

Taxa De Fecundação Cruzada e Endogamia Em Famílias De *Eugenia dysenterica* DC Da Coleção De Germoplasma Da UFG

Eduardo Borges RODRIGUES¹, Mariana Pires de Campos TELLES², Lázaro José CHAVES³, Ronaldo Veloso NAVES³ e Rosane Garcia COLLEVATTI²

¹ Programa de Pós-Graduação de Genética e Melhoramento de Plantas (Mestrado), Escola de Agronomia e Engenharia de Alimentos, Universidade Federal de Goiás. * E-mail: eduardo.rodriques@gmail.com

² Professor Titular do Depart. de Biologia Geral, Laboratório de Genética & Biodiversidade, UFG.

³ Professor Titular da Escola de Agronomia e Engenharia de Alimentos, UFG

Palavras-chave: fecundação cruzada, germoplasma, endogamia, *E. dysenterica*

Introdução

A definição de qualquer programa de melhoramento ou de conservação de recursos genéticos que venha efetivamente dar condições para a manutenção de uma espécie nativa depende, inicialmente, do conhecimento do fluxo gênico, do sistema reprodutivo e da variabilidade genética existente nas populações (Nass et al. 2001). Sendo assim, a conservação dos recursos genéticos de uma espécie prescinde a partir do conhecimento dessas características para propor estratégias de manutenção da variabilidade genética de interesse atual e potencial para a utilização econômica e sustentável.

Nesse sentido as coleções de germoplasma podem funcionar como um método de conservação *in vivo* e *ex situ*, em que amostras da variabilidade genética de determinada espécie é conservada fora do habitat da espécie (Nass, 2007). Assim, quando se pretende manipular coleções de germoplasma em programas de melhoramento e conservação genética, uma das principais informações a serem obtidas é o conhecimento do sistema reprodutivo da espécie. Visto que o sistema reprodutivo determina a forma como os genes são transferidos e combinados nas gerações posteriores (Ritland and Jain, 1981), além de fornecer informações importantes sobre os padrões de cruzamento, a dinâmica dos processos microevolutivos e quais as melhores formas para a conservação e manejo das espécies (Oliveira et al. 2002).

O sistema reprodutivo é fundamental na composição genética das populações. Ele regula a distribuição da diversidade genética entre e dentro de

progênies, populações e subdivisões de uma população (Hamrick, 1987). Além disso, o sistema reprodutivo determina a associação entre as progênies e o grau de parentesco entre os descendentes que compõem tais progênies. Além disso, pode ter um efeito na dinâmica de estruturação genética populacional, na heterogeneidade espacial dentro das populações e no grau em que as populações podem ser geneticamente subdivididas em decorrência da seleção e da deriva genética (Seoane et al. 2005).

Segundo Clegg (1980), uma forma eficiente de se estimar a endogamia e a taxa de cruzamento ou de autofecundação é analisar o sistema reprodutivo de um conjunto de progênies por meio de marcadores genéticos. Nesse contexto, os marcadores moleculares microssatélites se destacam, pois além de quantificar o processo de transmissão de genes entre plantas, eles descrevem a transmissão de genes entre gerações e permitem uma ampla cobertura genômica para a espécie (Oliveira et al. 2002).

Neste contexto, o presente estudo teve por objetivo avaliar a taxa de fecundação cruzada e a endogamia em famílias de cagaiteira (*Eugenia dysenterica* DC), da coleção de germoplasma mantida pela Escola de Agronomia e Engenharia de Alimentos da Universidade Federal de Goiás (UFG), utilizando para tanto marcadores microssatélites polimórficos.

Material e Métodos

O estudo foi realizado em coleção de germoplasma de Cagaiteira (*E. dysenterica*) da Escola de Agronomia e Engenharia de Alimentos da UFG, localizada na cidade de Goiânia, Goiás. Foram coletados frutos em três matrizes da coleção, distantes entre si em pelo menos 30 m. De cada matriz foi retirado uma amostra de tecido foliar para a extração de DNA e coletados 25 frutos. O DNA também foi extraído das sementes e depois utilizado para a obtenção de genótipos para quatro marcadores microssatélites. Sendo o Embra-14, Embra-172 e o Embra-210 transferidos de eucalipto por Zucchi et al (2002) e o Ed-009 desenvolvido por Telles et al (no prelo).

O DNA foi extraído das três matrizes e das 75 sementes de acordo com a metodologia proposta por de Doyle & Doyle (1987), adaptada por Ferreira e Graltapaglia (1998). Para as reações de amplificação via PCR foram utilizados de 15 ng de DNA genômico, em volume de 15 µl contendo 1X Tampão da Enzima 10;

1,6mM MgCl₂; 0,21mM dNTPs; 2,16mg BSA; 0,26mM Primer (*foward + reverse*) e 1U de Taq Polimerase. Após a amplificação, os fragmentos de DNA foram separados em gel desnaturante de poliacrilamida a 6%. Os fragmentos foram corados com nitrato de prata, seguindo o protocolo de Creste et al. (2001).

Os genótipos das três famílias foram utilizados para a obtenção dos parâmetros genéticos necessários para avaliar e descrever a variabilidade genética existente nos locos utilizando o programa FSTAT v. 2.9.3.2 (Goudet, 2002) e o programa GDA (*Genetic Data Analysis*) (Lewis & Zaykin, 2002). Para a avaliação dos parâmetros relativos ao sistema de cruzamento, foi utilizado o programa MLTR (*Multilocus Mating System Program*, versão 1.1) desenvolvido por Ritland (1994).

Resultados e Discussão

Os quatro locos microssatélites analisados exibiram uma variabilidade genética bem variada (Tabela 1), com números de alelos variando entre 3 (Ed009) e 12 (EMBRA210). Os valores médios de heterozigosidade observada e esperada foram, respectivamente 0,586 e 0,611, sugerindo que a diversidade genética é relativamente baixa, considerando o número de alelos existentes (Tabela 1). Entretanto, considerando que apenas três famílias estão sendo utilizadas na análise, pode-se considerar que estes locos potencialmente exibirão uma quantidade grande de polimorfismo, quando analisados em um maior número de indivíduos. Esses valores foram semelhantes aos encontrados por Zuchhi et al (2002).

Tabela 1- Estimativas de parâmetros genéticos, em quatro locos de *E. dysenterica*, em que T_a é a temperatura de anelamento; n é o número de indivíduos analisados; A é o número de alelos por loco; H_o é a heterozigosidade observada; H_e é a diversidade gênica.

Locos	T _a (°C)	N	A	H _o	H _e
Embra-14	58	71	11	0,4788	0,7020
Embra-172	56	78	6	0,4231	0,3872
Embra-210	56	77	12	0,8051	0,8183
Ed-009	62	75	3	0,6400	0,5352
Todos Locos	--	--	8,0	0,5868	0,6107

As taxa de cruzamento multiloco (t_m) e uniloco (t_s) indicam que há uma predominância de cruzamento por alogamia (Tabela 2) nas três famílias de *E. dysenterica* oriundas da coleção de germoplasma da Escola de Agronomia e de Engenharia de Alimentos da Universidade Federal de Goiás. Este resultado

corroborar com aqueles encontrados por Zucchi et al.(2002) e Telles et al. (2003) para a mesma espécie.

A endogamia biparental, estimada pela diferença entre a taxa de cruzamento multiloco e uniloco ($t_m - t_s$) foi baixa (Tabela 2), indicando que o acasalamento entre indivíduos aparentados não está ocorrendo com frequência nestas famílias de cagaiteira da coleção de germoplasma. Esses resultados eram esperados, pois cada uma das matrizes presentes na coleção de germoplasma é proveniente de localidades diferentes do Estado de Goiás. Assumindo o equilíbrio de endogamia, a endogamia esperada (F_e), a partir das taxas de autofecundações foi igual a 0,018. Assim, aproximadamente 46% $[(0,018/0,039) \times 100]$ da endogamia observada nas progênes pode ser explicada pela taxa de autofecundação e o restante pelos cruzamentos entre parentais (Tabela 2).

Tabela 2 – Parâmetros de endogamia e sistema reprodutivo de *E. dysenterica*

Parâmetros	Estimativa (SD)
Endogamia da progênie (F_p)	0,039
Endogamia em equilíbrio de Wrigth (F_e)	0, 018
Endogamia nos parentais	-0,112 0,965
Taxa de cruzamento multiloco (t_m)	0,965 (0,069)
Taxa de cruzamento uniloco (t_s)	0,909 (0,570)
Diferença ($t_m - t_s$)	0,056 (0,040)
Correlação de autofecundação (r_s)	0,476 (0,685)
Correlação de paternidade (r_p)	0,174 (0,055)

A estimativa da correlação de autofecundação (r_s) revelou que não há variação significativa entre a taxa de autofecundação entre matrizes (0,476). A correlação de paternidade (r_p) foi baixa (0,174), sugerindo que o número de polinizadores não é restrito e também pode haver paternidade múltipla entre sementes do mesmo fruto e/ou entre frutos de uma mesma matriz e que 17% dos indivíduos das progênes são oriundas do mesmo pai (Tabela 2). Os baixos das correlações de paternidade indicam que o número médio de doadores de pólen é igual a 5,75. Esses resultados indicam que *E. dysenterica* é espécie de sistema misto de reprodução, combinando autofecundações e cruzamentos, com predomínio de cruzamentos. Partes destes cruzamentos ocorrem de forma não aleatória devido à ocorrência de cruzamentos entre indivíduos parentes e parte por cruzamentos biparentais.

Agradecimentos

Agradecemos ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela concessão da bolsa de pesquisador ao aluno de Pós-Graduação; e pelo apoio financeiro concedido pelo projeto CNPq (475182/2009-0).

Referências

- Clegg MT (1980) Measuring plant mating systems. **BioScience** **30**: 814-818.
- Creste S, Tulmann-Neto A, Figueira A (2001) Detection of Single Sequence Repeat Polymorphisms in Denaturing Polyacrylamide Sequencing Gels by Silver Staining. **Plant Molecular Biology Reporter**, **19**: 299-306, 2001.
- Doyle JJ and Doyle JL (1987) A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. **Phytochem Bull**, **19**:11-15.
- Ferreira M and Grattapaglia D (1998) **Introdução ao uso de marcadores moleculares em análises genética**. Embrapa, 3ed. Brasília, 220 p.
- Goudet J (2002) FSTAT, A **program to estimate and test gene diversities and fixation indices**: Version 2.9.3.2. Disponível em: <<http://www.unil.ch/izea/software/fstat.html>> Acesso em maio de 2011.
- Hamrick JL (1987) Gene flow and distribution of genetic variation in plant populations. In: Differentiation patterns in higher plants. **Academic press**, p. 53-67.
- Lewis PO and Zaykin D (2002) **GDA - Genetic Data Analysis**: version 1.1 for Windows 95/NT. Disponível em: <http://www.lewis.eeb.uconn.edu/lewishome/> Acesso em maio de 2011.
- Nass L (2007) **Recursos Genéticos Vegetais**. Embrapa Recursos e Biotecnologia, Brasília, DF, p. 193-224.
- Nass L, Valois ACC, Melo IS, Valadares-Inglis MC (eds.) (2001) **Recursos genéticos e melhoramento - Plantas**. Fundação MT, Rondonópolis, MT.1143p.
- Oliveira AF, Carvalho D, Rosado SCS (2002) Taxa de cruzamento e sistema reprodutivo de uma população natural de *Copaifera langsdorffii* Desf. na região de Lavras (MG) por meio de isoenzimas. **Rev. Br. Bot.** **25** (3): 331-338.
- Ritland K and Jain S (1981) A model for the estimation of outcrossing rate and gene frequencies using independent loci. **Heredity**, **47**: 35-52.
- Ritland, K (2004) **Multilocus mating system program MLTR**. Version 1.1. Vancouver, 1994. Disponível em <<http://genetics.forestry.ubc.ca/ritland/programs.html>>. Acesso em maio de 2011.
- Seoane CES, Sebbenn AM, Kageyama PY (2005) Sistema de reprodução em duas populações naturais de *Euterpe edulis* M. sob diferentes condições de fragmentação florestal. **Scientia Forestalis**, **69**: 13-24
- Telles MPC, Coelho ASG, Chaves LJ, Dinis-Filho JAF, Valva, FD (2003) Genetic diversity and population structure of *Eugenia dysenterica* DC. ("cagaiteira" – Myrtaceae) in Central Brazil: Spatial analysis and implications for conservation and management. **Conservation Genetics**, **4**: 685-695.
- Zucchi MI, Brondani, RV, Pinheiro, JB, Vencovsky, R. (2002) Transferability of microsatellite markers from *Eucalyptus* spp. to *Eugenia dysenterica* (Myrtaceae). **Molecular Ecology Notes**, **2**: 512-514