

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE SANTA CRUZ
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PÓS-GRADUAÇÃO EM ECOLOGIA E CONSERVAÇÃO DA BIODIVERSIDADE**

**Repositório Gênico de *Plathymenia reticulata* Benth em Populações Nativas,
Restauradas e Conservação *ex situ***

Orientador/e-mail: Fernanda Amato Gaiotto/ gaiotto@uesc.br

Nome do Candidato/e-mail: Ane Karoline Campos Fernandes/ fernandesak@live.com

Nível/Ano de ingresso: Doutorado 2/2019

Ilhéus 23/08/2020

RESUMO

Perda de habitat e fragmentação são as mais importantes causas no declínio da biodiversidade global. E quando pensamos no cenário atual da Mata Atlântica, apenas a proteção dos poucos fragmentos florestais remanescentes não é suficiente para a devida conservação da biodiversidade é necessário restaurar para que o ecossistema se recupere e reestabeleça suas funções. Outra forma para se manter as florestas nativas, seria diminuir a pressão por madeira de excelência através do corte seletivo nos remanescentes florestais, assim os plantios comerciais são uma alternativa de fornecimento de matéria prima por meios legais. Desta forma, objetivamos entender como os remanescentes florestais, áreas restauradas e área de conservação *ex situ* estão do ponto de vista genético. Descrevendo e comparando a variabilidade genética entre áreas, repositório gênico da espécie na Mata Atlântica e ocorrência de fluxo gênico. Objetivamos também analisar os indivíduos da área de conservação *ex situ* em parceria com uma empresa privada, afim de fornecer subsídios para o melhoramento genético de uma espécie nativa para plantios comerciais e restauração. As coletas serão conduzidas em 10 áreas no domínio da Mata Atlântica, sendo 5 áreas restauradas e 5 remanescentes florestais. As populações serão caracterizadas geneticamente e seu pool gênico estimado. Será feita uma análise de paternidade de todos os indivíduos presentes na área de conservação *ex situ* para identificar as matrizes e seus filhos, separar as famílias e identificar possíveis clones.

INTRODUÇÃO

A perda e fragmentação de habitat estão entre as mais importantes causas no declínio da biodiversidade global (Gardner et al., 2009; Giam, 2017; Horváth et al., 2019; Wright & Muller-landau, 2006; Zemanova et al., 2017). Quanto mais floresta se perde, menos espécies conseguem persistir e menor a conectividade funcional entre os fragmentos por meio do deslocamento da fauna (Supriatna et al., 2017; Zemanova et al., 2017). Estudos recentes demonstram que a partir de certo ponto, a perda de floresta leva a uma diminuição drástica da biodiversidade local (Horváth et al., 2019; Santos et al., 2016; Vallejos et al., 2020). Em especial, essa perturbação antrópica tem atingido as florestas tropicais, como a Mata Atlântica Brasileira, que perdeu mais de 84% de sua cobertura vegetal natural (Fundação SOS Mata Atlântica; Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais (INPE), 2020).

A Mata Atlântica é um dos biomas mais extensos do Brasil (Melo et al., 2013) e considerado um hotspot de biodiversidade mundial, ou seja, possui elevada riqueza e endemismo de espécies sob intensa ameaça, tornando esse bioma prioritário para conservação (Brooks et al., 2002). Estudos realizados nesse bioma apontam que apenas a proteção dos remanescentes florestais não é suficiente para a devida conservação de sua biodiversidade em médio e longo prazo (Barlow et al., 2016). É preciso, além das ações para conservação, integrar estratégias de restauração florestal (Gardner et al., 2009; Rosa et al., 2016; Zemanova et al., 2017).

A diversidade genética é um componente importante a ser considerado na biodiversidade a ser restaurada (Basey et al., 2015; Carnus et al., 2006). Ela pode favorecer a adaptabilidade e a resistência a distúrbios abióticos e bióticos (Aavik & Helm, 2018). Com as ferramentas genéticas disponíveis atualmente é possível monitorar as áreas recuperadas (Allendorf *et al.*,

2013; Breed *et al.*, 2019), demonstram conectividade entre áreas próximas (Santos *et al.*, 2019) e entender se os regenerantes estão conseguindo manter diversidade genética viável, reduzindo, em termos genéticos, sua estruturação (Aavik & Helm, 2018). Isto pode ser controlado a partir das fontes, sementes e mudas, que serão utilizadas na restauração (Basey *et al.*, 2015), visto que com uma maior variabilidade genética maiores chances do propágulo sobreviver e manter a população viável geneticamente ao longo do tempo. Assim, seria desejável considerar também a diversidade genética nos quesitos de qualidade de mudas para restauração florestal (Carnus *et al.*, 2006).

Além disso, indivíduos de uma área restaurada podem trocar genes entre esta área e os remanescentes de floresta, fornecendo alelos e incrementando o pool gênico das populações. Dessa forma, o impacto da diversidade genética pode chegar às áreas circundantes através do fluxo gênico.

Uma outra maneira de reduzir o impacto sobre florestas nativas, seria ampliar a prática de plantios comerciais de espécies nativas, diminuindo a pressão por madeiras de excelência para fins industriais e de construção, e a mantendo as florestas nativas (Carle & Homgren, 2008; Payn *et al.*, 2015). O plantio comercial envolve técnicas de melhoramento genético que geralmente se inicia a partir de uma população base de melhoramento, que pode ser chamada de População de conservação *ex situ*. O parentesco entre indivíduos desta população é indesejado porque o cruzamento de indivíduos aparentados aumenta o coeficiente de endogamia (número de meios irmãos por assim dizer) e diminui pool gênico das populações, minimizando as chances de sucesso na área a ser transplantada (Basey *et al.*, 2015).

OBJETIVO GERAL

Comparar geneticamente as populações de *Plathymenia reticulata* (Vinhático) em áreas restauradas, conservação *ex situ* e remanescentes florestais no domínio da Mata Atlântica, buscando avaliar as seguintes perguntas e hipóteses biológicas:

P1: Existe diferença na diversidade genética nas populações de *P. reticulata* em conservação *ex situ*, remanescentes florestais e áreas restauradas?

H1.: As populações das áreas restauradas possuem menor variabilidade genética quando comparadas com as populações dos remanescentes florestais.

P2: Como a matriz circundante afeta a diversidade genética de *P. reticulata* em áreas restauradas e remanescentes florestais?

H2.: Quanto maior a porcentagem de uso da terra no entorno das áreas menor a variabilidade genética e o fluxo gênico.

P3.: Existe compartilhamento do pool gênico de *P. reticulata* entre a área de conservação *ex situ*, remanescentes florestais e áreas restauradas?

H3.: A população da área de conservação *ex situ* representa a mesma estrutura genética e variabilidade quando comparadas com os remanescentes florestais.

P4.: Será que o grau parentesco genético entre os indivíduos jovens amostrados em remanescente florestal se mantém nas áreas restauradas e na área de conservação *ex situ*?

DELINEAMENTO AMOSTRAL

Espécie alvo

Plathymenia reticulata Benth.

Conhecida popularmente como vinhático, a *P. reticulata* é uma espécie arbórea da família das leguminosas, pode chegar à 30mt de altura (Carvalho, 2009) e 5mt de DAP (dados observacionais), possui caule com formação de placas regulares, e madeira com tom avermelhado sendo essa a origem do seu nome popular. É polinizada por pequenos insetos (Goulart et al., 2005), especialmente as abelhas, e suas sementes são dispersas por anemocoria.

Destaca-se entre as espécies mais utilizadas na recomposição da flora de áreas degradadas, têm ampla distribuição nos biomas brasileiros, estando presente da Mata Atlântica à Caatinga, em 16 estados e no Distrito Federal (Carvalho, 2009), sendo altamente adaptável. Isso a torna uma excelente candidata para implementação na restauração de áreas degradadas. Além disso é uma das espécies mais desejadas por agricultores em sistemas agroflorestais de cacau no sul da Bahia (Sambuichi et al., 2012). Devido a sua madeira de alta qualidade e durabilidade, o vinhático tem grande importância do ponto de vista econômico, sendo utilizado na construção civil e confecção em mobiliário de luxo, estacas, esteios e mourões (Carvalho, 2009). Tornando-o uma das espécies mais almejadas em plantios comerciais de espécies nativas. Assim, o vinhático se apresenta como um excelente modelo biológico com notável importância ecológica e econômica, sendo suas mudas utilizadas da restauração aos talhões comerciais

Coleta de dados nos remanescentes

Serão selecionadas 10 populações de *P. reticulata* presentes áreas de Mata Atlântica no Estado da Bahia, sendo elas: 5 áreas restauradas e 5 remanescentes florestais. As áreas serão selecionadas arbitrariamente e pareadas (1 restauração e 1 remanescente por região), sendo a presença da espécie alvo em número suficiente para a amostragem o fator determinante para escolha da área.

Serão amostrados 25 indivíduos adultos com distância mínima de 50 mts entre si em cada área, os indivíduos serão selecionados aleatoriamente, respeitando a distância mínima entre eles e georreferenciados com auxílio do GPS (Sistema de Posicionamento Global). Serão coletados material vegetal, folhas e/ou câmbio, de todos os indivíduos amostrados para posterior extração de DNA e análises genéticas. Também serão coletados material vegetal de 25 indivíduos regenerantes (plântulas) em cada área a fim de identificar a presença do fluxo gênico.

Coleta de material vegetal na área de conservação ex situ

Será coletado material vegetal dos 300 indivíduos adultos de *P. reticulata* mantidos na população base (área de conservação *ex situ*) da Symbiosis Investimentos e Participações S.A, localizada no distrito de Trancoso, Porto Seguro / BA. Os indivíduos desta área de

conservação são divididos em famílias compostas por 1 matriz e seus prováveis filhos, assim pretendemos caracterizar geneticamente esses indivíduos e calcular o grau de parentesco entre eles, a fim de fornecer subsídios para a produção de propágulos que serão utilizados em plantios comerciais dando suporte tecnológico molecular e inovador ao melhoramento genético florestal desta espécie nativa.

Extração e quantificação de DNA

A extração do DNA de cada indivíduo amostrado será feita através do protocolo CTAB 2% (Doyle and Doyle 1990) com algumas alterações quando necessárias. Para estimar a qualidade e concentração do DNA serão realizadas comparações com padrão de DNA de *phago* λ e corados com GelGreen™, sendo a qualidade da extração avaliada por eletroforese em gel de agarose a 1% e a quantificação do DNA será feita com o auxílio do espectrofotômetro NanoDrop 2000 (Thermo Scientific™).

Amplificação

O DNA de cada indivíduo amostrado será amplificado em termociclador Life Pro (Bioneer Technology Co., China), com o programa de amplificação indicado para cada *primer*. Serão usados 14 locos marcadores do tipo microssatélites (também conhecidos por SSR – *simple sequence repeats*) desenvolvidos para *P. reticulada*, anteriormente (Cruz et al., 2012; Oliveira et al., 2012). Para as amplificações do DNA serão utilizados *mix* de PCR (volume final 13 μ L), contendo 0.25 mM dNTPs, 1.5 mM MgCl₂, 1X PCR Buffer (pHneutria I0 - 100 mM (NH₄)₂SO₄, 100 mM KCl, 100 mM Tris-HCl pH 8.4, 1% Triton X-100), 0.25 mM BSA, 0.06 μ M do *primer forward* e 0.12 μ M do *reverse*, 1 U de Taq DNA *polymerase* (Phoneutria, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil), 0.4 μ M da fluorescência M13 e 7.5ng do DNA genômico.

A qualidade da amplificação será avaliada através da eletroforese em gel de agarose à 2% de parte das amostras amplificadas, e posteriormente submetida à eletroforese capilar em sequenciador automático ABI3500 (Applied Biosystems, USA) para separação dos fragmentos SSR em estratégia *multiload* para poupar recursos e tempo de experimentos no laboratório. As genotipagens serão realizadas com ajuda do *software* GeneMarker (SoftGenetics, USA).

ANÁLISE DOS DADOS

Primeiramente será feito um teste no *software* Micro-Checker v. 2.2.3 (Van Oosterhout et al., 2004) para estimar a frequência de alelos nulos e corrigir possíveis erros de genotipagem, utilizando um intervalo de confiança de 95%.

Para responder a primeira pergunta “Existe diferença na diversidade genética nas populações de *P. reticulata* em áreas restauradas e remanescentes florestais?” Será feita a caracterização da diversidade genética e o pool gênico das populações através da estimação de diversos parâmetros genéticos como a heterozigosidade observada e esperada (H_O e H_E, respectivamente), número médio de alelos por locus (A), riqueza alélica (A_r), número de alelos privativos (A_p) e índice de fixação de acordo com as estatísticas de Nei.

Estes parâmetros formaram um índice de diversidade de cada população, eles serão calculados com o auxílio dos pacotes *DiveRsity* (Keenan et al., 2013) e *poppr* (Kamvar et al., 2014), o índice de fixação de Nei (G_{ST}) e a distância genética serão calculados seguindo Nei

(1973) com o auxílio do pacote *pegas* (Paradis, 2010). Será realizada a Análise de Variância (ANOVA) para verificar a significância estatística da diversidade genética entre as populações dos remanescentes florestais e áreas restauradas seguido de teste de médias. Será realizada também a Análise de Variância Molecular (AMOVA) entre os remanescentes florestais e áreas restauradas, essa análise considera níveis hierárquicos de diferenciação dentro das populações e entre populações dentro dos grupos (Excoffier et al. 1992, Peakall & Smouse, 2006). Todas as análises serão realizadas no ambiente R 4.0.1 (R Core Team, 2020).

Para responder a segunda pergunta “Como a matriz circundante afeta a diversidade genética de *P. reticulata* em áreas restauradas e remanescentes florestais?” Será realizado teste de “paternidade” para atribuir um provável parental para os jovens (Santos et al., 2016), para avaliar a existência e distância de fluxo gênico entre as áreas amostradas. Com o auxílio do pacote *Demerelate* (Kraemer & Gerlach, 2017) no ambiente R 4.0.1 (R Core Team, 2020) será calculado o grau de parentesco entre as populações de *P. reticulata*.

Será correlacionada as distâncias físicas e genéticas entre as áreas restauradas e remanescentes, e se possível a identificação e caracterização de barreiras para que o fluxo gênico aconteça (presença de rios, morros, estradas, bem como a classificação da matriz circundante) com o auxílio do *software* FRAGSTATS 4.2 (McGarigal and Marks, 1994) e imagens de satélites fornecidas pela Plataforma MapBiomas 4.1. Assim será possível identificar a influência da paisagem para o fluxo gênico e fornecer subsídios para novas restaurações, além de descrever a eficiência da restauração para a conectividade entre os fragmentos.

Para responder a pergunta “Existe compartilhamento do pool gênico de *P. reticulata* entre as populações restauradas, conservação *ex situ* e remanescentes florestais?” Será realizada a Análise Discriminante dos Componentes Principais (DAPC) para descrever a estrutura genética nessas populações usando o pacote *adegenet* (Jombart & Collins, 2015). E uma análise no *software* Structure assim será possível avaliar se há compartilhamento de alelos entre as populações. Os dados de variabilidade genética dos remanescentes florestais serão comparados com a população da área de conservação *ex situ* para entender a representatividade genética mantida pela Symbiosis Investimentos e Participações S.A. Será realizada a Análise de Variância (ANOVA) seguida de teste de médias para verificar a significância estatística da diversidade genética entre as populações dos remanescentes florestais e da área de conservação *ex situ*.

E para responder a pergunta “Será que o grau parentesco genético entre os indivíduos jovens amostrados nos remanescentes florestais se mantém nas áreas restauradas e na área de conservação *ex situ*?” Será realizada uma análise de paternidade no programa CERVUS 3.0.7 (Kalinowski et al., 2007), para avaliar o parentesco, duplicidades e procedência na área de conservação *ex situ*, com todos os indivíduos afim de identificar as matrizes e seus filhos, separar as famílias e identificar possíveis clones. Com o auxílio do pacote *Demerelate* (Kraemer & Gerlach, 2017) no ambiente R 4.0.1 (R Core Team, 2020) será calculado o grau de parentesco entre as famílias para auxiliar nas ações iniciais de melhoramento florestal de *P. reticulata*.

IMPACTOS DO ESTUDO PARA A CONSERVAÇÃO

Com nossos resultados descreveremos como fragmentos de Mata Atlântica estão no ponto de vista genético, para que se entenda os níveis de diversidade dos remanescentes florestais e áreas que foram restaurados. Pretendemos propor o uso dos parâmetros genéticos para a produção de propágulos florestais para a restauração, visando a conservação e recuperação da paisagem.

Os parâmetros genéticos se apresentam como uma importante ferramenta de monitoramento da restauração e sua viabilidade no tempo e espaço, com possibilidade de previsões futuras diante de vários cenários hipotéticos. Como dito anteriormente, dado as condições críticas da Mata Atlântica, só manter o que ainda existe não é o suficiente para conservar e proteger sua biodiversidade. É preciso restaurar e inovar de forma que se favoreça o sucesso da restauração. O plantio de árvores pode reestabelecer a conectividade funcional entre as áreas restauradas e os remanescentes florestais. Assim há uma necessidade de avaliar se as técnicas de restauração empregadas até o momento têm sido eficientes para a conservação da diversidade genética das populações.

Além da importância para restauração florestal e para conhecer o status de conservação genética dos fragmentos, este trabalho também é importante no contexto da conservação *ex situ*. Afinal de contas, para se restaurar áreas em um futuro próximo, poderá ser necessário recorrer às populações em conservação *ex situ*. Então, é estratégico se manter uma população representativa do pool gênico da espécie. Com a genotipagem dos indivíduos das áreas de conservação *ex situ* será possível fornecer informações importantes para a restauração, selecionar propágulos de indivíduos não aparentados, diminuindo o coeficiente de endogamia e aumentar o pool gênico das populações a serem plantadas, maximizando a chance de sucesso da área restaurada (Basey, Fant and Kramer, 2015).

Esse projeto surge de uma parceria entre a universidade e uma empresa privada com intuito de fornecer embasamento técnico científico que auxilie no melhoramento florestal de espécies nativas. Entre os principais anseios da empresa, encontra-se a necessidade de identificação do parentesco das matrizes florestais mantidas na área de conservação *ex situ* da empresa, através de métodos moleculares a fim de aperfeiçoar e tornar mais ágil e eficiente os cruzamentos para produção de sementes e mudas de alta qualidade comercial, suprimindo o mercado madeireiro e diminuindo a demanda e a pressão sobre florestas nativas.

REFERÊNCIAS

- Aavik, T., & Helm, A. (2018). Restoration of plant species and genetic diversity depends on landscape-scale dispersal. *Restoration Ecology*, 26(June), S92–S102.
<https://doi.org/10.1111/rec.12634>
- Allendorf, F. W., Luikart, G., & Aitken, S. N. (2013). *Conservation and the Genetics of Populations*. Wiley.
- Barlow, J., Lennox, G. D., Ferreira, J., Berenguer, E., Lees, A. C., Nally, R. Mac, Thomson, J. R., Ferraz, S. F. D. B., Louzada, J., Oliveira, V. H. F., Parry, L., Ribeiro De Castro Solar, R., Vieira, I. C. G., Aragaõ, L. E. O. C., Begotti, R. A., Braga, R. F., Cardoso, T. M., Jr, R. C. D. O., Souza, C. M., ... Gardner, T. A. (2016). Anthropogenic disturbance in tropical forests can double biodiversity loss from deforestation. *Nature*, 535(7610),

144–147. <https://doi.org/10.1038/nature18326>

- Basey, A. C., Fant, J. B., & Kramer, A. T. (2015). Producing native plant materials for restoration: 10 rules to collect and maintain genetic diversity. *Native Plants Journal*, 16(1), 37–53. <https://doi.org/10.3368/npj.16.1.37>
- Breed, M. F., Harrison, P. A., Blyth, C., Byrne, M., Gaget, V., Gellie, N. J. C., Groom, S. V. C., Hodgson, R., Mills, J. G., Prowse, T. A. A., Steane, D. A., & Mohr, J. J. (2019). The potential of genomics for restoring ecosystems and biodiversity. *Nature Reviews Genetics*, 20(10), 615–628. <https://doi.org/10.1038/s41576-019-0152-0>
- Brooks, T. M., Mittermeier, R. A., Mittermeier, C. G., Da Fonseca, G. A. B., Rylands, A. B., Konstant, W. R., Flick, P., Pilgrim, J., Oldfield, S., Magin, G., & Hilton-Taylor, C. (2002). Habitat loss and extinction in the hotspots of biodiversity. *Conservation Biology*, 16(4), 909–923. <https://doi.org/10.1046/j.1523-1739.2002.00530.x>
- Carle, J., & Homgren, P. (2008). Wood from Planted Forests: A Global Outlook 2005-2030. *Forest Products Journal*, 58(October), 6–18.
- Carnus, J. M., Parrotta, J., Brockerhoff, E., Arbez, M., Jactel, H., Kremer, A., Lamb, D., O'Hara, K., & Walters, B. (2006). Planted forests and biodiversity. *Journal of Forestry*, 104(2), 65–77. <https://doi.org/10.1093/jof/104.2.65>
- Carvalho, P. E. R. (2009). *Vinhático - Plathymenia reticulata- embrapa*. 11. <http://www.cnpf.embrapa.br/publica/comuntec/edicoes/CT231.pdf>
- Cruz, M. V., Rodrigues, J. G., Souza, H. A. V., & Lovato, M. B. (2012). Isolation and characterization of microsatellite markers for *Plathymenia reticulata* (Fabaceae). *American Journal of Botany*, 99(5), 210–212. <https://doi.org/10.3732/ajb.1100511>
- Doyle, J. J., & Doyle, J. L. (1990). Isolation of plant DNA from fresh tissue. *Focus*, 12(1), 13–15.
- Fundação SOS Mata Atlântica; Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais (INPE). (2020). ATLAS DOS REMANESCENTES FLORESTAIS DA MATA ATLÂNTICA PERÍODO 2018-2019. In *Relatório Técnico* (pp. 1–61).
- Gardner, T. A., Barlow, J., Chazdon, R., Ewers, R. M., Harvey, C. A., Peres, C. A., & Sodhi, N. S. (2009). Prospects for tropical forest biodiversity in a human-modified world. *Ecology Letters*, 12(6), 561–582. <https://doi.org/10.1111/j.1461-0248.2009.01294.x>
- Giam, X. (2017). Global biodiversity loss from tropical deforestation. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 114(23), 5775–5777. <https://doi.org/10.1073/pnas.1706264114>
- Goulart, M. F., Filho, J. P. L., & Lovato, M. B. (2005). Phenological variation within and among populations of *Plathymenia reticulata* in Brazilian Cerrado, the Atlantic Forest and transitional sites. *Annals of Botany*, 96(3), 445–455. <https://doi.org/10.1093/aob/mci193>
- Horvath, Z., Ptacnik, R., Vad, C. F., & Chase, J. M. (2019). Habitat loss over six decades accelerates regional and local biodiversity loss via changing landscape connectance. *Ecology Letters*, 22(6), 1019–1027. <https://doi.org/10.1111/ele.13260>

- Jombart, T., & Collins, C. (2015). *A tutorial for Discriminant Analysis of Principal Components (DAPC) using adegenet 2.0.0* (pp. 1–43). MRC Centre for Outbreak Analysis and Modelling.
- Kalinowski, S. T., Taper, M. L., & Marshall, T. C. (2007). Revising how the computer program CERVUS accommodates genotyping error increases success in paternity assignment. *Molecular Ecology*, *16*(5), 1099–1106. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2007.03089.x>
- Kamvar, Z. N., Tabima, J. F., & Grünwald, N. J. (2014). Poppr: An R package for genetic analysis of populations with clonal, partially clonal, and/or sexual reproduction. *PeerJ*, *2014*(1), 1–14. <https://doi.org/10.7717/peerj.281>
- Keenan, K., McGinnity, P., Cross, T. F., Crozier, W. W., & Prodöhl, P. A. (2013). DiveRsity: An R package for the estimation and exploration of population genetics parameters and their associated errors. *Methods in Ecology and Evolution*, *4*(8), 782–788. <https://doi.org/10.1111/2041-210X.12067>
- Kraemer, P., & Gerlach, G. (2017). Demerelate: calculating inter-individual relatedness for kinship analysis based on co-dominant diploid genetic markers using R. *Molecular Ecology Resources*, *317*(6), 1371–1377. <https://doi.org/10.1111/ijlh.12426>
- Melo, F. P. L., Arroyo-Rodríguez, V., Fahrig, L., Martínez-Ramos, M., & Tabarelli, M. (2013). On the hope for biodiversity-friendly tropical landscapes. *Trends in Ecology and Evolution*, *28*(8), 462–468. <https://doi.org/10.1016/j.tree.2013.01.001>
- Nei, M. (1973). Analysis of gene diversity in subdivided populations. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *70*(12), 3321–3323. <https://doi.org/10.1073/pnas.70.12.3321>
- Oliveira, F. A., Tarazi, R., Menezes, I. P. P., van den Berg, C., Tsai, S. M., & Gaiotto, F. A. (2012). Microsatellite markers for *Plathymenia reticulata* (Leguminosae). *American Journal of Botany*, *99*(10). <https://doi.org/10.3732/ajb.1200051>
- Paradis, E. (2010). Pegas: An R package for population genetics with an integrated-modular approach. *Bioinformatics*, *26*(3), 419–420. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btp696>
- Payn, T., Carnus, J. M., Freer-Smith, P., Kimberley, M., Kollert, W., Liu, S., Orazio, C., Rodriguez, L., Silva, L. N., & Wingfield, M. J. (2015). Changes in planted forests and future global implications. *Forest Ecology and Management*, *352*, 57–67. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2015.06.021>
- Peakall, R., & Smouse, P. E. (2006). GENALEX 6: Genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. *Molecular Ecology Notes*, *6*(1), 288–295. <https://doi.org/10.1111/j.1471-8286.2005.01155.x>
- Plataforma MapBiomias. (2020). *Projeto MapBiomias Coleção [4.1] da Série Anual de Mapas de Cobertura e Uso de Solo do Brasil* (4.1).
- R Core Team. (2020). *R: A Language and Environment for Statistical Computing*. <https://www.r-project.org>

- Rosa, I. M. D., Smith, M. J., Wearn, O. R., Purves, D., & Ewers, R. M. (2016). The Environmental Legacy of Modern Tropical Deforestation. *Current Biology*, 26(16), 2161–2166. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2016.06.013>
- Sambuichi, R. H. R., Vidal, D. B., Piasentin, F. B., Jardim, J. G., Viana, T. G., Menezes, A. A., Mello, D. L. N., Ahnert, D., & Baligar, V. C. (2012). Cabruca agroforests in southern Bahia, Brazil: Tree component, management practices and tree species conservation. *Biodiversity and Conservation*, 21(4), 1055–1077. <https://doi.org/10.1007/s10531-012-0240-3>
- Santos, A. S., Borges, D. B., Vivas, C. V., Berg, C. Van Den, Rodrigues, P. S., Tarazi, R., & Gaiotto, F. A. (2019). Gene pool sharing and genetic bottleneck effects in subpopulations of *eschweilera ovata* (Cambess.) mart. ex miers (lecythidaceae) in the atlantic forest of southern bahia, brazil. *Genetics and Molecular Biology*, 42(3), 655–665. <https://doi.org/10.1590/1678-4685-gmb-2018-0140>
- Santos, A. S., Cazetta, E., Dodonov, P., Faria, D., & Gaiotto, F. A. (2016). Landscape-scale deforestation decreases gene flow distance of a keystone tropical palm, *Euterpe edulis* Mart (Arecaceae). *Ecology and Evolution*, 6(18), 6586–6598. <https://doi.org/10.1002/ece3.2341>
- Supriatna, J., Dwiyahreni, A. A., Winarni, N., Mariati, S., & Margules, C. (2017). Deforestation of primate habitat on Sumatra and adjacent Islands, Indonesia. *Primate Conservation*, 31(1), 71–82.
- Vallejos, M. A. V., Padial, A. A., Vitule, J. R. S., & Monteiro-Filho, E. L. de A. (2020). Effects of crowding due to habitat loss on species assemblage patterns. *Conservation Biology*, 34(2), 405–415. <https://doi.org/10.1111/cobi.13443>
- Van Oosterhout, C., Hutchinson, W. F., Wills, D. P. M., & Shipley, P. (2004). MICRO-CHECKER: Software for identifying and correcting genotyping errors in microsatellite data. *Molecular Ecology Notes*, 4(3), 535–538. <https://doi.org/10.1111/j.1471-8286.2004.00684.x>
- Wright, S. J., & Muller-landau, H. C. (2006). The Future of Tropical Forest Species 1 Amazon Basin and Guiana Shield , or the Congo Basin and western Given the importance of habitat loss to estimates of future. *Biotropica*, 38(3), 287–301. <https://doi.org/DOI 10.1111/j.1744-7429.2006.00154.x>
- Zemanova, M. A., Perotto-Baldivieso, H. L., Dickins, E. L., Gill, A. B., Leonard, J. P., & Wester, D. B. (2017). Impact of deforestation on habitat connectivity thresholds for large carnivores in tropical forests. *Ecological Processes*, 6(1), 1–11. <https://doi.org/10.1186/s13717-017-0089-1>