais, mas também por características e similaridades genéticas e ecológicas entre plantas próximas, esta propriedade pode ser explorada quando se pretende investigar a estratégia de apresentação floral durante o período reprodutivo em uma vizinhança local. Neste contexto, deve ser ressaltado que a autocorrelação espacial é uma propriedade geral nas variáveis ecológicas na natureza e que a estrutura espacial dos indivíduos e a dependência das unidades amostradas podem produzir padrões passíveis de serem interpretados espacialmente (Legendre 1993, Sokal *et al.* 1998, Epperson 2000, Fortin & Dale 2005, Wiegand *et al.* 2006). Para tanto, é possível empregar ferramentas da estatística espacial na descrição da distribuição dos indivíduos reprodutivos na população, da produção floral, do tempo de floração e da sincronia reprodutiva entre plantas, testando a ocorrência de autocorrelação espacial nas características fenológicas na população. Num segundo momento, estas informações podem servir de subsídios para se levantar hipóteses de como o padrão de floração pode contribuir para o potencial de cruzamentos preferenciais, o nível de endogamia e variabilidade genética em estudos multidisciplinares em populações naturais de plantas (Schmitt 1983, Kitamoto *et al.* 2006).

Chamaecrista blanchetii (Benth.) Conc., L.P. Queiroz & G.P. Lewis é uma espécie perene com porte arbustivo a arbóreo, característica dos campos rupestres do Brasil Central, distribuída entre afloramentos rochosos ao longo das cadeias de montanhas, encontradas desde Minas Gerais até Pernambuco. Em uma escala regional, apresenta

distribuição heterogênea com populações grandes e naturalmente fragmentadas especialmente na Cadeia do Espinhaço. Observações anteriores indicam que em um nível local, os indivíduos de *C. blanchetii* aparentemente também se distribuem de forma variável. Esta é uma espécie autocompatível, melitófila e que oferece pólen como único recurso floral para os visitantes (Capítulo 2). É polinizada principalmente por operárias de *Bombus brevivillus*, as quais contribuem para um espalhamento restrito de pólen entre plantas. Porém, estas abelhas apresentam comportamento de forrageamento variável quando exploram flores dispostas em áreas de densidades distintas de plantas, contribuindo para o aumento da amplitude de dispersão polínica entre plantas em alta densidade floral (Capítulo 3). O mecanismo autocórico de dispersão apresentado pela espécie pode contribuir para uma dispersão limitada de sementes, favorecendo o estabelecimento de agrupamentos locais de plantas possivelmente aparentadas, compondo uma estrutura genética espacial pronunciada detectada por valores significativos de autocorrelação espacial de genótipos em microescala.

Neste contexto, este trabalho teve como objetivo compreender como a variação espaço-temporal na apresentação de flores na população pode estar relacionada à estratégia reprodutiva desta espécie e se pode atuar como um fator facilitador de cruzamentos preferenciais em *C. blanchetii*. Para tanto, procuramos investigar: (i) a estrutura espacial de plantas adultas em microescala; (ii) a variação individual e populacional de parâmetros fenológicos de floração em dois anos consecutivos; e (iii) verificar se a produção de flores, produção de frutos e características fenológicas como início, duração, sincronia e fim de floração se apresentam distribuídas aleatoriamente na população, ou alternativamente, se as variáveis estudadas apresentam-se em uma vizinhança ecológica estruturada em microescala. Os resultados são discutidos em relação aos padrões de variabilidade e estrutura genética detectados neste mesmo conjunto de plantas, considerando possíveis relações da dinâmica floral com os níveis de endogamia e fluxo gênico gamético neste sistema.

Material e Métodos

Área de estudo

O trabalho foi conduzido no Parque Municipal de Mucugê, estado da Bahia, nordeste do Brasil. O município de Mucugê está localizado na Serra do Sincorá, situado entre 10° 43' e 14° 20'S e 40°40' e 43°00'W, na região central do maciço da Chapada Diamantina,

constituindo a porção baiana da Cadeia do Espinhaço (Harley 1995). O clima da região é do tipo mesotérmico Cwb na classificação de Köppen (1948), onde a temperatura média não ultrapassa 22°C nos meses mais quentes (entre outubro e fevereiro) e se mantém em torno de 18°C nos meses mais frescos (entre maio e setembro). A pluviosidade média anual varia entre 830 e 1.190 mm, sendo registrado, em algumas áreas, dois períodos de chuva durante o ano, com máximas no verão entre novembro e janeiro e com segundo pico de precipitação entre março e abril. Embora durante o inverno sejam registrados os menores índices pluviométricos, podem ocorrer precipitações durante os meses secos. Assim como em todo o Nordeste do Brasil, a região da Chapada Diamantina apresenta forte instabilidade climática, tendo como característica marcante a alternância de anos de secas e de chuvas mais abundantes, em ciclos que duram aproximadamente uma década (Harley 1995).

Em toda a extensão da Chapada Diamantina, dominando a paisagem acima de 900m, a vegetação é típica dos campos rupestres, com predominância do estrato herbáceo-arbustivo e com locais de vegetação arbórea desenvolvida. De acordo com os gradientes altitudinais, edáficos e microclimáticos, podem ser encontrados também outros tipos de vegetação, entre eles o cerrado e a caatinga (entre 800 e 1.000m) e as matas úmidas que acompanham as linhas de drenagem e rios (Giulietti *et al.* 1996). A maior parte das montanhas da Chapada Diamantina foram originadas das elevações do Escudo Cristalino Brasileiro, sendo compostas principalmente de rochas de arenitos antigos do período Pré-Cambriano (Harley 1995). Desta forma, muitas das rochas e depósitos encontrados atualmente na região derivam de arenitos acidíferos com baixo teor de nutrientes. Entre as fendas de rochas nuas são encontrados solos incipientes de pouca profundidade formados por camadas de areia grossa e de húmus oriundo da decomposição vegetal (Conceição & Giulietti 2002, Conceição & Pirani 2005).

Dentro dos limites do Parque Municipal de Mucugê, são encontradas áreas com diferentes tipos de solo, que variam desde vastos platôs de rochas até áreas acidentadas com solo laterítico, formando os campos gerais em altitudes acima de 1.000m. Neste mosaico de estrutura edáfica se estabelece um cenário de micropaisagens floristicamente relacionadas, porém fisionomicamente diversas, compondo um padrão semelhante ao reportado para outras áreas na Chapada Diamantina (Conceição & Pirani 2005). Neste ambiente, são encontradas manchas de *Chamaecrista blanchetii*, que variam de agrupamentos numerosos a plantas isoladas na paisagem, ocupando áreas tanto de solo pedregoso como arenoso, próximas ou afastadas dos cursos dos rios. As plantas adultas

apresentam arquitetura variável, sendo encontradas tanto plantas com caules em eixo principal e ramificação apenas na porção apical, quanto plantas com caules ramificados desde a base. Os indivíduos apresentam hábito de aspecto arbustivo a arbóreo, sendo encontrados indivíduos reprodutivos com alturas entre 1 e 6m e copas com diâmetro variando entre 0,5 a 3m.

Estrutura espacial

Foram escolhidas quatro áreas de ocorrência de *Chamaecrista blanchetii*, com densidades populacionais visualmente distintas, dentro das quais todas as plantas adultas (reprodutivas) foram numeradas e mapeadas (Figura 1). As áreas A, B e C compõem as subpopulações de baixa densidade e formam uma subpopulação maior, porém, naturalmente fragmentada. A área A está localizada de forma adjacente às áreas B e C, distante cerca 100m e separada destas duas pelo rio Piabinha. As áreas B e C são subpopulações justapostas separadas entre si por platôs de rochas nuas e áreas cobertas por vegetação herbácea a arbustiva. Estas subpopulações estão localizadas em formação típica dos ambientes rochosos da região, onde são reconhecidos os habitats de vala, afloramento e entremeio, conforme Conceição & Pirani (2005). A área D constitui uma subpopulação de alta densidade e disjunta das outras três em cerca 950m, localizada em terreno arenoso, plano, com vegetação arbustiva a arbórea desenvolvida e recortada por pequenos afloramentos rochosos.

A localização de cada planta foi feita a partir de triangulação utilizando pares de pontos com distâncias conhecidas. A distância entre cada planta e os dois pontos mais próximos foi obtida em campo com o uso de trena. Para mapear todas as plantas marcadas dentro das quatro áreas foi necessária a utilização de 26 pares de pontos fixos que tiveram suas coordenadas geográficas obtidas com GPS geodésico Pro XR Trimble, com acurácia aproximada de 30 cm. Os mapas de distribuição foram confeccionados com o programa ArcView[®] GIS 3.3 (ESRI 2002), com coordenadas em UTM, a partir dos quais foram feitos mapas temáticos que auxiliaram a interpretação da variação espacial dos indivíduos e da produção de flores na população.

Para a descrição do padrão de distribuição das plantas, foi feita análise espacial de segunda ordem com a função K de Ripley (1977), que consiste em uma função de probabilidade cumulativa de densidade baseada na variância das distâncias entre todas as plantas, e que permite caracterizar padrões de distribuição em duas dimensões. Assumindo as premissas de homogeneidade e anisotropia, o valor de $\lambda(K)$ é o número esperado de

vizinhos em um círculo de raio t em qualquer ponto (planta) no espaço, tendo sido utilizada uma simplificação desta função denominada função L (Besag 1977) definida por:

$$L(t) = \sqrt{\frac{K(t)}{\pi}} \pm t \quad (1)$$

Considerando uma distribuição espacial completamente aleatória (DECA), é esperado o valor $L(t) = 0$; se dentro de uma distância t de qualquer ponto são encontrados menos vizinhos do que o esperado em DECA, então $L(t) < 0$; e se um número maior de vizinhos esperados em DECA for encontrado, então $L(t) > 0$. As análises foram conduzidas em intervalos de distância de $t = 1\text{m}$. Para a correção do efeito de borda e cálculo do intervalo de confiança para parcelas de contorno irregular utilizou-se o *software* Programita (Wiegand & Moloney 2004). Para a obtenção do intervalo de confiança foi seguida a recomendação de se usar simulações de Monte Carlo em um modelo nulo conforme um processo estocástico, calculando o intervalo de confiança em torno do modelo nulo. Cada simulação gera uma função $L(t)$ e, posteriormente, cerca de $n/(n+1) \times 100\%$ intervalos de confiança são calculados a partir do maior e do menor valor de $L(t)$ tomados de n simulações. Deste modo, para obtenção do intervalo de confiança de 95% para parcelas com contorno irregular, como neste estudo, não necessários 19 simulações (Wiegand & Moloney 2004).

Fenologia de floração e frutificação

A fenologia de floração foi estudada através do acompanhamento mensal de todas as plantas entre setembro de 2003 e outubro de 2005, num total de 27 meses, abrangendo 2 períodos completos de floração, tendo sido incluídos nas análises somente os meses em que houve floração nos anos de 2004 e 2005. A produção total frutos por planta foi quantificada em novembro de 2004 e de 2005, após a maturação dos últimos frutos formados.

Considerando que o somatório de botões, flores em antese, flores fenecidas e frutos representam 100% do potencial de produção floral de uma planta, cada indivíduo foi classificado quanto à intensidade de floração no dia do censo, em cinco categorias: 0 (ausência total de flores), 1 (de 1 a 25% de flores em antese), 2 (de 26 a 50%), 3 (de 51 a 75%) e 4 (de 76 a 100%). Simultaneamente foi estimado o total de flores abertas no momento do censo, contando o número de inflorescências com flores por indivíduo, considerando que em média foram encontradas cinco flores em antese simultaneamente por inflorescência.

As características fenológicas de floração da população foram determinadas a partir das médias dos seguintes parâmetros avaliados por planta: (1) número total de flores produzidas nos dias dos censos durante o período de floração; (2) início do período de floração; (3) fim do período de floração; (4) duração do período de floração, considerando o intervalo entre o mês de início e de fim de produção de flores; (5) sincronia dos indivíduos na produção floral.

A sincronia individual indica o período de sobreposição da floração de um indivíduo em relação aos demais na mesma população, e a sincronia da população é uma média composta pelo total de sobreposição de cada indivíduo em relação aos demais seguindo a fórmula (Marquis 1988):

$$S_M = \sum_{t=0}^n \left(\frac{x_t}{\sum_{t=0}^n x_t} \right) \times P_t \quad (2)$$

onde,

x_t é o número de flores registradas em um dado censo (t), n é o número total de censos e p_t é a proporção de plantas em antese no censo t . Uma vez que a maior parte das plantas adultas produziu mais de 30 flores em cada período, foram excluídas da análise aquelas que produziram menos de 10 flores (incluindo aquelas que nunca floresceram), na tentativa de diminuir o viés nas medidas de sincronia.

Autocorrelação espacial

As análises de autocorrelação espacial (AE) foram empregadas nas cinco variáveis fenológicas de floração e na produção de frutos, a partir de correlogramas utilizando o índice I de Moran (1950). Este índice apresenta amplitude de +1 a -1, e os correlogramas ilustram a autocorrelação para diferentes classes de distância, sendo possível avaliar o efeito da proximidade entre conjuntos de pares de amostras. Os conjuntos de pares observados foram divididos em 20 classes de distância com 3m de extensão, incluindo no mínimo 30 pares de pontos em todas as classes de distância (Legendre & Legendre 1998). Neste estudo, foram utilizadas classes de distâncias de intervalos iguais, uma vez que o conjunto de pontos (distribuição das plantas) apresenta agregação espacial, pelo menos nos 20 primeiros metros de distância. Caso a recomendação de Dutilleul & Legendre (1993) para utilização de classes de frequências iguais fosse utilizada neste estudo, teriam sido geradas classes de distância com dimensões extremamente diferentes.

Uma vez que a duração e a sincronia da floração são fortemente relacionadas com o número total de flores produzidas (Almeida-Neto & Lewinsohn 2004), foram consideradas apenas as plantas que produziram mais de nove flores para a condução das análises de autocorrelação para essas duas variáveis. Caso essa seleção não seja feita, a autocorrelação da duração e sincronia tenderá a ser similar à autocorrelação do número total de flores. Neste caso, a autocorrelação não pode ser interpretada como consequência de nenhum outro fator além do próprio efeito da produção floral.

Os correlogramas das variáveis mapeadas e os testes exatos de Monte Carlo para cada classe de distância foram feitos a partir do suplemento ROOKCASE para Excel[®] (Sawada 1999). A significância dos valores de autocorrelação espacial para cada intervalo de distância foi testada aplicando-se a correção progressiva de Bonferroni (Legendre & Legendre 1998, Fortin & Dale 2005), sendo apresentados os resultados para as quatro primeiras classes de distância.

Resultados

Distribuição

A área A apresenta extensão de 10.365m² e incluiu 240 indivíduos; a área B, 8.412m² e 157 indivíduos; a área C, 9.359m² e 143 indivíduos; e a área D, 1.372m² e 450 indivíduos, totalizando 990 plantas distribuídas em 29.507 m². Entre as quatro áreas mapeadas, as áreas A, B e C, de menor densidade, apresentaram 0,023, 0,019, 0,015 plantas/m², respectivamente, e a área D, de maior densidade, apresentou 0,33 plantas/m². A partir da análise espacial de segunda ordem foi detectado padrão agregado com valores positivos significativos até pelo menos 20m de cada planta individual, nas quatro áreas (Figura 2). Nas classes de distância em torno de 10m, nas áreas A e C foram detectados valores de $L(t)$ superiores aos valores encontrados nas demais áreas nas mesmas classes de distância, indicando agrupamento pronunciado de indivíduos em manchas delimitadas dentro das áreas mencionadas. Em cada uma das áreas, os maiores valores de agregação foram detectados em torno dos 20 metros.

Fenologia de floração

O período de floração de *Chamaecrista blanchetii* apresentou uma distribuição unimodal ao longo do ano, com início no final de abril/começo de maio, pico de indivíduos em antese e máximo de flores produzidas no mês de julho, e final do período reprodutivo

entre agosto e setembro (Figura 3). O número de plantas reprodutivas dentro de cada área ao longo da florada foi similar entre as duas temporadas, sendo registrados no pico da florada, no dia do censo: na área A, cerca de 65% em 2004 e 50% em 2005 das plantas adultas em flor; na área B, 86% em 2004 e 64% em 2005; na área C, 75% nos dois anos; e na área D 78% em 2004 e 88% em 2005. No pico da florada, houve redução de cerca de 50% no número de flores produzidas, no dia do censo, nas áreas A e B de 2004 para 2005. Nas áreas C e D o número de flores produzidas no dia do censo, em julho, foi similar entre os anos. Na área D, foi registrada uma produção floral 60% maior em junho de 2005, considerando a produção de flores no dia do censo no mesmo período de 2004.

A proporção de indivíduos distribuídos entre as classes de intensidade de floração foi semelhante em cada mês entre as áreas (Figura 4). Durante os dois períodos, a maior parte dos indivíduos floridos foi classificada na categoria 1 (1-25% de flores em antese), no dia do censo, inclusive no pico da florada, com mais de 40% dos indivíduos classificados nesta categoria em todas as áreas e nos dois anos, exceto na área A em 2004. Foram registradas plantas com intensidade de floração nas classes 3 (51-75% de flores em antese) e 4 (76-100% de flores em antese) apenas no pico da florada.

Foi verificada uma pronunciada variação no padrão fenológico entre as plantas para todas as variáveis estudadas (Tabela 1). Considerando o somatório das flores produzidas nos dias dos censos, a média e a amplitude de produção floral por planta foram maiores na área B, porém diferentes entre os anos, com $72 \pm 80,2$ e $53,22 \pm 53,62$ flores produzidas por planta em 2004 e 2005, respectivamente; e menor na área D, com valores similares entre os anos, com $27,17 \pm 25,7$ em 2004 e $29,63 \pm 33,18$ em 2005. O tempo de duração desta fenofase foi maior na área B, com plantas permanecendo floridas, em média $2,5 \pm 1,23$ meses em 2004 e $2,98 \pm 0,97$ em 2005, e menor na área D, com duração de $1,96 \pm 0,96$ e $1,66 \pm 0,81$ meses em 2004 e 2005, respectivamente. O início do período de floração aparentou ser mais tardio na área C onde os primeiros indivíduos floridos foram registrados a partir de maio (terceiro mês do período reprodutivo) nos dois anos de estudo, assim como na área D em 2005. Houve uma sincronia média entre indivíduos na população, variando entre $0,64 \pm 0,22$ e $0,8 \pm 0,15$ entre as áreas e entre os anos, com menores valores registrados na área A, tanto em 2004 quanto em 2005. Houve diminuição significativa na produção de frutos entre os anos nas áreas A e B, com produção total estimada de 6.105 e 10.837 frutos, respectivamente, em 2004, e quase a metade destes valores em 2005. Na área B, as plantas produziram em média $84,23 \pm 92,19$ e $38,95 \pm 36,6$ frutos em 2004 e 2005, respectivamente.

Vizinhança ecológica

As cinco variáveis fenológicas de floração e a produção de frutos em *Chamaecrista blanchetii* apresentaram algum grau de autocorrelação espacial (AE) na primeira classe de distância (3 metros), em pelo menos uma das quatro áreas em um dos dois anos de estudo, sendo apresentados os resultados resumidos das quatro primeiras classes de distância na Tabela 2. Dentre as áreas de menor densidade populacional, a área A apresentou distribuição aleatória em quase todos os parâmetros florais, nos quatro primeiros intervalos de distância, tendo sido detectada AE significativamente positiva apenas na sincronia em 2004 e no início da floração em 2005 entre vizinhos a menos de 3m. Nesta área, houve AE positiva significativa na produção de frutos entre vizinhos até 9m. As demais áreas de menor densidade (áreas B e C) apresentaram AE significativamente positiva em todos os parâmetros florais em pelo menos um dos quatro primeiros intervalos entre vizinhos nos dois anos, com exceção na produção de flores na área C em 2004 e no fim da floração em 2005, em ambas as áreas. Nestas duas áreas, houve AE significativamente positiva na produção de frutos entre vizinhos a menos de 3m. A área D, de maior densidade populacional, apresentou valores de AE significativamente positiva em todos os parâmetros florais e na produção de frutos, com valores significativos nas duas primeiras classes de distância, exceto no fim da floração nos dois anos. Os correlogramas das análises de AE até os intervalos de distância de 60m, empregadas em todos os parâmetros florais e produção de frutos avaliados nas quatro áreas e nos dois anos, são apresentados no Anexo 1.

Discussão

Estrutura espacial

Em diferentes abordagens ecológicas, o arranjo espacial das plantas pode ser determinado por pressões seletivas de fatores microambientais, modo de reprodução e dispersão limitada dos propágulos (Ohsawa *et al.* 1993, Epperson 1990, 2000, Fonseca *et al.* 2004, Conceição & Pirani 2005). Nos campos rupestres da Chapada Diamantina, a contigüidade dos diferentes tipos de solos, distintos quanto à composição, profundidade e capacidade de retenção de umidade, compõe estruturas de habitats complexos que caracterizam a fragmentação ambiental nas montanhas desta região, incluindo o Parque Municipal de Mucugê (Conceição & Giuliatti 2002, Conceição & Pirani 2005). É esperado que o padrão da distribuição espacial de *Chamaecrista blanchetii* esteja relacionado a esta

heterogeneidade ecológica, favorecendo o estabelecimento local de manchas amplas com diferenças pronunciadas quanto à densidade entre elas, e diferentes níveis de agregação em microescala dentro de áreas mais restritas. É possível considerar ainda que em áreas compostas de solo arenoso, plano e com maior profundidade, como na área D, seja possível o recrutamento e estabelecimento de um maior número de plantas, se comparada com as demais áreas. Estas áreas de menor densidade, em especial as áreas A e B, ocupam um ambiente típico das áreas rochosas dos campos rupestres, recortado por extensos platôs de pedras, onde são facilmente reconhecidos os três principais habitats descritos nestas áreas rochosas na Chapada Diamantina: os afloramentos, entremeios e valas (Conceição & Pirani 2005).

Neste contexto, é possível supor que o padrão fortemente agregado em pequenas distâncias, em torno de 5m, e em manchas mais amplas, em torno de 20m, como descrito nas áreas A e B, seja devido ao estabelecimento restrito das plantas aos habitats de vala, onde há a formação de solos com maior acúmulo de matéria orgânica. Esta sugestão é fortalecida pela ausência de indivíduos de *C. blanchetii* em habitats de afloramento e entremeio, conformando com o padrão estrutural descrito para comunidade de plantas rupestres, onde o estabelecimento de fanerófitas é comumente restrito aos habitats de vala, os quais abrigam também a maior diversidade de espécies nestes ambientes em escala microespacial (Conceição & Pirani 2005). Neste caso, a dispersão de sementes limitada a poucos metros da planta mãe em *C. blanchetii* (Capítulo 3) reforça a estruturação marcadamente heterogênea em microescala, com agrupamentos de plantas possivelmente aparentadas a poucos metros de distância, que podem compor uma vizinhança ecologicamente estruturada.

Fenologia de floração

Diferentes características fenológicas, como produção floral, duração e sincronia, podem variar em termos individuais e populacionais, gerando padrões complexos no período reprodutivo. Tais padrões podem se apresentar como resultado de pressões seletivas da disponibilidade de polinizadores, condições microclimáticas ou devido às similaridades genótípicas de plantas próximas (Pleasants 1980, Campbell & Motten 1985, Strauss 1997, McIntosh 2002, Mohoro 2002, Ramirez 2002). Diferentes estratégias fenológicas, onde as flores são disponibilizadas simultaneamente (em massa) ou pontualmente em floradas prolongadas, podem afetar o padrão de espalhamento dos grãos de pólen entre indivíduos férteis, com possíveis implicações nos níveis de endogamia

experimentados pela população (Marquis 1988, de Jong *et al.* 1992, Ohsawa *et al.* 1993, Schmitt 1983, Kitamoto *et al.* 2006).

Estudos fenológicos em espécies lenhosas de Leguminosae apontam para uma grande variação nos padrões de produção floral, na extensão do período de floração e na sazonalidade na família (Madeira & Fernandes 1999, Bulhão & Figueiredo 2002). Em espécies simpátricas de *Chamaecrista* em ambiente rupestre, são reportados padrões de floração variáveis entre espécies ocorrentes em uma área restrita e climaticamente constante, onde aspectos filogenéticos e relativos ao hábito podem estar relacionados às características fenológicas de diferentes espécies estudadas (Madeira & Fernandes 1999).

Em *Chamaecrista blanchetii*, os principais parâmetros fenológicos podem variar entre subpopulações e/ou entres temporadas, aparentando existir uma dinâmica complexa de apresentação floral em períodos reprodutivos sucessivos. Em termos populacionais, a diminuição no total de flores produzidas entre os anos nas áreas A e B, mas com número constante de plantas florescendo, sugere haver um comportamento similar entre plantas na mesma subpopulação, porém exibindo comportamento distinto entre subpopulações.

Em termos individuais, as plantas mantêm a produção floral por dias consecutivos, num período que pode durar de um a sete meses, ao longo dos quais muitos indivíduos podem constantemente passar por intervalos de ausência total de produção de flores e retomar a produção floral no mesmo ano. Neste caso, é possível que a alta sincronia média inter-individual seja um padrão resultante da sobreposição da produção de flores entre um dado indivíduo e outros que se alternam na população ao longo da temporada. Provavelmente, uma dada planta pode iniciar seu período reprodutivo em sincronia com um grupo de plantas e finalizá-lo em sincronia com outro distinto, e na próxima temporada, esta combinação pode também ser alterada, caracterizando uma estratégia de apresentação floral prolongada e variável ao longo do período reprodutivo. Por outro lado, dada à alta agregação espacial de plantas, a ocorrência de um pico de floração bem marcado, com cerca de 80% da população em flor, pode compor um cenário de produção floral em massa e em diferentes níveis de agregação local.

Assim como em outras espécies, é provável que a variação na produção floral em *C. blanchetii* promova mudanças ou variações no comportamento dos polinizadores para a busca de recursos, trazendo conseqüências para os padrões reprodutivos na população mediando o fluxo polínico entre plantas (Capítulo 3, Schmitt 1983, Cressewell 1997, Kitamoto *et al.* 2006). Neste caso, é esperado que variações na duração e sincronia de floração possam aumentar as chances de reprodução cruzada entre grupos distintos na

mesma temporada ou em temporadas sucessivas (de Jong *et al.* 1992, Ramirez 2002). Em *Linanthus bicolor*, uma espécie herbácea anual, foi verificado que o pólen pode ser disperso a distâncias maiores entre plantas no início da floração quando as flores estão disponíveis em baixa densidade, e pode ser mais restrito no pico da florada quando polinizador mantém suas atividades em áreas de maior concentração de plantas e flores (Schmitt 1983).

Espécies autocompatíveis, como *Chamaecrista blanchetii* (Capítulo 2), podem ser favorecidas por floração em massa, aumentando as taxas de transferência polínica, porém mais frequentemente entre flores da mesma planta ou entre vizinhos. Para espécies como essas, o balanço entre o efeito positivo da polinização e os efeitos negativos da diminuição da transferência de pólen entre plantas pode representar, de qualquer forma, a vantagem seletiva de produzir mais flores ao mesmo tempo (Frankie & Haber 1983, de Jong *et al.* 1992, 1993, Richards 1997, Ramirez 2002).

Com base nos padrões de vôo do polinizador e espalhamento polínico na população, é estimado que um sistema misto de polinização seja o mais provável de ocorrer nesta população (Capítulo 3). Neste caso, a floração em massa em pequena escala espacial, favorecendo o aumento das taxas de endogamia, pode ainda ser compensada pela presença e manutenção de alelos recessivos deletérios na população, levando à depressão endogâmica. Esta sugestão deriva da alta taxa de aborto detectada em estágios iniciais de desenvolvimento de indivíduos gerados por autopolinização experimental, indicando haver restrição da proporção destes indivíduos repostos na população (Capítulo 2), muito embora essa estratégia possa representar aumento da perda polínica e principalmente de óvulos.

Vizinhança ecológica

Devido à característica ausência de mobilidade do indivíduo adulto, o deslocamento de seus alelos dentro da população traz profundas conseqüências para a biologia das plantas através de processos seletivos complexos que variam espaço-temporalmente. A vizinhança ecológica em uma população é normalmente composta por plantas relacionadas entre si que compartilham semelhanças genéticas e padrões ecológicos (Fenster 1991, Kelly 1992, Ohsawa *et al.* 1993, Epperson 2000, Law 2001, Silvertown 2001). Neste sentido, os efeitos da variação dos padrões fenológicos de floração na distância da dispersão polínica podem trazer conseqüências para a estrutura genética espacial (Schmitt 1983, Loveless and Hamrick, 1984). Associando informações da fenologia de floração, padrão atual de cruzamentos e testes de paternidade na prole, Kitamoto *et al.* (2006)

demonstraram que a distância do fluxo polínico e o nível de endogamia na próxima geração podem ser alterados pela variação fenológica em *Primula sieboldii*. Estes autores sugeriram que a avaliação na dinâmica de floração numa determinada população deve ser considerada fundamental na interpretação dos padrões de estrutura genética espacial em populações naturais.

Em *Chamaecrista blanchetii*, a autocorrelação espacial positiva na produção total de flores e frutos, duração e início da florada e sincronia entre indivíduos em pequenas classes de distâncias sugere que vizinhos próximos apresentam estratégias de floração semelhantes. Neste caso, consideramos que a hipótese de uma estruturação dos padrões fenológicos e de frutificação em uma vizinhança ecológica significativa, resultante da similaridade genética entre vizinhos próximos, é a mais plausível. Esta hipótese decorre dos padrões de autocorrelação espacial detectados também para diversos locos aloenzimáticos e relações de coancestralidade entre vizinhos distantes menos de 10m (Capítulo 4). A baixa amplitude de dispersão de sementes e a limitada dispersão de pólen promovida pelo polinizador, ambas levando a um reduzido tamanho da vizinhança genética na população (Capítulo 3), corroboram o argumento de ocorrência de agrupamentos de plantas aparentadas, que muito provavelmente compartilham necessidades em termos de requerimentos ecológicos em microescala e semelhanças nos padrões de floração. Neste contexto, a similaridade nas características de floração entre vizinhos pode atuar como um fator facilitador de cruzamentos preferenciais em microescala entre plantas aparentadas, contribuindo para o aumento da endogamia e estruturação genética local.

O cenário espacial reprodutivo apresentado por *C. blanchetii* em dois anos consecutivos pode conformar com aspectos geradores de um alto nível de endogamia e fluxo gênico restrito em famílias genéticas locais, gerando estrutura genética espacial pronunciada. Por outro lado, variações no número de flores produzidas e demais características fenológicas como início e sincronia entre plantas, entre as temporadas, pode contribuir para cruzamentos preferenciais entre indivíduos distintos em cada floração. Neste caso, o banco de sementes formado e o conjunto de indivíduos recrutados a cada geração podem ser resultados de um *pool* gênico misto que acumula a variabilidade genética gerada a cada estação.

Referências bibliográficas

- ALMEIDA-NETO, M. & T.M. LEWINSOHN. 2004. Small-scale spatial autocorrelation and the interpretation of relationships between phenological parameters. *Journal of Vegetation Science* 15: 561-568.
- BAWA. K.S. 1983. Patterns of flowering in tropical plant. Pp 394-410 in JONES, C.E. & R.J LITTLE (eds.) *Handbook of experimental pollination biology*. Van Nostrand Reinhold Company, New York.
- BENCKE, C.S.C. & L.P.C., MORELLATO. 2002. Estudo comparativo da fenologia de nove espécies arbóreas em três tipos de floresta atlântica no sudeste do Brasil. *Revista Brasileira de Botânica* 25: 237-248.
- BESAG, J.E. 1977. Comments on Ripley's paper. *Journal of the Royal Statistical Society, Series B Methodological* 39: 193-195.
- BULHÃO, C.F. & P.S. FIGUEIREDO. 2002. Fenologia de leguminosas arbóreas em uma área de cerrado marginal no nordeste do Maranhão. *Revista Brasileira de Botânica* 25: 361-369.
- CAMPBELL, D.R. & A.F. MOTTEN. 1985. The mechanism of competition for pollination between two forest herbs. *Ecology* 66: 554-563.
- CONCEIÇÃO, A.A. & A.M. GIULIETTI. 2002. Composição florística e aspectos estruturais de campo rupestre em dois platôs do Morro do Pai Inácio, Chapada Diamantina, Bahia, Brasil. *Hoehnea* 29: 37-48.
- CONCEIÇÃO, A.A. & J.R. PIRANI. 2005. Delimitação de habitats em campos rupestres na Chapada Diamantina, Bahia: substratos, composição florística e aspectos estruturais. *Boletim de Botânica da Universidade de São Paulo* 23: 85-111.
- CRESSWELL, J.E. 1997. Spatial heterogeneity, pollinator behaviour and pollinator-mediated gene flow: bumblebee movements in variously aggregated rows of oil-seed rape. *Oikos* 78: 546-556.
- DALE, M.R.T. & M.J. FORTIN. 2002. Spatial autocorrelation and statistical tests in ecology. *Ecoscience* 9: 162-167.
- DE JONG, T.J., P.G.L. KLINKHAMMER & M.J. VAN STAALDUINEN. 1992. The consequences of pollination biology for selection of mass or extended blooming. *Functional Ecology* 6: 606-615.
- DE JONG, T.J., N.M. WASER & P.G.L. KLINKHAMMER. 1993. Geitonogamy: the neglected side of selfing. *Trends in Ecology and Evolution* 8: 321-325.

- DUTILLEUL, P. & P. LEGENDRE. 1993. Spatial heterogeneity against heteroscedasticity: An ecological paradigm versus a statistical concept. *Oikos* 66: 152-171.
- EPPELSON, B.K. 1990. Spatial patterns of genetic variation within plant populations. Pp 229-253 in: BROWN, A.H.D., M.T. CLEGG, A.L. KAHLER & B.S. WEIR (eds.) *Plant population genetics, breeding, and genetic resources*. Sinauer, Sunderland.
- EPPELSON, B.K. 2000. Spatial genetic structure and non-equilibrium demographics within plant population. *Plant Species Biology* 15: 269-279.
- ESRI. 2002. *ArcView 3.3*. Environmental Systems Research Institute, New York.
- FENSTER, C.B. 1991. Gene flow in *Chamaecrista fasciculata* (Leguminosae): I. Gene dispersal. *Evolution* 45: 398-409.
- FONSECA, M.G., A.M.Z. MARTINI & F.A.M. SANTOS. 2004. Spatial structure of *Aspidosperma polyneuron* in two semi-deciduous forests in Southeast Brazil. *Journal of Vegetation Science* 15: 41-48.
- FORTIN M.J., G. M. JACQUEZ & B. SHIPLEY. 2002b. Computer-intensive methods. Pp 399-402 in: ABDEL H., A.H. EL-SHAARAWI & W.W. PIEGORSCH (eds.) *Encyclopedia of Environmetrics, Volume 1*. John Wiley & Sons Ltd., Chichester.
- FORTIN M.J., M.R.T. DALE & J. VER HOEF. 2002a. Spatial analysis in ecology. Pp 2051-2058 in: ABDEL H., A.H. EL-SHAARAWI & W.W. PIEGORSCH (eds.) *Encyclopedia of Environmetrics, Volume 4*. John Wiley & Sons, Chichester.
- FORTIN, M.J. & M.R.T DALE. 2005. *Spatial analysis – a guide for ecologists*. Cambridge University Press, Cambridge.
- FRANKIE, G.W., H.G. BAKER. & P.A. OPLER. 1974. Comparative phenological studies of trees in tropical wet and dry forest in the lowland of Costa Rica. *Journal of Ecology* 62: 881-919.
- FRANKIE, G.W. & W.A. HABER. 1983. Why bees move among mass-flowering neotropical trees. Pp 360-372 in: JONES, C.E. & R.J LITTLE (eds.) *Handbook of experimental pollination biology*. Van Nostrand Reinhold Company, New York.
- GIULIETTI, A.M., L.P. QUEIROZ & R.M. HARLEY 1996. Vegetação e flora da Chapada Diamantina, Bahia. Pp 144-156 in: *Anais da 4ª Reunião Especial da SBPC*, Feira de Santana.
- HANSKI, I. 2001. Spatially realistic models of metapopulation dynamics and their implications for ecological, genetic and evolutionary processes. Pp 139-156 in: SILVERTOWN, J. & J. ANTONOVICS (eds.) *Integrating ecology and evolution in a spatial context*. Blackwell Science, Oxford.

- HARLEY, R.M. 1995. Introdução. Pp 43-76 in STANNARD, B.L. (ed.) *Flora do Pico das Almas Chapada Diamantina – Bahia, Brasil*. The Royal Botanical Gardens, Kew.
- KÖPPEN, W. 1948. *Climatologia con un estudio de los climas de la tierra* (transl. P.R.H. Peres), Fondo de Cultura e Economica, Mexico.
- KELLY, C.A. 1992. Spatial and temporal variation in selection on correlated life-history traits and plant size in *Chamaecrista fasciculata*. *Evolution* 46: 1658-1673.
- KITAMOTO, N., S. UENO, A. TAKENAKA, Y. TSUMURA, I. WASHITANI & R. OHSAWA. 2006. Effect of flowering phenology on pollen flow distance and the consequences for spatial genetic structure within a population of *Primula sieboldii* (Primulaceae). *American Journal of Botany* 93: 226-233.
- LAW, R., W. PURVES, D.J. MURRELL & U. DIECKMANN. 2001. Causes and effects of small-scale spatial structure in plant populations. Pp 21-44 in: SILVERTOWN, J. & J. ANTONOVICS (eds.) *Integrating ecology and evolution in a spatial context*. Blackwell Science, Oxford.
- LEGENDRE, P. 1993. Spatial autocorrelation: trouble or new paradigm? *Ecology* 74: 1659-1673.
- LEGENDRE, P. & L. LEGENDRE. 1998. *Numerical ecology – Developments in environmental modeling*. Elsevier, Amsterdam.
- LIEBHOLD, A.M. & J. GUREVITCH. 2002. Integrating the statistical analysis of spatial data in ecology. *Ecography* 25: 553-557.
- LOVELESS, M.D. & J.L. HAMRICK. 1984. Ecological determinants of genetic structure in plant populations. *Annual Review of Ecology and Systematics* 15: 65-95.
- MADEIRA, J.A. & G.W. FERNANDES. 1999. Reproductive phenology of sympatric taxa of *Chamaecrista* (Leguminosa) in Serra do Cipó, Brazil. *Journal of Tropical Ecology* 15: 463-479.
- MAHORO, S. 2002. Individual flowering schedule, fruit set, and flower and seed predation in *Vaccinium hirtum* Thunb. (Ericaceae). *Canadian Journal of Botany* 80: 82-92.
- MARQUIS, R.J. 1988. Phenological variation in the neotropical understory shrub *Piper arielanum*: causes and consequences. *Ecology* 69: 1552-1565.
- MCINTOSH, M.E. 2002. Flowering phenology and reproductive output in two sister species of *Ferocactus* (Cactaceae). *Plant Ecology* 159: 1-13.
- MORAN, P.A.P. 1950. Notes on continuous stochastic phenomena. *Biometrika* 37: 17-23.

- MORELLATO, L.P.C., D.C. TALORA, A. TAKAHASI, C.C. BENCKE, E.C. ROMERA & V.B. ZIPPARRO. 2000. Phenology of Atlantic rain forest trees: a comparative study. *Biotropica* 32: 811-823.
- OHSAWA, R., N. FURUYA & Y. UKAIA. 1993. Effects of spatially restrict pollen flow on spatial genetic structure of an animal-pollinated allogamous plant population. *Heredity* 71: 64-73.
- OLLERTON, J. & A. LACK. 1998. Relationships between flowering phenology, plant size and reproductive success in *Lotus corniculatus* (Fabaceae). *Plant Ecology* 139: 35-47.
- PERRY, J.N. A.M. LIEBHOLD, M.S. ROSENBERG, J. DUGAN, M. MIRITI, A. JAKOMULSKA & S. CITRON-POUSTY. 2002. Illustrations and guidelines for selecting statistical methods for quantifying spatial patterns in ecological data. *Ecography* 25: 578-600.
- PLEASANTS, J.M. 1980. Competition for bumblebee pollinators in Rocky Mountain plant communities. *Ecology* 61: 1446-1459.
- RAMIREZ, N. 2002. Reproductive phenology, life-forms, and habitats of Venezuelan Central Plain. *American Journal of Botany* 89: 836-842.
- RICHARDS, A.J. 1997 *Plant breeding systems*, 2^a ed. Chapman & Hall, London.
- RIPLEY, B.D. 1977. Modeling spatial patterns. *Journal of the Royal Statistical Society, Series B Methodological* 39: 172-212.
- SAN MARTIN-GAJARDO, I. & L.P.C. MORELLATO. 2003. Fenologia de Rubiaceae do sub-bosque em floresta Atlântica no sudeste do Brasil. *Revista Brasileira de Botânica* 26: 299-309.
- SAWADA, M. 1999. ROOKCASE: An Excel 97/2000 Visual Basic (VB) add-in for exploring global and local spatial autocorrelation. *Bulletin of the Ecological Society of America* 80: 231-234.
- SCHMITT, J. 1983. Density-dependent pollinator foraging, flowering phenology, and temporal pollen dispersal patterns in *Linanthus bicolor*. *Evolution* 37: 1247-1257.
- SILVERTOWN, J. 2001. Plants stand still, but their genes don't: non-trivial consequences of the obvious. Pp 3-20 in: SILVERTOWN, J. & J. ANTONOVICS (eds.) *Integrating ecology and evolution in a spatial context*. Blackwell Science, Oxford.
- SOKAL, R.R., N.L. ODEN & B.A. THOMSON. 1998. Local spatial autocorrelation in biological variables. *Biological Journal of the Linnean Society* 65: 41-62.
- STRAUSS, S.Y. 1997. Floral characters link herbivores, pollinators, and plant fitness. *Ecology* 78: 1640-1645.

- TALORA, D.C. & L.P.C. MORELLATO. 2000. Fenologia de espécies arbóreas em floresta de planície litorânea do sudeste do Brasil. *Revista Brasileira de Botânica* 23: 13-26.
- WIEGAND T. & K.A. MOLONEY. 2004. Rings, circles, and null-models for point pattern analysis in ecology. *Oikos* 104: 209–229.
- WIEGAND T., W.D. KISSLING, P.A. CIPRIOTTI. & M.R. AGUIAR. 2006. Extending point pattern analysis for objects of finite size and irregular shape. *Journal of Ecology* 94: 825-837.
- ZIMMERMAN, M. 1988. Nectar production, flowering phenology, and strategies for pollination. Pp 157-178. *in*: LOVETT DOUST, J. & L. LOVETT DOUST (eds.) *Plant reproductive Ecology*, Oxford University Press, New York.

Tabela 1: Características fenológicas e índice de sincronia de Marquis (S_M) para quatro subpopulações de *Chamaecrista blanchetii* entre março e setembro em dois anos consecutivos, no Parque Municipal de Mucugê. Valores apresentados como média±desvio padrão (mínimo-máximo) e meses de floração codificados de 1 (março) a 7 (setembro).

	2004	N^*	2005	N^*
Área A				
Nº total de flores	46,89±58,32 (1-320)	188	33,62±36,56 (1-165)	166
Duração (meses)	1,94±0,94 (1-5)	148	1,78±0,95 (1-7)	125
Início (mês)	4,12±0,84 (1-6)	188	4,38±0,93 (1-7)	166
Fim (mês)	5,06±0,8 (1-7)	188	5,16±0,69 (3-7)	166
S_M	0,66±0,17 (0,01-0,80)	148	0,64±0,22 (0,04-0,85)	125
Nº de frutos	39,9±44,6 (1-300)	153	26,54±36,33 (1-180)	134
Área B				
Nº total de flores	72,5±80,32 (1-430)	141	53,22±53,62 (1-350)	135
Duração (meses)	2,5±1,23 (1-7)	120	2,98±0,97 (2-6)	104
Início (mês)	3,77±0,96 (1-6)	141	3,11±0,85 (1-5)	135
Fim (mês)	5,27±0,72 (2-7)	141	5,9±0,74 (3-7)	135
S_M	0,8±0,15 (0,06-0,94)	120	0,66±0,17 (0,17-0,82)	104
Nº de frutos	84,23±92,19 (1-500)	123	38,95±36,6 (1-190)	104
Área C				
Nº total de flores	44,6±48,62 (1-305)	122	33,49±39,07 (1-250)	117
Duração (meses)	2,15±1,12 (1-5)	104	1,71±0,8 (1-4)	93
Início (mês)	3,89±0,93 (2-6)	122	4,39±0,64 (3-6)	117
Fim (mês)	5,04±0,78 (3-7)	122	5,1±0,62 (4-7)	117
S_M	0,68±0,18 (0,13-0,87)	104	0,7±0,18 (0,17-0,85)	93
Nº de frutos	64±75,05 (1-500)	100	48,65±44,25 (5-200)	89
Área D				
Nº total de flores	27,17±25,7 (1-178)	375	29,63±33,18 (1-320)	419
Duração (meses)	1,96±0,96 (1-5)	288	1,66±0,81 (1-5)	345
Início (mês)	4,07±0,83 (1-6)	375	4,39±0,71 (3-5)	
Fim (mês)	5,03±0,62 (3-7)	375	5,05±0,52 (3-7)	419
S_M	0,72±0,18 (0,08-0,89)	288	0,74±0,21 (0,11-0,92)	345
Nº de frutos	29,34±38,93 (1-350)	348	30±38,02 (1-200)	267

* Plantas que produziram nove flores ou menos foram excluídas das análises de duração e sincronia (S_M).

Tabela 2: Autocorrelação espacial nas características fenológicas de floração e produção de frutos de *Chamaecrista blanchetii* nas quatro subpopulações de uma população de *Chamaecrista blanchetii*, no Parque Municipal de Mucugê, em 2004 e 2005. Valores marcados com asterisco indicam índice de autocorrelação espacial de Moran (1950) significativos a partir de teste exato de Monte Carlo, após correção progressiva de Bonferroni.

	2004				2005			
	0-3m	3-6m	6-9m	9-12m	0-3m	3-6m	6-9m	9-12m
Área A								
Nº total de	0,077	0,059	-0,104	0,020	0,097	0,005	0,075	-0,090
Duração	0,041	-0,062	0,009	-0,057	0,137	0,017	-0,03	0,015
Início (mês)	0,094	0,014	-0,041	0,017	0,290*	-0,02	0,06	0,05
Fim (mês)	-0,009	0,026	-0,025	-0,04	-0,001	0,021	0,116	0,034
S_M	0,285*	-0,047	0,085	0,029	-0,001	-0,016	-0,020	-0,074
Nº de frutos	-0,025	-0,021	0,043	0,031	0,474*	0,293*	0,217*	0,121
Área B								
Nº total de	0,147*	0,259*	0,056	-0,003	0,357*	0,101	0,132	-0,005
Duração	0,113	0,217*	0,25*	0,187	0,477*	0,193*	0,09	-0,01
Início (mês)	0,303*	0,03	0,105	0,14	0,477*	0,2793*	0,157*	0,176
Fim (mês)	0,14*	0,225*	0,127*	-0,004	0,052	0,031	0,046	0,011
S_M	-0,165	0,286*	0,096	0,148	0,198*	-0,014	-0,091	0,0003
Nº de frutos	0,324*	0,184*	0,207*	-0,05	0,357*	0,064	0,069	-0,097
Área C								
Nº total de	0,008	-0,042	-0,025	0,071	0,128*	0,107*	0,069	0,05
Duração	0,125*	0,164	-0,077	0,054	0,111	0,253*	0,3*	0,279

Continuação da Tabela 2.

	2004				2005			
	0-3m	3-6m	6-9m	9-12m	0-3m	3-6m	6-9m	9-12m
Fim (mês)	0,152	0,189*	0,169	0,183	0,002	0,011	0,082	0,19
S_M	0,226*	-0,046	0,189	0,067	0,283*	0,214*	-0,061	0,119
Nº de frutos	0,233*	0,079	-0,019	-0,053	0,304*	0,055	0,016	-0,044
Área D								
Nº total de	0,130*	0,04*	0,038	-0,012	0,227*	0,091*	0,081	0,06
Duração	0,209*	0,146*	0,102*	0,021	0,104*	0,074*	0,071*	0,005
Início (mês)	0,189*	0,114*	0,073	0,002	0,156*	0,104*	0,084	0,012
Fim (mês)	0,013	-0,012	0,006	-0,004	0,033	0,023	0,009	0,011
S_M	0,198*	0,166*	0,100*	0,018	0,160*	0,104*	0,089*	0,010
Nº de frutos	0,129*	0,028*	-0,0156	-0,005	0,131*	0,062*	0,022*	-0,016

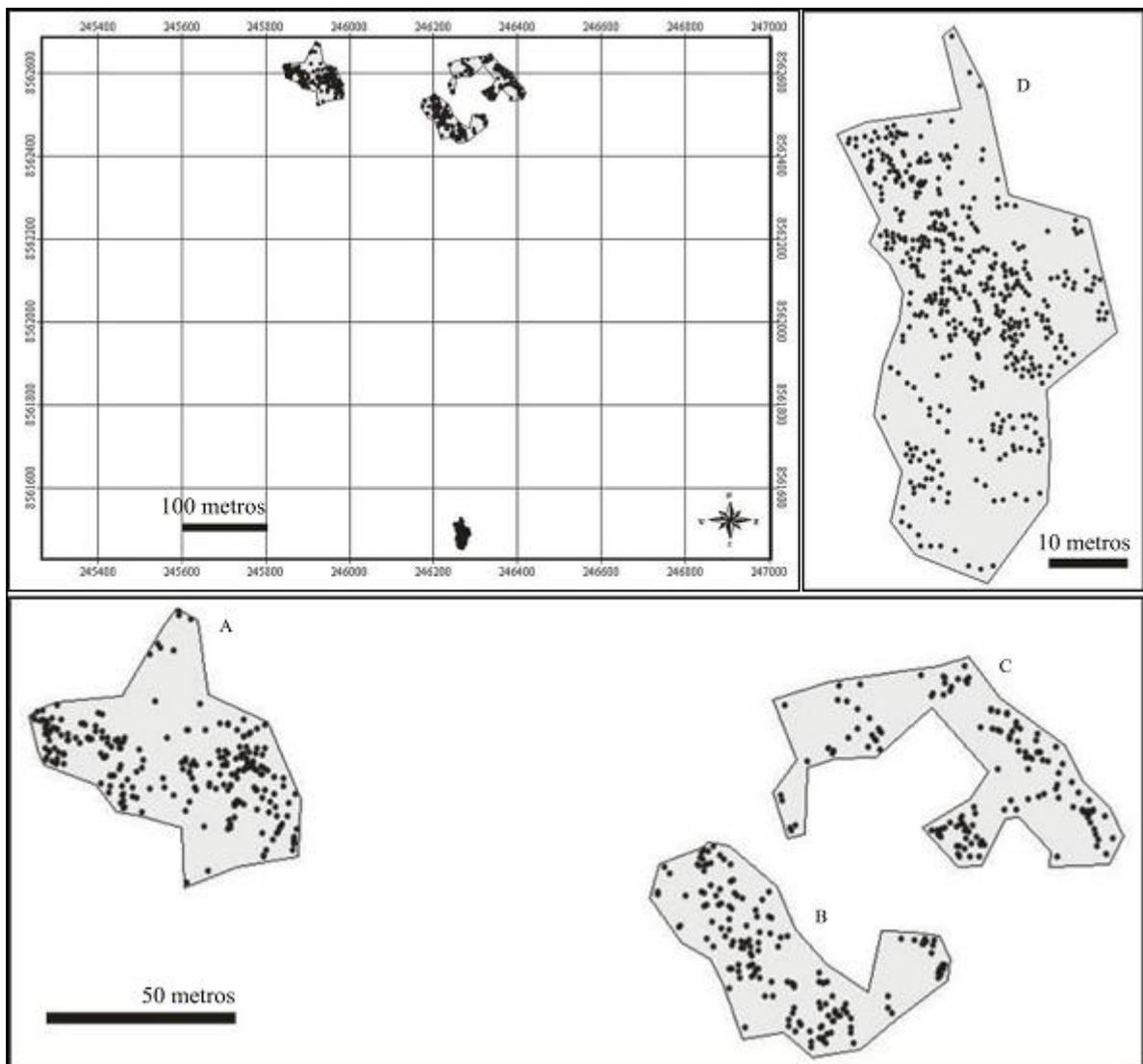


Figura 1: Mapa de localização das quatro subpopulações de *Chamaecrista blanchetii* no Parque Municipal de Mucugê, Bahia, Brasil, indicando os indivíduos adultos (pontos) ocorrentes nas áreas mapeadas.

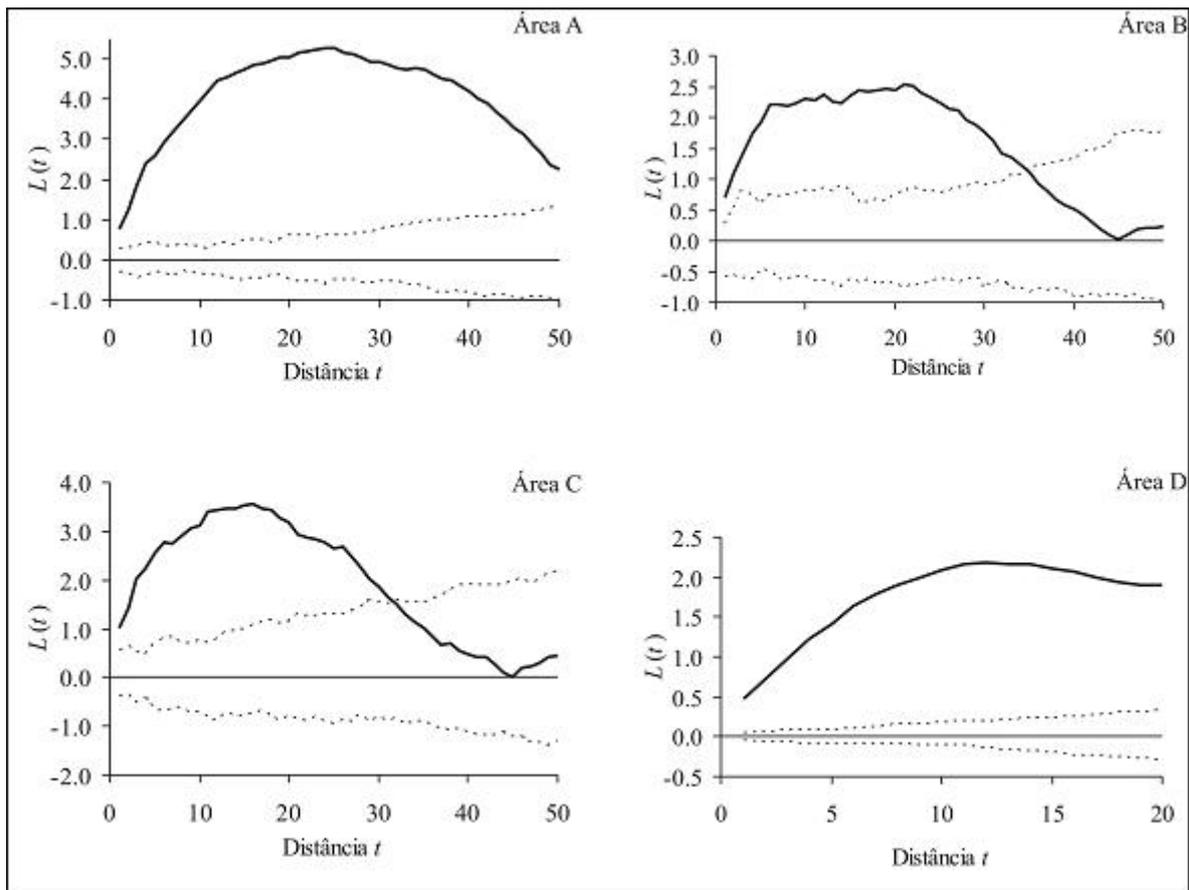


Figura 2: Estrutura espacial das plantas adultas de *Chamaecrista blanchetii* nas áreas de A a D, utilizando estatística espacial de segunda ordem. A função $L(t)$ (linha sólida) foi plotada contra t para cada intervalo de 1,0m. Linhas pontilhadas abrangem intervalo de confiança de 95% para uma distribuição espacial completamente aleatória.

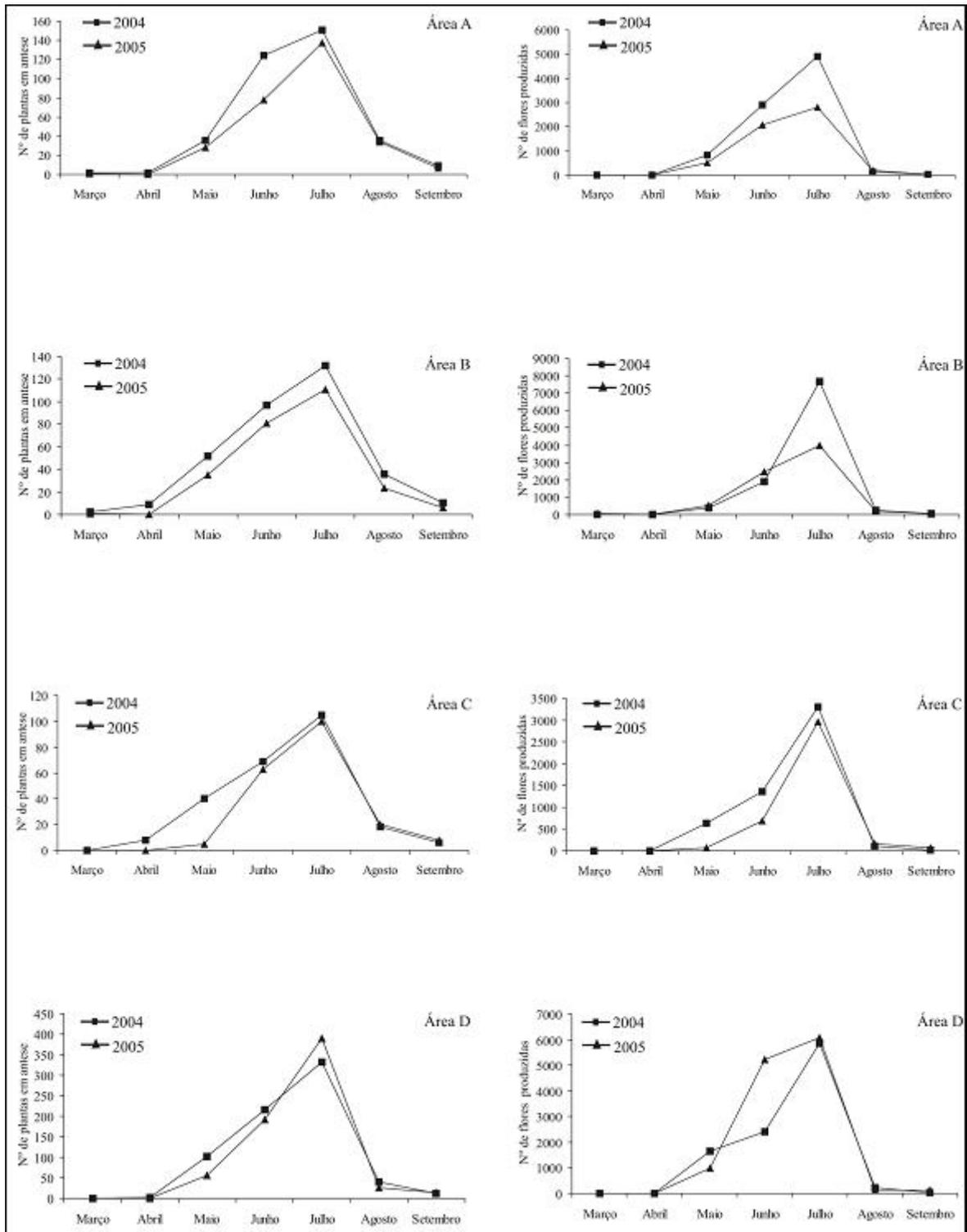


Figura 3: Número total de indivíduos de *Chamaecrista blanchetii* em antese e total de flores produzidas no dia do censo, em dois anos consecutivos, nas quatro áreas de estudo.

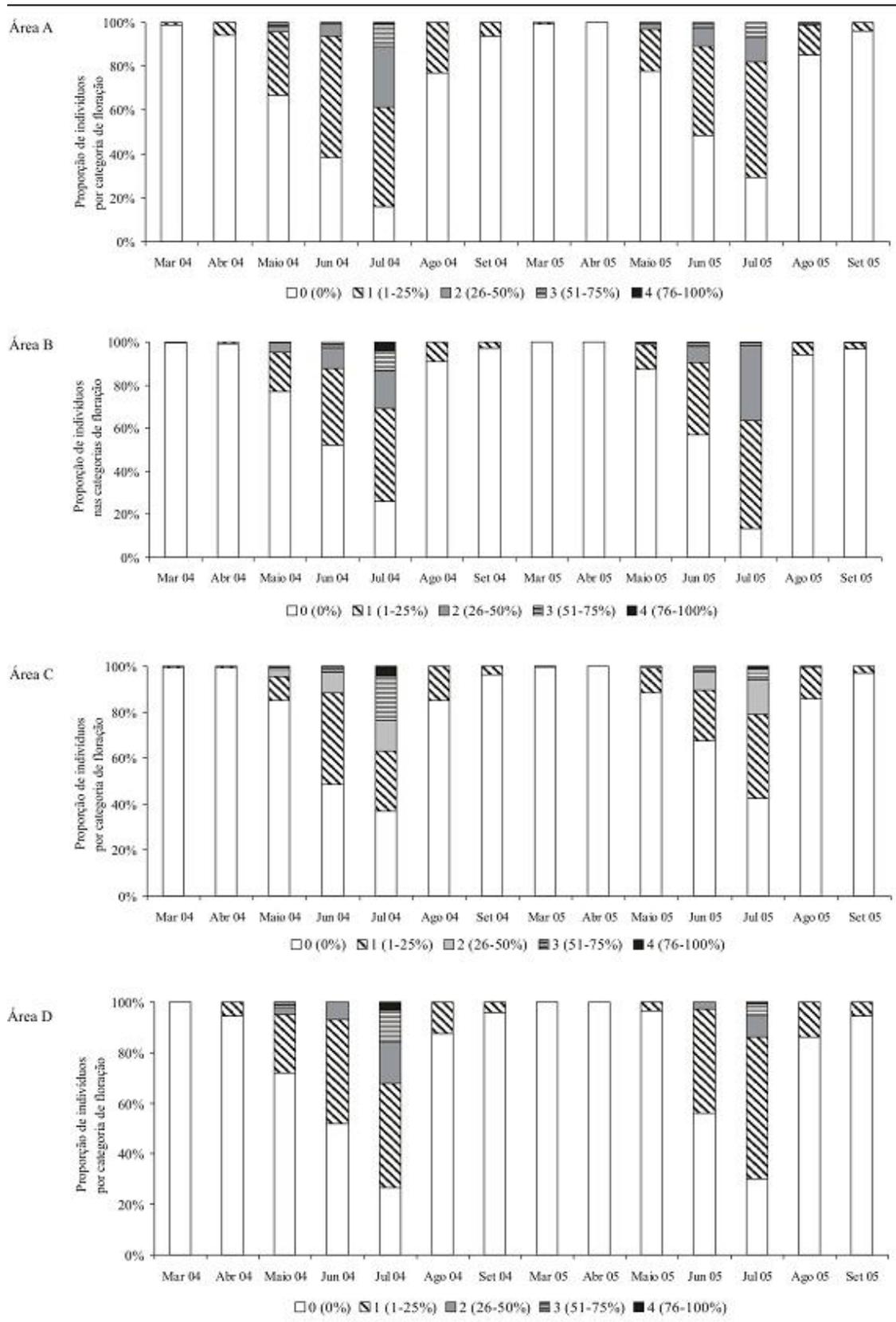
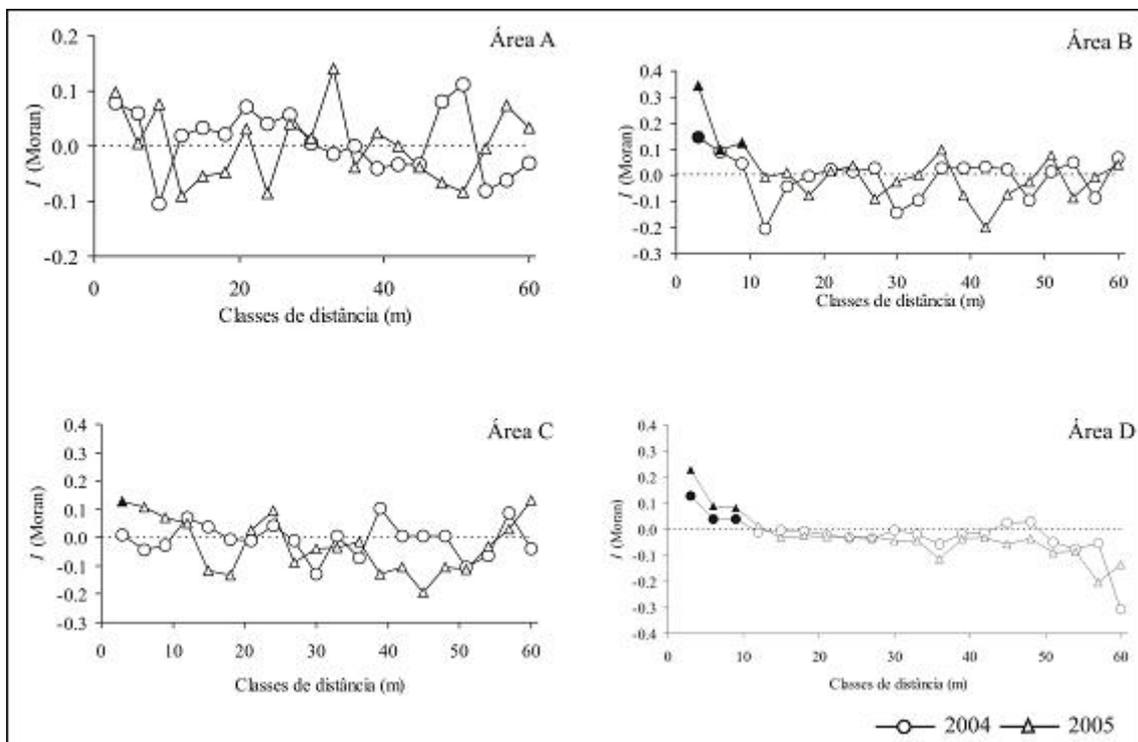
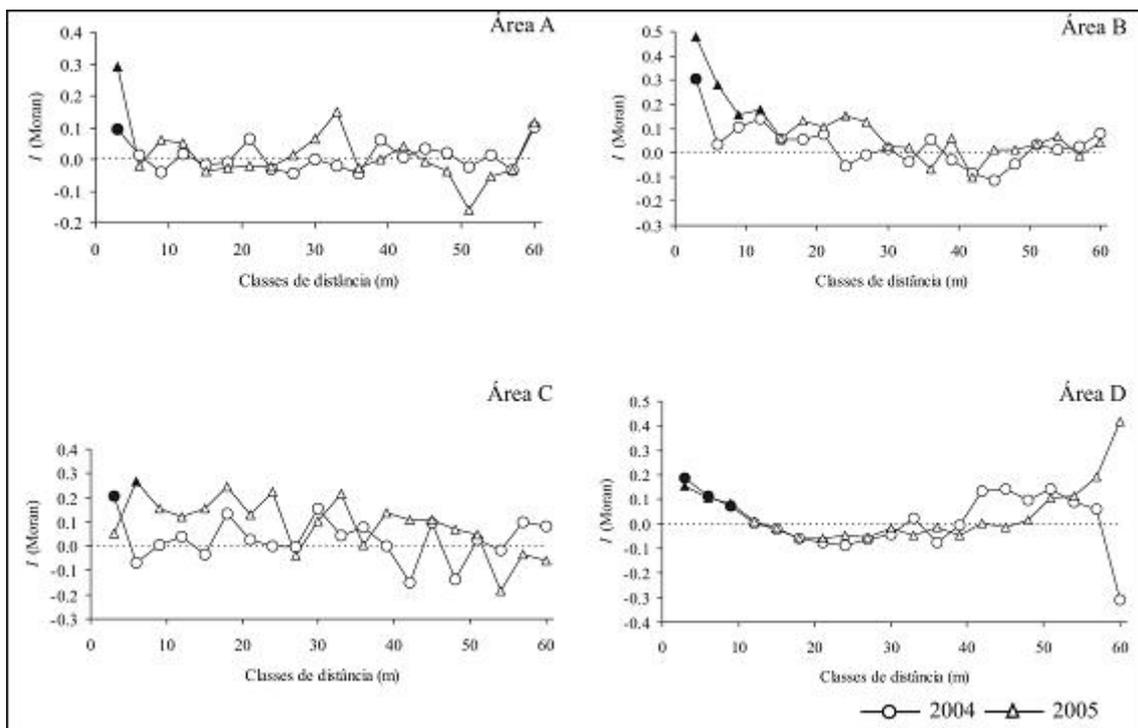


Figura 4: Proporção de indivíduos de *Chamaecrista blanchetii* classificados em cinco categorias de floração, no dia do censo, em dois anos consecutivos, nas quatro áreas de estudo. Ver texto para definição das categorias.

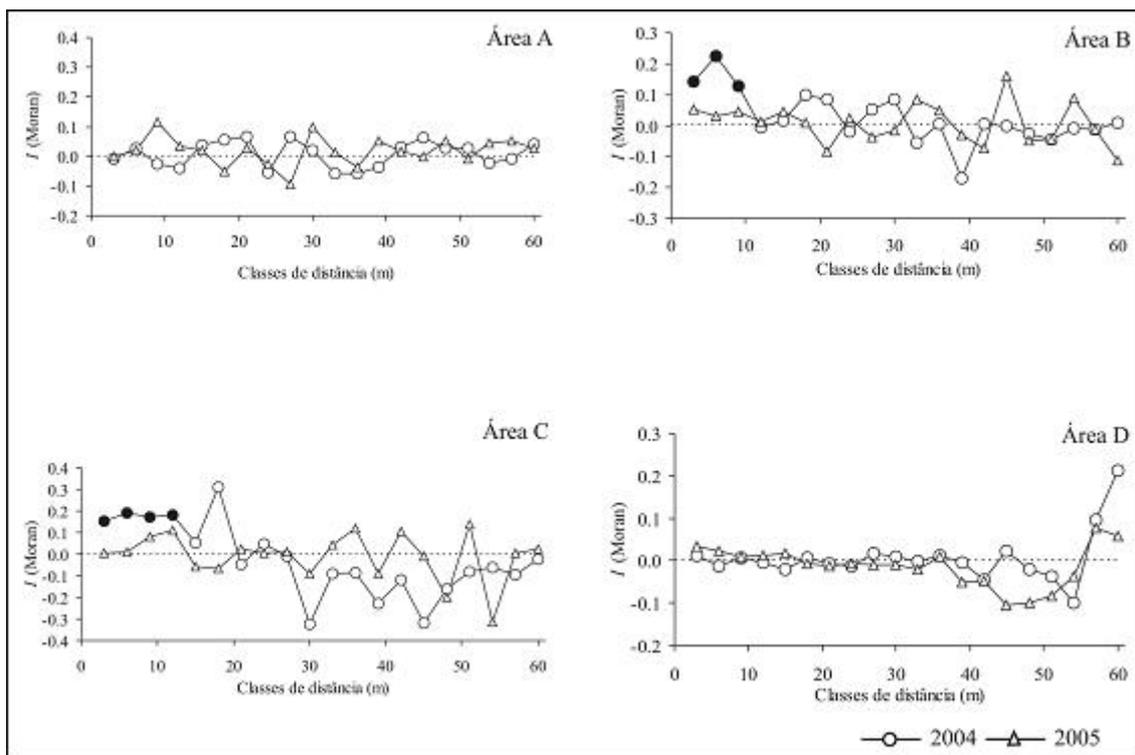
Anexo 1: Análises de autocorrelação espacial nos atributos fenológicos de floração e produção de frutos nas quatro áreas, nos dois anos de estudo. Círculos cheios nos correlogramas representam valores significativos a partir de teste exato de Monte Carlo, após correção progressiva de Bonferroni.



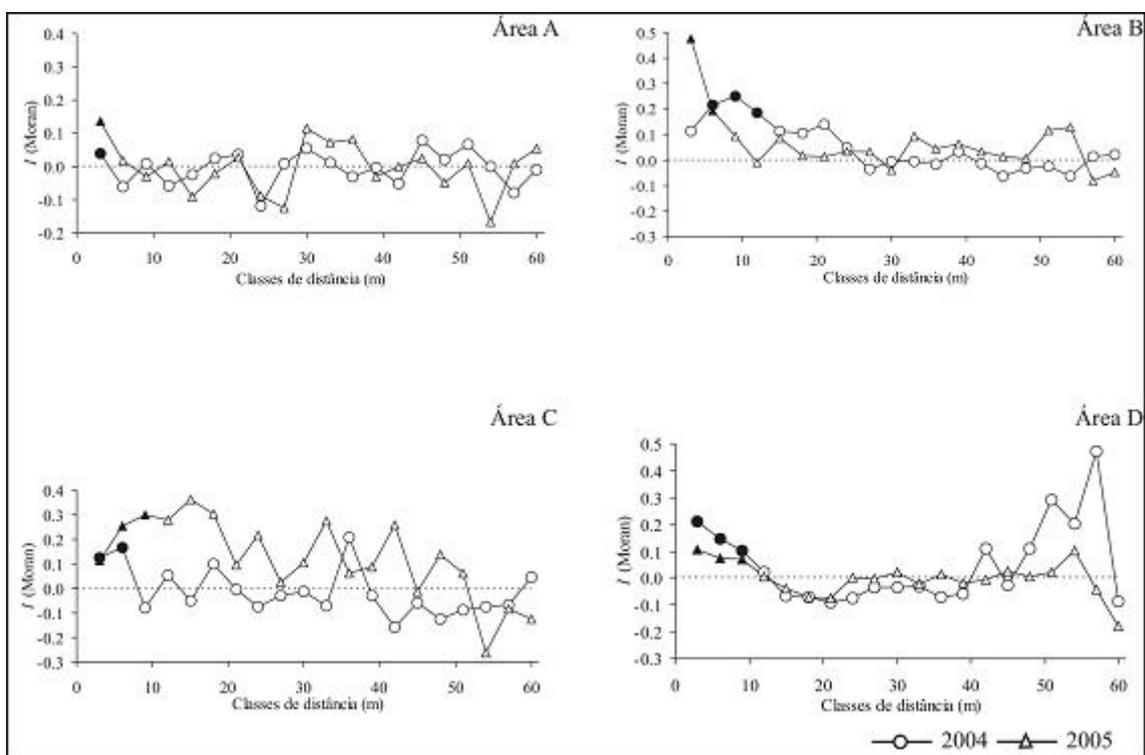
Produção floral.



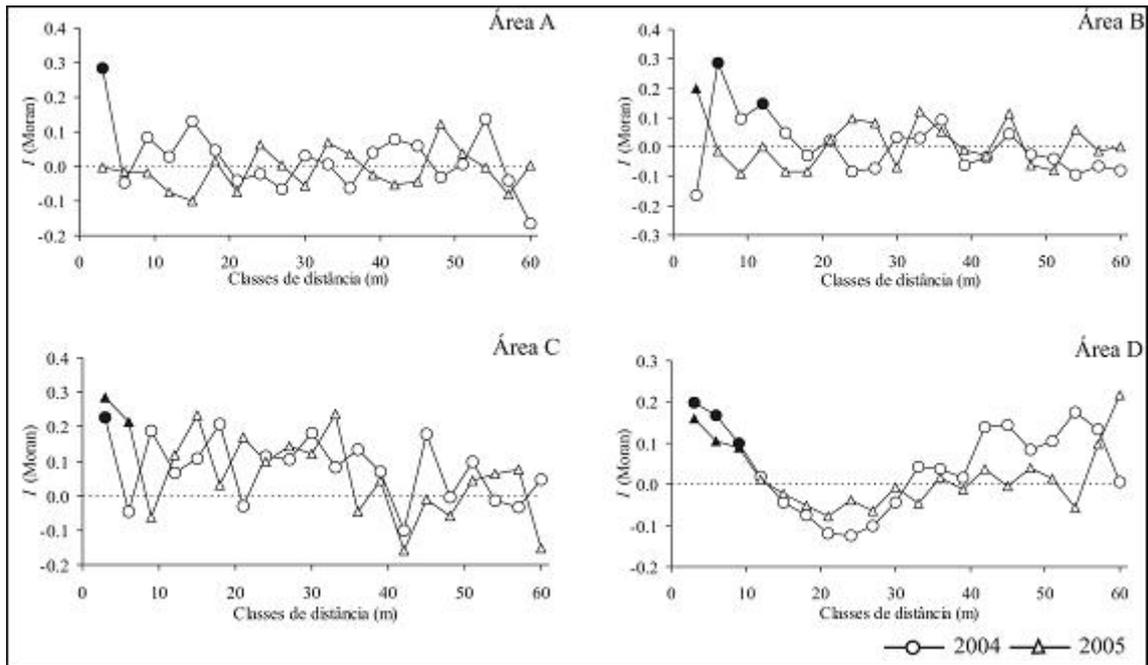
Início da floração.



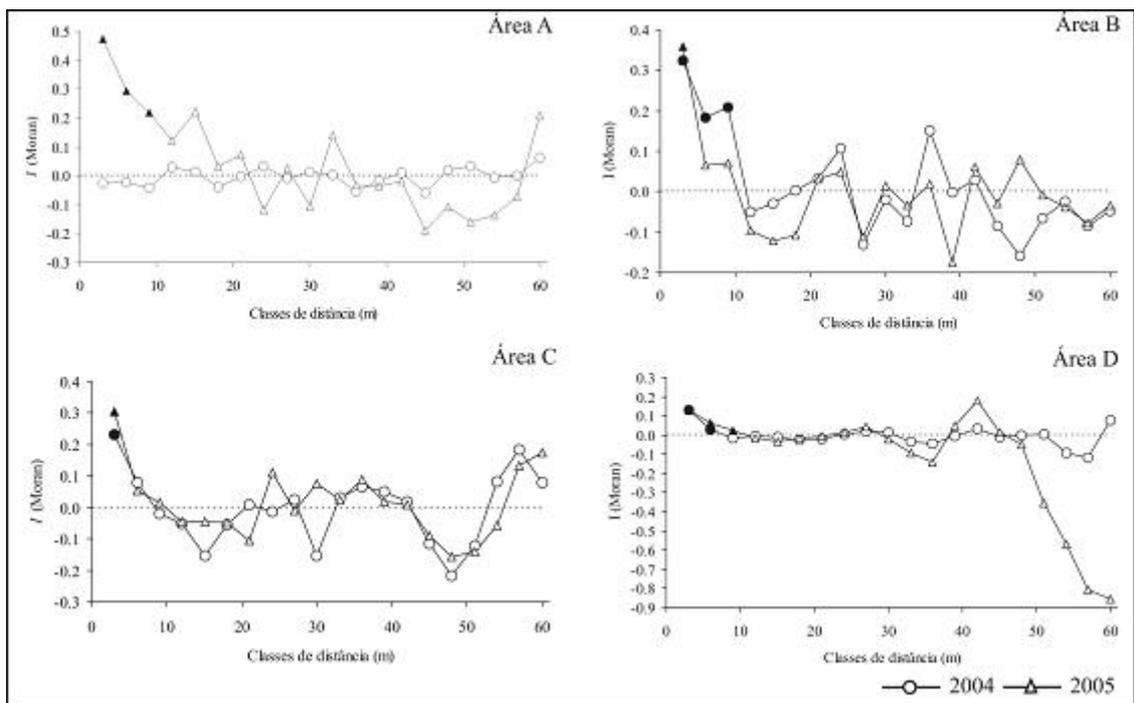
Fim da floração.



Duração do período de floração.



Sincronia de floração a partir do índice de sincronia de Marquis (1988).



Produção de frutos.

CAPÍTULO 2

Polinização em ricochete e biologia reprodutiva de *Chamaecrista blanchetii* (Leguminosae, Caesalpinioideae), no Parque Municipal de Mucugê, Chapada Diamantina, Brasil

Resumo

Estudos sobre o sistema de polinização, biologia floral e reprodutiva em *Chamaecrista blanchetii* foram realizados com o objetivo de avaliar quem são os polinizadores, como acessam o recurso e como as estruturas florais promovem o movimento do pólen dentro da flor e o contato do pólen e estigma com o corpo do polinizador; e se existe redução no número de sementes bem formadas originadas por autocruzamentos ou cruzamentos entre vizinhos espacialmente próximos, nas primeiras fases do desenvolvimento da planta. O estudo foi feito durante o período de floração (maio a agosto) em 2004, no município de Mucugê, Bahia, Brasil. Esta espécie apresenta flores amarelas, hermafroditas, pentâmeras, assimétricas, com uma pétala falcada voltada para as anteras poricidas, que emitem um odor suave, são enantiofilicas, homogâmicas e possuem alta viabilidade polínica (92%). É polinizada preponderantemente por operárias de *Bombus brevivillus* (88,7% das visitas, n=318). Os polinizadores pousam na flor, sobre as anteras, se seguram com as garras na base das pétalas e realizam movimentos vibratórios das anteras. Parte do pólen liberado forma uma “nuvem” dentro da câmara floral, com maior parte dos grãos depositada na região ventral do tórax, abdômen e pernas, e a menor parte refletida pela pétala falcada para a região dorsal do tórax, o local de contato com o estigma. Parte deste pólen é removida em comportamento de limpeza eficiente, restando uma estreita faixa na região mediana do dorso suficiente para a polinização nos dois morfos, sendo a enantiofilia aparentemente pouco eficiente na restrição da polinização intramorfo. Em autopolinizações e polinizações cruzadas experimentais houve valores similares de frutificação, de 43 a 53%. Porém, foi observada diferença significativa na proporção de sementes bem formadas entre os tratamentos de autopolinização em relação à polinização entre vizinhos próximos ($q=6,98$ $p<0,01$) e polinização entre indivíduos distantes ($q=7,48$ $p<0,01$), mas com percentual de germinação similar. O percentual de sementes bem desenvolvidas em polinização aberta em três anos consecutivos apresentou alta variância entre frutos num mesmo indivíduo, entre indivíduos dentro de uma mesma área, com diferenças significativas apenas entre os anos. Embora as características florais e o comportamento de *B. brevivillus* favoreçam a transferência polínica entre flores da mesma planta, com eventos geitonogâmicos frequentes, o estoque de sementes repostas na população a cada período reprodutivo pode ser composto preponderantemente por sementes oriundas de polinização cruzada, onde um sistema misto de reprodução é o mais provável de ocorrer nesta população.

Introdução

A enantiostilia em plantas constitui um polimorfismo sexual das peças reprodutivas femininas, que emergem alternativamente do lado direito ou do esquerdo no eixo floral, resultando em flores com imagens espelhadas (Endress 2001, Jesson & Barrett 2002, 2003). Na enantiostilia dimórfica, os indivíduos apresentam flores exclusivamente de um dos dois morfos, sendo esta condição resultante de um polimorfismo genético, enquanto na enantiostilia monomórfica os indivíduos apresentam ambas as formas simultaneamente, estando presentes na mesma inflorescência ou segregadas em inflorescências separadas (Jesson & Barrett 2002). Evidências filogenéticas sugerem que a enantiostilia monomórfica evoluiu a partir de uma condição ancestral de estigma não direcionado, sendo registrada em pelo menos 10 famílias distintas, e que a enantiostilia dimórfica é uma condição derivada da monomórfica (Jesson *et al.* 2003). Estudos teóricos e genéticos indicam que a funcionalidade do padrão enantiostílico está relacionada à diminuição de eventos geitonogâmicos com concomitante aumento nas taxas de transferência polínica entre plantas. (Jesson & Barrett 2002, 2003). Embora esta tendência funcional possa ser considerada a mais comum, em muitas espécies o polimorfismo estigmático está associado a uma variedade de combinações de posicionamento, forma, tamanho e funcionalidade de anteras que podem resultar em efeitos distintos no sucesso reprodutivo do sistema (Dulberg 1981, Fenster 1995, Barrett *et al.* 2000, Laporta 2005).

Na família Leguminosae, a enantiostilia monomórfica é uma característica freqüente em espécies da subtribo *Cassiinae*, incluindo espécies de *Chamaecrista*, *Senna* e *Cassia*, comumente associada à assimetria das peças florais, anteras poricidas e à redução ou ausência de néctar (Gottsberger & Gottsberger 1988, Dulberger 1981, Carvalho & Oliveira 2003, Laporta 2005). Nestas espécies, onde a exposição do pólen ocorre através de movimentos de vibração dos estames pelos polinizadores, a variação morfológica das flores pode determinar o padrão de espalhamento do pólen no corpo do vetor e da forma como este será acessado pelos estigmas.

Evidências a partir de experimentos reprodutivos em populações naturais de espécies de Leguminosae apontam para ocorrência de mecanismos de auto-incompatibilidade, em especial de ação tardia, como eventos freqüentes nos sistemas reprodutivos encontrados na família (Bawa & Webb 1984, Bullock 1985, Bawa & Buckley 1989, Gibbs & Sasaki 1998, Gibbs *et al.* 1999, Lewis & Gibbs 1999, Freitas & Oliveira 2002). São registrados ainda que a alta taxa de aborto natural de sementes em espécies

autocompatíveis em Leguminosae esteja também relacionada à ocorrência de depressão endogâmica como consequência de eventos de autogamia em espécies preferencialmente alogâmicas (Karron 1989, Fenster 1991).

Chamaecrista blanchetii (Benth.) Conc., L.P. Queiroz & G.P. Lewis é uma espécie de Leguminosae arbustivo-arbórea, típica de ambiente rupestre e amplamente distribuída entre as montanhas da Cadeia do Espinhaço. Na Chapada Diamantina, esta espécie apresenta populações heterogêneas com distribuição agregada dos indivíduos em microescala, os quais apresentam sincronia de floração entre vizinhos próximos e variação na produção floral (Capítulo 1). Estudos sobre o fluxo gênico atual e estimativas do tamanho da vizinhança genética sugerem que a dispersão de gametas entre plantas através do fluxo polínico pode variar, ocorrendo transferência entre vizinhos próximos, possivelmente aparentados, e entre plantas distantes espacialmente (Capítulo 3). A dispersão limitada de sementes parece contribuir para formação de grupos estruturados de planta em uma vizinhança ecológica, as quais apresentam alto nível de endogamia e estrutura genética espacial em famílias locais, porém sendo encontrada alta variabilidade genética intrapopulacional (Capítulo 4). Na tentativa de compreender como eventos pré e pós-fertilização podem determinar o sistema de reprodução e o nível de endogamia em uma população natural de *C. blanchetii*, investigamos neste trabalho: (i) quem são os polinizadores e como acessam o recurso nas flores; (ii) como as estruturas florais promovem o movimento do pólen dentro da flor e o contato do pólen e estigma com o corpo do polinizador; e (iii) caso seja uma espécie autocompatível, se existe redução na viabilidade e germinação de sementes originadas por autocruzamentos ou cruzamentos entre vizinhos, possivelmente aparentados.

Material e Métodos

Área de estudo

O sistema de polinização e a biologia floral de *Chamaecrista blanchetii* foram investigados durante o período de floração em 2004 e em 2005, dentro dos limites do Parque Municipal de Mucugê (12°59'02''S a 13°00'18''S e 41°20'41'' a 41°20'33''W), Bahia, Brasil. Esta região está localizada acima de 1.000 m de altitude, na Serra do Sincorá, porção central da Chapada Diamantina. O clima local é classificado como mesotérmico tipo Cwb (Köppen 1948) onde a temperatura média não ultrapassa 22°C nos meses mais quente (entre outubro e fevereiro) e a precipitação média anual varia entre 830

e 1190 mm (Giulietti *et al.* 1996). A vegetação é típica de campo rupestre, com a predominância do estrato herbáceo-arbustivo, com manchas de vegetação arbórea desenvolvida, recortada por afloramentos rochosos. Neste ambiente, *Chamaecrista blanchetii* apresenta distribuição espacial heterogênea e ocupa áreas tanto de solo pedregoso como arenoso, próximas ou afastadas dos cursos dos rios. Os indivíduos estão distribuídos em agrupamentos com diferentes densidades, variando de isolados a densamente agrupados (Capítulo 1). A fenofase de floração se estende de maio a setembro com pico na produção de flores entre junho e julho. Neste período é observada alta sincronia reprodutiva entre plantas, compondo um cenário de agregação floral em microescala, enquanto uma distribuição mais esparsa das flores pode ser observada no início e no fim da floração (Capítulo 1).

Biologia floral e polinização

Para a descrição do padrão floral de *C. blanchetii*, foram considerados: (1) o tipo, localização e o número médio de flores produzidas por inflorescência, (2) o padrão floral com ênfase nas pétalas modificadas, anteras e estigma e (3) o horário, processo e duração média da antese. A receptividade estigmática foi verificada no campo em diferentes períodos do dia, antes e durante a antese, utilizando peróxido de hidrogênio (Dafni 1992). A disponibilidade polínica foi verificada a partir da abertura das fendas das anteras, seguido do toque com um diapasão de vibração, para liberação dos grãos de pólen. A viabilidade do pólen foi verificada em cinco anteras de flores de diferentes indivíduos com teste enzimático com nitroblue-tetrazólio para verificar a atividade de desidrogenases (Dafni 1992). O levantamento dos visitantes florais foi feito durante observações focais periódicas, concentradas entre 10 e 17 de junho e 14 e 19 de julho de 2004 e entre 6 e 9 de junho e 1 e 4 de julho de 2005, normalmente entre 6:00 e 11:00h, incluindo observações esporádicas em diferentes horários do dia, totalizando 110 horas em 22 dias de observação. O comportamento de visita e coleta de recursos foi descrito quanto à localização do pólen no corpo dos polinizadores e no contato com o estigma, frequência e duração. Material testemunho dos visitantes foi depositado no Museu de Zoologia da Universidade Estadual de Feira de Santana (MZUEFS).

Biologia reprodutiva

Para o estudo do sistema reprodutivo, foram ensacadas inflorescências com botões florais utilizado nos experimentos manuais de polinização. Foram realizadas

experimentalmente autopolinizações ($n=36$), polinizações cruzadas entre vizinhos próximos (entre 1 e 2m; $n=32$) e polinizações cruzadas entre indivíduos distantes (entre 800 e 900m; $n=37$), utilizando sempre uma flor por indivíduo. Após a formação dos frutos, foi contado o número de sementes morfológicamente bem formadas em relação aos óvulos fecundados, sendo as porcentagens encontradas em cada tratamento transformadas para arcoseno da raiz quadrada e comparadas em análise de variância ANOVA de um critério, com as médias comparadas pelo teste Tukey, utilizando o programa BioEstat 3.0 (Ayres *et al.* 2003). As sementes obtidas em todos os tratamentos foram escarificadas e colocadas para germinar em câmara de germinação com fotoperíodo de 12h e temperatura constante de 27°C, sendo a germinação e o desenvolvimento das plântulas acompanhados por 10 dias. Foi estimada a proporção de sementes bem formadas em condições naturais em três anos consecutivos (2004, 2005 e 2006), em duas áreas com diferentes densidades, correspondentes às estudadas no Capítulo 1 (área B com 0,019 plantas/m² e área D com 0,33 plantas/m²). Foi empregada análise de variância ANOVA fatorial para três tratamentos (anos) e dois blocos (áreas) contendo os valores de média de sementes bem formadas por fruto por indivíduo, utilizando o programa BioEstat 3.0 (Ayres *et al.* 2003).

Resultados

Biologia floral

Chamaecrista blanchetii apresenta flores amarelas, hermafroditas, pentâmeras e assimétricas. As pétalas são heteromórficas, sendo duas pétalas maiores com forma orbicular a oblonga e curvadas sobre as demais peças florais, duas menores orbiculares a obovadas e a quinta pétala latero-abaxial modificada em estrutura falcada curvada sobre os estames e em oposição ao estilete. As flores apresentam orientação espelhada, onde a pétala falcada e o estilete podem emergir ou do lado esquerdo ou do direito em relação ao eixo na flor (Figura 1A). Foram observadas flores destrógiras e levógiras em todos os indivíduos e ramos, caracterizando a enantioestilia monomórfica, não tendo sido observada a ocorrência de indivíduos com enantioestilia dimórfica (presença exclusiva de um dos morfos). As flores possuem 10 estames, com anteras ditecas e abertura em forma de fenda funcionalmente porocida, que emitem odor suave levemente adocicado, e apresentam morfologia e tamanho similares ($5,5\pm 1,3$ mm; $n=27$). Os grãos de pólen se apresentam como mônades, tricolporados, com ornamentação da exina lisa e possuem elevado percentual de viabilidade ($91,6\pm 3,13\%$), não tendo sido observada variação morfológica no

pólen de diferentes anteras ou indivíduos. O estigma é envolvido por tricomas curtos, formando uma câmara no ápice do estilete, em que fica armazenada pequena quantidade de secreção estigmática.

Cada inflorescência produziu em média $11,8 \pm 4,6$ flores ($n=20$ indivíduos), apresentando simultaneamente flores em diferentes estágios de maturação, sendo encontrados botões, flores abertas e flores senescentes em um mesmo ramo (Figura 1B). A maturação da flor dura cerca de quatro dias a partir do início da exposição das pétalas. Entre o primeiro e o segundo dia a porção apical das pétalas emerge e se expõe ainda fechada e envolvida pelas sépalas. No terceiro dia as pétalas estão livres das sépalas e apresentam uma pequena câmara floral, o estigma não se encontra receptivo e não ocorre emissão de odor pelas anteras, que permanecem fechadas. No quarto dia, as flores completam a abertura da câmara floral, que ocorre principalmente no período da manhã (entre 5:30 e 6:00 h). As anteras emitem odor suavemente adocicado mais intenso no momento da antese, que se prolonga com menor intensidade por mais um dia. As fendas apicais das anteras se abrem e o pólen torna-se disponível à coleta das abelhas e transferência para o estigma. A receptividade estigmática se mantém por todo o período de disponibilidade da flor, que dura de dois a três dias. A partir do segundo dia da antese, as sépalas, pétalas e anteras começam a cair e o estilete altera a coloração de verde para laranja-avermelhado.

Visitantes florais

O pólen é único recurso floral disponível aos polinizadores, coletado principalmente por movimentos vibratórios realizados por algumas espécies de abelhas grandes. O pólen pilhado por abelhas menores que cortam as anteras e/ou coletam o pólen caído dentro da câmara floral, após a visita dos polinizadores efetivos. Foram observadas 17 espécies de abelhas e duas de vespas sociais visitando as flores de *C. blanchetii* (Tabela 1). *Bombus* (*Fervidobombus*) *brevivillus* Franklin, *Xylocopa cearensis* Ducke, *Xylocopa* sp., *Centris* (*Trachina*) *fuscata* Lepeletier e *Epicharis* (*Epicharana*) *flava* (Friese) foram considerados os polinizadores efetivos. As demais espécies de visitantes são pilhadores, muito embora algumas delas sejam abelhas capazes de coletar o pólen por vibração sem realizar transferência efetiva do grão de pólen para o estigma da flor, tais como *Centris* (*Hemisiella*) *tarsata* Smith, *Augochlora* spp. *Augochloropsis* spp. e *Euglossa* sp.

Os polinizadores mais freqüentes foram operárias de *Bombus brevivillus*, responsáveis por 88,7% do total de visitas efetivas registradas nos dois anos de observação

($n = 318$). As atividades de coleta das abelhas ocorreram principalmente no início da manhã (entre 6:00 e 10:00h), e as visitas a cada flor duraram em média $3,8 \pm 1,2$ ($n=38$) segundos. Os demais polinizadores realizaram visitas menos frequentes, correspondendo a 11,3% das visitas observadas, contribuindo de forma complementar para o sucesso de polinização de *C. blanchetii*, sendo considerados polinizadores ocasionais. As primeiras visitas foram registradas no início da florada, com pico de atividade do polinizador principal nos meses de junho nos dois anos de estudo, e maior diversidade de visitantes registrada na área de maior densidade de plantas (Tabela 1).

Os polinizadores não apresentaram preferência quanto a flores destrógiras ou levógiras, sendo ambos os morfos visitados e utilizados como fonte polínica. Da mesma forma, não houve diferença quanto à eficiência do polinizador na transferência de grãos entre órgãos reprodutivos da mesma flor ou entre flores de diferentes morfos. Durante a visita, as abelhas pousam na flor, inserindo o corpo na câmara floral formada pela disposição concêntrica das pétalas, e se seguram com as garras do terceiro par de pernas na base das pétalas (Figura 1). Nesta posição, as abelhas realizam movimentos vigorosos de vibração das anteras que ficam sob a porção ventral do tórax. Parte das anteras apresenta aberturas voltadas para as pétalas que, aparentemente, tem a função de reflexão dos grãos de pólen para o interior da câmara floral. A pétala falcada funciona como anteparo para parte dos grãos de pólen liberados, os quais são refletidos e redirecionados para a região dorsal do tórax do polinizador, sendo este o local de contato com o estigma. Outra parte das anteras apresenta aberturas voltadas para o corpo do polinizador depositando parte dos grãos de pólen na região ventral do tórax, abdômen e pernas da abelha. O contato dos tricomas estigmáticos com o corpo da abelha parece favorecer a captura e transferência do pólen do corpo do polinizador para a estrutura reprodutiva feminina. Tanto as rainhas de *Bombus brevivillus* quanto as demais espécies de polinizadores também realizaram visitas eficientes, tendo sido observados e coletados exemplares com pólen aderido no dorso do mesonoto, dispostos de forma adequada à polinização.

As operárias de *Bombus brevivillus* apresentam eficiente comportamento de limpeza e remoção dos grãos de pólen, que são armazenados na corbícula e permanecem indisponíveis para a polinização. Após realizar visitas a cerca de seis a 10 flores, a abelha se segura na base da pétala inferior com apenas uma das pernas anteriores, e remove os grãos de pólen aderidos na cabeça, antenas, toda a região ventral e parte da região dorsal, com o auxílio das garras e cerdas presentes nos tarsos. Apenas o pólen depositado na região mediana do mesonoto não é alcançado pela abelha durante a limpeza, sendo estes

grãos restantes suficientes para a transferência entre flores de ambos os morfos. Os polinizadores ocasionais removem os grãos presentes apenas na porção ventral do corpo, com o auxílio das pernas anteriores e médias, e em seguida transfere-os para as escopas das pernas posteriores durante o voo.

Danos às peças florais causados pelo corte das anteras por *Trigona spinipes* e comportamento antagonista de *Apis mellifera* em relação a operárias de *B. brevillus* foram observados em alta frequência, especialmente nos meses de maior produção floral (Figura 1E-F).

Sistema de reprodução

Chamaecrista blanchetii não apresenta formação espontânea de frutos, sendo dependente de vetores para polinização (Tabela 2). Nas autopolinizações e polinizações cruzadas experimentais foram encontrados valores similares de frutificação, de 43 a 53%, sendo um pouco inferiores em polinização cruzada entre plantas distantes. Os frutos levaram em torno de um mês para a maturação completa a partir da polinização, não tendo sido observadas diferenças entre os tratamentos. A proporção de sementes bem formadas foi significativamente inferior nos experimentos de autopolinização em relação à polinização entre vizinhos próximos ($q=6,98$ $p<0,01$) e polinização entre indivíduos distantes ($q=7,48$ $p<0,01$) (Tabela 2, Figura 2). O percentual de germinação de sementes foi maior em polinização cruzada entre vizinhos próximos do que nos demais tratamentos, porém, o percentual de plântulas desenvolvidas foi similar entre os três tratamentos (Tabela 2).

O percentual de sementes bem desenvolvidas em polinização aberta em três anos consecutivos apresentou alta variância entre frutos num mesmo indivíduo, bem como entre indivíduos dentro de uma mesma área. Foram encontradas diferenças significativas apenas entre os anos ($F=13,3$, $p<0,0001$, ANOVA fatorial) e não significativa entre as áreas de densidades distintas em cada ano (Tabela 3).

Discussão

Biologia floral

Chamaecrista blanchetii, assim como espécies congêneras e outras pertencentes aos demais gêneros relacionados em *Cassiinae* (*Cassia* e *Senna*), apresenta características florais conforme a síndrome melitófila, sendo o pólen o único recurso floral disponível.

Nestas plantas, a melitofilia parece estar associada também ao padrão enantiostílico de assimetria floral, pólen contido em anteras poricidas, ausência de nectário e forte atratividade floral (Gottsberger & Silberbauer-Gottsberger 1988, Barrett *et al.* 2000, Endress 2001, Carvalho & Oliveira 2003, Jesson & Barrett 2003, Laporta 2005). Em *C. blanchetii* e em outras espécies com anteras poricidas, a polinização é mediada por abelhas que coletam pólen através da vibração dos estames para exposição dos grãos, comumente chamado de “buzz pollination” (Buchmann 1983, Gottsberger & Silberbauer-Gottsberger 1988, Silva-Pereira *et al.* 2006, Costa *et al.* dados não publicados). As operárias de *Bombus brevivillus*, principais agentes polinizadores de *C. blanchetii*, são abelhas robustas com alta plasticidade de comportamento e adaptabilidade para o manuseio de flores com diferentes padrões morfológicos, tendo sido considerada o principal polinizador em outros sistemas estudados na Chapada Diamantina, incluindo polinização por vibração (Silva-Pereira *et al.* 2006, Costa *et al.* dados não publicados); polinização por engodo em orquídeas (Smidt *et al.* 2006, Silva-Pereira *et al.* no prelo); e atuando como visitante de diversas espécies vegetais para obtenção tanto de néctar quanto de pólen (Silva-Pereira & Santos 2006).

Neste estudo, foi verificada maior frequência e fidelidade de visitas de operárias de *Bombus brevivillus* à área de maior densidade de plantas, muito embora tenha sido registrado maior número de visitas no primeiro mês de observação nos dois períodos de estudo, onde o total de flores produzido é menor do que no pico da florada (Capítulo 1). A hipótese mais plausível para explicar a diminuição nas atividades do polinizador principal no pico de floração são os efeitos da interação entre diferentes visitantes, em especial os pilhadores, uma vez que o pólen de *C. blanchetii* é coletado de diferentes maneiras por outras 16 espécies de abelhas e vespas sociais. Embora não tenham sido testados experimentalmente os efeitos dos visitantes na perda polínica e na diminuição das atividades de forrageamento do polinizador principal de *C. blanchetii*, a diminuição da atividade foi observada nos dois períodos na área de maior concentração de recursos, que parece ser também de maior atratividade para os demais consumidores de pólen na comunidade.

Para estas espécies enantiostílicas monomórficas, a aparente controvérsia da funcionalidade reprodutiva de flores espelhadas pode estar associada ao polimorfismo de outras peças florais e ao padrão de deposição polínica no corpo do polinizador e não apenas à própria ocorrência de flores com estigmas espelhados. Em casos onde a enantiostilia aparece acompanhada da orientação recíproca das anteras, o espalhamento dos

grãos de pólen em regiões restritas no corpo do polinizador e contato direcionado dos estigmas pode aumentar a eficiência de fluxo polínico entre morfos (Oliveira & Gibbs 1994, Barrett *et al.* 2000, Jesson & Barret 2002, 2003, Laporta 2005) ou ainda reduzir a especialização na coleta de recursos e manipulação floral pelas abelhas, aumentando as chances de transferência polínica entre anteras e estigmas por divisão de trabalho entre anteras em flores assimétricas (Westerkamp 1993).

Por outro lado, em plantas onde não há variação entre anteras ou deposição polínica direcionada, é possível que a enantiostilia não se apresente funcional ou gere sutil aumento nas taxas de transferência polínica entre flores da mesma planta, como em *Chamaecrista fasciculata*, onde a enantiostilia é pouco relevante para o sucesso reprodutivo (Fenster 1995). Da mesma forma, embora *C. blanchetii* apresente flores de imagem espelhada, a enantiostilia parece não afetar as chances de transferência polínica entre flores, uma vez que, aparentemente, não existe visita preferencial do polinizador a um determinado morfo e não há dimorfismo significativo entre as anteras e grãos de pólen que possa caracterizar divisão de trabalho entre elas. Um padrão enantiostílico pouco ou não funcional em *C. blanchetii* é reforçado pela presença da pétala mediana modificada em estrutura falcada voltada para os estames, responsável pela reflexão dos grãos de pólen para o interior da câmara floral. Neste caso, a nuvem de pólen formada garante o espalhamento de grãos por toda a região dorsal do corpo do polinizador, incluindo cabeça, tórax e parte das asas e abdômen, podendo o estigma tocar o pólen independentemente da posição em que esteja implantado na flor, ocorrendo transferência polínica indiscriminada entre flores iguais ou espelhadas na mesma planta. Mecanismo similar também tem sido observado em *Chamaecrista desvauxii*, uma espécie simpátrica com *C. blanchetii* no Parque Municipal de Mucugê, também polinizada por *Bombus brevivillus* (Costa *et al.* dados não publicados).

A presença de pétalas modificadas atuando como prolongamento das anteras ou como anteparo para os grãos de pólen em espécies com polinização vibrátil foi descrita para espécies de Cassiinae, como *Chamaecrista hispidula* e *C. campestris* (Gottsberger & Silberbauer-Gottsberger 1988), conhecida como polinização ricochete (Westerkamp 2004). Nestes sistemas, aparentemente ocorre divisão de trabalho entre anteras diferenciadas onde o pólen destinado à reprodução é direcionado a partes não acessadas do corpo do polinizador através da pétala modificada, funcionando como estratégia contra a ação de coleta polínica da abelha (Westerkamp 2004). Embora aparentemente não haja divisão de trabalho entre as anteras em *C. blanchetii*, a função da pétala falcada parece ser similar.

Mesmo operárias de *Bombus brevivillus* apresentando alta eficiência na limpeza e armazenamento do pólen depositado em seu dorso, uma estreita faixa de pólen permanece intocada na porção mediana do mesonoto, contendo grãos suficientes para polinização em ambos os morfos em visitas posteriores.

Sistemas de reprodução

Variados padrões de frutificação e aborto natural de sementes têm sido reportados para espécies de Leguminosae, incluindo representantes do gênero *Chamaecrista* (Bawa & Buckley 1989, Gibbs & Sasaki 1998, Gibbs *et al.* 1999, Lewis & Gibbs 1999, Carvalho & Oliveira 2003). Para algumas espécies, as taxas de aborto de sementes são atribuídas a sistemas de controle da autogamia atuando após a fertilização a partir de mecanismos distintos, onde as flores autofecundadas podem sofrer abscisão após alguns dias, como em *Caesalpinia calycina* (Lewis & Gibbs 1999) e *Hymenaea stigonocarpa* (Gibbs *et al.* 1999), ou formação de frutos com sementes abortadas, como *Caesalpinia pluviosa* (Lewis & Gibbs 1999). Em outros casos, como em *Dalbergia miscolobium*, o aborto de sementes pode estar associado à ocorrência de depressão endogâmica, com redução da viabilidade de sementes originadas em eventos de autogamia (Gibbs & Sasaki 1998). Os autores argumentam ainda que este padrão pode ser favorecido pela restrição de recurso materno, resultando na baixa frutificação na população.

Chamaecrista blanchetii é uma espécie autocompatível com altas taxas de aborto de frutos registradas em todos os tratamentos, podendo indicar limitação de recurso materno. Quando as taxas de formação de sementes são comparadas entre tratamentos, os valores significativos de aborto em autopolinização podem indicar a ocorrência de depressão endogâmica nas primeiras fases de desenvolvimento dos indivíduos, sugerindo diminuição da viabilidade da prole originada por autogamia, onde quase 90% das sementes não completam o desenvolvimento. Caso a marcada diferença nas taxas de aborto de sementes em autopolinização e polinização cruzada experimentais se aplique ao sistema de reprodução em condições naturais, a alta variância nas taxas de aborto de sementes em polinização aberta pode ser um indicativo da ocorrência de um padrão misto de autogamia e alogamia na população.

Neste contexto, embora as características florais e o próprio comportamento de *Bombus brevivillus* favoreçam a transferência polínica entre flores da mesma planta com eventos geitonogâmicos frequentes, o estoque de sementes repostas na população a cada período reprodutivo pode ser composto preponderantemente por sementes oriundas de

polinização cruzada. A hipótese de um sistema misto de reprodução em *C. blanchetii* é corroborada ainda pela variação detectada na amplitude de espalhamento de pólen entre plantas, sendo observada elevada plasticidade nas respostas dos polinizadores à concentração de recurso em diferentes densidades (Capítulo 3). Finalmente, muito embora a dispersão limitada de sementes possa contribuir para o agrupamento de indivíduos aparentados no espaço, os quais, provavelmente, mantêm cruzamentos preferenciais entre si aumentando os níveis de endogamia biparental em microescala (Capítulo 4), este cenário reprodutivo provavelmente atua na manutenção dos altos níveis de variabilidade genética na população estudada (Capítulo 4).

Referências bibliográficas

- AYRES, M., D.L. AYRES & A.A.S. SANTOS. 2003. BioEstat 3.0. Sociedade Civil Mamirauá / MCT – CNPq, Belém.
- BARRETT, S.C.H., L.K. JESSON & A. BAKER. 2000. The evolution and function of stylar polymorphisms in flowering plants. *Annals of Botany* 85: 253-265.
- BAWA, K.S & D.P. BUCKLEY. 1989. Seed: ovule ratios, selective seed abortion, and mating system in Leguminosae. Pp 243-262 in: STIRTON, C.H. & J.L. ZARUCCHI (eds.) *Advances in legume biology. Systematic Botany of the Missouri Botanical Gardens Monographies*. Vol 29.
- BAWA, K.S & C.J. WEBB. 1984. Flower, fruit and seed abortion in tropical forest trees: implications for evolution of paternal and maternal reproductive patterns. *American Journal of Botany* 71: 736-751.
- BUCHMANN, S.L. 1983. Buzz pollination in angiosperms. Pp 73-113 in: JONES, C.E. & R.J. LITTLE (eds.) *Handbook of experimental pollination biology*. Van Nostrand Reinhold Company, New York.
- BULLOCK, S.H. 1985. Breeding systems in flora of tropical deciduous forest in Mexico. *Biotropica* 17: 287-301.
- CARVALHO, D.A. & P.E. OLIVEIRA. 2003. Biologia reprodutiva e polinização de *Senna sylvestris* (Vell.) I. & B. (Leguminosae, Caesalpinioideae). *Revista Brasileira de Botânica* 26: 319-328.
- DAFNI, A. 1992. *Pollination Ecology – A practical approach*. Oxford University Press, Oxford.

- DULBERGER R. 1981. The floral biology of *Cassia didymobotria* and *C. auriculata* (Caesalpinioideae). *American Journal of Botany* 68: 1350-1360.
- ENDRESS P.K. 2001. Evolution of floral symmetry. *Plant Biology* 4: 86-91.
- FENSTER C.B. 1991. Gene flow in *Chamaecrista fasciculata* (Leguminosae) II. Gene establishment. *Evolution* 45(2): 410-422.
- FENSTER C.B. 1995. Mirror image and their effect on outcrossing rate in *Chamaecrista fasciculata* (Leguminosae). *American Journal of Botany* 82: 46-50.
- FREITAS, C.V. & P.E. OLIVEIRA. 2002. Biologia reprodutiva de *Copaifera langsdorffii* Desf. (Leguminosae, Caesalpinioideae). *Revista Brasileira de Botânica* 25: 311-321.
- GIBBS, P.E., P.E. OLIVEIRA & M.B. BIANCHI. 1999. Postzygotic control of selfing in *Hymenaea stigonocarpa* (Leguminosae – Caesalpinioideae), a bat-pollinated tree of the Brazilian cerrados. *International Journal of Plant Sciences* 160: 72-78.
- GIBBS, P.E. & R. SASSAKI. 1998. Reproductive biology of *Dalbergia miscolobium* Benth. (Leguminosae – Papilionoidae) in SE Brazil: the effects of pistillate sorting on fruit-set. *Annals of Botany* 81: 735-740.
- GIULIETTI, A.M., L.P. QUEIROZ & R.M. HARLEY 1996. Vegetação e flora da Chapada Diamantina, Bahia. Pp 144-156 in: *Anais da 4ª Reunião Especial da SBPC*, Feira de Santana.
- GOTTSBERGER, G. & I. SILBERBAUER- GOTTSBERGER. 1988. Evolution of flower structures and pollination in Neotropical Cassinae (Caesalpinaceae) species. *Phyton* 28: 293-320.
- JESSON, L.K. & S.C.H. BARRETT. 2002. The genetics of mirror-image flowers. *Proceedings of The Royal Society of London* 169: 1835-1839.
- JESSON, L.K. & S.C.H. BARRETT. 2003. The comparative biology of mirror-image flowers. *International Journal of Plant Sciences* 164: S237-S249.
- JESSON, L.K., S.C.H. BARRETT & T. DAY. 2003. A theoretical investigation of the evolution and maintenance of mirror-image flowers. *The American Naturalist* 161: 916-930.
- KARRON, J.D. 1989. Breeding systems and levels of inbreeding depression in geographically restricted and widespread species of *Astragalus* (Fabaceae). *American Journal of Botany* 76(3): 331-340.
- KÖPPEN, W. 1948. *Climatologia con un estudio de los climas de la tierra* (transl. P. R. H. Peres), Fondo de Cultura e Economica, Mexico.
- LAPORTA, C. 2005. Floral biology and reproductive system of enantiostylous *Senna corymbosa* (Caesalpinaceae). *Rev. Biol. Trop.* 53: 49-61

- LEWIS, G.P. & P.E. GIBBS. 1999. Reproductive biology of *Caesalpinia calycina* and *C. pluviosa* (Leguminosae) of the caatinga of north-eastern Brazil. *Plant Systematics and Evolution* 217: 43-53.
- OLIVEIRA, P. E. & P.E. GIBBS. 1994. Pollination and breeding systems of six *Vochysia* (Vochysiaceae) species in Central Brazil. *Journal of Tropical Ecology* 10: 509-522.
- SILVA-PEREIRA, V., S.R.C. NAXARA & F.H.M. SILVA. 2006. Sistema de polinização em *Tibouchina barnebyana* Wurdack (Melastomataceae) – biologia floral e palinologia. Pp 49-57 in: VIANA, B.F. & F.F. OLIVEIRA (eds.) *Biologia e ecologia da polinização – cursos de campo*. EDUFBA, Salvador.
- SILVA-PEREIRA, V. & G.M.M. SANTOS. 2006. Diversity in Bee (Hymenoptera: Apoidea) and Social Wasp (Hymenoptera: Vespidae, Polistinae) Community in “Campos Rupestres”, Bahia, Brazil. *Neotropical Entomology* 35: 165-174.
- SILVA-PEREIRA, V., E.C. SMIDT & E.L. BORBA. No prelo. Isolation mechanisms between two sympatric *Sophronitis* (Orchidaceae) species endemic to Northeastern Brazil. *Plant Systematics and Evolution*.
- SMIDT, E.C., V. SILVA-PEREIRA & E.L. BORBA. 2006. Reproductive biology of two *Cattleya* (Orchidaceae) species endemic to north-eastern Brazil. *Plant Species Biology* 21: 85–91.
- WESTERKAMP C. 1993. The co-operation between the asymmetric flower of *Lathyrus latifolius* (Fabaceae-Vicieae) and its visitors. *Phyton* 33: 121-137.
- WESTERKAMP C. 2004. Ricochet pollination in Cassias – And how bees explain enantiostyly (Preliminary communication). Pp 225-230 in: MAGALHÃES, F.B. & J.O. PEREIRA (eds.) *Solitary bees: conservation, rearing and management for pollination*. Imprensa Universitária UFC, Fortaleza.

Tabela 1: Visitantes florais de *Chamaecrista blanchetii*, no Parque Municipal de Mucugê, Chapada Diamantina, Brasil. Dados apresentados como número de visitas registradas por hora de observação e número total de visitas observadas (n), nos meses de junho e julho, em 2004 e 2005 em duas áreas com densidades populacionais distintas (área B = 0,019 plantas/m² e área D = 0,33 plantas/m²).

Visitantes	Área B				Área D			
	2004		2005		2004		2005	
	Junho (20h)	Julho (15h)	Junho (10h)	Julho (10h)	Junho (20h)	Julho (15h)	Junho (10h)	Julho (10h)
Polinizador principal								
<i>Bombus (Fervidobombus) brevivillus</i> Franklin (operárias)	1,35 ($n=27$)	1,2 ($n=18$)	1,5 ($n=15$)	2,0 ($n=20$)	4,6 ($n=92$)	4,06 ($n=61$)	3,2 ($n=32$)	1,7 ($n=17$)
Polinizadores ocasionais								
<i>Bombus (Fervidobombus) brevivillus</i> Franklin (rainhas)		0,13 ($n=2$)			0,3 ($n=6$)	0,27 ($n=4$)	0,2 ($n=2$)	0,1 ($n=1$)
<i>Xylocopa (Neoxylocopa) cearensis</i> Ducke	0,1 ($n=2$)		0,1 ($n=1$)					
<i>Xylocopa</i> sp	0,15 ($n=3$)		0,1 ($n=1$)		0,15 ($n=3$)	0,06 ($n=1$)		
<i>Epicharis (Epicharana) flava</i> (Friese)					0,15 ($n=3$)	0,2 ($n=3$)		
<i>Centris (Trachina) fuscata</i> Lepeletier					0,1 ($n=2$)	0,13 ($n=2$)		
Pilhadores								
<i>Apis mellifera</i> Linnaeus	7,5 ($n=100$)	20 ($n=300$)	10 ($n=100$)	30 ($n=300$)	2,5 ($n=50$)	6,6 ($n=100$)	10 ($n=100$)	20 ($n=200$)
<i>Trigona spinipes</i> (Fabricius)	7,5 ($n=100$)	20 ($n=300$)	5 ($n=50$)	20 ($n=200$)	1,5 ($n=30$)	10 ($n=150$)	5 ($n=50$)	15 ($n=150$)
<i>Centris (Hemisiella) tarsata</i> Smith						0,06 ($n=1$)		
<i>Augochloropsis</i> sp1						0,2 ($n=3$)		
<i>Augochloropsis</i> sp2						0,27 ($n=4$)		

<i>Augochlora</i> sp1	0,13 (n=2)	0,3 (n=5)
<i>Augochlora</i> sp2		0,27 (n=4)
<i>Euglossa</i> (<i>Euglossa</i>) aff. <i>cordata</i> (Linnaeus)	0,06 (n=1)	0,2 (n=3)
<i>Exomalopsis</i> sp		0,13 (n=2)
<i>Exomalopsis</i> (<i>Exomalopsis</i>) <i>auropilosa</i> Spinola		0,13 (n=2)
<i>Bachygastra lecheguanea</i> (Latreille)		0,13 (n=2)
<i>Polybia sericea</i> (Olivier)		0,06 (n=1)

Tabela 2: Produção de frutos em polinizações experimentais (n) em *Chamaecrista blanchetii*, no Parque Municipal de Mucugê, Chapada Diamantina, Brasil. Porcentagem de sementes formadas em relação ao número de óvulos por fruto (n) em cada tratamento. Germinação (emissão de radícula) e formação de plântulas (emissão de cotilédones) de sementes (n) originadas das polinizações experimentais acompanhadas durante 10 dias.

Tratamentos	Frutos formados (%)	Sementes formadas por fruto (%)*	Germinação (%)	Plântulas (%)
Autopolinização	52,8 ($n=36$)	8,95 ^a ± 12,18 ($n=19$)	68,4 ($n=19$)	52,6 ($n=19$)
Polinização Cruzada entre vizinhos	50,0 ($n=32$)	37,22 ^b ± 13,72 ($n=16$)	82,5 ($n=63$)	57,1 ($n=63$)
Polinização Cruzada entre plantas distantes	43,2 ($n=37$)	49,22 ^b ± 33,46 ($n=16$)	71,6 ($n=60$)	55 ($n=60$)

* Valores apresentados como Média ± desvio padrão (número de frutos analisados). Valores seguidos de letras diferentes indicam valores significativamente diferentes em ANOVA de um critério e teste Tukey com $p < 0,05$, a partir de valores de porcentagem transformados para arcoseno da raiz quadrada.

Tabela 3: Sementes bem formadas por fruto em polinização aberta, em um conjunto de indivíduos, em duas áreas de densidades distintas e em três anos consecutivos, no Parque Municipal de Mucugê, Chapada Diamantina, Brasil. Valores apresentados como Média \pm desvio padrão (número de indivíduos analisados).

Áreas	Sementes bem formadas por fruto por planta		
	2004	2005	2006
Área B	44,11 ^a \pm 15,7 (n=9)	44,22 ^a \pm 14,8 (n=9)	21,89 ^b \pm 15,4 (n=9)
Área D	40,89 ^a \pm 18,2 (n=9)	43,66 ^a \pm 12,3 (n=9)	20,56 ^b \pm 16,0 (n=9)

Valores em uma mesma linha seguidos de letras diferentes indicam valores significativamente diferentes em ANOVA um critério e teste Tukey com $p < 0,05$, a partir de valores de porcentagem transformados para arcoseno da raiz quadrada.



Figura 1: (A) Flores com orientação espelhada na mesma inflorescência. (B) Inflorescência com a presença de flores nas diferentes fases de desenvolvimento simultaneamente. (C) Operária de *Bombus brevivillus* penetrando a câmara floral e se posicionando sobre as anteras. (D) Operária de *B. brevivillus* saindo da câmara floral com o dorso coberto com o pólen refletido pela pétala falcada em visita legítima a flor de *Chamaecrista blanchetii*. (E) *Trigona spinipes* retirando pólen através do corte das anteras em visita ilegítima às flores. (F) *Apis mellifera* se aproximando de *B. Brevivillus* em comportamento antagonista para coleta de grãos de pólen caídos na câmara floral.

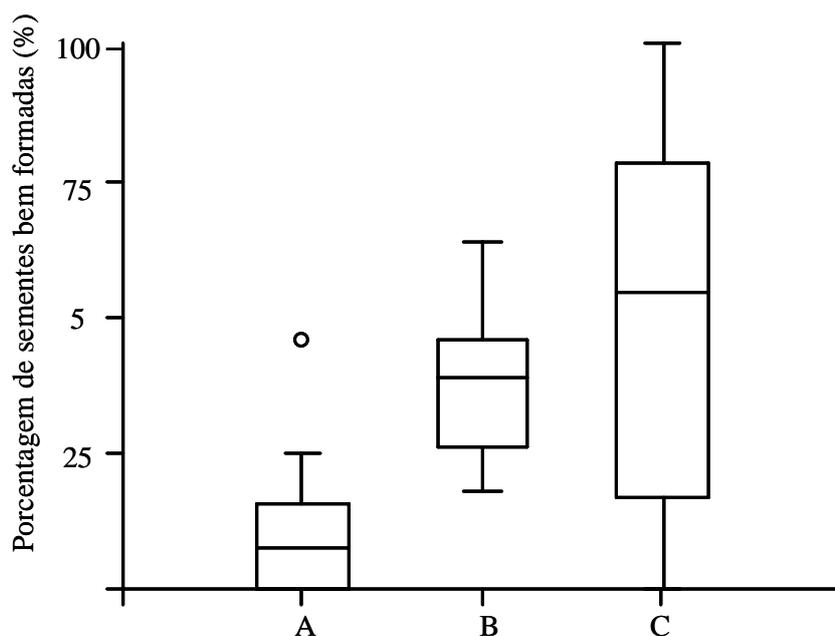


Figura 2: Distribuição da porcentagem de sementes bem formadas por fruto, em polinizações experimentais em *Chamaecrista blanchetii*. *Boxplot* com medianas e quartis: A = Autopolinização, B = Polinização cruzada entre vizinhos próximos e C = Polinização cruzada entre plantas distantes. Médias significativamente diferentes entre os tratamentos A e B e entre os tratamentos A e C em ANOVA de um critério e teste Tukey com $p < 0,05$, a partir de valores de porcentagem transformados para arcoseno da raiz quadrada.

CAPÍTULO 3

Dispersão polínica em paisagem heterogênea, fluxo gênico e vizinhança genética em *Chamaecrista blanchetii* (Leguminosae, Caesalpinioideae), no Parque Municipal de Mucugê, Chapada Diamantina, Brasil

Resumo

O fluxo gênico em *Chamaecrista blanchetii* foi investigado combinando-se descrições quantitativas do comportamento do polinizador, dispersão de sementes e estimativas indiretas do tamanho efetivo da população. O forrageamento dos polinizadores foi acompanhado nos meses de maior floração (junho e julho) em 2004 e 2005, em paisagem heterogênea de campo rupestre, em duas áreas de densidade populacional distinta (0,019 e 0,33 plantas/m²), no Parque Municipal de Mucugê, nordeste do Brasil. Operárias de *Bombus brevivillus* são responsáveis por quase a totalidade do transporte polínico, forrageando com maior frequência em área de maior densidade de plantas e exibindo alta plasticidade nos parâmetros de vôo nas duas paisagens: em baixa densidade de plantas visitaram maior número de flores por planta, maior porcentagem de flores por planta e realizaram vôos mais longos do que em paisagem de alta densidade floral. Houve correlação positiva significativa entre o número de flores disponíveis e o número de flores visitadas por planta em todos os meses de observação nas duas áreas. Em maior densidade de plantas, as abelhas realizaram 60% dos vôos a menos de 5 metros de distância. Em média, os cinco vizinhos mais próximos não foram visitados entre visitas sequenciais. Foi detectada direcionalidade de vôo significativa com viradas em torno de 180° entre plantas na trajetória nos meses de junho nos dois anos, vôos uniformes em julho de 2004 e inércia do movimento em julho de 2005. O deslocamento quadrado médio esperado em modelo de passeio aleatório correlacionado foi em torno de 130m até o quinto passo. Foi verificada uma dispersão de sementes limitada a 1,5m da planta mãe. A alta plasticidade do comportamento das abelhas parece contribuir de forma variável, gerando maior ou menor grau de endogamia durante a floração e em diferentes anos. O aumento nas taxas de fecundação cruzada e o tamanho de vizinhança genética estimados em áreas de alta densidade de plantas sugerem que o comportamento de vôo dos vetores pode atuar como um fator coesivo entre famílias genéticas dentro das subpopulações em condições naturais de distribuição heterogênea desta espécie.

Introdução

Os padrões de variabilidade e estruturação genética em populações contínuas de organismos são fortemente condicionados pelo número de indivíduos com chances de se intercruzarem aleatoriamente dentro de uma vizinhança, ou seja, pelo tamanho efetivo da população (Wright 1978). O tamanho da vizinhança genética em populações naturais é uma função da densidade e da dispersão de genes na população (Crawford 1984). A variação no tamanho da vizinhança pode atuar na manutenção ou aumento da coesão de um *pool* gênico existente ou, em outro extremo, na diluição da unidade ou da estrutura genética de uma população (Slatkin 1985, Ohsawa *et al.* 1993).

Entre plantas, a dispersão de gametas através dos grãos de pólen é apontada como o principal evento responsável pelo fluxo gênico atuando na estruturação local das populações naturais (Beattie 1976, 1979, Campbell 1991, Fenster 1991, Franceschinelli & Kesseli 1999). Em sistemas onde a dispersão do pólen é mediada por animais, o tamanho efetivo da população e a amplitude de fluxo gênico podem ser estimados através de medidas do movimento dos polinizadores entre flores e plantas e da distância de dispersão das sementes (Beattie 1979, Levin 1979, Morris 1993). Essas estimativas nos permitem considerar a hipótese de que o espalhamento restrito do pólen entre vizinhos próximos pode contribuir para o aumento das taxas de cruzamentos endogâmicos e isolamento de populações locais. Por outro lado, a dispersão dos gametas a longas distâncias pode atuar como força coesiva entre subpopulações de plantas (Schmitt 1980, Morris *et al.* 1994).

Neste sentido, dois aspectos principais relativos ao comportamento de forrageamento e visitação floral do polinizador devem ser considerados de maior importância em relação ao padrão de dispersão de alelos entre indivíduos. Primeiro, para plantas autocompatíveis, o número de flores visitadas por planta determinará a proporção de sementes que será formada por autofecundação ou fecundação cruzada. Segundo, a distância que o polinizador percorre entre as plantas determinará a distância que os gametas serão transferidos (Thomson & Thomson 1989, Fenster 1991). Caso o pólen obtido em uma determinada flor seja carregado para mais de uma flor entre as visitadas sequencialmente (*pollen carryover*), o número de flores visitadas por plantas determinará também o grau de transferência polínica entre indivíduos (Thomson & Plowright 1980, Thomson *et al.* 1986, Rademaker *et al.* 1997, Morris *et al.* 1995).

O padrão de vôo do polinizador é resultado de uma estratégia de exploração motivada economicamente para obter recursos florais distribuídos dentro de uma área restrita de

forrageamento. Deste modo, o número de flores visitadas e o comprimento e a direção do voo realizado costumam ser ajustados em resposta ao aumento da agregação das plantas, na tentativa de otimizar a busca em uma área e diminuir os custos energéticos do deslocamento entre manchas de plantas distantes (Pyke 1978, Zimmerman 1981, Goulson 2000). Embora para algumas espécies de abelhas a direcionalidade lateral durante o voo possa prevenir visitas repetidas a flores exploradas anteriormente (Costa *et al.* 2002), estudos apontam para uma forte tendência de abelhas sociais, como as do gênero *Bombus*, visitarem plantas com distribuição heterogênea repetidas vezes (Pyke & Cartar 1992, Cartar & Real 1997, Cresswell 2000).

Muitas espécies do gênero *Chamaecrista* são polinizadas preferencialmente por abelhas sociais (Gottsberger & Silberbauer-Gottsberger 1988), que apresentam comportamento de intensa exploração de flores que oferecem pólen, principalmente em plantas de floradas atrativas ou de alta densidade, restringindo o forrageamento a essas áreas disponíveis na paisagem. Neste trabalho, investigamos o padrão de dispersão polínica em *Chamaecrista blanchetii*, uma espécie perene, arbustivo-arbórea, distribuída ao longo da Cadeia do Espinhaço, onde são conhecidas populações amplas e fragmentadas. Localmente, as populações apresentam distribuição espacial heterogênea dos indivíduos, formando manchas de agregação em diferentes escalas e autocorrelação espacial dos atributos de floração, como produção de flores, início e sincronia na floração entre vizinhos, compondo um padrão agregado de flores durante o pico do período reprodutivo (Capítulo 1). *Chamaecrista blanchetii* (Benth.) Conc., L.P. Queiroz & G.P. Lewis apresenta sistema de polinização melitófilo e oferece pólen como o único recurso floral para os visitantes, sendo polinizada principalmente por operárias de *Bombus* (*Fervidobombus*) *brevivillus* Franklin, que exploram as flores através da vibração das anteras e apresentam comportamento regular de limpeza, armazenando o pólen obtido após as visitas (Capítulo 2). Esta população apresenta alta variabilidade e estrutura genética espacial, com valores significativos de autocorrelação espacial entre genótipos distribuídos a menos de três metros de distância. Por outro lado, apresenta baixa divergência entre subpopulações ou manchas de indivíduos, compondo um padrão estruturado em famílias genéticas em microescala e de forte coesão intrapopulacional (Capítulo 4).

Neste estudo, buscamos investigar o padrão espacial de dispersão polínica atual e suas possíveis implicações para o tamanho efetivo da população combinando: (i) descrições quantitativas do comportamento do polinizador, considerando o número de flores visitadas na mesma planta, distância percorrida entre plantas, direcionalidade de voo e conformidade

com um modelo de passeio aleatório correlacionado; e (ii) estimativas indiretas do tamanho da vizinhança genética, considerando um provável cenário de pólen *carryover* realizado pelo vetor e a amplitude de dispersão de sementes em densidades populacionais distintas.

Material e métodos

Área de estudo e amostragem

O estudo foi realizado em uma população natural de *Chamaecrista blanchetii* no Parque Municipal de Mucugê, Chapada Diamantina, Bahia, Brasil. O período reprodutivo desta população se concentra entre maio e agosto, com pico de indivíduos com flores em antese em julho. O padrão fenológico de floração varia quanto à produção total de flores em diferentes sub-áreas e entre anos (Capítulo 1). A sincronia entre indivíduos espacialmente próximos parece contribuir para uma agregação local de flores, restrita a menos de 10m, especialmente nos meses de pico da floração, nos quais foram concentrados os estudos de fluxo gênico (Figuras 1 e 2).

Foram acompanhadas trajetórias de vôo dos polinizadores entre plantas de *C. blanchetii* mapeadas em duas subpopulações de densidades distintas (correspondentes às áreas descritas no Capítulo 1): Área B com 8412 m² e densidade de 0,019 plantas/m² e Área D com 1372 m² e 0,33 plantas/m². Na área de menor densidade (B) as observações foram realizadas entre 10 e 13 de junho e 14 e 16 de julho de 2004, e entre 6 e 7 de junho e 1 e 2 de julho de 2005. Na área de maior densidade (D) as rotas de vôo foram acompanhadas entre 14 e 17 de junho e 17 e 19 de julho de 2004, e entre 8 e 9 de junho e 3 e 4 de julho de 2005. Em todo o período de estudo, as observações foram concentradas entre 6:00 e 11:00h, uma vez que este é o horário de maior atividade de forrageamento das abelhas (Capítulo 2).

Os polinizadores eram escolhidos a partir de uma planta focal e seguidos durante as visitas às demais plantas na população, sendo anotado o número de flores visitadas em cada planta e o número de identificação de cada planta visitada seqüencialmente. As observações foram interrompidas quando as abelhas abandonavam a área mapeada ou intercalavam visitas a outras espécies de plantas durante a trajetória. As trajetórias observadas em campo foram reconstituídas em mapas temáticos geo-referenciados confeccionados com o programa ArcView[®] GIS 3.3 e módulo Spatial Analyst 2.0 (ESRI 2002) usando as extensões *The animal movement analyst* e *PVA tools kit* (Hooge & Hooge

1999, Hooge *et al.* 1999) para ArcView[®] GIS. A partir do banco de dados associado aos mapas, foram obtidos os seguintes parâmetros de vôo das abelhas: (1) o segmento L entre duas plantas visitadas consecutivamente; (2) o deslocamento absoluto R_n entre a primeira planta visitada (planta focal) e as demais na trajetória; e (3) o ângulo θ de virada entre dois segmentos consecutivos (Figura 3). Adicionalmente, foram obtidos: (4) o número de flores disponíveis em cada planta visitada; (5) o número de vizinhos mais próximos não visitados entre uma planta e outra durante a trajetória de vôo; e (6) distância entre a planta visitada e os dois vizinhos mais próximos.

Forrageamento dos polinizadores

Os parâmetros de visitação e vôo, exceto ângulos da trajetória, foram avaliados para todos os polinizadores, com maior detalhamento para operárias de *Bombus brevivillus* por se tratarem dos polinizadores mais frequentes (Capítulo 2). Para estas abelhas, os valores de número de flores visitadas por planta (transformados para raiz quadrada), porcentagem de flores visitadas entre as disponíveis por planta (transformados para arco-coseno) e distância média de vôos realizados entre plantas (transformados para logaritmo natural) foram comparados em análise de variância ANOVA de um critério, com as médias comparadas pelo teste Tukey, dentro de cada área entre os meses e entre os anos de estudo. Foi testada correlação de Pearson entre o número de flores disponíveis e número de flores visitadas por planta em cada área e em cada período de observação, com as devidas transformações, utilizando o programa BioEstat 3.0 (Ayres *et al.* 2003).

Na área de maior densidade de plantas, os parâmetros de forrageamento de operárias de *Bombus brevivillus* foram descritos em maior detalhe, avaliando: proporção de flores visitadas em plantas distribuídas em quatro classes, considerando número de flores disponíveis por planta, com as médias em cada classe comparadas com teste Mann-Whitney; distribuição da frequência do número total de flores visitadas por planta e da proporção do número de flores visitadas entre as disponíveis, e distribuição da frequência da distância de vôo entre plantas, comparando as distribuições entre os meses e entre os anos de estudo com teste Kolmogorov-Smirnov, utilizando o programa BioEstat 3.0.

A orientação de vôo do polinizador na área de maior densidade de plantas foi descrita a partir de ferramentas de estatística circular, utilizando os ângulos θ de virada entre plantas visitadas sequencialmente. O vetor médio calculado para este parâmetro apresenta duas propriedades: a direção (ângulo médio, μ) e seu comprimento (r). O comprimento varia de 0 a 1, onde altos valores de r indicam que as observações estão mais agrupadas em torno da

média do que os valores menores. A variância circular e o desvio padrão circular são equivalentes aos correspondentes lineares, porém calculados de maneira distinta. A variância é calculada a partir do comprimento do vetor médio através da fórmula $V = 1-r$ e o desvio padrão por $S = (-2\ln(r))$. O resultado S , obtido em radiano, pode então ser convertido em graus se multiplicado por $180/\pi$. Foi conduzido o teste U^2 de Watson que verifica o ajuste da distribuição dos dados confrontados com um modelo específico de distribuição escolhido, que neste caso foi o uniforme. O teste é feito calculando-se o quadrado médio do desvio para uma distribuição uniforme. Se o desvio é alto (resultando num alto valor de U^2 e baixa probabilidade), a hipótese nula de que os dados estão ajustados ao modelo uniforme é rejeitada (Zar 1998).

O deslocamento dos polinizadores no espaço, na área de maior densidade de plantas, foi descrito a partir de um modelo de passeio aleatório correlacionado ("correlated random walk"), indicado para descrever ou prever deslocamentos de insetos num plano, seguindo a fórmula (Kareiva & Shigesada 1983):

$$E(R_n^2) = nE(L^2) + 2E(L)^2 \left(\frac{c}{1-c} \right) \left[n - \left(\frac{1-c^n}{1-c} \right) \right] \quad (1)$$

onde

$E(R_n^2)$ = esperança do deslocamento ao quadrado

n = número de segmentos

L = comprimento do segmento

$c = E(\cos \theta)$ = esperança do cosseno de θ em radiano

$E(R_n^2)$, $E(L^2)$ e $E(\cos \theta)$ são esperanças das respectivas variáveis aleatórias, sendo tanto L quanto θ independentes. Para a incorporação destas variáveis na fórmula, são utilizadas, na prática, as médias calculadas a partir das medidas observadas. Este é um modelo classificado como não orientado, com independência do comprimento, e que permite estimar o deslocamento de um organismo após certo número de passos motivado por atividades específicas. Este modelo é tido como o mais neutro possível, uma vez que assume que a probabilidade do inseto virar à direita ou à esquerda é a mesma, podendo ser útil na detecção de desvios entre o deslocamento observado e o esperado em um movimento aleatório (Kareiva & Shigesada 1983, Jacobi 2000, 2002).

Estimativa indireta da vizinhança genética

Foi estimado o tamanho da vizinhança genética considerando os dois componentes do fluxo gênico: (1) dispersão de gametas através do pólen e (2) dispersão de zigotos através de sementes. Para avaliar o componente de fluxo polínico mediado pelas abelhas, assumimos como regra de decaimento de pólen a partir de uma planta focal, a deposição de pólen no estigma das flores até a terceira planta consecutiva. Os critérios adotados aqui decorrem do padrão observado de número de flores visitadas por planta, da frequência de limpeza do polinizador em *Chamaecrista blanchetii* (Capítulo 2), e de estimativas de pólen *carryover* realizado por espécies de *Bombus* em populações naturais e sistemas experimentais disponíveis na literatura (Thomson *et al.* 1986, Thomson & Thomson 1989, Morris *et al.* 1994). Este cenário de modelo hipotético foi delineado para efeitos de comparação com o encontrado em estimativas indiretas de tamanho de vizinhança genética baseadas na estrutura genética espacial utilizando marcador molecular aloenzimático (Capítulo 4). Para tanto, foram feitos os cálculos do tamanho da vizinhança genética (N_e) considerando as distâncias das três primeiras plantas visitadas após o início da trajetória da abelha com as seguintes correções a partir da fórmula proposta por Crawford (1984):

(A) Ausência de pólen *carryover*, com deposição de 100% do pólen na primeira planta visitada:

$$N_e = 4\pi[0,5t (\sigma_{p1})^2 + (\sigma_s)^2] d(1 + t)/2 \quad (2)$$

(B) Pólen *carryover* até a segunda planta, com deposição de 80% do pólen na primeira e 20% na segunda planta visitada:

$$N_e = 4\pi[0,5t (0,8(\sigma_{p1})^2 + 0,2(\sigma_{p2})^2) + (\sigma_s)^2] d(1 + t)/2 \quad (3)$$

(C) Pólen *carryover* até a terceira planta, com deposição de 70% do pólen na primeira, 20% na segunda e 10% na terceira planta visitada:

$$N_e = 4\pi[0,5t (0,7(\sigma_{p1})^2 + 0,2(\sigma_{p2})^2 + 0,1(\sigma_{p3})^2) + (\sigma_s)^2] d(1 + t)/2 \quad (4)$$

Sendo,

t = taxa de fecundação cruzada

$(\sigma_{pi})^2$ e $(\sigma_s)^2$ = variância da distância de dispersão de pólen e de sementes, respectivamente;

$(\sigma_{pi})^2 = \sum pi^2 / n_p$, onde pi = distância do deslocamento absoluto R_n após i plantas visitadas e n_p = número total de eventos;

$(\sigma_s)^2 = \sum s^2 / n_s$, onde s = distância de dispersão da semente e n_s = número de eventos de dispersão de semente;

d_e = densidade efetiva da população.

Para a estimativa da taxa de fecundação cruzada (t), foi considerado o número de visitas a flores de uma mesma planta (V_a), número de visitas entre plantas (V_c), e a média da proporção de sementes bem formadas por fruto em autopolinização (S_a) e em polinização cruzada experimental (S_c), conforme resultados encontrados no Capítulo 2, calculando:

$$t = V_c S_c / (V_c S_c + V_a S_a) \quad (5)$$

Para a estimativa de dispersão de sementes, foram escolhidas três plantas focais com alturas entre 2 e 2,5m, que corresponde ao tamanho médio dos indivíduos na população. Foram dispostas lonas plásticas sob as copas das árvores e obtidas as medidas de distância de lançamento de 20 sementes a partir do tronco de cada uma das plantas.

Não foram calculados os valores para vizinhança genética considerando pólen *carryover* até a terceira planta na área menos densa, uma vez que as trajetórias das abelhas foram curtas (com menos de 5 passos).

Resultados

Forrageamento dos polinizadores em paisagens de densidades distintas

Operárias de *Bombus brevivillus* foram responsáveis por quase a totalidade de movimentos intra e interplanta realizados pelos polinizadores registrados na população. No início da floração (maio), estas abelhas apresentaram vôos mistos e investigativos para coleta de néctar e/ou de pólen em flores de outras espécies da comunidade, com média de $40 \pm 8\%$ ($n = 17$) de plantas inter-específicas incluídas na trajetória, principalmente espécies de Asteraceae e Melastomataceae. No pico de floração, junho e julho, estas abelhas apresentaram alta constância ao recurso polínico de *C. blanchetii*, com 92% das trajetórias compostas por visitas intra-específicas.

O número de rotas, de plantas e de flores visitadas por hora por operárias de *B. brevivillus* foi maior na área de maior densidade de plantas nos dois anos (Tabela 1). Na área de menor densidade houve aumento de atividade nos meses de julho, em especial no segundo ano de estudo, sendo registradas 1,2 rotas de vôo, 3,5 plantas e 15,9 flores visitadas por hora. Na área de maior densidade de plantas, as atividades do polinizador principal foram mais freqüentes nos meses de junho, principalmente no primeiro ano, quando foram observadas 3,9 rotas de vôo, 23,3 plantas e 76,2 flores visitadas por hora.

Na área de menor densidade de plantas (Área B), as operárias de *B. brevivillus* exploraram em média entre 4,5 e 8,9 flores por planta, visitando entre 9,9 e 14,4% do total de flores disponíveis por planta. Elas realizaram trajetórias com segmentos entre 5,7 e 10,4m nos diferentes períodos de estudos, com vôos mais longos nos meses de julho nos dois anos de estudo, e viradas na trajetória com ângulos médios circulares de 271,8° e 346,6° nos meses de julho em 2004 e 2005, respectivamente (Tabela 2). Houve diferença significativa no número médio de flores visitadas por planta entre junho e julho de 2005 ($Q = 3,14$, $p < 0,05$) e entre a porcentagem de flores visitadas entre as disponíveis por planta entre julho de 2004 e julho de 2005 ($Q = 2,93$, $p < 0,05$). Houve correlação positiva significativa entre o número de flores disponíveis e o número de flores visitadas por planta em todos os meses de observação: junho de 2004 ($r = 0,55$, $gl = 14$, $p < 0,05$), julho de 2004 ($r = 0,75$, $gl = 22$, $p < 0,001$), junho de 2005 ($r = 0,76$, $gl = 18$, $p < 0,001$) e julho de 2005 ($r = 0,67$, $gl = 33$, $p < 0,001$). Entretanto, o poder explicativo r é fraco, e neste caso, a proporção de flores visitadas não aumenta linearmente com o número de flores disponíveis.

Na área com maior densidade de plantas (Área D), as operárias de *B. brevivillus* exploraram em média entre 3 e 4,7 flores por planta, visitando entre 12,6 e 18% do total de flores disponíveis por planta. Elas realizaram trajetórias com segmentos entre 2 e 4,4m de extensão nos diferentes períodos de estudos, com vôos mais longos nos meses de junho e de julho no primeiro ano de estudo (Tabela 2). Houve diferença significativa no número médio de flores visitadas por planta entre os meses de junho de 2004 e 2005 ($Q = 6,39$, $p < 0,01$) e entre os meses de julho de 2004 e 2005 ($Q = 5,52$, $p < 0,01$), entre a porcentagem de flores visitadas entre as disponíveis por planta entre junho e julho de 2004 e entre junho e julho de 2005 ($Q = 3,55$, $p < 0,05$ e $Q = 4,45$, $p < 0,01$, respectivamente), entre os meses de junho de 2004 e 2005 ($Q = 4,17$, $p < 0,01$) e entre os meses de julho de 2004 e 2005 ($Q = 2,83$, $p < 0,05$), e entre a distância média de vôo entre plantas entre junho e julho de 2005 e entre os meses de julho de 2004 e 2005 ($Q = 4,7$, $p < 0,01$ e $Q = 5,1$, $p < 0,01$, respectivamente). Houve correlação positiva significativa entre o número de flores disponíveis e o número de flores visitadas por planta em todos os meses de observação: junho de 2004 ($r = 0,35$, $gl = 464$, $p < 0,001$), julho de 2004 ($r = 0,42$, $gl = 206$, $p < 0,001$), junho de 2005 ($r = 0,52$, $gl = 89$, $p < 0,001$) e julho de 2005 ($r = 0,79$, $gl = 25$, $p < 0,001$). Nesta área, os baixos valores de r também indicam que o número de flores visitadas pode aumentar quanto maior o número de flores disponíveis, porém não linearmente. Em paisagem de alta densidade de plantas, foi verificada diminuição significativa na

porcentagem de flores visitadas com o aumento da disponibilidade de flores por planta entre as classes de tamanho, com exceção do mês de julho de 2005 (Tabela 3). Foi verificada alta variação na distribuição do número total de flores e na proporção de flores visitadas por planta, com eventos menos freqüentes de intensa exploração de determinadas plantas no mês junho, nos dois anos de estudo (Figura 4).

Rainhas de *B. brevivillus* foram os polinizadores ocasionais mais freqüentes e com parâmetros de forrageamento menos variáveis, visitando em média $3,1 \pm 0,4$ flores por planta, $11,6 \pm 1,6\%$ do total de flores disponíveis por planta, e realizaram vôos com $4,89 \pm 0,5$ m de extensão. *Xylocopa cearensis* apresentou comportamento distinto dos demais os polinizadores ocasionais, visitando em média 12 flores por planta e realizando vôos de 8,4m entre plantas (Tabela 4).

Padrão espacial do deslocamento de operárias de *Bombus brevivillus* em paisagem de alta densidade de plantas

Operárias de *Bombus brevivillus* apresentaram variação quanto às distâncias de vôo percorridas entre plantas em paisagem de alta densidade floral (Figura 5). Não foi observada diferença significativa entre a distribuição da freqüência de distâncias de vôo nos meses de junho e julho no primeiro ano de observação, com 60% dos vôos realizados a menos de 5m. No segundo ano, foi encontrada diferença significativa na distância de vôo entre plantas nos dois meses de observação, com cerca de 80% de vôos realizados a menos de 2,5m de distância no mês de julho (Kolmogorov-Smirnov, valor crítico = 0,412 para $p < 0,001$). Nesta paisagem, considerando as áreas circulares em torno de plantas focais com raios correspondentes ao deslocamento das abelhas entre duas plantas, em média, os cinco vizinhos mais próximos usualmente não foram visitados (Figura 6). Nesta abordagem, não levamos em consideração o posicionamento do inseto no momento do deslocamento entre plantas, assumindo que a probabilidade de vôos é igual para qualquer direção. Nos casos em que a abelha voou distâncias superiores a 15m foi quantificado apenas o número de plantas não visitadas dentro dos 45° do campo de forrageio entre as plantas. Embora raros, foram observados eventos onde até 80 vizinhos mais próximos à planta de partida deixaram de ser visitados, especialmente em julho do primeiro ano de estudo. Considerando as distâncias de vôo realizado pelo polinizador (Figura 5) e a distância entre as plantas focais e os dois vizinhos mais próximos (Figura 7), foi verificado que mais de 90% desses vizinhos está a menos de 2,5m das plantas de partida.

Os ângulos de viradas durante a trajetória de vôo se concentraram em torno de 180°, em rotas avaliadas nos meses de junho nos dois anos de estudo (Figura 8). A hipótese de distribuição uniforme nos ângulos da trajetória de vôo foi rejeitada nos meses de junho de 2004 e de 2005 a partir do teste de Watson com $U^2 = 0,43$ para $p < 0,005$ e $U^2 = 0,197$ para $p < 0,05$, respectivamente. Em julho de 2004 foi encontrado o menor valor de comprimento do vetor, com $r = 0,063$, e em julho de 2005 o maior valor, com $r = 0,59$, com vetores distribuídos mais freqüentemente em torno de 0°.

As operárias de *Bombus brevivillus* apresentaram deslocamento absoluto observado próximo ao esperado no modelo de passeio aleatório não correlacionado, com exceção de junho de 2005 a partir do terceiro passo (Figura 9). Não houve diferença quanto ao deslocamento quadrado médio da abelha entre junho e julho de 2004, com distâncias máximas alcançadas por volta de 130m após cinco passos ou plantas visitadas.

Vizinhança genética

Esta espécie apresenta mecanismo autocórico de dispersão de sementes, onde a abscisão lateral dos frutos do tipo folículo libera as sementes por explosão. As sementes alcançaram em média $1,4 \pm 0,8$ m ($n = 60$) de distância a partir da planta mãe. Na paisagem menos densa, foram encontrados valores menores de taxa de fecundação cruzada estimada, variando entre 0,28 e 0,46, áreas maiores de vizinhança (entre 50,78 e 310,01m²), e tamanhos menores de vizinhança genética (entre 0,72 e 5,16 indivíduos), assumindo as regras para o espalhamento de pólen até a primeira e a segunda planta visitada (Tabela 5). Foi observado aumento de área e de tamanho da vizinhança, concordantes com aumento do espalhamento de pólen apenas nos meses de julho.

Na paisagem de maior densidade de plantas, foram encontrados os maiores valores de fecundação cruzada estimada (entre 0,47 e 0,6), áreas reduzidas de vizinhança genética (entre 12,5 e 61,96 m²), e maiores valores de tamanho de vizinhança genética (2,56 e 12,05), considerando as regras de decaimento para as três primeiras plantas visitadas seqüencialmente (Tabela 5). Foi observado aumento gradativo dos valores de área e tamanho de vizinhança genética com o aumento do pólen *carryover*, exceto em julho de 2005.

Discussão

Forrageamento dos polinizadores em diferentes paisagens

Em plantas com sistema misto de reprodução, a reprodução cruzada é diretamente proporcional ao aumento de dispersão alélica através do fluxo de pólen (Richards 1997). Alguns autores argumentam que mudanças de comportamento dos polinizadores influenciadas por diferenças na distribuição espacial das plantas visitadas podem determinar mudanças no fluxo de pólen e, conseqüentemente, no tamanho efetivo da vizinhança genética e na sua estruturação (e.g., Beattie 1976, Levin 1979, Fenster 1991, Franceschinelli & Kesseli 1999, Franceschinelli & Bawa 2000). Nesta população de *Chamaecrista blanchetii*, o arranjo espacial dos indivíduos pode variar em diferentes escalas na paisagem, formando manchas de plantas em áreas amplas ou, em uma escala menor, agrupamentos heterogêneos de poucos indivíduos (Capítulo 1). As manchas contendo plantas reprodutivas, ou seja, produzindo flores em determinado período, formam mosaicos de agregação espacial de recursos na paisagem, compondo um cenário de maior ou menor grau de agregação do recurso ao longo da florada. Este padrão de apresentação espacial de plantas e flores, característico também em outras populações heterogêneas ou fragmentadas, pode estar relacionado ao padrão de busca de recursos e hábito de forrageamento de *Bombus brevivillus* em flores de *C. blanchetii*. A maior frequência e constância de forrageamento na área de maior densidade floral apresentado por estas abelhas sugere que a estratégia de busca pode ser condicionada, não apenas numa escala local, entre vizinhos mais próximos, mas também pela disponibilidade de flores em uma área mais ampla, que inclui possivelmente a área total de forrageamento da colônia (Frankie & Haber 1983, Goulson 2000).

Embora tenham sido encontradas diferenças significativas entre alguns dos parâmetros de vôo entre os meses e entre anos dentro da cada área, não foi possível detectar uma tendência clara de maior ou menor potencial de espalhamento polínico em diferentes períodos. Podemos sugerir apenas que houve uma diminuição na proporção de flores visitadas por planta e maior deslocamento das abelhas no pico da florada no primeiro ano, gerando aumento do potencial de espalhamento polínico. Mas, este padrão não se manteve no segundo ano de observação, onde todos os parâmetros amostrados nas duas áreas apontam para uma redução da dispersão polínica no mesmo período. Isto indica que outros fatores, não apenas a variação temporal na disponibilidade de flores, podem atuar no padrão de forrageamento destas abelhas em escala microespacial. Mudanças climáticas,

competição entre outros visitantes por recursos florais ou até mesmo, taxas de predação de flores, como corte de anteras por operárias de *Trigona* variando entre as temporadas, devem ser consideradas.

De modo geral, em paisagem de baixa densidade de plantas, operárias de *Bombus brevivillus* apresentaram comportamento mais próximo ao previsto nas regras de forrageamento ótimo, mantendo, em média, visitas mais prolongadas a plantas com maior disponibilidade de flores e realizando vôos entre plantas vizinhas (Pyke 1978, Zimmerman 1981, Goulson 2000), onde dois aspectos devem ser considerados: distribuição esparsa das plantas e presença de plantas acima de 5m de altura e com os maiores valores de produção floral no dia do censo na área. Neste cenário, a exploração de um maior número de flores por planta pode ser energeticamente mais vantajosa do que realizar deslocamentos mais freqüentes a distâncias maiores. Neste caso, as abelhas podem contribuir para um espalhamento mais restrito do pólen com deposição mais freqüentemente em estigmas de flores da mesma planta, elevando os níveis de endogamia (Schmitt 1980, Thomson & Thomson 1989, Rademaker 1997). Uma vez que *Chamaecrista blanchetii* é uma espécie autocompatível, porém com provável ocorrência de depressão endogâmica verificada por altas taxas de aborto de sementes geradas em autofecundação (Capítulo 2), os efeitos do baixo deslocamento de pólen mediado pelas abelhas podem ser minimizados, especialmente nesta área.

Em paisagem de alta densidade de plantas, as abelhas parecem responder mais proximamente ao previsto no teorema do valor marginal, com o comportamento de busca entre manchas ou agrupamentos de indivíduos da paisagem e não a plantas individualmente dentro de uma área mais ampla de forrageamento (Zimmerman 1981, Goulson 2000). Neste caso, assim como reportado em outros sistemas, as abelhas visitam um número médio menor de flores e com deslocamentos curtos em poucos metros, devido à proximidade das plantas, porém, visitando plantas não vizinhas seqüencialmente (Cresswell 1997). Embora uma resposta positiva do polinizador à produção floral possa ser considerada, com valores significativos de correlação no número de flores disponíveis e flores visitadas, esta relação pode não ser proporcional, uma vez que há redução significativa na porcentagem de flores visitadas por plantas classificadas em classes de tamanho (ou produção floral).

Adicionalmente, a alta variação na distância de vôos entre plantas sugere que os movimentos de busca entre manchas de recursos, com o deslocamento maior até outro ponto de agregação de flores, podem ser mais vantajosos em termos energéticos, em

especial no pico da florada, do que manter visitas continuadas a uma única planta. A partir disto, os demais parâmetros de forrageamento dos polinizadores nesta área, como a direcionalidade de vôo com viradas em torno de 180°, sugerem que as abelhas mantêm vôos sinuosos, visitando manchas de indivíduos repetidas vezes dentro de uma área mais ampla com maior concentração de flores, com comportamento similar a outras espécies de *Bombus* (Pyke & Cartar 1992, Cartar & Real 1997, Collevatti *et al.* 2000). Neste caso, podemos considerar plausível a ocorrência de fluxo polínico entre grupos de indivíduos distribuídos em áreas de maior densidade, possivelmente gerando maior coesão genética intrapopulacional (Capítulo 4).

Assumindo que o quadrado do deslocamento esperado da abelha na paisagem pode refletir o potencial de espalhamento polínico entre as plantas na população, o deslocamento acima de 130m² até a quinta planta visitada pode corroborar as estimativas de maior amplitude de dispersão gênica em termos de tamanho de vizinhança genética e aumento da taxa de fecundação cruzada, nesta área. Ressalta-se que, neste caso, a área de vizinhança genética estimada com valores menores é uma função da própria distância percorrida (em metros) pelas abelhas entre as plantas, as quais estão dispostas muito próximas umas das outras, em alta densidade.

Fluxo gênico e vizinhança genética

A estrutura dos genótipos no espaço em uma escala local em plantas é determinada não apenas por forças seletivas e estocásticas limitando a ocupação e estabelecimento dos indivíduos nos diferentes microambientes, mas principalmente pelo fluxo gênico entre os indivíduos e a amplitude de dispersão dos organismos (Wright 1978, Crawford 1984, Ohsawa *et al.* 1993, Epperson 2000, Silvertown 2001). A dispersão limitada de sementes em *C. blanchetii* pode contribuir para o agrupamento de indivíduos aparentados no espaço, os quais apresentam as maiores chances de manter cruzamentos preferenciais entre si. Adicionalmente, o padrão de autocorrelação espacial positivo na produção de frutos, em especial na área de baixa densidade de plantas, ilustra a ocorrência de indivíduos próximos com maiores valores de produção compondo áreas de agregação de frutos disponíveis na paisagem (Capítulo 1).

Quanto ao componente polínico do fluxo gênico, Cresswell & Osborne (2004) demonstraram experimentalmente a susceptibilidade do fluxo gênico mediado por polinizadores, especificamente *Bombus*, onde o potencial de espalhamento do pólen está sujeito a diminuir sistematicamente à medida que o tamanho das manchas de indivíduos

aumenta. Porém, esta tendência pode se alterar em determinados casos ilustrados em estudos que apontam para alta plasticidade de vôo e forrageamento por recursos, tanto de néctar quanto de pólen, para abelhas do gênero *Bombus* (Cresswell 1997, 1999, 2000, Goulson 2000, Grindeland *et al.* 2005). Embora os parâmetros de vôo do polinizador não forneçam informações conclusivas sobre as resposta das abelhas à variação temporal na produção de flores dentro uma mesma temporada em *C. blanchetii*, a variação no tamanho e na área de vizinhança genética estimada nos diferentes períodos de floração sugere que a variação no comportamento das abelhas pode alterar o potencial de espalhamento de pólen. Neste caso, as abelhas podem contribuir para o fluxo polínico gerando maior ou menor grau de troca gênica entre plantas, nas diferentes paisagens de densidade populacional, em períodos reprodutivos sucessivos. Com base nos parâmetros reprodutivos das plantas e de visitação das abelhas, as estimativas de taxas de fecundação cruzada em *C. blanchetii* sugerem que em paisagem de baixa densidade floral pode ocorrer aumento do nível de endogamia, e em alta densidade populacional essas taxas podem ser menores.

Caso este cenário tenha se mantido ao longo das últimas gerações na população estudada, é possível sugerir que o padrão de estrutura genética atual, com alta taxa de endogamia, porém baixa divergência genética entre manchas (Capítulo 4), esteja sendo mantido pelos efeitos dos padrões de fluxo gênico gamético mediado por operárias de *Bombus brevivillus*. Para espécies com populações grandes e em longas extensões, porém com marcada heterogeneidade na distribuição espacial dos indivíduos localmente, como reportado em *C. blanchetii*, a variação no deslocamento do polinizador pode favorecer o movimento gênico mantendo cruzamentos endogâmicos preferencialmente uniparentais e biparentais, porém com eventos que favorecem a coesão genética intrapopulacional.

Referências bibliográficas

- AYRES, M., D.L. AYRES & A.A.S. SANTOS. 2003. *BioEstat 3.0*. Sociedade Civil Mamirauá MCT – CNPq, Belém.
- BEATTIE, A.J. 1976. Plant dispersion, pollination, and gene flow in *Viola*. *Oecologia* 25: 291-300.
- BEATTIE, A.J. 1979. Plant-animal interactions affecting gene flow in *Viola*. Pp 151-164 in: A.J. RICHARDS (ed.). *The pollination of flowers by insects*. Linnean Society, Academic Press, London.

- CAMPBELL, D.R. 1991. Comparing pollen dispersal and gene flow in a natural population. *Evolution* 45: 1965-1968.
- CARTAR, R.V. & L.A. REAL. 1997. Habitat structure and animal movement: the behavior of bumble bees in uniform and random spatial resource distributions. *Oecologia* 112: 430-434.
- COLLEVATTI, R.G., J.H. SCHOEREDER & L.A.O. CAMPOS. 2000. Foraging behavior of bee pollinators on the tropical weed *Triumfetta semitriloba*: flight distance and directionality. *Revista Brasileira de Biologia* 60: 29-37.
- COSTA, C.B.N., J.A.S. COSTA, A.T.A. RODARTE & C.M. JACOBI. 2002. Comportamento de forrageio de *Xylocopa (Neoxylocopa) cearensis* Ducke, 1910 (Apidae) em *Waltheria cinerascens* a.St.Hil. (Sterculiaceae) em dunas costeiras (APA do Abaeté, Salvador, Bahia, Brasil). *Sitientibus série Ciências Biológicas* 2: 23-28.
- CRAWFORD, T.J. 1984. What is a population? Pp 135-173 in: B. SHORROCKS (ed.) *Evolutionary ecology*. Blackwell, Oxford.
- CRESSWELL, J.E. 1997. Spatial heterogeneity, pollinator behaviour and pollinator-mediated gene flow: bumblebee movements in variously aggregated rows of oil-seed rape. *Oikos* 78: 546-556.
- CRESSWELL, J.E. 1999. The influence of nectar and pollen availability on pollen transfer by individual flowers of oil-seed rape (*Brassica napus*) when pollinated by bumblebees (*Bombus lapidarius*). *Journal of Ecology* 87: 670-677.
- CRESSWELL, J.E. 2000. A comparison of bumblebees' movements in uniform and aggregated distributions of their forage plant. *Ecological Entomology* 25: 19-25.
- CRESSWELL, J.E. & J.L. OSBORNE. 2004. The effect of patch size and separation on bumblebee in oilseed rape: implications for gene flow. *Journal of Applied Ecology* 41: 539-546.
- EPPERSON, B.K. 2000. Spatial genetic structure and non-equilibrium demographics within plant population. *Plant Species Biology* 15: 269-279.
- ESRI. 2002. *ArcView 3.3*. Environmental Systems Research Institute, New York.
- FENSTER, C.B. 1991. Gene flow in *Chamaecrista fasciculata* (Leguminosae): I. Gene dispersal. *Evolution* 45: 398-409.
- FRANCESCHINELLI, E.V. & K.S. BAWA. 2000. The effect of ecological factors on the mating system of South American shrub species (*Helicteres brevispira*). *Heredity* 116: 116-123.

- FRANCESCHINELLI, E.V. & R. KESSELI. 1999. Population structure and gene flow of the Brazilian shrub *Helicteres brevispira*. *Heredity* 82: 355-363.
- FRANKIE, G.W. & W.A. HABER. 1983. Why bees move among mass-flowering neotropical trees. Pp 360-372 in JONES, C.E. & R.J LITTLE (eds.) *Handbook of experimental pollination biology*. Van Nostrand Reinhold Company, New York.
- GOTTSBERGER, G. & I. SILBERBAUER- GOTTSBERGER. 1988. Evolution of flower structures and pollination in Neotropical Cassinae (Caesalpiaceae) species. *Phyton* 28: 293-320.
- GOULSON, D. 2000. Why do pollinators visit proportionally fewer flowers in large patches? *Oikos* 91: 485-492.
- GRINDELAND, J. M., N. SLETVOLD & R.A. IMS. 2005. Effects of floral display size and plant density on pollinator visitation rate in a natural population of *Digitalis purpurea*. *Functional Ecology* 19: 383–390.
- HOOGE, P.N. & E.R. HOOGE. 1999. *PVA tool kit*. USGS, Alaska Biological Science Center.
- HOOGE, P.N., W. EICHENLAUB & E. SOLOMON. 1999. *The animal movement program*. USGS, Alaska Biological Science Center.
- JACOBI, C.M. 2000. Modelamento de rotas de visita o. Pp 39-58 in: MARTINS, R.P., T.M. LEWINSOHN & M.S. BARBEITOS (eds.) *Ecologia e Comportamento de Insetos*. Oecologia Brasiliensis PPGE-UFRJ, Rio de Janeiro.
- JACOBI, C.M. 2002. What pollinator dispersal studies can do for crop-pollinator systems in: KEVAN, P. & V.L. IMPERATRIZ-FONSECA (eds.) *Pollinating bees: the conservation link between agriculture and nature*. Minist rio do Desenvolvimento, Bras lia.
- KAREIVA & SHIGESADA 1983. Analyzing insect movement as a correlated random walk. *Oecologia* 56: 234-238.
- LEVIN, D.A. 1979. Pollinator behaviour and the breeding structure of plant populations. Pp 133-150 in A.J. RICHARDS (ed.). *The pollination of flowers by insects*. Linnean Society, Academic Press, London.
- MORRIS, W.F. 1993. Predicting the consequences of plant spacing and biased movement for pollen dispersal by honey bees. *Ecology* 74: 493-500.
- MORRIS, W.F., M. MANGEL & F.R. ADLER. 1995. Mechanisms of pollen deposition by insect pollinators. *Functional Ecology* 9: 304-317.
- MORRIS, W.F., M.V. PRICE, N.M. WASER, J.D. THOMSON, B. THOMSON & D.A. STRATTON. 1994. Systematic increase in pollen carryover and its consequences for geitonogamy in plant populations. *Oikos* 71: 431-440.

- OHSAWA, R., N. FURUYA & Y. UKAIA. 1993. Effects of spatially restrict pollen flow on spatial genetic structure of an animal-pollinated allogamous plant population. *Heredity* 71: 64-73.
- PYKE, G.H. & R.V. CARTAR. 1992. The flight directionality of bumblebees: do they remember where they came from? *Oikos* 65: 321-327.
- PYKE, G.H. 1978. Optimal foraging: Movement patterns of bumble-bees between inflorescences. *Theoretical Population Biology* 13: 72-98.
- RADEMAKER, M.C.J., T.J. DE JONG & P.G.L. KLINKHAMMER. 1997. Pollen dynamics of bumble-bee visitation on *Echium vulgare*. *Functional Ecology* 11: 554-563.
- RICHARDS, A.J. 1997 *Plant breeding systems*, 2^a ed. Chapman & Hall, London.
- SLATKIN, M. 1985. Gene flow in natural populations. *Annual Review of Ecology and Systematics* 16: 393-430.
- SCHMITT J. 1980. Pollinator foraging behavior and gene dispersal in *Senecio* (Compositae). *Evolution* 34: 934-943.
- SILVERTOWN, J. 2001. Plants stand still, but their genes don't: non-trivial consequences of the obvious. Pp 3-20 in: SILVERTOWN, J. & J. ANTONOVICS (eds.) *Integrating ecology and evolution in a spatial context*. Blackwell Science, Oxford.
- THOMSON, J.D. & R.C. PLOWRIGHT. 1980. Pollen carryover, nectar rewards, and pollinator behavior with special reference to *Diervilla lonicera*. *Oecologia* 46: 68-74.
- THOMSON, J.D. & B.A. THOMSON. 1989. Dispersal of *Erythronium grandiflorum* pollen by bumblebees: implications for gene flow and reproductive success. *Evolution* 43: 657-661.
- THOMSON J.D., M.V. PRICE, N.M. WASER & D.A. STRATTON. 1986. Comparative studies of pollen and fluorescent dye transport by bumble bees visiting *Erythronium grandiflorum*. *Oecologia* 69: 561-566.
- WRIGHT, S. 1978. Evolution and the genetics of populations. Volume 4. *Variability within and among natural population*. University of Chicago Press, Chicago.
- ZAR, J.H. 1998. *Biostatistical Analysis*. 4th Ed. Prentice Hall, New Jersey.
- ZIMMERMAN, M. 1981. Optimal foraging, plant density and the marginal value theorem. *Oecologia* 49: 148-153.

Tabela 1: Número total de rotas de vôo, número de plantas e número de flores de *Chamaecrista blanchetii* visitadas por operárias de *Bombus brevivillus*, por hora de observação, nas duas paisagens, nos meses de junho e julho, em dois anos consecutivos, no Parque Municipal de Mucugê, Chapada Diamantina, Brasil.

	Área B (0,019 plantas/m ²)				Área D (0,33 plantas/m ²)			
	2004		2005		2004		2005	
Nº de observações/ hora	Junho (20h)	Julho (15h)	Junho (10h)	Julho (10h)	Junho (20h)	Julho (15h)	Junho (10h)	Julho (10h)
Nº de rotas	0,35 (n=7)	0,53 (n=8)	0,7 (n=7)	1,2 (n=12)	3,9 (n=78)	2,7 (n=41)	2,2 (n=22)	0,7 (n=7)
Nº de plantas visitadas	0,8 (n=16)	1,6 (n=24)	2,0 (n=20)	3,5 (n=35)	23,3 (n=466)	13,9 (n=208)	9,1 (n=91)	2,7 (n=27)
Nº de flores visitadas	4,65 (n=93)	14,2 (n=213)	13,5 (n=135)	15,9 (n=159)	76,2 (n=1524)	41,5 (n=623)	40,6 (n=406)	11,9 (n=119)

Tabela 2: Parâmetros do forrageamento de operárias de *Bombus brevivillus* em flores de *Chamaecrista blanchetii*, em paisagem de baixa densidade populacional (Área B) e em paisagem de alta densidade populacional (Área D), nos meses de junho e julho, em dois anos consecutivos, no Parque Municipal de Mucugê, Chapada Diamantina, Brasil. Valores apresentados como média±desvio padrão (*N* observações). Valores seguidos de letras diferentes em uma mesma linha apresentam diferenças significativas em Anova um critério com teste Tukey.

Parâmetros de vôo	2004		2005	
	Junho	Julho	Junho	Julho
Área B (0,019 plantas/m²)				
Nº flores visitadas/ planta	5,8±7,1 (16)	8,9±8,5 (24)	6,7±4,5 ^a (20)	4,5±2,4 ^b (35)
Porcentagem de flores visitadas/ planta (%)	14,4±11,8 (16)	9,9±12,4 ^a (24)	11,4±9,8 (20)	13,9±8,6 ^b (35)
Distância de vôo entre plantas (m)	7,5±2 (9)	10,4±6 (16)	5,7±3,4 (13)	9,9±9,0 (23)
Ângulos da trajetória (graus)*	–	271,8±93,4 (7)	142,2±130,7 (6)	346,6±71,8 (7)
Área D (0,33 plantas/m²)				
Nº flores visitadas/ planta	3,3±3 ^a (466)	3±1,5 ^a (208)	4,7±3,3 ^b (91)	4,4±2,3 ^b (27)
Porcentagem de flores visitadas/ planta (%)	18±17,4 ^a (466)	14,4±11,6 ^b (208)	12,6±9,3 ^c (91)	17,7±6,2 ^d (27)
Distância de vôo entre plantas (m)	4,3±3,2 (387)	4,4±3,6 ^a (167)	4,2±2,9 ^a (69)	2±1,5 ^b (20)
Ângulos da trajetória (graus)*	188,6±112,5 (308)	160,0±134,9 (126)	198,4±96,6 (47)	345,1±58,6 (13)

*Ângulo médio (μ)±DP circular dos ângulos em graus, detalhes no texto.

Tabela 3: Porcentagem de flores visitadas por planta, em forrageamento de operárias de *Bombus brevivillus* em flores de *Chamaecrista blanchetii*, distribuídas em quatro classes de tamanho, em paisagem de alta densidade populacional (Área D), nos meses de junho e julho, em dois anos consecutivos, no Parque Municipal de Mucugê, Chapada Diamantina, Brasil. Valores apresentados como média±desvio padrão (*N* observações). Amostras com valores de *N* abaixo de 20 não foram testados estatisticamente.

Classes de tamanho (flores/ planta)	2004		2005	
	Junho	Julho	Junho	Julho
1 - 20	26,8±20,8 ^a (204)	22,4±13,4 ^d (77)	21,6±10,2 ^f (21)	19,9±6,3 (12)
21 - 40	11,7±9,8 ^b (197)	10,3±5,2 ^e (115)	13,3±8,2 ^g (31)	16,3±6,3 (13)
41 - 60	9,9±10,1 ^c (62)	9,2±2,28 (8)	8,4±5,3 (10)	14,8 (2)
> 61	14,21±11,3 (3)	4,3±2,1 (11)	6,8±4,5 ^h (29)	–

Teste Mann-Whitney, com valores de significância indicados par a par, dentro de cada coluna:

$$Z(U)_{ab} = 10,24, p < 0,001$$

$$Z(U)_{ac} = 2,56, p < 0,01$$

$$Z(U)_{de} = 7,45, p < 0,001$$

$$Z(U)_{fg} = 2,28, p < 0,005$$

$$Z(U)_{fh} = 3,41, p < 0,001$$

Tabela 4: Parâmetros do forrageamento dos polinizadores ocasionais em flores de *Chamaecrista blanchetii*, em paisagem de alta densidade populacional (Área D), nos meses de junho e julho, em dois anos consecutivos, no Parque Municipal de Mucugê, Chapada Diamantina, Brasil. Valores apresentados como média±desvio padrão (*N* observações).

Parâmetros	<i>Bombus brevivillus</i> rainha	<i>Xylocopa cearensis</i>	<i>Xylocopa</i> sp	<i>Epicharis flava</i>	<i>Centris fuscata</i>
Nº flores visitadas/ planta	3,1±0,4 (45)	12±4,5 (5)	4,6±1,2 (21)	2,1±0,2 (31)	1,3±0,1 (12)
Porcentagem de flores visitadas/ planta (%)	11,6±1,6 (45)	27,8±2 (5)	13±1,9 (21)	11,3±1,8 (31)	14±4,6 (12)
Distância de vôo entre plantas (m)	4,89±0,5 (38)	8,4 (3)	2,9±0,5 (15)	3,9±0,5 (25)	3,9±0,6 (9)
Ângulos da trajetória (graus)*	29,7±55,7 (30)	–	54,9±90,1 (11)	199,6±94,0 (19)	181,7±113,1 (7)

*Ângulo médio (μ)±DP circular dos ângulos em graus, detalhes no texto.

Tabela 5: Parâmetros reprodutivos, estimativa de taxa de fecundação cruzada e estimativas da área (m^2) e do tamanho da vizinhança genética, considerando pólen *carryover* até a terceira planta visitada sequencialmente por operárias de *Bombus brevivillus*, levando em consideração o decaimento proporcional de pólen, nos meses de junho e julho, em dois anos consecutivos, nas paisagens de densidades populacionais distintas, em *Chamaecrista blanchetii*, no Parque Municipal de Mucugê, Chapada Diamantina, Brasil. Detalhes dos critérios do pólen *carryover* descritos no texto.

	Área B				Área D			
	2004		2005		2004		2005	
	Junho	Julho	Junho	Julho	Junho	Julho	Junho	Julho
Número de plantas floridas	55	72	51	57	216	333	195	387
Densidade indivíduos reprodutivos (d)	0,02	0,03	0,02	0,02	0,16	0,24	0,14	0,28
Número de visitas intraplanta	77	189	115	124	1058	415	315	92
Número de visitas interplanta	16	24	20	35	466	208	91	27
Taxa de fecundação cruzada (t)	0,39	0,28	0,34	0,46	0,57	0,6	0,47	0,47
Área de vizinhança genética (A_{Ne1})	55,77	70,73	52,46	245,47	45,34	58,02	32,52	14,03
Área de vizinhança genética (A_{Ne2})	50,78	83,51	49,09	310,01	48,02	60,52	37,72	12,86
Área de vizinhança genética (A_{Ne3})	–	–	–	–	49,99	61,96	39,94	12,35
Tamanho da vizinhança genética (N_{e1})	0,85	1,30	0,72	4,09	5,61	11,28	3,39	2,91
Tamanho da vizinhança genética (N_{e2})	0,77	1,54	0,67	5,16	5,94	11,77	3,93	2,67
Tamanho da vizinhança genética (N_{e3})	–	–	–	–	6,18	12,05	4,16	2,56

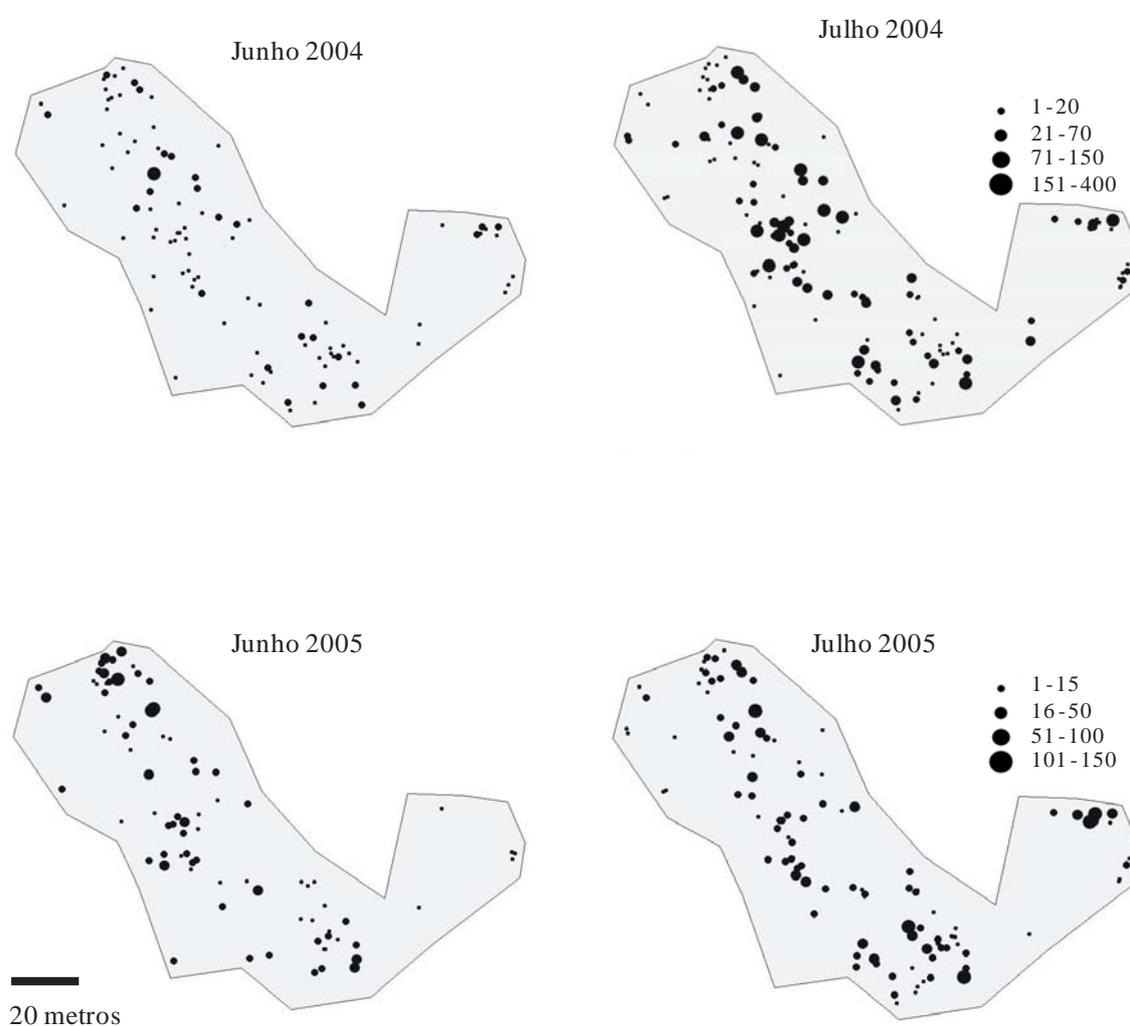


Figura 1: Distribuição espacial da produção de flores por indivíduo de *Chamaecrista blanchetii* em paisagem de baixa densidade populacional (Área B), durante o período de observação em junho e julho, em dois anos consecutivos, no Parque Municipal de Mucugê, Chapada Diamantina, Brasil. Plantas distribuídas em classes de número de flores produzidas representadas por símbolos de tamanho crescente.



Figura 2: Distribuição espacial da produção de flores por indivíduo de *Chamaecrista blanchetii* em paisagem de alta densidade populacional (Área D), durante o período de observação em junho e julho, em dois anos consecutivos, no Parque Municipal de Mucugê, Chapada Diamantina, Brasil. Plantas distribuídas em classes de número de flores produzidas representadas por símbolos de tamanho crescente.

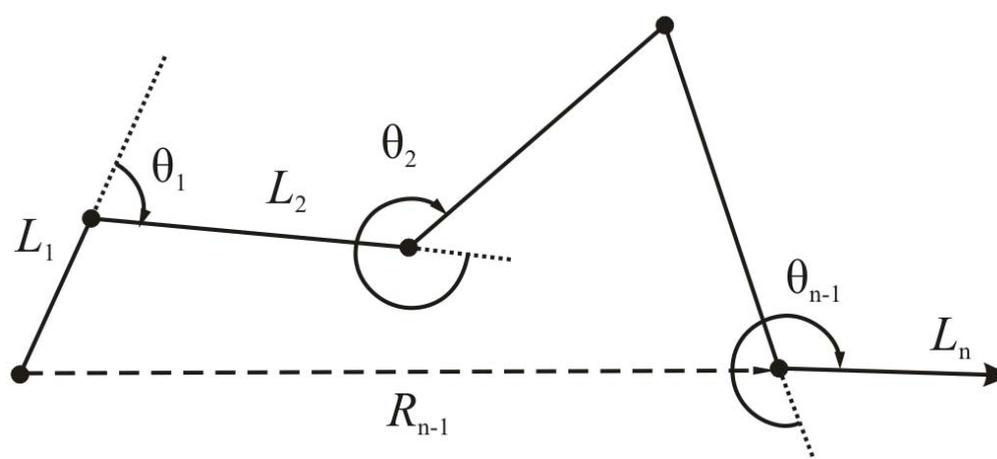


Figura 3: Parâmetros avaliados na trajetória de vôo das operárias de *Bombus brevivillus* entre plantas de *Chamaecrista blanchetii*. Deslocamento entre duas plantas (L), ângulo de virada entre plantas visitadas (θ), deslocamento absoluto a partir da planta inicial (R).

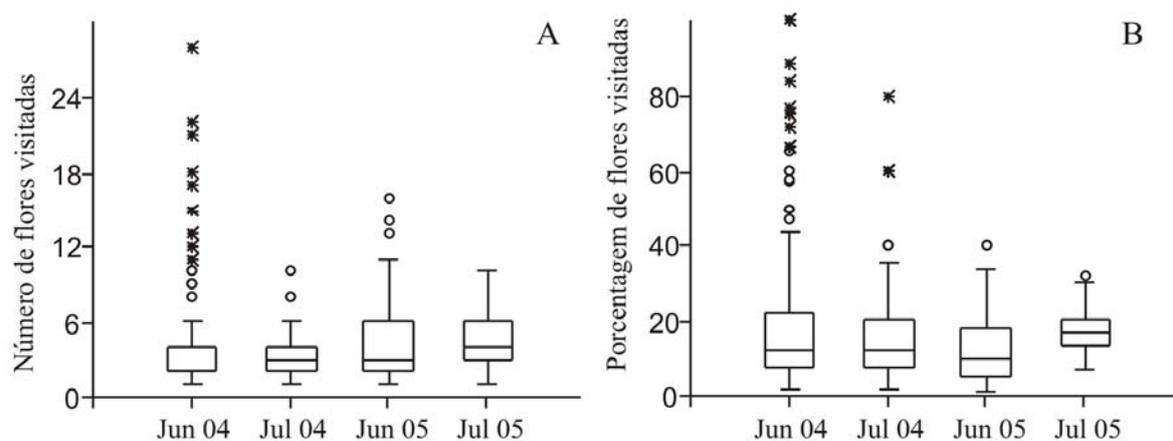
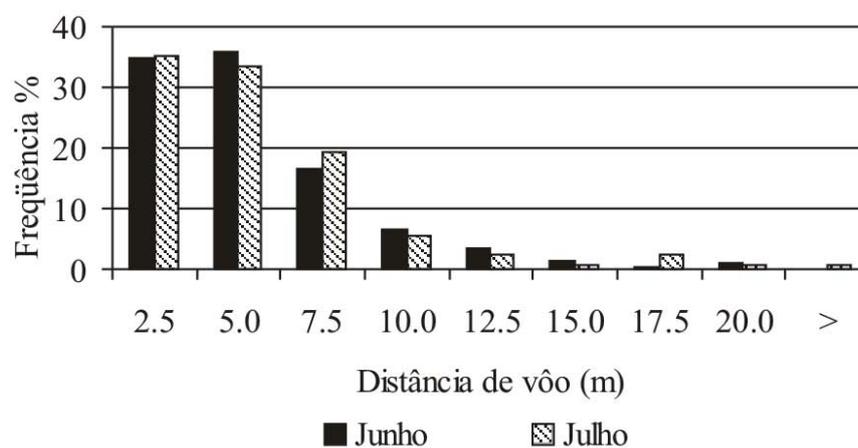


Figura 4: A. Flores visitadas por planta. B. Porcentagem de flores visitadas entre as disponíveis por planta, em forrageamento de operárias de *Bombus brevivillus* em flores de *Chamaecrista blanchetii*, em paisagem de alta densidade populacional (Área D), nos meses de junho e julho, em dois anos consecutivos, no Parque Municipal de Mucugê, Chapada Diamantina, Brasil. Boxplot com medianas, quartis e *outliers* indicados.

2004



2005

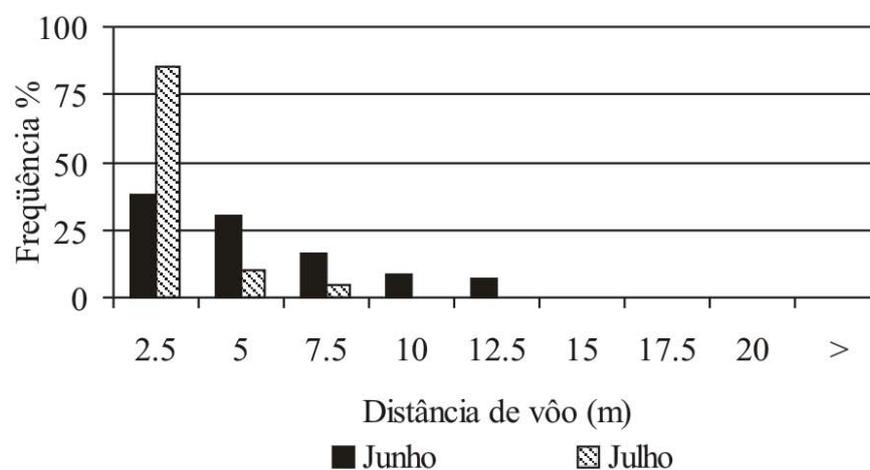


Figura 5: Distâncias dos vôos realizados por operárias de *Bombus brevivillus* entre indivíduos de *Chamaecrista blanchetii*, em paisagem de alta densidade populacional (Área D), nos meses de junho e julho, em dois anos consecutivos, no Parque Municipal de Mucugê, Chapada Diamantina, Brasil.

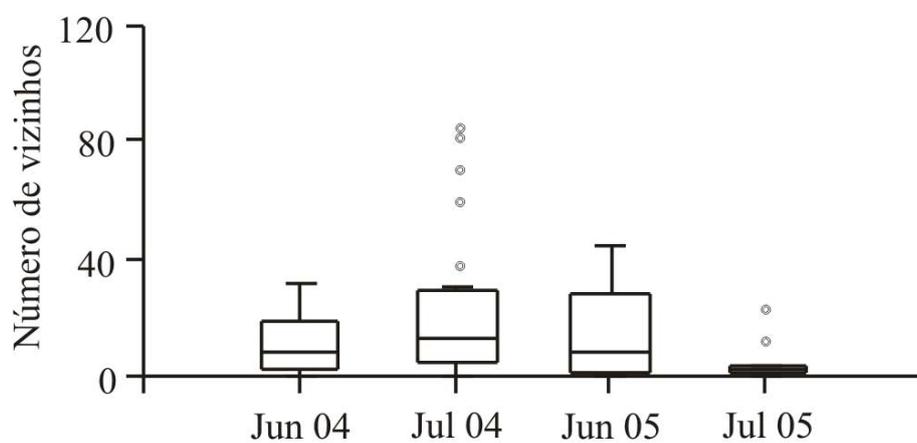


Figura 6: Número de vizinhos mais próximos não visitados entre a primeira e a segunda planta das trajetórias de vôo de operárias de *Bombus brevivillus*, em paisagem de alta densidade populacional (Área D), nos meses de junho e julho, em dois anos consecutivos, no Parque Municipal de Mucugê, Chapada Diamantina, Brasil. Box plot com medianas e quartis com *outliers* indicados.

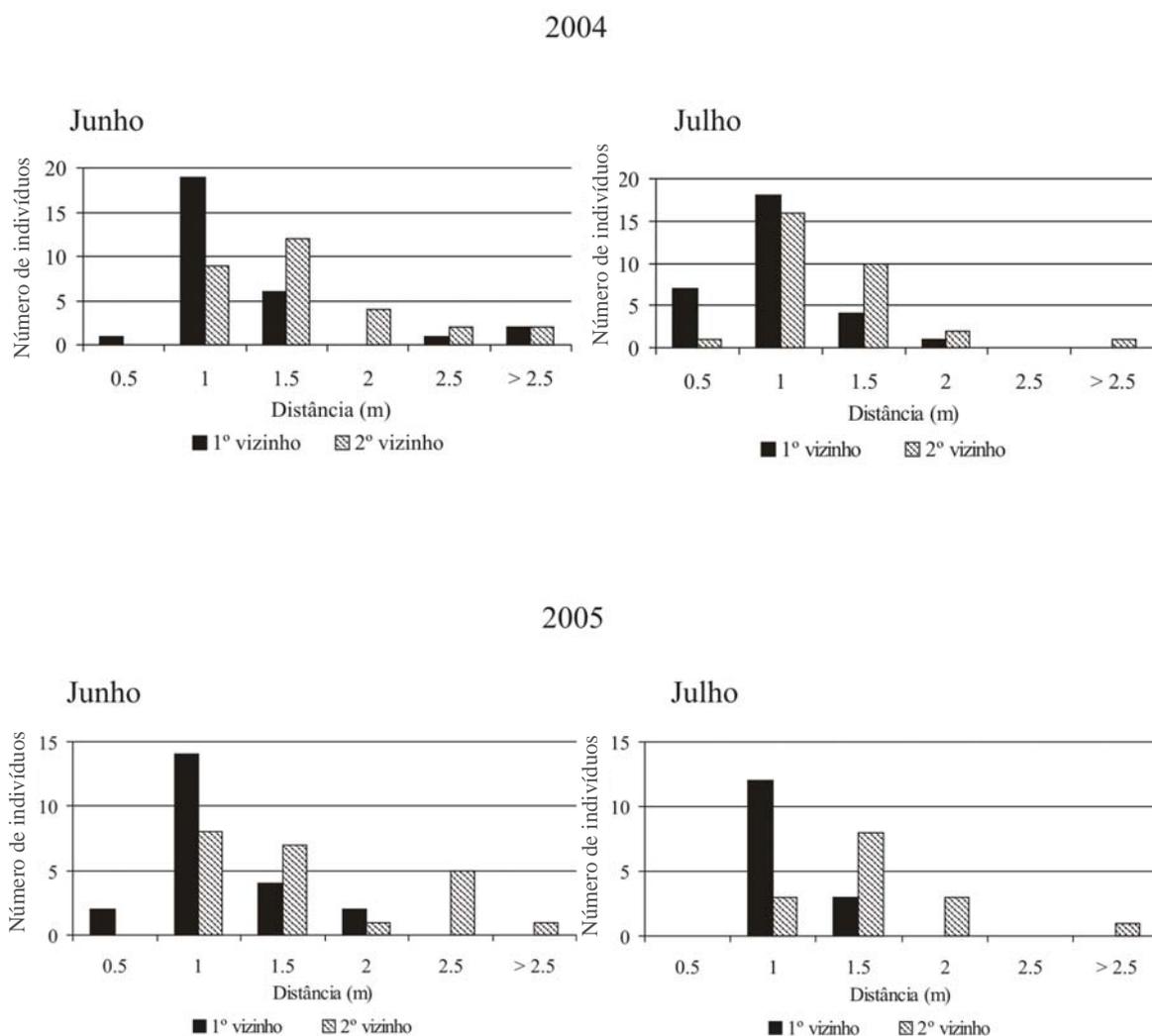


Figura 7: Distâncias entre o primeiro e o segundo vizinhos mais próximos e a planta focal visitada na trajetória de voo de operárias de *Bombus brevivillus*, em paisagem de alta densidade populacional (Área D), nos meses de junho e julho, em dois anos consecutivos, no Parque Municipal de Mucugê, Chapada Diamantina, Brasil.

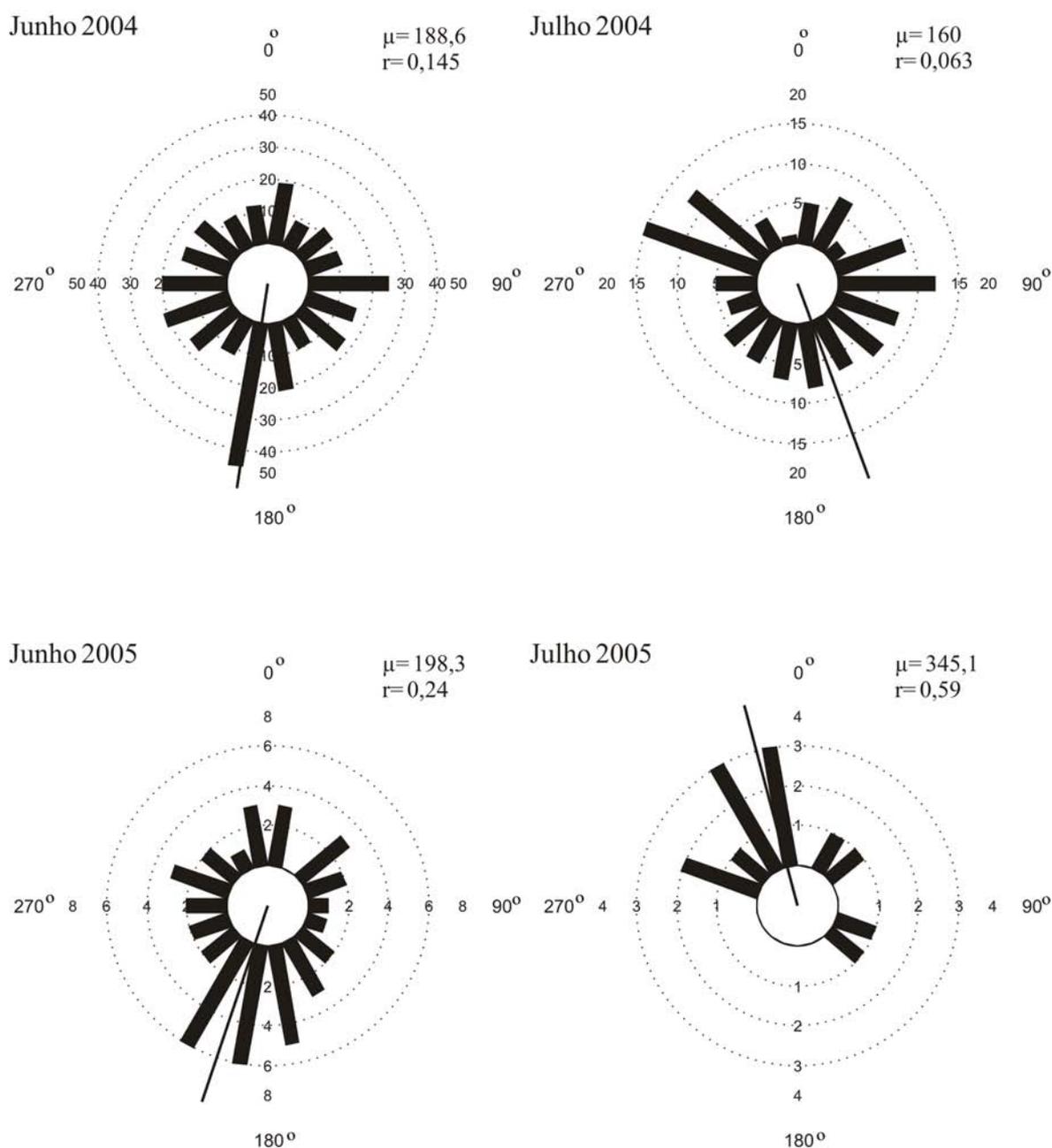
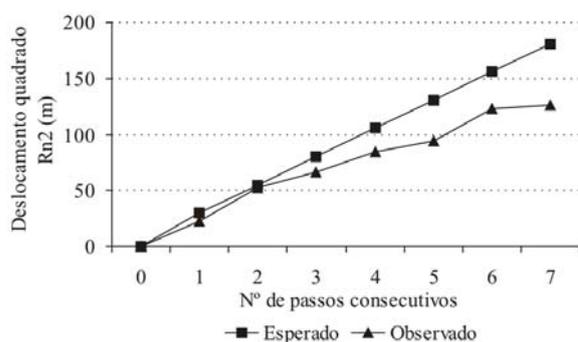
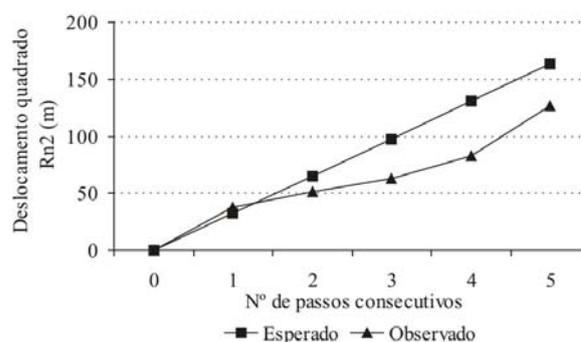


Figura 8: Orientação das operárias de *Bombus brevivillus* durante o forrageamento em flores de *Chamaecrista blanchetii*, em paisagem de alta densidade populacional (Área D), nos meses de junho e julho, em dois anos consecutivos, no Parque Municipal de Mucugê, Chapada Diamantina, Brasil. Histogramas circulares com barras paralelas indicando o número de observações dos ângulos da trajetória entre uma planta e outra (θ), em cada classe de intervalos de 20°. Linhas simples partindo do centro do histograma representam os vetores médios, com os ângulos médios (μ) e comprimentos (r) dos vetores indicados em cada histograma.

Junho 2004



Julho 2004



Junho 2005

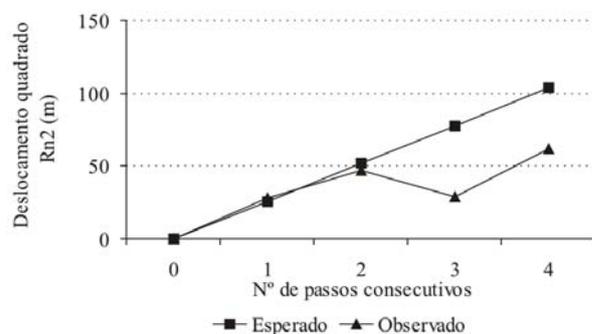


Figura 9: Deslocamento absoluto esperado e observado, segundo o modelo de passeio aleatório correlacionado (Kareiva & Shigesada 1983), em passos consecutivos a partir de uma planta focal visitada por operárias de *Bombus brevivillus*, em paisagem de alta densidade populacional (Área D), no Parque Municipal de Mucugê, Chapada Diamantina, Brasil.

CAPÍTULO 4

Estrutura genética espacial em microescala em população de
Chamaecrista blanchetii (Leguminosae, Caesalpinioideae) em
campo rupestre

Resumo

Neste trabalho foi investigado o efeito da distância entre vizinhos na estrutura genética espacial (EGE) em microescala, em uma população de *Chamaecrista blanchetii* naturalmente fragmentada em campo rupestre, conforme o modelo de isolamento por distância, sendo estimados também o fluxo gênico e tamanho da vizinhança genética em densidades populacionais distintas neste ambiente. Foram empregadas análises de variabilidade genética, autocorrelação espacial e estatística S_p , em 10 locos polimórficos de aloenzimas, em quatro subpopulações completamente mapeadas, no Parque Municipal de Mucugê, Chapada Diamantina, Brasil. Foi encontrada alta variabilidade genética intrapopulacional ($A = 4$, $P = 100$, $H_e = 0,42$), alta endogamia ($F_{IS} = 0,46$) e baixa divergência entre subpopulações ($F_{ST} = 0,0055$). A análise hierarquizada da variabilidade genética indica valores similares de variação e estrutura dentro das subpopulações, com forte endogamia e baixa divergência entre subparcelas, dentro das subpopulações. Houve autocorrelação espacial (AE) significativamente positiva na distribuição dos alelos mais freqüentes entre vizinhos próximos a menos de 10m em 9 locos, sendo a AE menos pronunciada na área de maior densidade. Segundo análises da estatística S_p , houve EGE significativa em três áreas, com valores de b_F iguais a $-0,016$ ($P = 0,001$), $-0,017$ ($P = 0,002$) e $-0,011$ ($P = 0,04$) nas áreas A, B e D respectivamente, com valores significativos do coeficiente de coancestralidade $F_{(1)}$ em distâncias de 3m. Na área A, de menor densidade, o tamanho da vizinhança genética estimada (N_b) foi de 34,86 indivíduos com dispersão gênica de $162,52m^2$ e $377,91m^2$, considerando $D_e = 0,023$ e como $D_e/2 = 0,0115$, respectivamente. Na área D, de maior densidade, N_b foi de 69,16 e dispersão gênica estimada em $18,58m^2$ e $38,19m^2$ em $D_e = 0,33$ e $D_e/2 = 0,165$ respectivamente. Em populações naturalmente fragmentadas, porém abundantes em longas extensões, como *C. blanchetii*, a agregação de indivíduos em manchas de variadas densidades pode gerar aumento do nível de endogamia, estruturação genética intrapopulacional, com formação de famílias genéticas em microescala. Porém, o isolamento de subpopulações por distância geográfica não é significativo neste nível espacial. É provável que a forte coesão intrapopulacional seja resultado do movimento gênico em *stepping stones*, através do fluxo gamético promovido pelos polinizadores entre ilhas de plantas com recurso abundante, distribuídas ao longo do mosaico ambiental de afloramentos rochosos.

Introdução

A estrutura genética espacial numa população natural, ou seja, um padrão de distribuição não aleatória dos genótipos e alelos numa escala espacial definida, pode ser resultado de diferentes processos, que incluem dispersão limitada dos organismos, estratégias reprodutivas, pressões seletivas e eventos históricos. Em escala local, o principal aspecto determinante da estruturação em populações de plantas parece ser a formação de linhagens locais estruturadas, resultantes da dispersão gênica limitada, mediada pela dispersão polínica e de sementes dentro de uma vizinhança genética restrita (Slatkin 1985, Epperson 2000).

Estudos sobre a estrutura da diversidade genética e processos genéticos em populações naturais de plantas comumente empregam análises de autocorrelação espacial na distribuição dos alelos entre indivíduos mapeados numa população (Epperson 1990b, 2000, Heywood 1991, Slatkin & Arter 1991, Epperson & Li 1996, Sokal *et al.* 1998). Recentemente, a descrição dos padrões espaciais da variabilidade genética pode ser complementada por uma abordagem metodológica que permite o acesso de informações quantitativas da estrutura genética espacial (EGE), sendo possível testar a ocorrência de padrões conforme esperado em processos de isolamento por distância em populações naturais (Hardy & Vekemans 1999, Rousset 2000, Fenster *et al.* 2003, Vekemans & Hardy 2004). Nesta abordagem, as relações genéticas e de coancestralidade são tratadas entre pares de indivíduos em um gradiente de distância espacial em populações contínuas, a partir da qual é possível fazer inferências indiretas do fluxo gênico histórico dentro da população (Vekemans & Hardy 2004, Hardy *et al.* 2006).

Essas estimativas se baseiam no princípio de que a estrutura genética detectada por marcadores neutros é essencialmente causada pela deriva genética local, e que o efeito disso é contrabalançado pela dispersão gênica. Neste caso, a dispersão limitada de sementes, comum à maioria das espécies de plantas, pode resultar em excesso de cruzamentos locais devido à proximidade de indivíduos e conseqüentemente ao isolamento por distância entre populações (Wright 1943, Wright 1965). Deste modo, é esperado que estes mesmos fatores sejam determinantes da subdivisão genética local, em escala microespacial, dentro das populações (Sokal & Wartenberg 1983, Slatkin 1985, Ouborg *et al.* 1999, Slatkin & Barton 1989, Epperson 1990a).

Os campos rupestres brasileiros apresentam vegetação típica de altitudes acima de 800m, com plantas de porte arbustivo e herbáceo, ocorrentes em ilhas de afloramentos

rochosos de quartzito, arenito, granito ou canga. Estes ambientes são centros de diversidade e endemismos para uma série de espécies vegetais, e compõem um rico cenário evolutivo para diversificação de linhagens devido a isolamento geográfico das populações, geralmente com distribuição disjunta, em escala regional (Giulietti & Pirani 1988, Borba *et al.* 2001). Estudos anteriores utilizando marcadores moleculares codominantes neutros detectaram moderada a elevada estruturação genética interpopulacional, levantando a hipótese de ocorrência freqüente de barreiras geográficas ao fluxo gênico e divergência genética entre populações conspecíficas em ambientes naturalmente fragmentados, como as cadeias de montanhas brasileiras (Borba *et al.* 2001, Jesus *et al.* 2001, Machado 2005, Azevedo *et al.* 2007, Pereira *et al.* 2007). Porém, até o momento não são conhecidos os níveis de variabilidade e estruturação genética em microescala que podem ser encontrados intrapopulacionalmente, e se o padrão de isolamento por distância em populações contínuas pode ser detectado em espécies ocorrentes nestes ambientes.

A caracterização da estrutura genética espacial em populações heterogêneas, onde padrões estruturais em densidades diferentes podem ser confrontados, fornece idéias sobre processos dinâmicos de fluxo gênico e permite considerar prováveis fatores determinantes da estruturação em microescala de populações naturais de plantas, especialmente quando aspectos biológicos e ecológicos do sistema são previamente conhecidos. *Chamaecrista blanchetii* (Benth.) Conc., L.P. Queiroz & G.P. Lewis é uma espécie de Leguminosae perene, com porte arbustivo a arbóreo, amplamente distribuída na Cadeia do Espinhaço, onde são conhecidas populações grandes e amplamente distribuídas. No Parque Municipal de Mucugê, a população desta espécie apresenta distribuição heterogênea, variando de fortemente agrupada em manchas densas de indivíduos a esparsamente distribuída, com indivíduos isolados. A produção floral é variável entre grupos de plantas dentro de subpopulações e entre temporadas, gerando uma dinâmica complexa de sincronia inter-individual ao longo do período reprodutivo (Capítulo 1). São plantas visitadas por abelhas sociais com comportamento de coleta de pólen por vibração das anteras, que atuam como vetores para dispersão polínica (Capítulo 2). Os polinizadores contribuem para uma dispersão gamética restrita, porém com comportamento variável quando exploram áreas de concentração distinta de recursos, em especial em paisagem de alta densidade floral, onde o tamanho estimado da vizinhança genética pode ser aumentado no pico da florada com o maior deslocamento do polinizador (Capítulo 3). Embora esta seja uma espécie autocompatível e polinizações geitonogâmicas sejam freqüentes, a redução na viabilidade de sementes oriundas de autogamia restringe a proporção desses indivíduos repostos a cada

geração (Capítulo 2). Em contrapartida, a dispersão de sementes limitada a poucos metros da planta mãe promove um cenário de agrupamento de indivíduos possivelmente aparentados, os quais aparentemente não apresentam redução na formação de sementes viáveis quando cruzados entre si (Capítulos 2, 3).

Neste contexto, este trabalho teve como objetivo investigar o processo microevolutivo em uma população naturalmente fragmentada de *Chamaecrista blanchetii* nos campos rupestres: (i) estudando a variabilidade e o nível de estrutura genética local; (ii) investigando o efeito da distância entre vizinhos na EGE em microescala conforme o modelo de isolamento por distância; e (iii) fazendo estimativas indiretas do fluxo gênico e tamanho da vizinhança genética em densidades populacionais distintas neste ambiente. O padrão de EGE é discutido considerando possíveis relações com a dinâmica de produção floral e vizinhança ecológica observada nestas mesmas plantas e estimativas de fluxo gênico atual através dispersão polínica na população.

Material e Métodos

Área e objeto de estudo

O trabalho foi realizado em uma população de *Chamaecrista blanchetii* localizada no Parque Municipal de Mucugê (entre as coordenadas 10° 43' e 14° 20'S e 40°40' e 43°00'W), porção central da serra do Sincorá, maciço da Chapada Diamantina, no estado da Bahia, Brasil. Neste ambiente, foram delimitadas subpopulações de *C. blanchetii* ocupando áreas com diferentes tipos de solo, dentro de um mosaico edáfico recortado por rochas e platôs em solos pedregosos ou arenosos, formando manchas de indivíduos adultos distribuídos em agrupamentos de densidades variáveis.

Amostragem

Foram amostrados 728 indivíduos adultos de *Chamaecrista blanchetii* distribuídos dentro de quatro subpopulações que correspondem às áreas descritas no Capítulo 1. As áreas A, B e C compõem as subpopulações de baixa densidade e formam uma subpopulação maior, porém, naturalmente fragmentada. A área A está localizada de forma adjacente às áreas B e C, distante cerca 100m e separada destas duas pelo rio Piabinha. As áreas B e C são subpopulações justapostas separadas entre si por platôs de rochas nuas e áreas cobertas por vegetação herbácea a arbustiva. Estas subpopulações estão localizadas em formação típica dos ambientes rochosos da região, onde são reconhecidos os habitats

de vala, afloramento e entremeio, conforme Conceição & Pirani (2005). A área D constitui uma subpopulação de alta densidade e disjunta das outras três em cerca 950m, localizada em terreno arenoso, plano, com vegetação arbustiva a arbórea desenvolvida e recortada por pequenos afloramentos rochosos.

Dentro da cada área os indivíduos foram numerados e mapeados por triangulação a partir de pares de pontos fixos com coordenadas geográficas obtidas com GPS geodésico Pró-XR Trimble. Os mapas de distribuição foram confeccionados com o programa ArcView® GIS 3.3 (ESRI 2002), com coordenadas em UTM. Para a descrição da variabilidade e estrutura genética em cada subpopulação, foram utilizadas: 155 plantas na área A, com densidade $D = 0,023$ plantas/m²; 117 na área B, com $D = 0,019$ plantas/m²; 93 na área C com $D = 0,015$ plantas/m²; e 363 na área D com $D = 0,33$ plantas/m².

Procedimentos eletroforéticos

Pequenos pedaços de tecido foliar extraídos dos folíolos terminais de ramos jovens de cada indivíduo foram macerados em 0,4 mL de tampão para extração constituído de: 100 mL Tris/HCl 0,1 mol L⁻¹, pH 7,0; 6,846 g sacarose; 0,6 g PVP (polivinilpirrolidona); 0,6 g PVPP (polivinilpolipirrolidona); 0,0292 g EDTA (ácido etilenodiaminotetraacético); 0,145 g BSA (albumina bovina); 0,13 g DIECA (dietilcarbamato de sódio); 0,6 g bórax; e 100 mL β-mercaptoetanol, adaptado de Lambert *et al.* (2006). Os extratos foram absorvidos em tiras de papel Whatman #3 com tamanhos de 1,0 x 0,3 cm, os quais foram aplicados em gel de amido a 8,5% (amido de batata hidrolisado Sigma). Para os eletrodos e géis foram utilizados três sistemas tampões: (1) Eletrodo: hidróxido de lítio 0,05 mol L⁻¹, ácido bórico 0,0935 mol L⁻¹ e EDTA 0,0059 mol L⁻¹ em pH 8,0; gel: solução do eletrodo diluída em 1:10, adaptado de Ridgway *et al.* (1970); (2) Eletrodo: ácido bórico 0,3 mol/L e NaOH 0,06 mol/L em pH 8,0; gel: Tris/ HCl 0,01 mol/L em pH 8,5, adaptado de Shaw & Prasad (1970); (3) Eletrodo: histidina 0,065 mol L⁻¹ com pH 6,5 ajustado com ácido cítrico; géis: tampão do eletrodo diluído em 1:3 e em 1:7. Eletroforese horizontal padrão foi conduzida até que o marcador azul de bromofenol percorresse 10 cm a partir do sítio de aplicação no gel, utilizando as seguintes condições de corrida: sistemas 1 e 2 calibrados em 25 mA, sistema 3 em gel de histidina 1:3 calibrado em 150V e sistema 3 em gel de histidina 1:7 calibrado em 200V.

Foram testados 25 sistemas enzimáticos, dos quais 8 apresentaram resolução suficiente para leitura. O sistema tampão 1 foi utilizado para as enzimas shiquimato desidrogenase (SKDH; EC 1.1.1.25) e glicose-6-fosfato desidrogenase (G6PDH; EC

1.1.1.49). O sistema tampão 2 foi utilizado para as enzimas fosfoglicose isomerase (PGI; EC 5.3.1.9) e fosfatase ácida (ACP; EC 3.1.3.2). O sistema tampão 3, em diluição 1:3, foi utilizado para a enzima fosfoglicomutase (PGM; EC 2.7.5.1) e, em diluição 1:7, foi utilizado para as enzimas isocitrato desidrogenase (IDH; EC 1.1.1.42), esterase (EST; EC 3.1.1.1) e leucina aminopeptidase (LAP; AC 3.4.11.1). Os procedimentos de coloração foram similares aos indicados por Brune *et al.* (1998; ACP, EST, LAP, SKDH, G6PDH), Corrias *et al.* (1991; IDH, PGI) e Soltis *et al.* (1983; PGM) com pequenas modificações em relação à quantidade dos componentes utilizados. Sistemas enzimáticos que apresentaram mais de um loco foram numerados em ordem ascendente a partir do loco com menor mobilidade. Os alelos foram numerados de acordo com suas mobilidades relativas ao alelo de maior mobilidade de um indivíduo utilizado como padrão e presente em todos os géis.

Variabilidade genética e distribuição espacial de alelos

As freqüências alélicas foram determinadas por contagem visual dos padrões de bandas de homozigotos e heterozigotos corados no gel. Todos os géis foram fotografados e suas imagens analisadas e comparadas a fim de se detectar a ocorrência de alelos raros. Os zimogramas para a interpretação do alinhamento dos alelos foram confeccionados, e posteriormente transformados em matrizes alélicas, com o auxílio do programa TRANSFORMER 2 para Excel[®] (Caujapé-Castells & Baccarani-Rosas 2004). A variabilidade genética de cada subpopulação foi descrita a partir da proporção de locos polimórficos (critério de $P < 0,95$), número médio de alelos por loco (A), heterozigosidade média observada (H_o) e esperada (H_e), segundo Nei (1978, modelo não enviesado) por loco. Desvios em relação à heterozigosidade média esperada segundo o previsto no modelo de equilíbrio de Hardy-Weinberg foram testados a partir de 1000 simulações de Monte Carlo considerando os genótipos separadamente.

Para a descrição da partição hierárquica da diversidade genética local as subpopulações foram divididas em parcelas e em subparcelas circulares, não sobrepostas, com 14 m de diâmetro nas áreas A, B, C e D e com 6 m de diâmetro na área D (Figura 1). As subparcelas foram posicionadas manualmente no mapa de genótipos de forma a abranger pelo menos sete indivíduos por subparcela, a maior independência possível das subamostras. A estrutura genética entre as subpopulações ($\hat{\theta}$), entre parcelas dentro das subpopulações ($\hat{\theta}_{pa}$), e entre subparcelas ($\hat{\theta}_{spa}$) dentro das parcelas foi avaliada a partir da estatística F hierarquizada segundo Weir & Cockerham (1984), para cada loco, calculando

o intervalo de confiança de 95% em reamostragem aleatória por *bootstrapping*, utilizando o programa TFPGA 1.3 (Miller 1997).

A autocorrelação espacial (AE) dos alelos mais freqüentes de cada loco em cada uma das quatro subpopulações foi avaliada em correlogramas utilizando o índice de Moran (1950). Para cada alelo, os indivíduos foram caracterizados geneticamente de acordo com as freqüências: 0 = nenhuma cópia do alelo presente no genótipo, 0,5 = uma cópia do alelo no genótipo e 1 = duas cópias do alelo no genótipo, segundo Epperson & Li (1996). Os pares observados foram divididos em 20 classes de distância com 3m de extensão incluindo no mínimo 30 pares de pontos em todas as classes de distância (Legendre & Legendre 1998). Os correlogramas e testes exatos de Monte Carlo para cada classe de distância foram feitos a partir do suplemento ROOKCASE para Excel[®] (Sawada 1999). As significâncias dos valores de autocorrelação espacial para cada intervalo de distância foram testadas aplicando-se correção progressiva de Bonferroni (Legendre & Legendre 1998, Fortin & Dale 2005).

Estrutura genética espacial e estimativa indireta da dispersão gênica

A estrutura genética espacial (EGE) foi descrita a partir de análises da estatística S_p (Vekemans & Hardy 2004), a qual permite a comparação da magnitude da EGE entre diferentes subpopulações (Vekemans & Hardy 2004). Em um processo de isolamento por distância, a estatística S_p reflete a taxa de diminuição do coeficiente de coancestralidade multiloco (*kinship coefficient*) com o aumento da distância espacial entre as amostras. Um coeficiente de coancestralidade está baseado na probabilidade de identidade por ascendência de alelos de dois genes homólogos amostrados em uma população referência. A intensidade da EGE foi calculada por $S_p = \hat{b}_F / (\hat{F}_{(1)} - 1)$, onde $\hat{F}_{(1)}$ é a média do coeficiente de coancestralidade $\hat{F}_{(ij)}$ (Loiselle *et al.* 1995) entre os indivíduos na primeira classe de distância e \hat{b}_F é a inclinação da curva de regressão do coeficiente $\hat{F}_{(r)}$ contra o logaritmo da distância. Quando $\hat{b}_F = 0$, se aceita a hipótese nula de estrutura genética espacial aleatória. Foram utilizadas 20 classes de distância com intervalos a cada 3 m. As análises e os testes de significância foram feitos a partir de 1000 permutações da localização espacial entre os indivíduos, para verificar se o coeficiente médio a cada distância difere do esperado em uma distribuição aleatória dos genótipos, utilizando o programa SPAGeDi (Hardy & Vekemans 2002). Para a visualização da EGE, os valores

médios de $\hat{F}_{(ij)}$ foram plotados contra as respectivas classes de distância em correlogramas, com de intervalo de confiança de 95%.

Quando a EGE é representativa do padrão de isolamento por distância em equilíbrio de dispersão e deriva, os parâmetros de dispersão gênica podem ser estimados a partir da estatística Sp , assumindo que a EGE resulta da dispersão isotrópica limitada de genes e atingiu uma fase estacionária (Vekemans & Hardy 2004). Neste caso, é esperado que o parâmetro de dispersão em espaço bidimensional seja $N_b = 4\pi D\sigma^2$, onde D é a densidade efetiva da população e σ^2 a extensão espacial da dispersão gênica (metade da média quadrada da distância física entre parentais e progênie).

N_b foi calculado então por: $N_b = -(1 - \hat{F}_{(1)}) / \hat{b}_{\log}$, onde \hat{b}_{\log} é a inclinação da curva de regressão no logaritmo da distância espacial e $\hat{F}_{(1)}$ o coeficiente de coancestralidade entre indivíduos adjacentes, de acordo com a recomendação de Fenster *et al.* (2003) para sistemas onde ocorre autofertilização, respeitando a condição de que a regressão seja restrita a uma amplitude de distância apropriada de $\hat{\sigma} - 20\hat{\sigma}$, estimando $\hat{\sigma}$ através de procedimento iterativo com o programa SPAGeDi (Hardy & Vekemans 2002, Vekemans & Hardy 2004). Foram calculados os valores de dispersão gênica a partir da EGE estimada em Sp , considerando apenas os locos representativos do padrão de isolamento por distância, para efeito de comparação com o fluxo gênico e tamanho de vizinhança genética estimada, utilizando informações de dispersão de sementes e do comportamento de polinizadores mediando o espalhamento de pólen (Capítulo 3). Uma vez que a sincronia média inter-individual na produção de flores na população é de cerca de 60% (Capítulo 1), consideramos que a densidade efetiva na população é menor do que a densidade absoluta de plantas, sendo as estimativas de fluxo gênico feitas, portanto, para as densidades D e $D/2$.

Resultados

Variabilidade genética e distribuição espacial de alelos

Nos oitos sistemas aloenzimáticos utilizados, foram detectados 10 locos polimórficos, tendo sido observado o total de 40 alelos na população (Tabela 1). *Est-4* e *Idh-2* foram os locos mais polimórficos, com cinco alelos cada, e *Acp-2* e *Pgi-1* os menos polimórficos, com três alelos cada um. A frequência dos alelos em cada loco se mostrou similar entre as subpopulações, e não foi encontrada inversão de frequência ou ocorrência

de alelos exclusivos em nenhuma das áreas. Apenas na área B não foram encontrados 100% dos locos polimórficos considerando o critério $P = 0,95$, uma vez que o alelo mais comum do sistema *Skdh* apresentou frequência de 95,3% (Tabela 2). A heterozigosidade média esperada variou entre 0,39 e 0,47, enquanto a observada entre 0,22 e 0,24, com índice de fixação ou coeficiente de endogamia variando entre 0,43 e 0,52. Não foram encontradas diferenças nos valores destes parâmetros entre as diferentes densidades. Com exceção de *Est-4*, todos os locos apresentaram desvio significativo em relação ao previsto em equilíbrio de Hardy-Weinberg.

A população apresentou valores de coeficiente de endogamia f entre 0,18 e 0,65 para os locos individuais e de 0,45 considerando o valor multiloco. O valor de θ para os locos reunidos foi de 0,0055, variando de 0,0004 a 0,0144 nos locos individualmente (Tabela 3). Em análise hierarquizada da estrutura genética dentro de cada subpopulação, foi encontrado alto nível de endogamia em microescala em baixa densidade populacional, com elevados valores de \hat{f} dentro das subparcelas, com exceção de *Est-4* e *Skdh*, que apresentaram valores negativos de \hat{f} na área B, não sendo detectadas diferenças significativas dos valores de endogamia entre as subpopulações (Tabela 4). Foi detectada baixa divergência entre as subparcelas e entre parcelas nas áreas de baixa densidade populacional, como indicado pelos baixos valores de $\hat{\theta}$ para todos os locos nas áreas A, B e C, com exceção do loco *Idh-2*, com valor de $\hat{\theta}$ igual a 0,1411, ligeiramente maior do que os demais valores encontrados. Na área de maior densidade populacional, foi detectada também uma forte endogamia nas subparcelas de 14 m de diâmetro e, em uma escala ainda menor, nas subparcelas de 6 m de diâmetro, com valores de \hat{f} entre 0,35 e 0,71, exceto para *Est-4*, com 0,07 de coeficiente de endogamia na área D (Tabela 5).

Valores significativos de autocorrelação espacial na distribuição dos alelos nas subpopulações indicaram uma distribuição não aleatória de genótipos para nove dos 10 locos estudados (Figura 2). A autocorrelação espacial foi mais pronunciada nas áreas de menor densidade populacional, onde os alelos mais frequentes de cada um dos nove locos apresentaram autocorrelação espacial em pelo menos uma das áreas (áreas A, B e C) nas primeiras classes de distância. Em menor densidade, *Lap*, *Est-4* e *Acp-2* apresentaram distribuição não aleatória de alelos na primeira classe de distância nas três áreas estudadas. Na área de maior densidade populacional (área D), foram detectados valores significativos de autocorrelação espacial positiva apenas nos locos *Idh-2*, na segunda classe de distância (6m), e *Skdh* e *G6pdh*, apenas na primeira classe (3m).

Estrutura genética espacial (EGE) e estimativa indireta da dispersão gênica

Foram detectados valores do coeficiente de coancestralidade $\hat{F}_{(r)}$ multiloco significativamente superiores ao esperado em um padrão aleatório de EGE nas quatro áreas, nas duas primeiras classes de distância (Figura 3). Todos os locos apresentaram EGE em pelo menos uma área, com valores significativos do coeficiente de coancestralidade entre vizinhos $\hat{F}_{(1)}$ em cinco locos na área A, três na B, dois na C e sete na D (Tabela 6). Os valores $\hat{F}_{(1)}$ significativos foram encontrados nos locos *Pgm-1* e *G6pd*, nas áreas A e D. Os valores do coeficiente de endogamia F_{IS} de Wright variaram entre 0,433 e 0,526 nas subpopulações (Tabela 7). A hipótese nula de distribuição aleatória da estrutura genética ($\hat{b}_F = 0$) foi rejeitada nas subpopulações A, B e D, com valores da inclinação da curva de regressão (\hat{b}_F) do coeficiente $\hat{F}_{(r)}$ contra o $\ln(\text{distância})$ de aproximadamente -0,016 ($P = 0,001$), -0,017 ($P = 0,002$) e -0,011 ($P = 0,04$), respectivamente, e aceita na subpopulação C com $\hat{b}_F = -0,005$ ($P = 0,18$). Os valores da EGE resumidos na estatística S_p variaram entre 0,005 e 0,019, com valores similares nas áreas de densidades distintas.

As estimativas de tamanho de vizinhança genética foram possíveis apenas para as áreas A e D. Na área A, de menor densidade, o tamanho da vizinhança genética estimada (N_b) foi de 34,86 indivíduos com dispersão gênica de 162,52m² e 377,91m² considerando a densidade efetiva da população (D_e) como a densidade absoluta dos indivíduos $D = 0,023$ e como $D/2 = 0,0115$, respectivamente. Na área D, de maior densidade, N_b foi de 69,16 e dispersão gênica estimada em 18,58m² e 38,19m² em $D = 0,33$ e $D/2 = 0,165$ respectivamente.

Discussão

Variabilidade genética

Para os campos rupestres brasileiros, a hipótese de ocorrência de barreiras geográficas ao fluxo gênico e divergência genética entre populações conspecíficas em escala regional é pautada em padrões de alta estrutura genética interpopulacional descritos para diferentes grupos vegetais (Borba *et al.* 2001, Jesus *et al.* 2001, Machado 2005, Azevedo *et al.* 2007, Pereira *et al.* 2007, Ribeiro *et al.* no prelo). Para alguns destes grupos, o isolamento de populações pequenas e impactadas, reforçado pelo provável fluxo gênico

restrito realizado pelos polinizadores, pode estar relacionado a baixa variabilidade intrapopulacional e alta divergência genética entre populações próximas a poucos quilômetros ou a alguns metros (Jesus *et al.* 2001).

Considerando a escala geográfica abordada neste trabalho, a população de *Chamaecrista blanchetii* apresentou alta variabilidade genética, indicada pelos valores de número de alelos por loco e heterozigosidade em aloenzimas superiores aos valores médios usualmente encontrados em populações naturais de plantas (Loveless & Hamrick 1984, Hamrick 1989, Hamrick & Godt 1990). A diversidade genética esperada, com H_e em torno de 0,4, é superior aos valores médios encontrados em nível populacional para espécies de plantas perenes e arbóreas, que compartilham características ecológicas como sistema misto de reprodução ($H_e = 0,17$), fluxo polínico mediado por abelhas grandes ($H_e = 0,3$) e dispersão de sementes por explosão ($H_e = 0,19$). É importante ressaltar que estes são valores médios esperados para populações de diferentes espécies, amostradas com diferentes métodos (Loveless & Hamrick 1984).

Outros 10 táxons, entre espécies e variedades de *Chamaecrista* da subseção *Baseophyllum*, recentemente estudados (Conceição 2006), apresentaram valores de porcentagem de locos polimórficos (P entre 0 e 33,3), número médio de alelos por locos (A entre 1,1 e 1,4) e heterozigosidade média esperada (H_e entre 0,010 e 0,066) bastante reduzidos em relação aos reportados neste estudo, mas semelhantes a algumas outras espécies de Leguminosae (González-Candelas & Montolío 2000, Bessega *et al.* 2005). Algumas espécies estudadas nesta família, porém, também apresentaram alta variação genética intrapopulacional (H_e em torno de 0,25), que pode ser atribuída a estratégias reprodutivas que favoreçam a alogamia, mantendo elevados níveis de variação genética (Lee *et al.* 2002, Bessega *et al.* 2005, Giudice-Neto *et al.* 2005). De modo geral, muitos autores argumentam que não há regras sobre o nível de variabilidade genética em plantas, e que a combinação de diferentes características biológicas e ecológicas pode gerar padrões semelhantes de variação genética ou vice-versa (Loveless & Hamrick 1984, Hamrick 1989, Hamrick & Godt 1990, Hamrick *et al.* 1991).

Conceição (2006) estudou a variabilidade aloenzimática e a estrutura genética intra e interpopulacional em *Chamaecrista blanchetii* em sete populações, abrangendo a amplitude de distribuição geográfica deste táxon, onde foram encontrados valores muito mais baixos ($P = 13,3$, $A = 1,2$, $H_e = 0,031$) em relação aos mesmos parâmetros avaliados neste estudo. A princípio, esta forte divergência pode ser resultado das diferenças no desenho amostral e escala geográfica, uma vez que trabalhos focados na distribuição da

variabilidade genética em abordagem regional, geralmente, requerem amostragem de um reduzido número de indivíduos (em torno de 20), existindo o risco de que nem todos os alelos presentes na população sejam amostrados. Em uma escala microespacial, como neste estudo, a amostragem de centenas de indivíduos em uma população contínua aumenta a chance dos alelos menos freqüentes serem detectados.

Endogamia

O alto nível de endogamia local, indicado por valores médios de \hat{f} acima de 0,4, pode indicar alto déficit de genótipos heterozigotos dentro das subpopulações estudadas, conforme registrado para plantas caracteristicamente autógamias (Loveless & Hamrick 1984). A baixa estrutura entre as subpopulações indicada pelos baixos valores de $\hat{\theta}$, tanto nos locos individualmente quanto nos locos reunidos, sugere baixa divergência entre as subpopulações e que a maior parte da variabilidade genética, neste sistema, está representada em microescala (Weir & Cockerham 1984). Este padrão fortemente endogâmico, porém de alta similaridade entre grupos de indivíduos dispostos na população, se confirma com os resultados encontrados na análise hierarquizada nas quatro subpopulações, com valores de \hat{f} bastante elevados dentro das subparcelas e baixa divergência entre parcela e subparcelas.

Valores similares encontrados nas diferentes subpopulações e parcelas, nesta abordagem, sugerem não haver diferenças na distribuição da variabilidade genética em densidades populacionais distintas de *C. blanchetii*. Deve ser ressaltado ainda, que os altos valores de endogamia em uma escala espacial ainda mais restritas, como nas subparcelas de 6 m na área D, sugerem uma estrutura em famílias genéticas pequenas e locais. Neste sentido, os altos índices de fixação (F_{IS}) indicam ocorrência de cruzamentos autogâmicos freqüentes, os quais são suportados pelas observações da interação polinizador-flor, onde a presença de uma pétala modificada funcionando como anteparo para o pólen durante a vibração das anteras por operárias de *Bombus brevivillus* garante o contato imediato dos estigmas com o pólen no dorso do polinizador (Capítulo 2). *Chamaecrista blanchetii* é uma espécie autocompatível e, muito embora polinizações geitonogâmicas sejam freqüentes, o aborto de sementes em autopolinizações restringe em cerca de 90% a proporção de indivíduos gerados por autogamia repostos na população a cada geração, possivelmente diminuindo os efeitos de perda de variabilidade genética pela endogamia uniparental (Capítulo 2). Por outro lado, a dispersão de sementes limitada a poucos metros da planta

mãe promove um cenário de agrupamento de indivíduos aparentados, os quais aparentemente não apresentam redução no número de sementes bem formadas quando cruzados entre si, sugerindo que, em condições naturais, pode haver cruzamento preferencial entre aparentados em escala local na população (Capítulo 2).

Distribuição alélica

Embora estudos utilizando método de autocorrelação espacial na distribuição de alelos nas populações não possam ser comparados formalmente (Hardy & Vekemans 1999, Vekemans & Hardy 2004), de modo geral, populações naturais de plantas lenhosas apresentam distribuição não aleatória de seus alelos entre vizinhos próximos, como indicado em diversos estudos (Epperson & Alvarez-Buylla 1997, Franceschinelli & Kesseli 1999, Epperson *et al.* 1999, Epperson 1990a, 1990b, 2000). Em *C. blanchetii*, este padrão se manteve mais evidente nas três áreas de menor densidade, com agregação significativa dos alelos mais freqüentes nas primeiras classes de distância, para nove dos 10 locos estudados. Em uma densidade populacional maior, apenas três locos mantiveram este padrão, sugerindo que a estrutura local nesta condição pode ser sutil e uma coesão mais pronunciada entre as famílias genéticas pode ser considerada.

Embora não se possam fazer correlações diretas, os polinizadores de *Chamaecrista blanchetii* tendem a manter visitas mais prolongadas, visitam um número médio maior de flores por planta e forrageiam entre vizinhos próximos quando as plantas compõem um cenário menos denso de recursos. Ao contrário, em uma paisagem densa de recursos florais, as abelhas forrageiam por toda a área, realizando visitas seqüenciais entre plantas fora de uma vizinhança local, promovendo o cruzamento entre plantas não vizinhas e, possivelmente, a distribuição alélica menos restrita entre poucos indivíduos através do fluxo polínico (Capítulo 3). Em *Helicteres brevispira*, um arbusto típico de áreas de cerrado, por exemplo, em áreas de maior densidade de recurso, o comportamento dos polinizadores, beija-flores territorialistas, pode também contribuir para o aumento das taxas de fecundação cruzada, porém, neste caso, não há diminuição da estruturação genética em microescala (Franceschinelli & Kesseli 1999, Franceschinelli & Bawa 2000).

Estrutura genética espacial em microescala

Embora os valores resumidos da estatística S_p e valores de $\hat{F}_{(1)}$ em *Chamaecrista blanchetii* sejam semelhantes aos da maioria das espécies arbustivas ou arbóreas revisadas

nesta abordagem por Vekemans & Hardy (2004), os valores de F_{IS} são maiores do que os encontrados em todas as outras espécies lenhosas, com poucas exceções. Este resultado sugere que a EGE significativa dentro das subpopulações pode ser resultado de uma endogamia uniparental pronunciada, dados os altos valores de F_{IS} , complementada pela ocorrência de endogamia biparental, como sugerem os valores significativos de coancestralidade entre vizinhos próximos $\hat{F}_{(1)}$. Padrão semelhante foi reportado para *C. fasciculata*, onde a EGE significativa pode ser resultante de dois componentes principais, a endogamia uniparental combinada a endogamia biparental, a qual não necessariamente reflete o cruzamento entre aparentados imediatos, mas sim, entre plantas que compartilham um ancestral recente comum (Fenster 1991a, 1991b, Fenster *et al.* 2003).

Embora na área C tenha sido encontrado o maior valor F_{IS} , não houve estrutura genética espacial significativa a partir da estatística Sp . Esta condição aparentemente contrastante pode ser devido ao fato que as áreas B e C foram subdivididas arbitrariamente, mas que na realidade formam uma subpopulação contínua. Neste caso, a informação da estrutura entre as manchas pode não ter sido detectada por artefato da escala espacial, sendo necessária a recondução das análises com as subpopulações reunidas, e/ou utilizando intervalos de distâncias distintas. Nas demais subpopulações de *Chamaecrista blanchetii*, a utilização desta abordagem permite considerar que a diminuição significativa nas relações de coancestralidade com o aumento da distância espacial entre vizinhos dentro das manchas locais reflete um padrão de EGE pronunciado nesta escala. Deve ser ressaltado que os métodos empregados na estatística Sp fornecem boa resolução para este nível de abordagem, identificando a ocorrência de famílias genéticas significativas estruturadas em poucos metros (Fenster *et al.* 2003, Vekemans & Hardy 2004). Porém, é desejável que a interpretação destes resultados seja feita em conjunto com as análises de estrutura genética hierarquizada da estatística F numa escala geográfica mais ampla (Weir & Cockerham 1984), avaliando a divergência entre subpopulações, que neste caso, foi extremamente reduzida.

Estudos microevolutivos em populações contínuas sugerem que a EGE atual verificada em micro escala pode refletir principalmente o padrão dinâmico de ocupação e estabelecimento de uma população ao longo do tempo, padrões reprodutivos e aspectos biológicos (Kudoh & Whigham 1997, Vekemans & Hardy 2004, Alberto *et al.* 2005, Hardy *et al.* 2006, Troupin *et al.* 2006, Xu *et al.* 2006). Em *Pinus halepensis*, por exemplo, foi investigado o desenvolvimento temporal da EGE a partir de poucas plantas

colonizadoras até o estabelecimento de uma população estruturada. Os autores argumentam que as pressões seletivas resultantes da marcada heterogeneidade microambiental pode, neste caso, ser responsável pelo desenvolvimento da EGE devido ao aumento na densidade populacional no decorrer das décadas, combinado com o aumento progressivo no nível de endogamia na população (Troupin *et al.* 2006).

Consideramos mais plausível que em populações naturalmente fragmentadas nos campos rupestres, porém abundantes em longas extensões, como *Chamecrista blanchetii*, a agregação de indivíduos em manchas de variadas densidades pode também gerar aumento do nível de endogamia e estruturação genética dentro de manchas, com formação de famílias genéticas em microescala. Porém, como também sugerem os resultados da distribuição hierárquica da variabilidade, o isolamento entre subpopulações por distância geográfica pode não ser significativo neste nível espacial.

Dispersão gênica e coesão genética intrapopulacional

Considerando a ocorrência de pólen *carryover*, os polinizadores podem contribuir de modo variável nos diferentes períodos e entre temporadas com estimativas de: tamanho efetivo da população entre 0,72 e 5,16 indivíduos, e área de vizinhança de 50,78 a 310,01m², em menor densidade de plantas; e tamanho efetivo da população entre 2,56 e 12,05 plantas, e áreas reduzidas de vizinhança genética entre 12,5 e 61,96 m² em densidade maior (Capítulo 3). Análises baseadas no movimento dos polinizadores refletem o padrão de dispersão polínica local e atual (Schmitt 1983, Sork 1999), no caso de *C. blanchetii*, a contribuição do polinizador para o espalhamento do pólen em uma mesma planta e dentro de uma área delimitada entre vizinhos marcados. Estas estimativas sustentam a hipótese de forte endogamia e cruzamentos preferenciais entre vizinhos, condizentes com a estruturação em famílias pequenas e concordantes com os resultados encontrados de EGE. Porém, com esta metodologia não é possível estimar o fluxo gênico quando os polinizadores abandonam a área de forrageio e se deslocam a longas distâncias até outras manchas de agregação de recursos.

Os valores estimados a partir da EGE refletem a dispersão alélica global dentro de uma subpopulação, que inclui alelos dispersos atualmente e em períodos reprodutivos anteriores. É importante ressaltar, ainda, que a população adulta reprodutiva inclui tanto indivíduos jovens como muito antigos, sendo as estimativas baseadas em uma população composta de indivíduos possivelmente pertencentes a diferentes gerações (Fenster *et al.* 2003, Hardy *et al.* 2006, Vekemans & Hardy 2004). A estimativa de um fluxo gênico mais

amplo nesta abordagem sugere que a dispersão polínica efetiva pode ser mais extensa do que informa o movimento local das abelhas.

Podemos, então, levantar a hipótese de que a forte coesão genética dentro e entre subpopulações em *C. blanchetii* pode ser resultado do pólen *carryover* realizado quando o polinizador forrageia entre manchas numa área mais ampla de busca por recursos abundantes, com amplitudes de vôos variáveis durante uma mesma temporada, em sucessivos períodos de reprodução e/ou ao longo das gerações. Os aspectos biológicos avaliados neste sistema corroboram esta sugestão apontando que a vizinhança ecológica estruturada e a complexa dinâmica de produção floral podem favorecer um sistema misto de troca gamética, ao longo de temporadas reprodutivas. Neste caso, as operárias de *Bombus brevivillus* podem contribuir, mesmo que com eventos menos freqüentes, para o espalhamento mais amplo dos alelos, para o aumento e/ou manutenção da variabilidade genética local e coesão entre manchas de indivíduos e subpopulações distribuídas de forma heterogênea ao longo dos afloramentos rochosos numa escala mais ampla.

Bibliografia citada

- ALBERTO, F., L. GOUVEIA, S. ARNAUD-HAOND, J.L. PÉREZ-LLORENS, C.M. DUARTE & E.A. SERRÃO. 2005. Within-population spatial genetic structure, neighbourhood size and clonal subrange in seagrass *Cymodocea nodosa*. *Molecular Ecology* 14: 2669-2681.
- AZEVEDO, M.T.A., E.L. BORBA, J. SEMIR & V.N. SOLFERINI. 2007. High genetic variability in Neotropical myophilous orchids. *Botanical Journal of the Linnean Society* 153: 33-40.
- BORBA, E.L., J.M. FELIX, V.N. SOLFERINI & J. SEMIR. 2001. Fly-pollinated *Pleurothallis* (Orchidaceae) species have high genetic variability: evidence from isozyme markers. *American Journal of Botany* 88: 419-428.
- BESSEGA, C., B.O. SAIDMAN & J.C. VILARDI. 2005. Genetic relationships among American species of *Prosopis* (Leguminosae) based on enzyme markers. *Genetics and Molecular Biology* 28: 277-286.
- BRUNE W., A.C. ALFENAS & T.G. JUNGHANS. 1998. Identificações específicas de enzimas em géis. Pp 201-328 in: ALFENAS A.C. (ed.) *Eletroforese de isoenzimas e proteínas afins: fundamentos e aplicações em plantas e microorganismos*. Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

- CAUJAPÉ-CASTELLS, J. & M. BACCARANI-ROSAS. 2004. *Transformer-2: A program for the analysis of molecular population genetic data*. Jardín Botánico Canario “Viera y Clavijo” and Instituto Tecnológico de Canarias, Las Palmas de Gran Canaria.
- CONCEIÇÃO, A.S. 2006. Filogenia do gênero *Chamaecrista* (Leguminosae-Caesalpinioideae) e taxonomia do grupo *Baseophyllum*. Tese de doutorado, Universidade Estadual de Feira de Santana.
- CORRIAS B., W. ROSSI, P. ARDUINO, R. CIANCHI & L. BULLINI. 1991. *Orchis longicornu* Poiret in Sardinia: genetic, morphological and chorological data. *Webbia* 45: 71-101.
- EPPERSON, B.K. 1990a. Spatial autocorrelation of genotypes under directional selection. *Genetics* 124: 757-771.
- EPPERSON, B.K. 1990b. Spatial patterns of genetic variation within plant populations. Pp 229-253 in: BROWN A.H.D., M.T. CLEGG, A.L. KAHLER & B.S. WEIR (eds.) *Plant population genetics, breeding, and genetic resources*. Sinauer, Sunderland.
- EPPERSON, B.K. 2000. Spatial genetic structure and non-equilibrium demographics within plant population. *Plant Species Biology* 15: 269-279.
- EPPERSON, B.K. & E.R. ALVAREZ-BUYLLA. 1997. Limited seed dispersal and genetic structure in life stages of *Cecropia obtusifolia*. *Evolution* 51: 275-282.
- EPPERSON, B.K. & T. LI. 1996. Measurement of genetic structure within population using Moran's spatial autocorrelation statistics. *Proceedings of the National Academy of Science* 93: 10528-10532.
- EPPERSON, B.K., Z. HUANG & T.-Q. LI. 1999. Spatial genetic structure of multiallelic. *Genetical Research Cambridge* 73: 2251-2261.
- ESRI. 2002. *ArcView 3.3*. Environmental Systems Research Institute, New York.
- FENSTER, C.B. 1991a. Gene flow in *Chamaecrista fasciculata* (Leguminosae): I. Gene dispersal. *Evolution* 45: 398-409.
- FENSTER C.B. 1991b. Gene flow in *Chamaecrista fasciculata* (Leguminosae) II. Gene establishment. *Evolution* 45: 410-422.
- FENSTER, C.B., X. VEKEMANS & O.J. HARDY. 2003. Quantifying gene flow from spatial genetic structure data in a metapopulation of *Chamaecrista fasciculata* (Leguminosae). *Evolution*: 57: 995-1007.
- FRANCESCHINELLI, E.V. & K.S. BAWA. 2000. The effect of ecological factors on the mating system of South American shrub species (*Helicteres brevispira*). *Heredity* 116: 116-123.
- FRANCESCHINELLI, E.V. & R. KESSELI. 1999. Population structure and gene flow of the Brazilian shrub, *Helicteres brevispira*. *Heredity* 82: 355-363.

- FORTIN, M.J. & M.R.T DALE. 2005. *Spatial analysis – a guide for ecologists*. Cambridge University Press, Cambridge.
- GIUDICE-NETO, J.D., A.M. SEBBENN & P.Y. KAGEYAMA. 2005. Diversidade genética de uma população “*ex situ*” de *Caesalpinia echinata* Lam. *Scientia Forestalis* 69: 125-133.
- GIULIETTI, A.M. & J.R. PIRANI. 1988. Patterns of geographic distribution of some plant species from the Espinhaço Range, Minas Gerais and Bahia, Brazil. Pp. 39-69 in: HEYER, W.R. & P.E. VANZOLINI (eds.) *Proceedings of a workshop on Neotropical distribution patterns*. Academia Brasileira de Ciências, Rio de Janeiro.
- GONZÁLEZ-CANDELAS, F. & A. MONTOLÍO. 2000. Genetic differentiation and structure of *Hippocrepis valentina* (Leguminosae) populations. *The Journal of Heredity* 91: 134-141.
- HAMRICK, J.L. 1989. Isozymes and the analysis of genetic structure in plant population. Pp. 87-105 in: SOLTIS, D.E. & P.S. SOLTIS (eds.) *Isozymes in plant biology*. Dioscorides Press, Portland.
- HAMRICK, J.L. & M.J.W. GODT. 1990. Allozyme diversity in plant species. Pp 43-63 in: BROWN, A.H.D., M.T. CLEGG, A.L. KAHLER & B.S. WEIR (eds) *Plant population genetics, breeding and genetic resources*. Sinauer, Sunderland.
- HAMRICK, J.L., M.J.W. GODT, D.A. MURAWSKI & M.D. LOVELESS. 1991. Correlation between species traits and allozyme diversity: implications for conservation biology. Pp. 75-86 in: FALK, D.A. & K.E. HOLSINGER (eds.) *Genetics and conservation of rare plants*. Oxford University Press, New York.
- HARDY, O.J. & X. VEKEMANS. 1999. Isolation by distance in a continuous population: reconciliation between spatial autocorrelation analysis and population genetics models. *Heredity* 83: 145-154.
- HARDY, O.J. & X. VEKEMANS. 2002. SPAGeDi: a versatile computer program to analyse spatial genetic structure at the individual or population levels. *Molecular Ecology Notes* 2: 618-620.
- HARDY, O.J., L. MAGGIA, E. BANDOU, P. BREYNE, H. CARON, M.H. CHEVALLIER, A. DLIGEZ, C. DUTECH, A. KREMER, C. LATOUCHE-HALLÉ, V. TROISPOUX, V. VERON & B. DEGEN. 2006. Fine-scale genetic structure and gene dispersal inferences in 10 Neotropical tree species. *Molecular Ecology* 15: 559-571.
- HEYWOOD, J.S. 1991. Spatial analysis of genetic variation in plant populations. *Annual Review of Ecology and Systematics* 22: 335-355.

- JESUS, F.F., V.N. SOLFERINI, J. SEMIR & P.I. PRADO. 2001. Local genetic differentiation in *Proteopsis argentea* (Asteraceae), a perennial herb endemic in Brazil. *Plant Systematics and Evolution* 226: 59-68.
- KUDOH, H. & D.F. WHIGHAM. 1997. Microgeographic genetic structure and gene flow in *Hibiscus moscheutos* (Malvaceae) populations. *American Journal of Botany* 84: 1285-1293.
- LAMBERT, S.M., E.L. BORBA, M.C. MACHADO, S.C.S. ANDRADE. 2006. Allozyme diversity and morphometrics of *Melocactus paucispinus* (Cactaceae) and evidence for hybridization with *M. concinnus* in the Chapada Diamantina, North-eastern Brazil. *Annals of Botany* 97: 389-403.
- LEE, S.L., K.K.S. NG, L.G. SAW, A. NORWATI, M.H.S. SALWANA, C.T. LEE & M. NORWATI. 2002. Population genetics of *Intsia palembanica* (Leguminosae) and genetic conservation of Virgin Jungle Reserves in Peninsular Malaysia. *American Journal of Botany* 89: 447-459.
- LEGENDRE, P. & L. LEGENDRE. 1998. *Numerical ecology – Developments in environmental modeling*. Elsevier, Amsterdam.
- LOISELLE, B.A., V.L. SORK, J. NASON & C. GRAHAM. 1995. Spatial genetic structure of a tropical understory shrub, *Psychotria officinalis* (Rubiaceae). *American Journal of Botany* 82: 1420-1425.
- LOVELESS, M.D. & J.L. HAMRICK. 1984. Ecological determinants of genetic structure in plant populations. *Annual Review of Ecology and Systematics* 15: 65-95.
- MACHADO, M.C. 2005. O gênero *Discocactus* Pfeiff. (Cactaceae) no estado da Bahia, Brasil: variabilidade morfológica, variabilidade genética, taxonomia e conservação. Dissertação de Mestrado, Universidade Estadual de Feira de Santana.
- MILLER, M.P. 1997. *Tools for population genetic analyses (TFPGA) 1.3: A Windows program for the analysis of allozyme and molecular population genetic data*. Computer software distributed by author.
- MORAN, P.A.P. 1950. Notes on continuous stochastic phenomena. *Biometrika* 37: 17-23.
- NEI, M. 1978. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. *Genetics* 89: 583-590.
- OHSAWA, R., N. FURUYA & Y. UKAIA. 1993. Effects of spatially restrict pollen flow on spatial genetic structure of an animal-pollinated allogamous plant population. *Heredity* 71: 64-73.

- OUBORG, N.J., Y. PIQUOT & M. VAN GROENENDAEL 1989. Population genetics, molecular markers and the study of dispersal in plants. *Journal of Ecology* 87: 551-568.
- PEREIRA, A.C.S., E.L. BORBA & A.M. GIULIETTI. 2007. Genetic and morphological variability of endangered *Syngonanthus mucugensis* (Eriocaulaceae), from the Chapada Dimantina, Brazil: implications for conservation and taxonomy. *Botanical Journal of the Linnean Society* 253: 401-416.
- RIBEIRO, P.L., E.L. BORBA, E.C. SMIDT, S.M. LAMBERT, A.S. SCHNADELBACH & C. VAN DEN BERG. No prelo. Genetic and morphological variation in the *Bulbophyllum exaltatum* (Orchidaceae) complex occurring in the Brazilian "campos rupestres": implications for taxonomy and biogeography. *Plant Systematics and Evolution*.
- RIDGWAY, G.J., S.W. SHERBURNE & R.D. LEWIS. 1970. Polymorphism in the esterases of Atlantic herring. *Transactions of the American Fisheries Society* 99: 147-151.
- ROUSSET, F. 2000. Genetic differentiation between individuals. *Journal of Evolutionary Biology* 13: 58-62.
- SAWADA, M. 1999. ROOKCASE: An Excel 97/2000 Visual Basic (VB) add-in for exploring global and local spatial autocorrelation. *Bulletin of the Ecological Society of America* 80: 231-234.
- SHAW, C.R. & R. PRASAD. 1970. Starch gel electrophoresis of enzymes – a compilation of recipes. *Biochemical Genetics* 4: 297-320.
- SLATKIN, M. 1985. Gene flow in natural population. *Annual Review of Ecology and Systematics* 16: 393-430.
- SLATKIN, M. & H.E. ARTER. 1991. Spatial autocorrelation methods in population genetics. *The American Naturalist* 138: 499-517.
- SLATKIN, M. & N.H. BARTON. 1989. A comparison of three indirect methods for estimating average levels of gene flow. *Evolution* 43: 1349-1368.
- SOKAL, R.R. & D.E. WARTENBERG. 1983. A test of spatial autocorrelation analysis using an isolation-by-distance model. *Genetics* 105: 219-237.
- SOKAL, R.R., N.L. ODEN & B.A. THOMSON. 1998. Local spatial autocorrelation in biological variables. *Biological Journal of the Linnean Society* 65: 41-62.
- SOLTIS, D.E., C.H. HAUFLE, D.C. DARROW & G.J. GASTONY. 1983. Starch gel electrophoresis of ferns: a compilation of grinding buffers, gel and electrode buffers, and staining schedule. *American Fern Journal* 73: 9-27.

- SORK, V.L., J. NASON, D.R. CAMPBELL, J.F. FERNANDEZ. 1999. Landscape approaches to historical and contemporary gene flow in plants. *Trends in Ecology and Evolution* 14: 219-224.
- TROUPIN, D., R. NATHAN & G. VENDRAMIN. 2006. Analysis of genetic structure in an expanding *Pinus halepensis* population reveals development of fine-scale genetic clustering over time. *Molecular Ecology* 15: 3617-3630.
- VEKEMANS, X. & O.J. HARDY. 2004. New insights from fine-scale spatial genetic structure analyses in plant populations. *Molecular Ecology* 13: 921-935.
- WEIR, B.S. & C.C. COCKERHAM. 1984. Estimating F-statistics for the analysis of population structure. *Evolution* 38: 1358-1370.
- WRIGHT, S. 1943. Isolation by distance. *Genetics* 28: 114-138.
- WRIGHT, S. 1965. The interpretation of population structure by F-statistics with special regard to systems of mating. *Evolution* 19: 395-420.
- XU, X., B.R. LU, Y.H. CHEN, M. XU, J. RONG, P. YE, J. CHEN & Z. SONG. 2006. Inferring population history from fine-scale spatial genetic analysis in *Oxyra rufipogon* (Poaceae). *Molecular Ecology* 15: 1535-1544.

Tabela 1: Frequência alélica em 10 locos aloenzimáticos, nas quatro subpopulações e nas subpopulações agrupadas de *Chamaecrista blanchetii*, no Parque Municipal de Mucugê, Chapada Diamantina, Brasil. *N* = tamanho da amostra.

Loco/ Alelo	Área A	Área B	Área C	Área D	População
<i>Acph-1</i>					
1	0,0066	0,0603	0,0323	0,0152	0,0228
2	0,3179	0,3534	0,328	0,3154	0,3257
3	0,5993	0,5302	0,6075	0,6171	0,5982
4	0,0762	0,056	0,0323	0,0523	0,0553
(<i>N</i>)	151	116	93	363	723
<i>Acph-2</i>					
1	0,1513	0,2112	0,2967	0,2493	0,2284
2	0,727	0,6552	0,5989	0,6569	0,6641
3	0,1217	0,1336	0,1044	0,0938	0,1075
(<i>N</i>)	152	116	91	357	716
<i>Pgi-1</i>					
1	0,18	0,2393	0,2557	0,2155	0,2169
2	0,68	0,6496	0,6307	0,6078	0,633
3	0,14	0,1111	0,1136	0,1767	0,1501
(<i>N</i>)	150	117	88	348	703
<i>Pgm-1</i>					
1	0,0321	0,027	0,0977	0,0378	0,0425
2	0,775	0,7748	0,7299	0,8038	0,783
3	0,0607	0,0991	0,1034	0,1076	0,0968
4	0,1321	0,0991	0,069	0,0509	0,077
(<i>N</i>)	140	111	87	344	682
<i>Lap-2</i>					
1	0,1395	1,552	0,1522	0,1057	0,1274
2	0,6395	0,7284	0,6141	0,686	0,6737
3	0,1599	0,0905	0,2065	0,1637	0,1563
4	0,0612	0,0259	0,0272	0,0446	0,0427
(<i>N</i>)	147	116	92	336	691

Loco/ Alelo	Área A	Área B	Área C	Área D	População
<i>Est-3</i>					
1	0,0267	0,0225	0,0323	0,0489	0,0377
2	0,08	0,0946	0,1452	0,0661	0,084
3	0,82	0,8559	0,7688	0,7701	0,7942
4	0,0733	0,027	0,0538	0,1149	0,084
(N)	150	111	93	348	702
<i>Est-4</i>					
1	0,0826	0,0233	0,0197	0,0399	0,0431
2	0,0917	0,093	0,1513	0,1445	0,1264
3	0,6606	0,7326	0,5789	0,6464	0,6536
4	0,1376	0,1279	0,1645	0,1331	0,1376
5	0,0275	0,0233	0,0855	0,0361	0,0393
(N)	109	86	76	263	534
<i>Idh-2</i>					
1	0,0369	0,0474	0,0323	0,0291	0,0341
2	0,6779	0,694	0,6398	0,7687	0,7211
3	0,1443	0,0517	0,2151	0,1247	0,1287
4	0,1107	0,1638	0,1022	0,0679	0,0967
5	0,0302	0,0431	0,0108	0,0097	0,0195
(N)	149	116	93	361	719
<i>Skdh</i>					
1	–	0,0085	0,0108	–	0,0029
2	0,0388	0,0299	0,175	0,0262	0,0399
3	0,9302	0,953	0,871	0,9309	0,9265
4	0,031	0,0085	0,0108	0,0428	0,0307
(N)	129	117	93	362	701
<i>G6pd</i>					
1	0,0782	0,045	0,0618	0,0368	0,05
2	0,8401	0,8784	0,809	0,8499	0,8471
3	0,0782	0,0045	0,0674	0,0779	0,065
4	0,0034	0,0721	0,0618	0,0354	0,0379
(N)	147	111	89	353	700

Tabela 2: Variabilidade genética em 10 locos aloenzimáticos nas quatro subpopulações de *Chamaecrista blanchetii*, no Parque Municipal de Mucugê, Chapada Diamantina, Brasil. N = tamanho da amostra; A = número médio de alelos por loco; P = proporção de locos polimórficos; H_o = heterozigosidade média observada por loco; H_e = heterozigosidade média esperada por loco (Nei 1978; estimativa não enviesada); F_{IS} = coeficiente de endocruzamento.

Áreas	N	A	P^a	H_e	H_o	F_{IS}
Área A	155	3,9	100	0,41	0,24	0,43
Área B	117	4	90	0,39	0,22	0,44
Área C	93	4	100	0,47	0,23	0,52
Área D	363	3,9	100	0,41	0,22	0,46
Total da população	728	4	100	0,42	0,23	0,46

^a Um loco foi considerado polimórfico se a frequência do alelo mais comum não excedeu 0,95.

Tabela 3: Resumo da estatística F (Weir & Cockerham 1984) em 10 locos aloenzimáticas em quatro subpopulações de *Chamaecrista blanchetii*, no Parque Municipal de Mucugê, Chapada Diamantina, Brasil. \hat{F} = deficiência global de heterozigotos; $\hat{\theta}$ = divergência entre subpopulações; \hat{f} = deficiência de heterozigotos dentro das subpopulações.

Locos	\hat{F}	$\hat{\theta}$	\hat{f}
<i>Acph-1</i>	0,3219	0,0004	0,3216
<i>Acph-2</i>	0,4351	0,007	0,4311
<i>Pgi-1</i>	0,5683	0,0012	0,5678
<i>Pgm-1</i>	0,6232	0,0047	0,6215
<i>Lap-2</i>	0,401	0,0044	0,3984
<i>Est-3</i>	0,5667	0,0079	0,5633
<i>Est-4</i>	0,1859	0,0048	0,182
<i>Idh-2</i>	0,6578	0,0144	0,6528
<i>Skdh</i>	0,5813	0,0112	0,5766
<i>G6pd</i>	0,4441	0,0055	0,4411
Todos os locos reunidos	0,4589	0,0055	0,4559
<i>Bootstrapping</i> IC 95%	0,03604 - 0,5589	0,0031 - 0,0085	0,3612 - 0,5542

Tabela 4: Resumo da estatística F hierarquizada (Weir & Cockerham 1984), em 10 locos aloenzimáticos nas subpopulações de *Chamaecrista blanchetii* de menor densidade populacional, amostradas em parcelas e subparcelas de 14 metros de diâmetro, no Parque Municipal de Mucugê, Chapada Diamantina, Brasil (ver Figura 1). \hat{F}_{sp} = deficiência global de heterozigotos na subpopulação; $\hat{\theta}_{pa}$ = divergência entre as parcelas; $\hat{\theta}_{spa}$ = divergência entre as subparcelas; \hat{f}_{spa} = deficiência de heterozigotos dentro das subparcelas.

Subpopulação	Área A				Área B				Área C			
Densidade (plantas/m ² ± PD)	0,0679 ± 0,0277				0,0585 ± 0,0137				0,0490 ± 0,0244			
Área/ Locos	\hat{F}_{sp}	$\hat{\theta}_{pa}$	$\hat{\theta}_{spa}$	\hat{f}_{spa}	\hat{F}_{sp}	$\hat{\theta}_{pa}$	$\hat{\theta}_{spa}$	\hat{f}_{spa}	\hat{F}_{sp}	$\hat{\theta}_{pa}$	$\hat{\theta}_{spa}$	\hat{f}_{spa}
<i>Acph-1</i>	0,2242	-0,0258	-0,0105	0,2438	0,1934	0,0003	-0,0364	0,1932	0,2425	0,0011	-0,0491	0,2417
<i>Acph-2</i>	0,112	0,004	-0,0105	0,1085	0,4312	0,0291	0,0016	0,4142	0,3102	-0,0434	-0,0303	0,3388
<i>Pgi-1</i>	0,5787	-0,0059	-0,005	0,5812	0,3332	0,0109	0,0346	0,3259	0,5933	-0,0527	0,0015	0,6137
<i>Pgm-1</i>	0,418	0,0115	-0,0084	0,4113	0,5089	0,0542	0,042	0,4808	0,6701	-0,0258	-0,0073	0,6784
<i>Lap-2</i>	0,411	0,0749	0,0519	0,3633	0,5291	0,0495	0,0235	0,5046	0,5325	0,0145	0,0687	0,5256
<i>Est-3</i>	0,3617	0,0155	-0,0275	0,3517	0,673	-0,0539	-0,0109	0,6897	0,7214	0,0454	0,0737	0,7082
<i>Est-4</i>	0,3882	0,066	0,0491	0,345	0,0491	0,0669	-0,033	-0,019	0,2357	0,0949	0,0162	0,1556
<i>Idh-2</i>	0,6645	0,1411	0,0474	0,6093	0,7362	0,0428	0,0191	0,7245	0,6534	0,0948	0,0909	0,6171
<i>Skdh</i>	0,6552	-0,0389	-0,0012	0,6682	-0,005	-0,0048	-0,001	-0,0002	0,8786	-0,0907	0,0025	0,8887
<i>G6pd</i>	0,4059	0,0495	0,0543	0,3749	0,5148	0,0114	-0,0128	0,5092	0,6343	0,0144	-0,0341	0,629
Todos os locos	0,4158	0,0406	0,0192	0,3911	0,4162	0,027	0,0042	0,4	0,4933	0,0124	0,0141	0,487
<i>Bootstrapping (95% IC)</i>												
Limite inferior	0,3038	0,0019	-0,002	0,2945	0,2766	0,0076	-0,016	0,2547	0,3863	-0,0267	-0,0171	0,3727
Limite superior	0,5327	0,0803	0,0386	0,4995	0,5731	0,0451	0,0225	0,5614	0,6193	0,0506	0,0428	0,6248

Tabela 5: Resumo da estatística F hierarquizada (Weir & Cockerham 1984), em 10 locos aloenzimáticos na subpopulação de *Chamaecrista blanchetii* de maior densidade populacional, amostrada em parcelas e subparcelas de 14 e 6 metros de diâmetro, no Parque Municipal de Mucugê, Chapada Diamantina, Brasil (ver Figura 1). \hat{F}_{sp} = deficiência global de heterozigotos na subpopulação; $\hat{\theta}_{pa}$ = divergência entre as parcelas; $\hat{\theta}_{spa}$ = divergência entre as subparcelas; \hat{f}_{spa} = deficiência de heterozigotos dentro das subparcelas.

Subpopulação (Diâmetro da subparcela)	Área D (14m)				Área D (6m)			
Densidade (plantas/m ² ± PD)	0,231 ± 0,134				0,601 ± 0,118			
Área/ Locos	\hat{F}_{sp}	$\hat{\theta}_{pa}$	$\hat{\theta}_{spa}$	\hat{f}_{spa}	\hat{F}_{sp}	$\hat{\theta}_{pa}$	$\hat{\theta}_{spa}$	\hat{f}_{spa}
<i>Acph-1</i>	0,4278	0,0097	0,0242	0,4223	0,4631	0,0011	0,0068	0,4625
<i>Acph-2</i>	0,4558	0,0124	-0,0003	0,449	0,5215	0,0201	-0,016	0,5116
<i>Pgi-1</i>	0,6965	0,0529	0,0365	0,6795	0,5835	-0,0072	0,006	0,5865
<i>Pgm-1</i>	0,7197	0,0077	-0,0087	0,7175	0,7172	0,0117	0,0301	0,7139
<i>Lap-2</i>	0,3923	0,0057	-0,0175	0,3889	0,4646	0,0101	-0,0046	0,4591
<i>Est-3</i>	0,5604	0,0365	0,0373	0,5437	0,6128	0,0154	0,0137	0,6068
<i>Est-4</i>	0,0629	0,0054	-0,0061	0,0579	0,0757	-0,0026	0,000	0,0781
<i>Idh-2</i>	0,6083	0,0856	0,0731	0,5716	0,7227	0,0242	0,0497	0,7158
<i>Skdh</i>	0,4596	0,009	0,0151	0,4547	0,518	0,0181	0,0195	0,509
<i>G6pd</i>	0,3522	0,0321	0,0249	0,3308	0,3934	0,0586	-0,006	0,3556
Todos os locos	0,4659	0,0266	0,0178	0,4513	0,4924	0,0116	0,0079	0,4864
<i>Bootstrapping (95% IC)</i>								
Limite inferior	0,3233	0,0116	0,001	0,3081	0,3535	0,0029	-0,0019	0,3491
Limite superior	0,5921	0,0466	0,0381	0,5773	0,6079	0,0226	0,0214	0,6025

Tabela 6: Estimativas da estrutura genética espacial em 10 locos aloenzimáticos nas quatro subpopulações de *Chamaecrista blanchetii*, no Parque Municipal de Mucugê, Chapada Diamantina, Brasil, com o nível de significância da média do coeficiente de coancestralidade entre indivíduos adjacentes (\hat{F}_1), distribuídos a menos de 3 metros entre si.

Locos	Área A	Área B	Área C	Área D
<i>Acph-1</i>	0,0436 ^{NS}	0,106*	0,0653 ^{NS}	0,0198*
<i>Acph-2</i>	0,1045*	0,0973 ^{NS}	0,1857*	0,0268*
<i>Pgi-1</i>	0,022 ^{NS}	0,1263*	0,0288 ^{NS}	0,0138 ^{NS}
<i>Pgm-1</i>	0,2015***	0,1128 ^{NS}	0,0959 ^{NS}	0,053***
<i>Lap-2</i>	0,0341 ^{NS}	0,222***	0,1404*	0,0038 ^{NS}
<i>Est-3</i>	-0,0321 ^{NS}	0,1172 ^{NS}	0,1042 ^{NS}	0,0309**
<i>Est-4</i>	0,0948*	0,1177 ^{NS}	0,0745 ^{NS}	0,0112 ^{NS}
<i>Idh-2</i>	0,1058*	-0,0116 ^{NS}	0,0746 ^{NS}	0,0225*
<i>Skdh</i>	-0,0111 ^{NS}	-0,031 ^{NS}	0,1163 ^{NS}	0,0195*
<i>G6pd</i>	0,3581***	0,0915 [§]	0,0641 ^{NS}	0,0609***

NS = não significativo; * $P \leq 0,05$; ** $P \leq 0,01$; *** $P \leq 0,001$

Tabela 7: Resumo das estimativas da estrutura genética espacial e dos parâmetros de dispersão gênica, baseado em 10 locos aloenzimáticos, para as quatro subpopulações de *Chamaecrista blanchetii*, no Parque Municipal de Mucugê, Chapada Diamantina, Brasil. \hat{F} = coeficiente de endogamia de Wright, \hat{F}_1 média do coeficiente de coancestralidade entre indivíduos adjacentes, \hat{b}_F = inclinação na curva de regressão do coeficiente $F_{(ij)}$ contra o logaritmo da distância (Loiselle *et al.* 1995), Sp = síntese da EGE, N_b = tamanho da vizinhança genética estimada número de indivíduos, $\hat{\sigma}_g$ = distância da dispersão gênica estimada em metros, em densidades efetivas distintas. *Parâmetros estimados somente a partir dos locos que apresentaram EGE significativa.

Áreas	\hat{F}	\hat{F}_1	\hat{b}_F	Sp	$*N_b$	* $\hat{\sigma}_g$ (m ²) ($D_e = D$)	* $\hat{\sigma}_g$ (m ²) ($D_e = D / 2$)
Área A	0,433	0,084	-0,01597	0,017	34,86	162,52	377,91
Área B	0,447	0,1	-0,01766	0,019	-	-	-
Área C	0,526	0,091	-0,00491	0,005	-	-	-
Área D	0,47	0,023	-0,01132	0,011	69,16	18,58	38,19

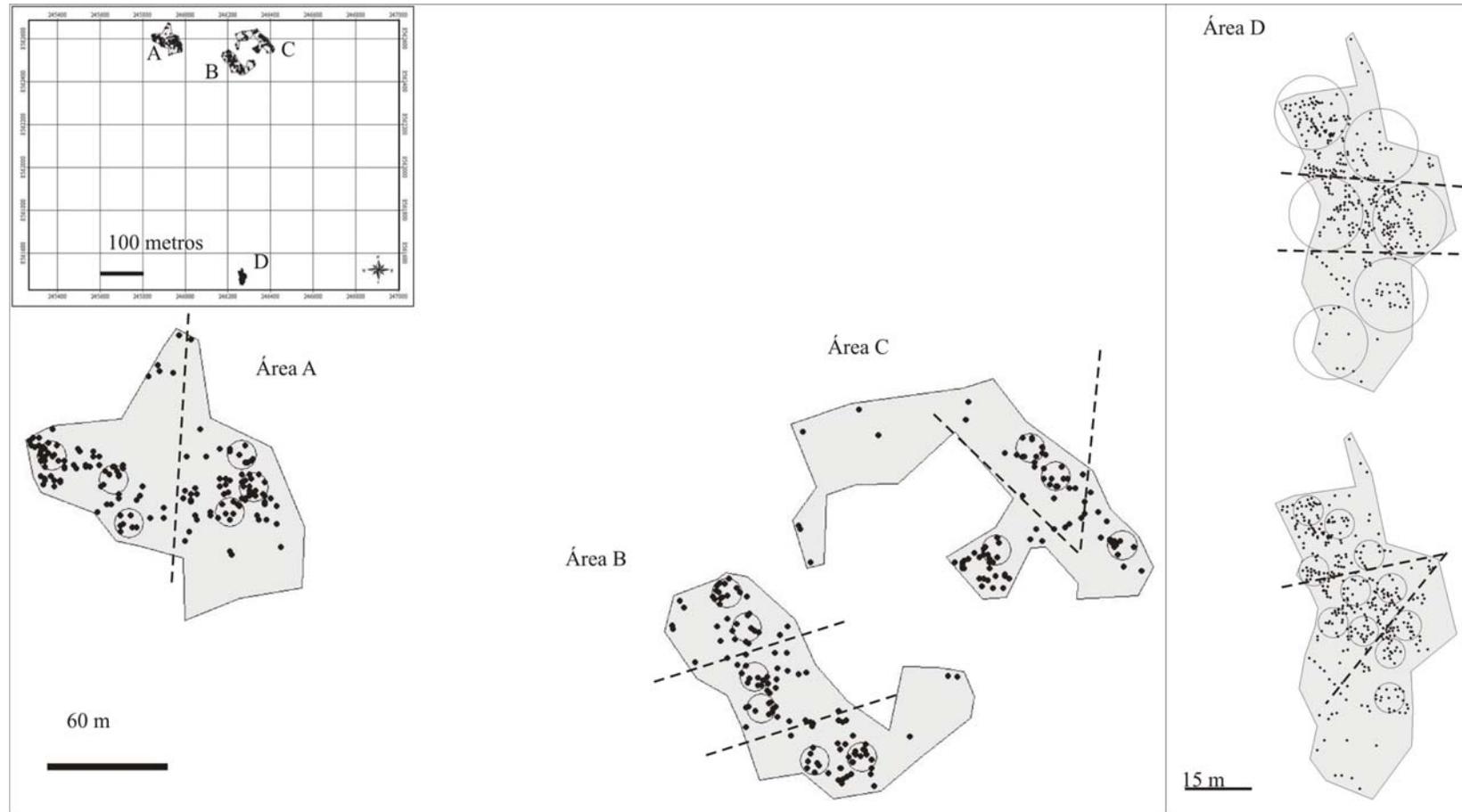


Figura 1: Distribuição espacial em microescala de *Chamaecrista blanchetii*, em quatro subpopulações divididas em parcelas (linhas pontilhadas), e em subparcelas circulares (linha contínuas), com 14 m de diâmetro em baixa densidade populacional (áreas A, B e C), e subparcelas circulares com 14 m e com 6 m de diâmetro em alta densidade (Área D).

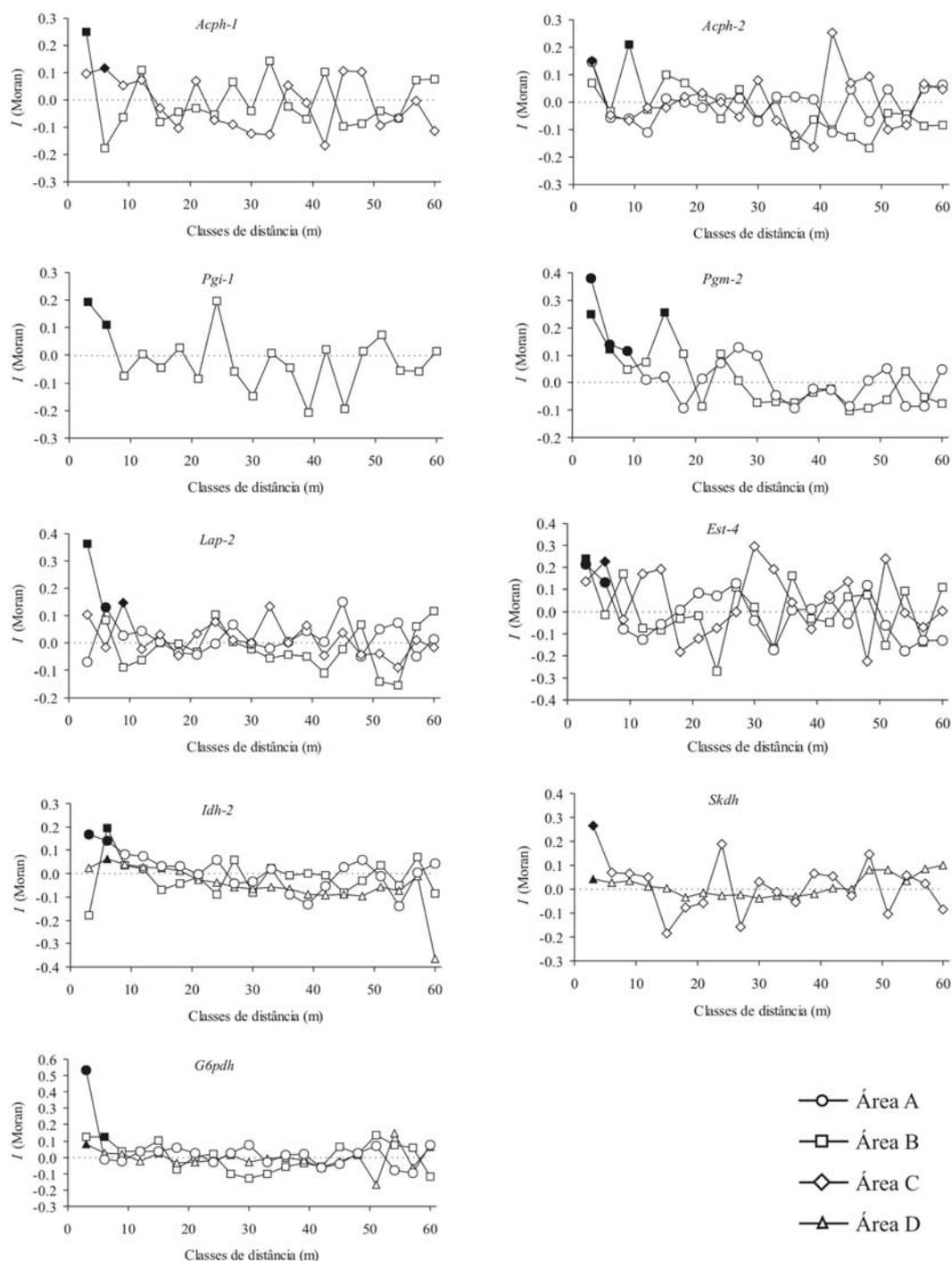


Figura 2: Autocorrelação espacial dos alelos mais frequentes em cada loco aloenzimático, sendo apresentados somente os alelos com valores significativos de autocorrelação pelo índice I de Moran (1950), em cada área estudada. Círculos cheios nos correlogramas representam valores significativos a partir de teste exato de Monte Carlo, após correção progressiva de Bonferroni, em classes de distância com intervalos de distância de 3m.

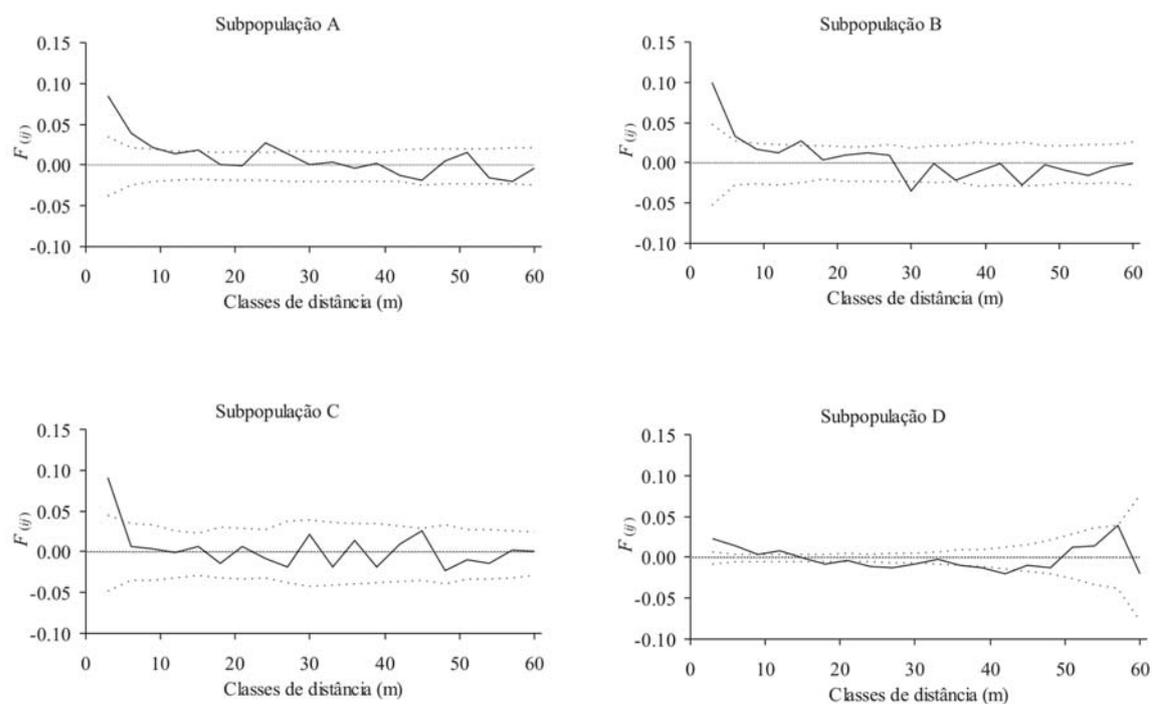


Figura 3: Estrutura genética espacial com coeficiente de coancestralidade $F_{(ij)}$ (Loiselle 1995) em 20 classes de distância (m). Linha cheia representa a regressão do coeficiente $F_{(r)}$ contra o logaritmo da distância e linhas pontilhadas o intervalo de confiança de 95%, após 1000 permutações.

Considerações finais

Nesta tese foram investigados aspectos ecológicos e genéticos em *Chamaecrista blanchetii*, combinando o uso de ferramentas em SIG, estatística espacial e marcador molecular. A utilização integrada de diferentes métodos mostrou ser eficiente na exploração de informações muitas vezes não acessadas a partir de metodologias usuais. Com emprego de uma ampla amostragem de indivíduos mapeados e a avaliação de uma vizinhança ecológica espacial foi possível descrever o comportamento reprodutivo de plantas vizinhas e a variação na produção floral entre manchas e em temporadas sucessivas numa mesma população. O estudo combinado de eventos pré e pós-polinização permitiu compreender como estes dois componentes podem ser contrabalançados em uma estratégia reprodutiva mista de auto e alogamia, condizente com a alta variabilidade genética encontrada. O estudo do forrageamento de polinizadores pautado em uma base de dados em SIG permitiu realizar estimativas do deslocamento da abelha no espaço e supor possíveis efeitos na amplitude de espalhamento polínico em condições naturais. O grande número de indivíduos estudados revelou que sistemas naturais podem ser mais variáveis e complexos do que se supõe quando a amostragem se restringe a poucos indivíduos na população. A quantificação da estrutura genética entre vizinhos e a partição hierárquica da variabilidade entre manchas na população em microescala, permitiu interpretações mais seguras sobre possíveis eventos microevolutivos neste sistema abordando duas escalas geográficas simultaneamente.

Estudos sobre a genealogia da prole, investigando os alelos transmitidos na primeira geração nesta mesma população, estão sendo concluídos na tentativa de avaliar a variabilidade genética gerada e o fluxo gênico gamético efetivamente realizado numa determinada temporada reprodutiva. A partir de análises de exclusão paternidade e abordagem de máxima verossimilhança é possível fazer estimativas diretas das taxas de fecundação cruzada, do tamanho efetivo da população e investigar quais as prováveis relações de parentesco entre plantas adultas e proles em duas gerações. Deste modo, será possível explorar em mais detalhes os padrões reprodutivos e eventos atuais envolvidos no processo microevolutivo nesta população de *Chamaecrista blanchetii*.

Para compreender a diversidade dos processos microevolutivos em populações naturais nos campos rupestres, seriam necessários estudos semelhantes com outras espécies que combinem características biológicas e ecológicas distintas, para confrontar com os padrões encontrados neste estudo. Neste momento, podemos considerar provável que em

populações naturalmente fragmentadas, porém abundantes em longas extensões, como *Chamecrista blanchetii*, a agregação de indivíduos em manchas de variadas densidades pode gerar aumento do nível de endogamia, com famílias genéticas estruturadas em microescala, porém formentemente similares entre subpopulações. A forte coesão intrapopulacional pode ser resultado do movimento alélico em *stepping stones*, através do fluxo gamético promovido pelos polinizadores entre ilhas de plantas com recurso abundante, distribuídas ao longo do mosaico ambiental de afloramentos rochosos. Os aspectos biológicos avaliados neste sistema corroboram esta sugestão apontando que a vizinhança ecológica estruturada, a dinâmica de produção floral e a alogamia favorecida pela possível ocorrência de depressão endogâmica podem determinar um sistema misto de troca gamética e a reposição da variabilidade genética a cada estação reprodutiva. A variação no comportamento de vôo dos polinizadores podem contribuir para o fluxo polínico restrito, mas também, dispersando gametas entre manchas de indivíduos. Caso este cenário tenha se mantido ao longo das gerações, os aspectos mencionados podem estar especialmente relacionados com o alto nível de variabilidade genética e com a manutenção do *pool* gênico coeso em escala local detectados em plantas adultas nesta população.

Para investigar quão coesa pode ser essa população numa escala mais ampla, incluindo por exemplo, toda a sua distribuição nas montanhas da região de Mucugê, faz-se necessário expandir o nível de amostragem, incluindo manchas de indivíduos em distâncias progressivamente maiores, aplicando os mesmos sistemas aloenzimático, conduzindo as análises de estruturação hierarquizada e de coancestralidade semelhantes as empregadas nesta tese. Em uma escala regional, a abordagem filogeográfica permitiria acessar informações como a magnitude de eventos de expansão e fragmentação das populações, rotas migratórias e possíveis refúgios, investigando a existência de contingentes populacionais estruturados ao longo da distribuição da espécie. Utilizando um marcador de seqüência com variabilidade adequada seria possível recuperar as prováveis relações históricas interpopulacionais e verificar a existência de possíveis barreiras históricas ao fluxo gênico e a existência de unidades evolutivas independentes. Poucos estudos foram feitos utilizando esta abordagem com espécies de plantas no Brasil. Em especial nos campos rupestres, este é um interessante tópico ainda em aberto para estudos futuros. Neste sentido, seria possível investigar se as barreiras geográficas entre motanhas e/ou entre maciços, como a Chapada Diamantina e a Serra do Espinhaço, podem constituir barreiras significativas para o isolamento histórico entre populações abundantes e amplamente distribuídas, como as de *Chamaecrista blanchetii* neste ambiente.

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)