



ARTIGO

Estrutura genética populacional em *Solanum lycocarpum* A. St.-Hil. (Solanaceae), comparando população natural e sob influência antrópica, estimada por marcadores isoenzimáticos

Tânia Maria de Moura^{1*}, Eline Fernandes Teobaldo Guimarães², Gabriela Rocha Defavari³, Maria Andréia Moreno⁴, Elza Martins Ferraz⁴, Paulo Yoshio Kageyama⁴ e Sybelle Barreira⁵

Recebido: 08 de maio de 2011 Recebido após revisão: 12 de julho de 2011 Aceito: 02 de agosto de 2011
Disponível on-line em <http://www.ufrgs.br/seerbio/ojs/index.php/rbb/article/view/1907>

RESUMO: (Estrutura genética populacional em *Solanum lycocarpum* A. St.-Hil. (Solanaceae), comparando população natural e sob influência antrópica, estimada por marcadores isoenzimáticos). A lobeira (*Solanum lycocarpum* A. St.-Hil.) é uma espécie típica do Cerrado brasileiro. Apresenta ampla distribuição e ocorre com maior densidade em ambientes sob influência antrópica. Ocupa facilmente margens de estradas, onde os indivíduos podem atuar como *stepping-stones*, favorecendo a conectividade genética entre populações. Baseado nisto, o presente estudo teve por objetivo conhecer a estrutura genética em populações de *S. lycocarpum* visando verificar a ocorrência de fluxo de genes entre estas. Para tanto, foram estudadas duas populações por meio de sete locos isoenzimáticos. Os resultados não indicaram endogamia dentro de populações; porém, a divergência genética foi significativa e de 8%. Os resultados apontam para a tendência de um isolamento genético das populações, e ressaltam o efeito negativo da fragmentação em populações de *S. lycocarpum*. O Cerrado brasileiro vem sofrendo intenso processo de devastação, e, por consequência disso, a ameaça de erosão genética detectada em *S. lycocarpum* podem também estar ocorrendo em outras espécies nativas deste bioma.

Palavras-chave: Cerrado, conservação, deriva genética, fragmentação, lobeira-do-cerrado, marcadores moleculares bioquímicos.

ABSTRACT: (Population genetic structure in *Solanum lycocarpum* A. St.-Hil. (Solanaceae), between natural and disturbed population, estimated by marker isozymes). The Wolf Apple (*Solanum lycocarpum* A. St. - Hil.) is a characteristic species of the Brazilian Cerrado. It is widely distributed and occurs in the highest densities in areas disturbed by human influence. It easily occupies roadsides where individuals may act as stepping stones favoring the genetic connectivity among populations. Based on this, the present study aimed to understand the genetic structure in populations of *S. lycocarpum* to establish whether gene flow is occurring among populations. We studied two populations using seven allozyme loci. The results indicated no inbreeding within populations but genetic divergence was significant (8%). This results show a tendency toward genetic isolation of populations and highlights the negative effect of fragmentation on populations of *S. lycocarpum*. The Brazilian Cerrado had come under intense process of the devastation, and the threat of genetic erosion detected in *S. lycocarpum*, can be occurring too in the other native species in the Cerrado biome.

Key words: Cerrado, conservation, fragmentation, genetic drift, Wolf Apple, biochemists molecular markers.

INTRODUÇÃO

Solanum lycocarpum A. St.-Hil., popularmente conhecida como lobeira, é uma espécie típica e de ampla distribuição no Cerrado brasileiro. Seus representantes ocupam ambientes degradados, ocorrendo em maior densidade que em áreas preservadas. É uma espécie que floresce e frutifica em todos os meses do ano, ocorrendo maior incidência de flores na estação chuvosa (Almeida *et al.* 1998, Moura *et al.* 2010). *S. lycocarpum* apresenta flores hermafroditas e funcionalmente masculinas no mesmo indivíduo (Oliveira Filho & Oliveira 1988), sendo que o número de flores hermafroditas representa apenas 5% do total da produção de flores (Moura *et al.* 2010).

S. lycocarpum é predominantemente alógama e a taxa

de fecundação cruzada é de quase 100% (Martins *et al.* 2006) o que está, provavelmente, relacionado tanto ao elevado número de plantas doadoras de pólen, quando comparada às receptoras (Moura *et al.* 2010), quanto à autoincompatibilidade (Oliveira-Filho & Oliveira 1998), embora esta última tenha sido questionada por Martins *et al.* (2006).

A taxa de conversão de flores hermafroditas em frutos é alta (Moura *et al.* 2010) e a maturação dos frutos só se completa após caírem ao chão (Lombardi & Motta-Junior 1993). O principal agente dispersor de sementes é o lobo guará (*Chrysocyon brachyurus* Illiger 1811), contudo, dispersão secundária a curtas distâncias por formigas saúvas já foi reprotada (Courtenay 1994). As sementes são de germinação fácil e rápida (Vidal *et al.*

1. Departamento de Biologia Vegetal, Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP). Campinas, SP, Brasil.

2. Estudante de Iniciação científica. Faculdade de Ciências Sociais e Agrárias de Itapeva. Itapeva, SP, Brasil.

3. Universidade Federal da Paraíba. João Pessoa, PB, Brasil.

4. Laboratório de reprodução e genética de espécies arbóreas (LARGEA), Departamento de Ciências Florestais/Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" ESALQ/USP. Piracicaba, SP, Brasil.

5. Departamento de Ciências Florestais, Universidade Federal de Goiás (Campus Samambaia). Goiânia, GO, Brasil.

* Autor para contato. E-mail: tmariamoura@gmail.com

Tabela 1. Estimativa de diversidade genética para duas populações de *Solanum lycocarpum* estudadas com sete locos isoenzimáticos.

População	<i>n</i>	\hat{A}^*	\hat{H}_e^*	\hat{H}_o^*	\hat{f}^{**}
A	33	2,00 (0,58)	0,250 (0,209)	0,180 (0,294)	0,142 (-0,404 a 0,729)
N	45	1,86 (0,69)	0,289 (0,216)	0,223 (0,321)	0,279 (-0,177 a 0,716)
Média	39,1	1,93 (0,53)	0,270 (0,189)	0,201 (0,301)	0,284 (-0,171 a 0,712)

* () desvio padrão. ** (I.C.) Intervalo de confiança a 95% de probabilidade, usando 10000 reamostragem *bootstrap* sobre locos.

Abreviaturas: *n*, número de indivíduos amostrados; *A*, número médio de alelos por loco; H_e , diversidade gênica; H_o , heterozigidade observada; \hat{f} , índice de fixação.

1999), o que, aliado ao fato de cada fruto possuir centenas de sementes, possibilitam a sua ampla ocupação do Cerrado, inclusive em ambientes degradados e margens de estradas, que podem estar atuando como *stepping-stones* e, assim, efetuando conectividade genética entre populações (Martins *et al.* 2011).

Portanto, sabendo que a lobeira é uma espécie alógena, que apresenta ampla distribuição no Cerrado, agentes de dispersão de sementes em longas distâncias, ocupa facilmente margem de estradas e ocorre em maior densidade em áreas sob ação antrópica, é esperado que não haja limitação de fluxo de genes entre suas populações, e que os efeitos negativos da fragmentação de ecossistemas não estejam influenciando negativamente a dinâmica da espécie. Baseado nisto, o presente estudo teve por objetivo conhecer a estrutura genética de duas populações de *S. lycocarpum*, uma situada em Unidade de Conservação e outra em área de pastagem, para verificar se a fragmentação de ecossistemas está exercendo algum efeito negativo nas populações desta espécie.

MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi conduzido em duas populações situadas a Sul do estado de Goiás: A, uma população sob influência antrópica, área de pastagem de gado, no Município de Morrinhos; N, uma população natural, situada em uma Unidade de Conservação (Parque Estadual da Serra de Caldas Novas) em Caldas Novas. As populações distanciam-se em 45 km.

Foram coletadas folhas de 33 e 45 indivíduos nas populações A e N, respectivamente. As etapas de extração das enzimas do tecido vegetativo, separação por eletroforese, assim como a coloração por métodos histoquímicos, foram realizadas utilizando-se a metodologia de Alfenas (1998), com adaptações para *S. lycocarpum*. A caracterização genética foi feita por meio de sete locos isoenzimáticos (Isocitrato desidrogenase (IDH), Nicotinamida adenina dinucleotídeo desidrogenase (NADHDH), Fosfoglucomutase (PMG), Menadinona redutase (MR1 e MR2) e Peroxidase (PO1 e PO2) (Alfenas 1998).

A diversidade genética média por loco foi caracterizada a partir dos seguintes parâmetros: (*A*) número médio de alelos por loco; (H_e) diversidade gênica; (H_o) heterozigidade observada; (*f*) índice de fixação de Wright. A estrutura genética entre populações foi caracterizada pela análise da variância hierárquica das

frequências alélicas com base em Weir (1996). Foram obtidas as estimativas: (θ_p) divergência genética entre populações; (*f*) índice de fixação médio dentro de populações; (*F*) índice de fixação total para o conjunto de populações. As estimativas foram obtidas a 95% de significância, por 10.000 reamostragens *bootstrap*, utilizando o programa GDA (Lewis & Zaykin 2000).

O fluxo gênico aparente entre populações (N_m) foi estimado de forma indireta segundo o modelo de ilhas proposto por Crow & Aoki (1984). Finalmente, foi estimada a taxa de fecundação cruzada conforme descrito por Weir (1996) e Vencovsky (1994).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram encontrados 15 alelos para os sete locos analisados. O loco IDH apresentou-se monomórfico. Os resultados obtidos para número médio de alelos por loco (*A*) e diversidade gênica (H_e) foram semelhantes para as duas populações estudadas. Em ambas os valores encontrados para heterozigidade observada (H_o) foram, ligeiramente inferiores aos esperados pelo Equilíbrio de Hardy-Weinberg. Embora o valor de H_o para a população A (sob influência antrópica) seja inferior ao encontrado na outra população, o índice de fixação (*f*) não diferiu estatisticamente de zero para as duas populações (Tab. 1).

A estrutura genética populacional em *S. lycocarpum* já foi estudada por Martins *et al.* (2006) e Moura *et al.* (2009) [$\hat{A}=3,90$; $\hat{H}_e=0,331$; $\hat{H}_o=0,302$; $A=6,21$; $H_e=0,368$; $H_o=0,418$, respectivamente]. Os valores mais altos para as estimativas podem ser consequência do marcador utilizado, pois SSR (*simple sequences repeated*) é um marcador que revela maior polimorfismo em comparação às isoenzimas. No estudo de Moura *et al.* (2009), a heterozigidade observada foi superior àquela esperada pelo Equilíbrio de Hardy-Weinberg. Resultados distintos foram encontrados por Martins *et al.* (2006) e pelo presente estudo. Provavelmente essa diferença nos resultados ocorreu devido ao fato de Moura *et al.* (2009) terem utilizado apenas locos polimórficos e, conseqüentemente, terem obtido um maior número médio de alelos por loco. Nos estudos de Martins *et al.* (2006) e Moura *et al.* (2009), o índice de fixação também não foi significativo para as populações estudadas.

Embora não tenha sido constatada a ocorrência de endogamia significativa dentro das populações, a medida de diferenciação genética entre populações foi modera-

Tabela 2. Estatísticas F para as duas populações de *Solanum lycocarpum* estudadas com sete locos Isoenzimáticos.

Loco	\hat{f}	\hat{F}	$\hat{\theta}$
Idh	---	---	---
Nadhdh	0,699	0,744	0,150
Pgm	1,000	1,000	0,034
Mr1	0,962	0,962	0,002
Mr2	-0,638	-0,644	-0,003
Po1	-0,115	0,049	0,148
Po2	0,738	0,767	0,109
Média	0,284 (-0,171 a 0,712)	0,342 (-0,109 a 0,734)	0,081(0,034 a 0,124)*

* (I.C.) Intervalo de Confiança a 95% de significância obtido por 10.000 reamostragem *bootstrap* sobre locos

Abreviaturas: \hat{f} , índice de fixação devido ao sistema reprodutivo; \hat{F} , índice de fixação total para o conjunto de subpopulações; $\hat{\theta}$, divergência genética entre as populações estudadas.

da e significativamente diferente de zero ($\hat{\theta} = 0,081$) – Tabela 2. Além disso, pôde-se comprovar a ocorrência de fluxo gênico restrito entre as populações ($N_m = 0,71$).

O valor de divergência genética observada (8%) condiz com o obtido por Moura (2007) - $\theta_p = 0,080$, utilizando SSR, e tenha como provável causa a restrição do fluxo de genes. Segundo Futuyma, (2002) faz-se necessário pelo menos um migrante por geração para impedir o efeito de deriva genética nas populações, no entanto, o valor obtido aqui para esta estimativa representa um fator preocupante para a sustentabilidade genética de espécies vegetais do Cerrado, especialmente porque *S. lycocarpum* ocupa facilmente ambientes degradados, o que deveria estar promovendo conectividade entre populações. De acordo com Martins et al. (2011), indivíduos de *S. lycocarpum* situados em margem de estradas estão atuando como *stepping-stones*. Nossos resultados permitem inferir que essa conectividade não seja suficiente para evitar efeito de deriva genética. Provavelmente a fragmentação de habitat reduziu o número de indivíduos e populações desta espécie, além de ter limitado a capacidade de forrageamento de seus dispersores, gerando o isolamento das populações. Moura et al. (2011) já detectaram o efeito negativo da fragmentação de habitat na diversidade genética de populações de *S. lycocarpum*, assim como detectaram que número de indivíduos não é sinônimo de sustentabilidade genética.

A ausência de endogamia dentro de populações pode ser explicada pelo sistema reprodutivo da espécie, que é predominantemente de alogamia, com taxa de cruzamento (t_m) próximo a um (Martins et al. 2006). Pode-se detectar aqui uma taxa de cruzamento aparente de $t_a = 0,557$, como é esperado para uma espécie que apresenta sistema misto de cruzamento. Essa discrepância pode ser explicada devido à maior acurácia das informações fornecidas quando utiliza-se marcadores SSR. Também poderia ser explicada pelo fato de que a estimativa t_m é mais robusta que t_a , porém Moura (2007) encontrou $t_a = 0,918$ para *S. lycocarpum*. Portanto, as diferenças obtidas nestas estimativas estão relacionadas com os marcadores e o polimorfismo encontrados nestes.

No presente estudo foi possível detectar, por meio de marcador isoenzimático, o efeito negativo da fragmen-

tação de ecossistemas, em concordância com o detectado por Moura et al. (2011) por meio de marcadores SSR, permitindo afirmar que esta espécie nativa está sob ameaça de erosão genética, o que pode estar ocorrendo também em outras espécies nativas de Cerrado.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à equipe do Laboratório de Reprodução e Genética de espécies arbóreas (LARGEA-ESALQ/USP), pelo auxílio durante o trabalho em laboratório, e ao Dr. João Renato Stehmann, pela confirmação na identificação da espécie.

REFERÊNCIAS

- ALFENAS, A.C. 1998. *Eletroforese de isoenzimas e proteínas afins: fundamentos e aplicações em plantas e microorganismos*. Viçosa: UFV. 574 p.
- ALMEIDA, S.P., PROENÇA, C.E.B., SANO, S.M. & RIBEIRO, J.F. 1998. *Cerrado: espécies vegetais úteis*. Planaltina: EMBRAPA-CPAC. 464 p.
- COURTENAY, O. 1994. Conservation of the maned wolf: fruitful relations in a changing environment. *Canid News*, 2: 41-43.
- CROW, J.F. & AOKI, K. 1984. Group selection for polygenic behavioral trait: estimating the degree of population subdivision. *Proceedings of the National Academy of Sciences of United State of America*, 81: 607-677.
- FUTUYMA, D.J. 2002. *Biologia Evolutiva*. 2 ed. Ribeirão Preto: FUNPEC. 631 p.
- LEWIS, P.O. & ZAYKIN, D. 2000. Genetic Data Analysis: Computer program for the analysis of allelic data. Version 1.0 (d15). Free program distributed by the author over the internet from the GDA. Disponível em: < <http://alleyn.eeb.uconn.edu/gda/2000> >
- LOMBARDI, J.A. & MOTTA-JUNIOR, J.C. 1993. Seed dispersal of *Solanum lycocarpum* St.Hil. (Solanaceae) by the maned wolf, *Chrysocyon brachyurus* Illiger (Mammalia, Canidae). *Ciência e Cultura*, 45: 126-127.
- MARTINS, K., CHAVES, L.J., BUSO, G.S.C. & KAGEYAMA, P.Y. 2006. Mating systems and fine-scale spatial genetic structure of *Solanum lycocarpum* St.-Hil (Solanaceae) in Brazilian Cerrado. *Conservation Genetics*, 7: 957-969.
- MARTINS, K., CHAVES, L.J., VENCOVSKY, R. & KAGEYAMA, P.Y. 2011. Genetic structure based on nuclear and chloroplast microsatellite loci of *Solanum lycocarpum* A. St.-Hil (Solanaceae) in Central Brazil. *Genetics and Molecular Research*, 10: 665-677.
- MOURA, T. M. 2007. *Estrutura genética populacional em lobeira (Solanum lycocarpum A. St.-Hil., Solanaceae), em ambientes naturais e an-*

- tropizados no estado de Goiás*. 97f. Dissertação (Mestrado em Ecologia Aplicada). Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz (ESALQ/USP), Piracicaba, 2007.
- MOURA, T.M., SEBBENN, A.M., CHAVES, L.J., COELHO, A.S.G., OLIVEIRA, G.C.X. & KAGEYAMA, P.Y. 2009. Diversidade e estrutura genética espacial em populações fragmentadas de *Solanum spp.* do Cerrado, estimadas por meio de locos microssatélites. *Scientia forestalis*, 37: 143-150.
- MOURA, T.M., OLIVEIRA, G.C.X. & CHAVES, L.J. 2010. Correlação entre floração, frutificação e variáveis ambientais em *Solanum lycocarpum* A. St.-Hil, Solanaceae. *Bioscience Journal*, 26: 457-462.
- MOURA, T.M., SEBBENN, A.M., MARTINS, K., MORENO, M.A., OLIVEIRA, G.C.X., CHAVES, L.J. & KAGEYAMA, P.Y. 2011. Allelic diversity in populations of *Solanum lycocarpum* A. St.-Hil (Solanaceae) in protected area and in disturbed environment. *Acta Botanica Brasílica* 25(4): 937-940.
- OLIVEIRA-FILHO, A.T. & OLIVEIRA, L.C.A. 1988. Biologia floral de uma população de *Solanum lycocarpum* St Hil (Solanaceae) em Lavras, MG. *Revista Brasileira de Botânica*, 11: 23-32.
- VENCOVSKY, R. 1994. Variance of an estimative of the outcrossing rate. *Brazilian of journal of genetics*, 17: 349-351.
- VIDAL, M.C., STACCIARINI-SERAPHIN, E. & CÂMARA, H.H.L.L. 1999. Crescimento de plântulas de *Solanum lycocarpum* St. Hil. (lobeira) em casa de vegetação. *Acta Botânica Brasílica*, 13: 271-275.
- WEIR, B.S. 1996. *Genetic data analysis II*. Sunderland: Sinauer Associates. 445 p.