

DIVERSIDADE GENÉTICA EM POPULAÇÕES DE *Ilex paraguariensis* (erva-mate)

Lorena Ramos da Mata¹; Marlei de Fátima Pereira²; Ana Yamaguishi Ciampi³, Valderês Aparecida de Sousa⁴, Vânia Cristina Rennó Azevedo⁵,

¹ Analista Embrapa Cenargen, Laboratório de Genética Vegetal, lorena.mata@embrapa.br

² Professora Doutora do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Goiás (IFG), Campus de Formosa, rmarleipereira@yahoo.com.br

³ Pesquisadora Embrapa Cenargen, Laboratório de Genética Vegetal, aciampi@cenargen.embrapa.br

⁴ Pesquisadora Embrapa Florestas, Laboratório de Genética, valderes@cnpf.embrapa.br

⁵ Pesquisadora Embrapa Cenargen, Laboratório de Genética Vegetal, vania.azevedo@embrapa.br

Resumo: O objetivo deste trabalho foi avaliar a diversidade genética em cinco populações naturais de *Ilex paraguariensis* (erva-mate) para subsidiar o desenvolvimento de estratégias de conservação da espécie. As áreas amostradas constituem populações naturais sob manejo extrativista nas regiões Sul e Centro-Oeste do Brasil. Foram analisados 15 locos SSR desenvolvidos previamente para a espécie. Foi detectado alto grau de multialelismo em todas as populações e alta diversidade genética. Com exceção da população de Putinga (RS), todas apresentaram excesso de heterozigotos, o que pode estar associado ao fato de ser uma espécie dióica.

Palavras-chave: diversidade genética, microssatélites, conservação *in situ* e *ex situ*, erva-mate.

Introdução

A erva-mate (*Ilex paraguariensis*) é uma espécie arbórea da família das aquilofáceas, dióica, que ocorre na floresta ombrófila, apresenta crescimento lento ou moderado, típica de florestas maduras e pode chegar a crescer até aos 12 metros de altura. Possui ampla distribuição natural, sendo nativa do Continente Americano e consiste na principal atividade econômica de muitos produtores e pequenos municípios na região Sul do Brasil.

O entendimento dos padrões de variação genética da espécie é utilizado de maneira efetiva para estabelecer estratégias para conservação *in situ* e *ex situ*.

Os marcadores moleculares microssatélites consistem em unidades de cerca de 1 a 6 nucleotídeos, repetidas *in tandem* no genoma de eucariotos e procariotos. Apresentam alto nível de polimorfismo, o que se caracteriza como uma vantagem em

estudos populacionais. São co-dominantes e apresentam alto conteúdo informativo por loco. Essas características fazem com que esses marcadores sejam ideais para estudos populacionais de genética da conservação.

O objetivo do presente trabalho foi caracterizar a diversidade genética de cinco populações naturais de erva-mate distribuídas nas regiões Sul e Centro-Oeste do Brasil utilizando marcadores microssatélites previamente desenvolvidos para a espécie.

Material e Métodos

Foram coletadas amostras de folhas de árvores em cinco populações nas regiões Sul e Centro-Oeste (Figura 1). As localidades são: Putinga (RS); Jaguariáiva (PR); Quatro Barras (PR); Caarapó (MS) e Bituruna (PR).



Figura 1. Localização das populações de *Ilex paraguariensis* amostradas. (Fonte: adaptado de Google Maps).

O DNA genômico total foi isolado de folhas frescas, segundo protocolo de Doyle & Doyle (1990), adaptado. A quantificação foi realizada em gel de agarose em comparação com DNA lambda de concentrações conhecidas. Foram analisados 15 locos SSR em analisador automático de DNA.

Foram estimados: número médio de alelos por loco (A), heterozigosidade esperada ou diversidade gênica (H_e), heterozigosidade observada (H_o) e índice de fixação (f). Os parâmetros de diversidade genética foram estimados com o programa GDA (LEWIS et al., 2001). Também foram estimadas a máxima diversidade genética possível em cada população, levando-se em consideração o valor obtido para $A =$ média de alelos por loco ($H_{max} = (A-1)/A$) e a proporção da diversidade genética máxima

possível pela relação H_{max}/H_e . As distâncias genéticas entre as populações foram estimadas com base no método UPGMA segundo Nei (1978).

Resultados e Discussão

Todas as populações apresentaram alta diversidade genética e representatividade da diversidade genética máxima, com valores de H_e variando entre 0,675 (Caarapó) e 0,768 (Putinga) e representatividade mínima de 77% (Caarapó) e máxima de 83% (Putinga). A média de alelos por loco foi de 9,8, sendo a população de Putinga a com maior média (13,5 alelos/loco), o que pode estar associado à maior amostragem de indivíduos nessa população. Estes resultados corroboram os obtidos em outros estudos realizados com erva-mate (Cansian, 2003; Kubiak, et al 2010).

Valores negativos de f foram encontrados para três populações, indicando excesso de heterozigotos. Esse resultado pode estar associado ao fato de a espécie ser dióide e ainda à tendência de seleção contra homozigotos, comum em espécies arbóreas. A população de Quatro-Barras aderiu ao esperado para uma população em equilíbrio de Hardy-Weinberg e a população de Putinga foi a única que apresentou excesso de homozigotos (Tabela 1).

Tabela 1. Estimativas obtidas para cada população. Tamanho amostral (n), número médio de alelos por loco (A), heterozigosidade esperada (H_e), heterozigosidade máxima (H_{max}), proporção da H_{max} (H_e/H_{max}), heterozigosidade observada (H_o), índice de fixação (f).

População	n	A	H_e	H_{max}	H_e/H_{max} (%)	H_o	f^*
Putinga- RS	96	13,5	0,768	0,926	83	0,646	0,160
Jaguaraíva - PR	48	8,5	0,718	0,882	81	0,808	-0,127
Quatro Barras - PR	48	8,9	0,695	0,888	78	0,695	0,000
Caarapó - MS	48	7,9	0,675	0,873	77	0,745	-0,106
Birituna - PR	48	10	0,736	0,900	82	0,788	-0,072
Média	-	9,8	0,718	0,897	80	0,737	-0,025

*Valores consistentes de f para todas as populações, exceto a para média total. Intervalo de Confiança *bootstrap* 95%.

A diversidade genética intrapopulacional foi elevada e a divergência entre populações (Tabela 2) variou entre 2,4% (Bituruna e Quatro-Barras) e 22,3% (Jaguaraíva e Caarapó). Resultados semelhantes foram encontrados em estudos com marcadores RAPD, onde a divergência genética entre populações foi significativa, apesar de baixa em todas as comparações (Cansian, 2003).

Esses resultados indicam que a espécie apresenta alta diversidade genética e que para estratégias de coleta de sementes para conservação *ex situ*, deve-se representar o máximo de áreas possíveis.

Tabela 2. Matriz da diversidade genética (F_{st}) entre populações. Todos os valores significativos (IC 95%).

População	Putinga-RS	Jaguaraíva -PR	Quatro Barras-PR	Caarapó - MS
Jaguaraíva – PR	0,186	-		
Quatro Barras – PR	0,167	0,175	-	
Caarapó – MS	0,185	0,223	0,125	-
Bituruna – PR	0,151	0,166	0,024	0,096

A população de Putinga apresentou maior endogamia e maior distância genética em relação às populações analisadas (Figura 2), apesar de não ser a população mais distante fisicamente. Foi detectada menor distância genética entre as populações de Quatro Barras-PR e Bituruna-PR.

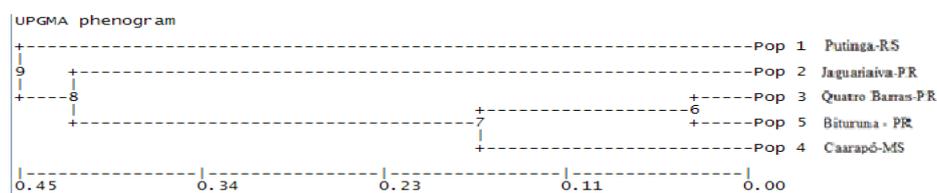


Figura 1. Distâncias genéticas calculadas segundo Nei-1978, e um phenograma UPGMA.

Conclusão

Os marcadores microssatélites podem ser utilizados com eficiência para a diferenciação e caracterização de populações de erva-mate. Comparando-se com estudos de marcadores moleculares RAPD, a variabilidade genética apresentada foi maior, o que pode ser explicado pelo alto polimorfismo dos microssatélites analisados.

O trabalho demonstrou que as regiões estudadas apresentaram alta diversidade genética e significativa divergência genética entre si. Todas conservam elevada diversidade genética e devem ser consideradas para definição de estratégias de conservação.

Referências Bibliográficas

CANSIAN, R.L.; Variabilidade genética e de compostos voláteis e semi-voláteis em populações nativas de *Ilex paraguariensis*. (St Hil) do Brasil, visando a conservação da espécie. Dissertação (mestrado), Universidade Federal de São Carlos, SP. 2003. 82p.

DOYLE, J.J.; DOYLE, J.L. Isolation of plant DNA from fresh tissue. **Focus** 1, 13-15, 1990.

KUBIAK, G.B.; SLAVIEIRO, L.B.; GOLUNSKI, C.M.; MOSSI, A.J.; TONIAZZO, G.; CANSIAN, R.L. Comparação da variabilidade genética entre plantas adultas e jovens de *Ilex paraguariensis* St. Hil. De uma área de floresta urbana geneticamente isolada. **Perspectiva**, v. 34, n. 125, p. 7-15, 2010.

LEWIS, P. O.; ZAYKIN, D. **Genetic Data Analysis: Computer program for the analysis of allelic data**, 2001. Disponível em: <http://www.eeb.uconn.edu/people/plewis/software.php>. Acesso em: 28 jun. 2012.