

# ANÁLISE DA DIVERSIDADE GENÉTICA EM ESPÉCIES DO GÊNERO *Herbertia* (Iridaceae)

Alice M. Flores, Eudes Maria Stiehl Alves, Lilian Eggers, Tatiana T. de Souza-Chies.

## INTRODUÇÃO:

### *Herbertia lahue*

- Herbácea perene;
- Raiz bulbosa;
- Folhas plicadas;
- Floração primaveril efêmera;
- Flores actinomorfas;
- Polinização entomófila;
- Cinco espécies para a região sul do Brasil;
- Espécie de *Herbertia* com os maiores níveis de diversidade morfológica.
- Possui um potencial ornamental muito grande.

## OBJETIVO:

O objetivo desse estudo foi avaliar a divergência genética de seis populações da espécie *H. lahue*, uma das espécies do gênero *Herbertia* com os maiores níveis de diversidade morfológica. Para tanto, o estudo foi realizado com seis populações da espécie (Figura 1 e Tabela 1).

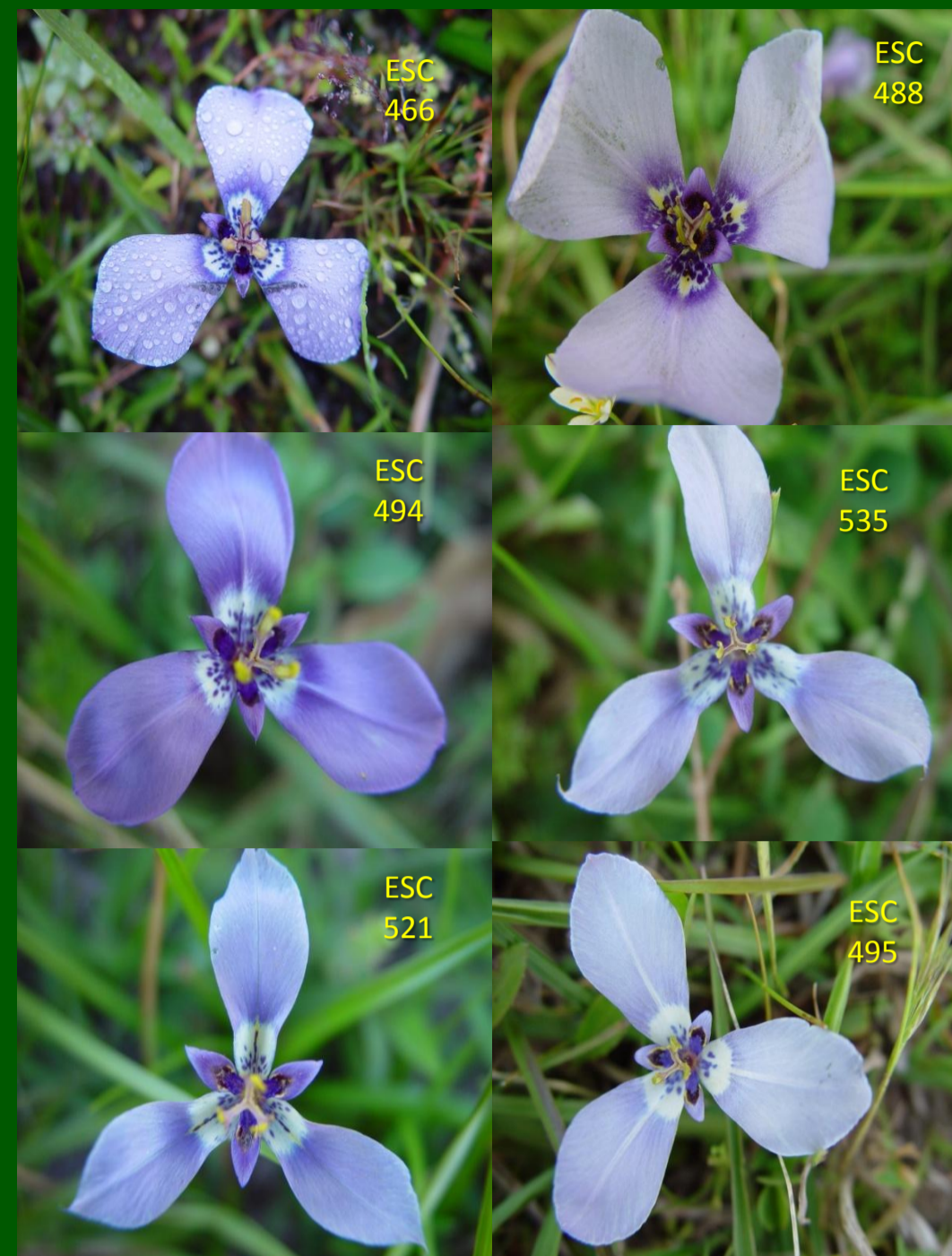


Figura 2. Fotos dos ESCs em seus ambientes naturais. As fotos mostram diferenças significativas nas morfologias das flores. ESC: coletores Eggers e Souza-Chies. Fotos de Lilian Eggers.

## MATERIAL E MÉTODOS:

### I- Análise da variabilidade genética:

- 1) **Coleta de material vegetal:** O tecido foliar coletado foi imediatamente individualizado e desidratado em sílica gel para evitar a degradação de DNA.
- 2) **Análise molecular:**
  - Extração do DNA de todos os indivíduos de cada população (protocolo segundo Doyle & Doyle 1987);
  - Quantificação do DNA extraído (com auxílio do espectrofotômetro da marca nanodrop<sup>®</sup>);
  - Amplificação do DNA por marcadores ISSR (Inter Simple Sequence Repeats) utilizando seis primers (Tabela 2), as reações foram realizadas em um volume total de 25µl contendo os seguintes reagentes a uma concentração final por reação de: tampão de PCR (1x); MgCl<sub>2</sub> (2,4mM); dNTP total (1,6mM); primer (0,4mM); Taq (1U); DNA (20ng). O volume foi completado para 25 µl com H<sub>2</sub>O miliQ;
  - Eletroforese em gel de agarose do material amplificado, de modo a comparar as bandas (através de eletroforese horizontal em gel de agarose a 1,5% corado com Gel Red<sup>™</sup>). Foi utilizado um Ladder com bandas de 100 a 2080 pares de base para se obter o padrão de bandas das amostras.
  - Os resultados foram obtidos através do *GenAEx* e *GenePop*.

Tabela 1. Relação das populações de *H. lahue* analisadas nesse estudo.

Código	Local de coleta	Região Fisiográfica	Coordenadas Geográficas		Nº de indivíduos por acesso
			Latitude	Longitude	
ESC 466	Caçapava do Sul	Sudeste	30°49'58,8"S	53°30'14,1"W	13
ESC 488	São Gabriel	Fronteira Oeste	30°19'37,8"S	54°22'20,1"W	27
ESC 494	Livramento	Fronteira Oeste	30°48'15,6"S	55°15'47,1"W	30
ESC 495	Livramento	Fronteira Oeste	30°48'14,2"S	55°15'41,2"W	30
ESC 521	Barra do Quaraí	Fronteira Oeste	30°11'20,1"S	57°28'11,2"W	33
ESC 535	Entre-Ijuís	Noroeste	28°27'21,8"S	54°23'56,7"W	32

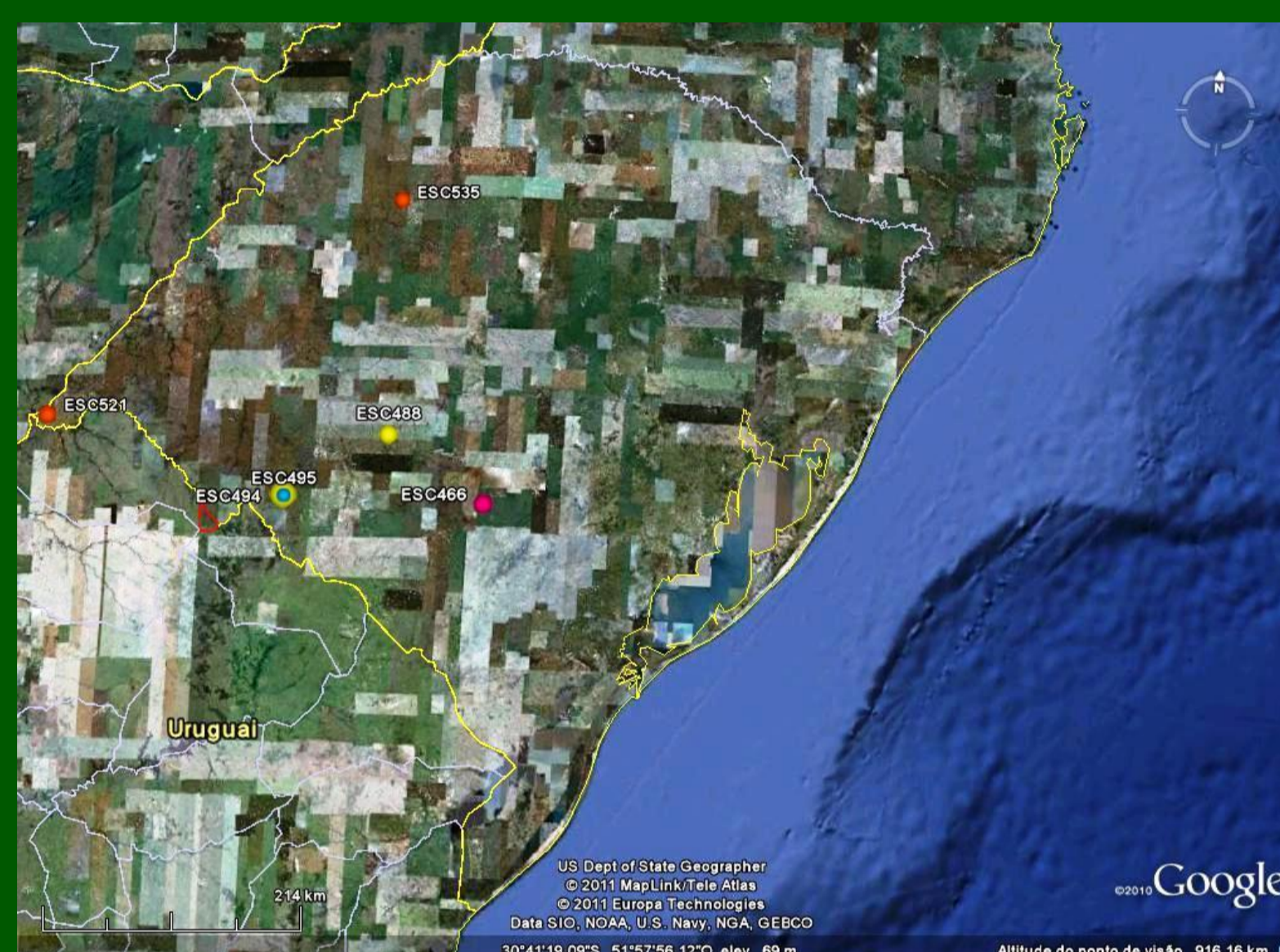


Figura 2. Mapa de distribuição das populações de *Herbertia* estudadas.

Tabela 2. Primers de ISSR-PCR selecionados para o presente estudo.

Código	Sequência
P2	(GA) <sub>8</sub> T
SP2	(AG) <sub>8</sub> C
SP3	(CT) <sub>8</sub> G
F3	(AG) <sub>8</sub> YC
F4	(GA) <sub>8</sub> YC
F13	(CT) <sub>8</sub> <sup>a</sup>

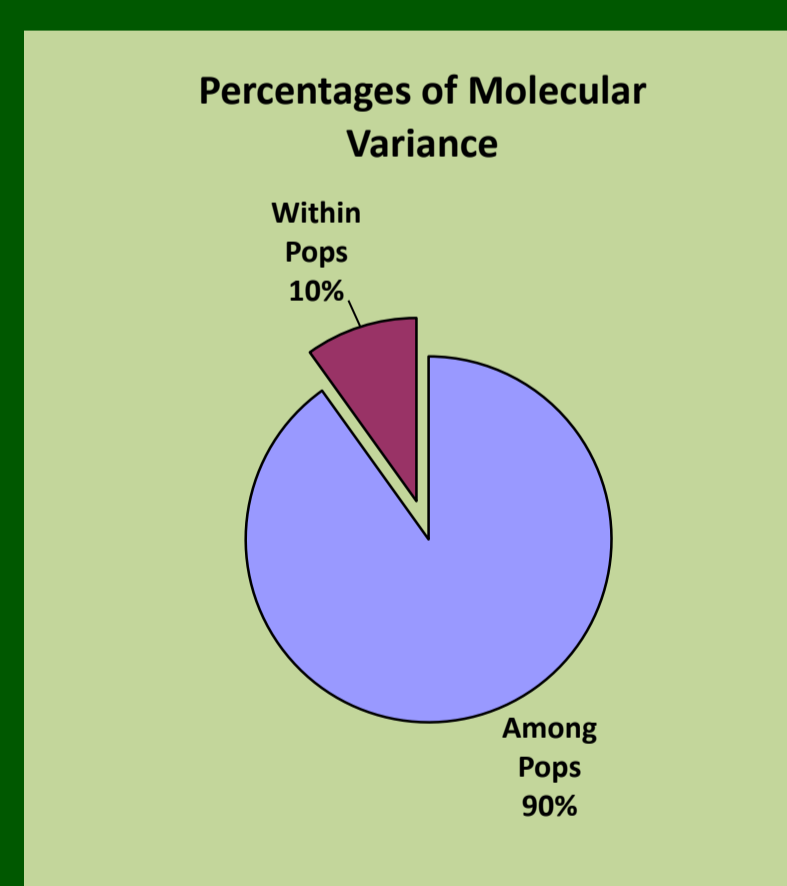


Figura 3. Distribuição da variância molecular nas populações investigadas

## RESULTADOS E DISCUSSÃO:

- Na análise de AMOVA, existe uma grande variabilidade entre as populações e uma variabilidade muito pequena dentro das populações (Figura 3), o que pode sugerir uma preferência por autopolinização das populações estudadas;
- Estudos preliminares realizados em casa de vegetação tem indicado uma predominância da autopolinização.
- As populações foram divididas em dois grandes grupos, o primeiro agrupa quatro populações com valores menores de heterozigidade (ESC 488, ESC 466, ESC 495 e ESC 535), já o segundo agrupa as duas populações com os maiores valores de heterozigidade (ESC 494 e ESC 521) (Fig. 4 e Tabela 3).

• FST = 0,901, indicando que as populações estão altamente estabilizadas;

Tabela 3. Relação do número de bandas, porcentagem de bandas polimórficas e valores de Heterozigidade esperada para as seis populações estudadas.

População	Nº bandas	% bandas polimórficas	He	
			Média	Desvio padrão
ESC 466	37	18,31%	0,070	0,019
ESC 488	50	8,45%	0,038	0,015
ESC 494	32	25,35%	0,089	0,020
ESC 495	37	1,41%	0,005	0,005
ESC 521	29	12,68%	0,040	0,013
ESC 535	43	36,62%	0,161	0,026

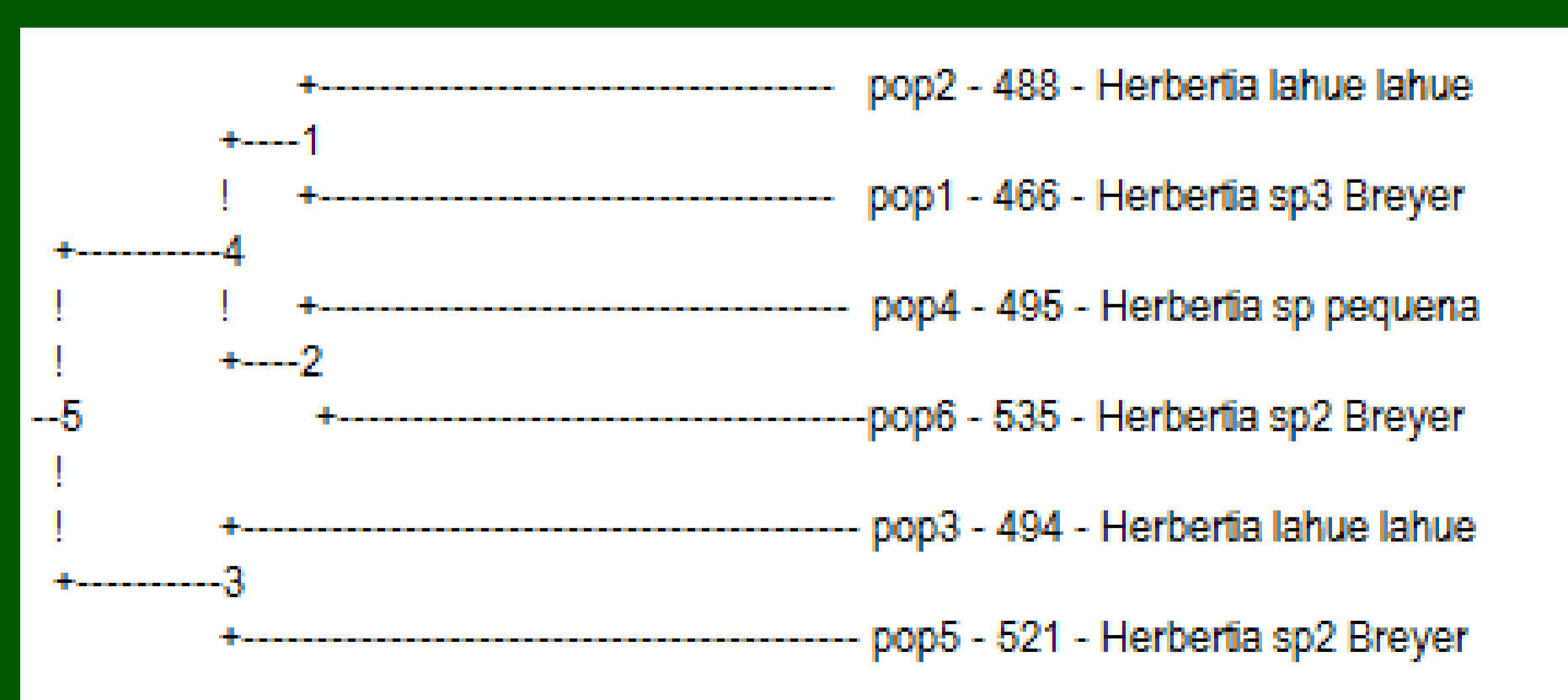


Figura 4. Dendrograma obtido de análise das seis populações estudadas. sp2 e sp pequena: Breyer (1827).

## Referências Bibliográficas

Breyer LM (1983) *Herbertia* Sweet 1827 (Iridaceae). Curso de Pós Graduação em Botânica. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre/RS. (Dissertação de Mestrado). 235P.

Doyle JJ & Doyle JL (1987) A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. *Phytochem Bulletin* 19:11-15

## Agradecimentos:

FAPERGS, CNPq e CAPES/COFECUB