

ESTUDO DE GENÉTICA POPULACIONAL COM *HOHENBERGIA CATINGAE* EM FLORESTA DE GALERIA DA CAATINGA BAIANA

Hévila Mendes de Lima Silva¹; Ana Maria Benko-Iseppon²

¹Estudante do Curso de Ciências Biológicas em Licenciatura - CCB – UFPE; E-mail:hevila.ufpe@gmail.com

²Docente/Pesquisador do Depto de Genética – CCB – UFPE. E-mail: ana.iseppon@gmail.com

Sumário: Esta família vegetal ocorre especialmente nos biomas Caatinga e Mata Atlântica, sendo a caatinga reconhecida como uma floresta estacional semidecidual (SDF), sendo um dos núcleos desse bioma na América do Sul. Nesse bioma a espécie *H. cattingae* apresenta distribuição longitudinal entre o Planalto da Borborema e o Complexo da Chapada Diamantina chegando até Rio de Contas (SMITH & DOWNS, 1977; BARACHO, 2003).

Palavras-chave: SSR, Bromeliaceae, microssatélite.

INTRODUÇÃO

O complexo *Hohenbergia cattingae* apresenta grande diversidade morfológica sendo descritas cinco variedades: *H. cattingae* var. *cattingae*, *H. cattingae* var. *elongata*, *H. cattingae* var. *exbrincata*, *H. cattingae* var. *extensa* e *H. cattingae* var. *horrida*, também aceita como *H. horrida* (SMITH & DOWNS, 1977, SIQUEIRA-FILHO & LEME, 2006). Estudos de modelagem de nicho indicam a Caatinga como um ecossistema bastante estável, inclusive em relação às alterações climáticas do período pleistocênico (WERNECK *et al.*, 2011; COLLEVATII *et al.*, 2013). Desta forma, devido à sua distribuição e às variações morfológicas observadas, *H. cattingae* se apresenta como interessante objeto para um estudo de caso visando uma espécie da Caatinga do ponto de vista genético populacional à luz do conhecimento dos eventos ocorridos no período pleistocênico, refutando ou não a hipotética estabilidade.

MATERIAIS E MÉTODOS

- **Coleta de material vegetal e dados de campo** – Exemplares de espécies de *Hohenbergia* foram localizados em regiões da Cadeia do Espinhaço Baiano. Folhas jovens foram coletadas em solução concentrada de CTAB (ROGSTAD, 1992). Cada população foi georreferenciada com GPS de bolso Garmin®. No total, oito populações de *H. cattingae* foram analisadas, bem como uma população de *H. utriculosa* totalizando 108 indivíduos.
- **Extração e Quantificação de DNA** - A extração de DNA seguiu o protocolo descrito por WEISING *et al.* (2005). O DNA extraído foi quantificado em comparação com concentrações conhecidas de fago Lambda em gel de agarose 1,2%.
- **Estudos populacionais - Amplificação Heteróloga de SSR** - Foram selecionados 59 *primers* de SSR (*Simple Sequence Repeat*) disponíveis para Bromeliaceae: *Ananas comosus* - ACOM (WÖRHRMAN *et al.* 2011), *Aechmea caudata*-AC (GOETZE *et al.* 2012) e *Ortophytum ophiuroides* - OP (AIKO-GONÇALVES *et al.*, 2014) para um teste piloto. *Primers* de SSR descritos para a família Bromeliaceae foram testados em uma subamostra piloto. As reações de PCR seguiram o protocolo descrito por PALMA-SILVA *et al.* (2007), sendo aplicadas

em populações das espécies listadas anteriormente. Os produtos de amplificação foram visualizados em gel de acrilamida 5%.

- **Análise estatística – Marcadores nucleares:** Os dados foram carregados no programa MSANALYSER V4.05 (DIERINGER & SCHLÖTTERER 2003) onde foram verificados os níveis de endocruzamento para cada espécie e subpopulação. Os dados ainda foram carregados no programa Arlequin 3.5 (EXCOFFIER & LISCHER, 2010), realizando-se teste de AMOVA (AMOVA – Analysis of Molecular Variance), verificando assim o compartilhamento da diversidade genética intra- e interpopulacionais para cada espécie. A estruturação genética da amostragem coletada foi feita com o auxílio do programa STRUCTURE 2.3.4 (PRITCHARD *et al.*, 2000), obtendo-se assim os valores de K, que correspondem ao número de grupos genéticos identificados pelo programa, bem como os valores de mistura (Q) entre os indivíduos. Os valores de K foram corrigidos pelo método de EVANNO (2005) através do Structure Harvester.

RESULTADOS

Para isso, 108 indivíduos de *H. catingae* foram coletados em campo, sendo seu DNA totalextraído. As populações foram analisadas a partir de quatro *loci* microssatélites. Nas análises de grupamentos baseadas em replicações realizadas no programa STRUCTURE, três grupos genéticos principais foram identificados (K=3).

DISCUSSÃO

Para que seja mantida a coesão dentro da espécie é necessário que o fluxo gênico intraespecífico seja significativo, podendo haver casos de hibridização e introgressão, como já reportado para espécies de *Pitcairnia* (PALMA-SILVA *et al.*, 2011). Desta forma, espera-se que o fluxo gênico intraespecífico seja maior que entre aquele observado espécies (PETIT & EXCOFFIER, 2008). Ao contrário de uma total diferenciação entre espécies, a amostragem analisada apresenta um agrupamento geográfico claro, observando-se maior semelhança genética entre as populações mais próximas. A população de *H. utriculosa* (HUT) apresenta maior similaridade com as populações baianas de *H. catingae* (JAC e RIC) as quais, por sua vez, apresentam consideráveis valores de diferenciação quando comparadas às populações QUM e MPT, ambas da parte norte do Planalto da Borborema. Por outro lado, apresentam moderada diversidade quando as populações da Bahia (JAC e RIC) são comparadas com as populações de Sergipe. Os níveis de diferenciação entre as populações de QUM e MPT são maiores, fato que possivelmente deve estar associado às baixas diversidades observadas nessas populações, onde o isolamento populacional implica em um fluxo gênico muito baixo. O isolamento dessas populações pode estar relacionado com fatores biogeográficos como alterações climáticas do período pleistocênico, um isolamento atual ou passado ou ainda limitação do fluxo por polinização e dispersão ineficientes. Outros grupamentos regionais aqui observados, podem estar relacionados a fatores como depressão exogâmica e mistura entre espécies. É marcante a proximidade das populações Baianas de *H. catingae* com *H. utriculosa*, justificada pelas similaridades morfológicas entre as espécies. As populações de Sergipe, por sua vez, apresentam-se intermediárias em relação aos aspectos geográficos e de diferenciação genética, apresentando maiores valores de diversidade genética, considerando-se que estas podem estar localizadas em uma zona central de fluxo gênico. Por outro lado, as populações de RIC e JAC se apresentaram muito semelhantes, apesar da distância geográfica entre elas. Do ponto de vista filogeográfico, a estruturação genética apresentada não corrobora com hipótese de estabilidade, proposta para a caatinga por estudos biogeográficos (WERNECK *et al.*, 2011; COLLEVATTI *et al.*, 2013),

considerando-se que fatores biogeográficos sejam preponderantes na distribuição da diversidade genética de *H. catingae*. As evidências moleculares aqui analisadas indicam que fatores microevolutivos e efeitos microclimáticos devem ser levados em consideração na estimativa de modelos climáticos para a área estudada. Estratégias para a conservação de *Hohenbergia catingae* devem levar em consideração cada um dos grupos genéticos observados, de modo que toda a diversidade genética seja protegida. Além disso os padrões observados para as populações de QUM e MPT apontam para a necessidade de priorizar a conservação da região da depressão sertaneja na Paraíba.

CONCLUSÕES

Do ponto de vista morfológico a espécie *Hohenbergia catingae* é sem dúvida bastante polimórfica os dados obtidos até o momento indicam que o isolamento populacional deve ser o principal motivo baixa diversidade genética nas populações da Paraíba (MPT e QUM), sendo sua conservação de grande importância. A análise de barreiras genéticas interespecíficas, a geração de filogenias e abordagens de modelagem (planejadas como continuidade desse projeto) devem levar em consideração aspectos microevolutivos a fim de evitar discrepâncias na análise final, auxiliando no melhor entendimento da dinâmica evolutiva do grupo e no estabelecimento de ações para sua conservação.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos ao CNPq, à FACEPE e à CAPES por auxílio financeiro concedido para a realização de coletas e análises laboratoriais.

REFERÊNCIAS

- AOKI-GONÇALVES, F., LOUZADA, R. B., SOUZA, L. M., PALMA-SILVA, C. 2014. Microsatellite Loci for *Orthoephytum ophiuroides* (Bromelioideae, Bromeliaceae) species adapted to neotropical rocky outcrops. **Applications in Plant Sciences**, v. 2.
- BARACHO, G. 2003. Revisão taxonômica de *Hohenbergia* Schult. & Schult.f. subg. *Hohenbergia* (Bromeliaceae). Tese de doutorado, PPGVB, UFPE, Recife, PE.
- COLLEVATTI, R.G.; TERRIBILE, L.V.; LIMA-RIBEIRO, M.S.; NABOUT, J.C.; OLIVEIRA, G.; RANGEL, T.F.; DINIZ-FILHO, G.A. 2013. Drawbacks to Palaeodistribution Modelling: The Case of South American Seasonally Dry Forests. **Journal of Biogeography**, v 40, n.2, 345-358.
- DIERINGER, D., SCHLOTTERER, C. 2003. Microsatellite Analyser (MSA): a platform independent analysis tool for large microsatellite data sets. **Molecular Ecology Notes**, v. 3, n.1, 167-169.
- EVANNO, G., REGNAUT, S., GOUDET, J. 2005. Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: a simulation study. **Molecular Ecology**, v. 14, 2611 – 2620.
- EXCOFFIER, L., LAVAL, G., AND SCHNEIDER, S. 2006. An Integrated Software Package for Population Genetics Data Analysis Arlequin version 3.1 Computational and Molecular Population Genetics Lab (CMPG), Institute of Zoology, University of Bern, Bern, Switzerland.
- PALMA-SILVA, C.; CAVALLARI, M. M.; BARBARA, T.; LEXER, C.; GIMENES, M.A.; BERED, F. 2007. A set of polymorphic microsatellite loci for *Vriesea*

gigantea and *Alcantarea imperialis* (Bromeliaceae) and cross-amplification in other bromeliad species. **Molecular Ecology**, v. 7, 654–657.

ROGSTAD, S.H. 1992. Saturated NaCl-CTAB solution as a means of field preservation of leaves for DNA analyses. **Taxon**, v. 41, 701–708.

SIQUEIRA-FILHO, J.A. & LEME, E.M. 2006. Fragmentos de Mata Atlântica do Nordeste: biodiversidade, conservação e suas bromélias. **Andrea Jakobsson Estúdio Editorial**. Rio de Janeiro.

SMITH, L. B., DOWNS, R. J. 1977. Flora Neotropica. In: Tillandsioideae (Bromeliaceae). **Hafner Press**, New York, 663-1492.

WERNECK, M.D.S.; SOBRAL, M.E.G.; ROCHA, C.T.V.; LANDAU, E.C. & STEHMANN, J.R. 2011. Distribution and Endemism of Angiosperms in the Atlantic Forest. **Natureza & Conservação**, v. 9, 188-193.