



XVI Encontro de Geneticistas do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, de 27 à 29 de julho de 2008

Sistema de cruzamento em populações naturais de *Vriesea gigantea* Gaud. (Bromeliaceae) do sul do Brasil: evolução e conservação

Paggi^{1, 2, *}, Gecele Matos; Palma-Silva^{1, 2}, Clarisse; Bodanese-Zanettini¹, Maria Helena; Lexer², Christian; Bered¹, Fernanda.

¹ Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Laboratório de Genética Molecular Vegetal, IB, Porto Alegre, P.O. Box 15053, 91501-970, RS, Brazil

² Royal Botanic Gardens, Jodrell Laboratory, Kew, Richmond, Surrey, TW9 3DS, UK

* E-mail para contato:gecelepaggi@yahoo.com.br

Introdução

Em plantas o sistema reprodutivo tem um profundo efeito na composição genética das populações naturais, sendo que as taxas de cruzamento podem variar em função de diversos fatores (Hamrick 1982). Por exemplo, em situações nas quais populações são reduzidas ou que experimentam uma redução na população de polinizadores, as taxas de fecundação cruzada também podem reduzir. A limitação de pólen é provavelmente uma consequência da fragmentação do hábitat e pode levar a quebra do mutualismo planta-polinizador (Kéry e Matthies 2004). A interrupção do fluxo gênico via transferência de pólen e dispersão de sementes também são fatores que contribuem para a perda de diversidade genética dentro de populações isoladas. Portanto, para garantir a sobrevivência das populações e manter o seu potencial evolutivo, estratégias de conservação em larga escala são necessárias para proteger plantas e polinizadores. Além disso, em situações de pouco ou nenhum fluxo gênico, por quaisquer dos motivos mencionados acima, os sistemas de cruzamento das populações podem evoluir em diferentes direções, como a autofecundação ou sistema misto de cruzamento, por exemplo, de forma a garantir a reprodução (Porcher e Lande 2005).

Vriesea gigantea Gaud. (subfamília Tillandsioideae) é uma espécie da Mata Atlântica, podendo ser encontrada desde o estado do Espírito Santo até o Rio Grande do Sul, apresenta hábito epífita, saxícola ou terrestre, sendo muito apreciada como planta ornamental (Reitz 1983). Populações naturais desta importante espécie ornamental têm sido reduzidas drasticamente devido à coleta predatória e destruição de seu hábitat. Apesar disso, poucos estudos têm sido publicados sobre a fertilidade e biologia reprodutiva desta espécie (Paggi *et al.* 2007, Palma-Silva 2008). Em um estudo anterior sobre a fertilidade de *V. gigantea* (Paggi *et al.* 2007), foi observada uma alta viabilidade das populações (Parque Estadual de Itapuã, RS), ocorrendo grande produção flores, frutos e sementes. Além disso, os experimentos de polinização manual indicaram que esta espécie é autocompatível e necessita de agentes polinizadores para que haja fecundação (Paggi *et al.* 2007). Em outro trabalho desenvolvido por nossa equipe, Palma-Silva (2008) observou que existe uma tendência latitudinal de diminuição da diversidade genética do Norte para o Sul, considerando a distribuição geográfica de *V. gigantea*, sendo que a expansão da espécie parece ter sido impedida pela diminuição do fluxo gênico nas populações marginais. A análise de microssatélites nucleares e plastidiais indicou assimetria entre o fluxo de pólen e sementes, sendo o fluxo gênico via pólen mais eficaz do que via semente numa razão de 3:1 (Palma-Silva 2008).

Em adição aos estudos de polinização e biologia reprodutiva de *V. gigantea*, este trabalho teve como objetivos: (I) estimar as taxas de cruzamento de três populações de *V. gigantea* através da análise de progênies, utilizando marcadores do tipo microssatélites; (II) estimar a estrutura genética do “pool” de pólen e a área de vizinhança efetiva de polinização; (III) utilizar esta espécie como modelo na discussão da evolução do sistema misto de cruzamento em plantas.

Material e Métodos

Três populações naturais do Rio Grande do Sul foram amostradas: Maquiné, Parque Estadual de Itapuã e Estação Ecológica do Taim. Folhas de cada planta-mãe foram coletadas para extração de DNA e a localização de cada indivíduo foi marcada com o auxílio de um GPS. As sementes (progênies) de cada planta-mãe foram germinadas e uma amostra de cinco a 20 indivíduos por família foi utilizada para a realização das análises



genéticas do sistema de cruzamento. Para tanto, oito loci de microssatélites foram utilizados: e6 e CT5 (Boneh *et al.* 2003) e VgA04, VgA06, VgB06, VgF01, VgF02 e VgG02 (Palma-Silva *et al.* 2007); os protocolos para as reações de PCR foram aqueles descritos pelos autores. Os produtos de PCR foram analisados em seqüenciador automático - ABI 3100. A taxa de fecundação cruzada nas populações foi estimada através do programa MLTR (Ritland e Jain 1981), considerando um modelo misto de cruzamento; a estrutura do pool gênico de pólen foi estimada através do método TwoGener descrito por Smouse *et al.* (2001) com o auxílio do programa POLDISP 1.0 (Robledo-Arnuncio *et al.* 2007).

Resultados e Discussão

Os principais resultados dos parâmetros analisados estão apresentados na Tabela 1. Nas populações estudadas foi observado um sistema de cruzamento misto, com taxa de fecundação cruzada de 38,8%. A alta taxa de autofecundação observada pode ser explicada pela ocorrência de autogamia e geitonogamia mediadas por polinizadores. Foi observado um alto o coeficiente de endocruzamento ($F = 0,372$), e a depressão por endocruzamento foi 0,274. As taxas de fecundação cruzada e os parâmetros de fluxo gênico contemporâneo mostraram uma tendência do norte para o sul, com aumento de autofecundação e de estruturação do “pool” gênico de pólen (Φ_{st}), sugerindo baixo fluxo gênico entre as populações. *V. gigantea* pode ser utilizada como espécie modelo para o estudo da origem e manutenção da variação natural no sistema de cruzamento em bromélias. De acordo com os dados apresentados, recomenda-se a manutenção e conservação das três populações de *V. gigantea* do Rio Grande do Sul.

Tabela 1 Estimativas de parâmetros do sistema de cruzamento para três populações de *V. gigantea* do Rio Grande do Sul, Brasil.

Populações	Maquiné	Itapuã	Taim	Espécie	
Número de famílias	11	11	5	27	
Número de progênie	176	251	91	518	
Modelo	Parâmetros				
Sistema misto (MLTR 2,3) ^a	F	0,212	0,355	0,718	0,372
	t_m	0,477	0,336	0,176	0,388
	t_s	0,337	0,225	0,106	0,244
	$(t_m - t_s)$	0,141	0,111	0,069	0,144
	r_p	0,714	0,476	0,386	0,631
	$N_{ep} (1/ r_p)$	1,4	2,1	2,59	1,58
Depressão por endocruzamento	δ	0,509	0,443	-0,088	0,274
Estrutura do pool de pólen (TwoGener, POLDISP 1,0) ^b	Φ_{st}	0,491	0,768	0,928	0,671
	δ (m)	137	403	245	147
	A_{ep} (m ²)	150	1302	480	173
(Palma-Silva <i>et al.</i> , submitido)	F_{IS}	0,225	0,489	0,408	0,261

^a Parâmetros do modelo de sistema misto de cruzamento: F , (estimado) coeficiente de endocruzamento; t_m , taxa de fecundação cruzada multilocus; t_s , taxa de fecundação cruzada média de locus único; $(t_m - t_s)$, endocruzamento biparental; r_p , correlação de paternidade; N_{ep} , número efetivo de doadores de pólen; e δ , depressão por endocruzamento.

^b Parâmetros do modelo TwoGener: Φ_{st} , estrutura de pólen corrigido; δ , distância média de polinização; e A_{ep} , área de vizinhança efetiva de polinização.

Referências Bibliográficas

Boneh L, Kuperus P e Van Tienderen PH. 2003. Microsatellites in bromeliads *Tillandsia faciculata* and *Guzmania monostachya*. Molecular Ecology Notes 3, 302-03.



XVI Encontro de Geneticistas do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, de 27 à 29 de julho de 2008

- Hamrick JL. 1982. Plant population genetics and evolution. *American Journal of Botany* 69, 1685-1693.
- Kéry M e Matthies D. 2004. Reduced fecundity in small populations of the rare plant *Gentianopsis ciliata* (Gentianaceae). *Plant Biology* 6, 683-688.
- Paggi GM, Palma-Silva C, Silveira LCT, Kaltchuk-Santos E, Bodanese-Zanettini MH e Bered F. 2007. Fertility of *Vriesea gigantea* Gaud. (Bromeliaceae), in Southern Brazil. *American Journal of Botany*, 94(4), 683-689.
- Palma-Silva C, Cavallari MM, Bárbara T, Lexer C, Gimenes MA, Bered F e Bodanese-Zanettini, MH. 2007. A set of polymorphic microsatellite loci for *Vriesea gigantea* and *Alcantarea imperialis* (Bromeliaceae) and crossamplification in other bromeliad species. *Molecular Ecology Notes*, 7, 654-657. doi: 10.1111/j.1471-8286.2006.01665.x
- Palma-Silva, C. 2008. Genética, Filogeografia e Fertilidade de populações de *Vriesea gigantea* (Bromeliaceae). PhD Thesis. Universidade Federal do Rio Grande do Sul. pp. 164.
- Porcher, E. and Lande R. 2005. The evolution of self-fertilization and inbreeding depression under pollen discounting and pollen limitation. *Journal of Evolutionary Biology* 18:497-508. doi:10.1111/j.1420-9101.2005.00905.x
- Reitz R. 1983. Bromeliáceas e a malária - bromélia endêmica. *Flora Ilustrada Catarinense*. Itajaí: Herbário Barbosa Rodrigues, 808 pp, 140 estampas, 106 mapas.
- Ritland K e Jain S. 1981. A model for the estimation of outcrossing rate and gene frequencies using *n* independent loci. *Heredity* 47, 35-52.
- Robledo-Arnuncio JJ, Austerlitz F e Smouse PE. 2007. POLDISP: a software package for indirect estimation of contemporary pollen dispersal. *Mol. Ecol. Notes* 7, 763-766. doi: 10.1111/j.1471-8286.2007.01706.x.
- Smouse PE, Dyer RJR, Westfall D e Sork VL. 2001. Two-Generation analysis of pollen flow across a landscape. I. Male gamete heterogeneity among females. *Evolution* 55(2), 260-271.