

Diversidade e estrutura genética espacial em populações fragmentadas de *Solanum* spp. do Cerrado, estimadas por meio de locos microssatélitesGenetic diversity and spatial genetic structure in fragmented populations of *Solanum* spp. from the Brazilian savannah, based on microsatellite lociTânia Maria de Moura¹, Alexandre Magno Sebbenn², Lázaro José Chaves³, Alexandre Siqueira Guedes Coelho³, Giancarlo Conde Xavier Oliveira⁴ e Paulo Yoshio Kageyama⁵

Resumo

O objetivo deste estudo foi quantificar e comparar com locos microssatélites os níveis de diversidade genética e a estrutura genética espacial (EGE) em populações de *Solanum lycocarpum* e *Solanum crinitum* situadas em área de Cerrado do estado de Goiás. Aproximadamente 60 árvores foram amostradas e mapeadas em cada população, sendo uma natural e uma antropizada de cada espécie. Um maior número médio de alelos por loco (A) foi detectado nas populações de *S. lycocarpum* (5,29 a 7,13 alelos), comparativamente às populações de *S. crinitum* (3,61 a 5,52 alelos). A heterozigosidade observada (H_o) foi maior que a esperada (H_e) em *S. lycocarpum*, sugerindo excesso de heterozigotos em relação ao modelo de equilíbrio de Hardy-Weinberg ($\hat{F}=-0,184$, $P<0,05$; $\hat{F}=-0,082$, $P<0,1$) e menor nas populações de *S. crinitum*, sugerindo excesso de homozigotos ($\hat{F}=0,128$, $P<0,05$; $\hat{F}=0,071$, $P<0,1$). Contudo, diferenças significativas entre as populações das espécies foram encontradas apenas para H_o ($P<0,01$) e H_e ($P<0,01$). Todas as populações apresentaram EGE. As populações de *S. lycocarpum* apresentaram EGE significativa até a distância máxima de 50 m e as de *S. crinitum* até 80 m. A EGE observada nas populações de ambas as espécies sugere que sementes coletadas de polinização aberta apresentem certos níveis de endogamia biparental.

Palavras-chave: Lobeira, Cerrado, coeficiente de coancestria, Microssatélites

Abstract

The aims of this study were to quantify and to compare the levels of genetic diversity and the spatial genetic structure (SGS) in *Solanum lycocarpum* and *Solanum crinitum* populations, located in a Brazilian savannah area in Goiás State, Brazil, using microsatellite loci. About sixty trees were sampled and mapped in each population, where one was natural and one anthropic in each species. A higher average number of alleles per locus (A) was detected in *S. lycocarpum* populations (5.29 to 7.13 alleles), compared to *S. crinitum* populations (3.61 to 5.52 alleles). The observed heterozygosity (H_o) was higher than the expected heterozygosity (H_e) in *S. lycocarpum*, suggesting excess of heterozygotes in relationship to the Hardy-Weinberg equilibrium ($\hat{F}=-0.184$, $P<0.05$; $\hat{F}=-0.082$, $P<0.1$) and was low in *S. crinitum* populations, suggesting excess of homozygotes ($\hat{F}=0.128$, $P<0.05$; $\hat{F}=0.071$, $P<0.1$). However, significant differences among populations were found only for H_o ($P<0.01$) and H_e ($P<0.01$). All populations showed SGS. *S. crinitum* populations presented significant SGS up to 50 m and in *S. lycocarpum* up to 80 m. The observed SGS in the populations of both species suggest that open-pollinated seeds will present some levels of biparental inbreeding.

Keywords: Lobeira, Brazilian savannah, Coancestry coefficient, Microsatellites

¹Professora Mestre do Departamento de Ciências Biológicas da Universidade Estadual de Goiás - Unidade Universitária Morrinhos - Rua 14, n.625 - Jardim América - Morrinhos, GO - 75650-000 - E-mail: tmourabr@yahoo.com.br

²Pesquisador Doutor do Instituto Florestal de São Paulo - Caixa Postal 1322 - São Paulo, SP - 01059-970 - E-mail: alexandresebbenn@yahoo.com.br

³Professor Doutor do Departamento de Agronomia da Universidade Federal de Goiás - Caixa Postal 131 - Goiânia, GO - 74001-970 - E-mail: lchaves@agro.ufg.br; asgcoelho@pq.cnpq.br

⁴Professor Doutor do Departamento de Genética da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" da Universidade de São Paulo - Av. Pádua Dias, 11 - Piracicaba, SP - 13418-900 - E-mail: gxolive@esalq.usp.br

⁵Professor Titular do Departamento de Ciências Florestais da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" da Universidade de São Paulo - Av. Pádua Dias, 11 - Piracicaba, SP - 13418-900 - E-mail: kageyama@esalq.usp.br

INTRODUÇÃO

A dispersão das espécies é um fator determinante da dinâmica de populações, comunidades e ecossistemas (HARDY *et al.*, 2006). O sistema de cruzamento e a dispersão de alelos via pólen via sementes em espécies arbóreas tropicais é dinâmico e sensível para fatores ecológicos. Por exemplo, o nível de fecundação cruzada e a distância efetiva de dispersão de pólen podem mudar de um evento de florescimento para outro, simplesmente em função da estrutura demográfica, fenologia de florescimento, composição e abundância de polinizadores (CARNEIRO *et al.*, 2007). Além disso, a dispersão limitada de sementes pode indiretamente limitar a dispersão de pólen, favorecendo a agregação de árvores em estrutura de famílias (HARDY *et al.*, 2006).

A estrutura genética espacial (EGE) em populações naturais, na maioria dos casos, é resultado de uma limitada dispersão de genes via sementes e via pólen, como anteriormente comentado. Porém, pode também ser o resultado de diferentes processos, incluindo pressão de seleção e eventos históricos de colonização (VEKEMANS e HARDY, 2004). Baixos níveis de imigração de pólen e dispersão de pólen e sementes a curtas distâncias, associados à estrutura genética espacial, podem causar cruzamento entre indivíduos aparentados e endogamia biparental (BITTENCOURT e SEBBENN, 2008). A endogamia biparental, por sua vez, pode desencadear a depressão endogâmica biparental. Esta, em termos práticos para a coleta de sementes para fins de restauração ambiental e conservação genética, tem os mesmos efeitos negativos observados para endogamia advinda de autofecundação, como perda de vigor, adaptação e fertilidade, além de redução na taxa de crescimento, má formação, maior taxa de mortalidade, etc. Por isso, conhecer a estrutura genética espacial de populações de espécies arbóreas é fundamental para a conservação de florestas e coleta de sementes para restauração ambiental (MARTINS *et al.*, 2006; BITTENCOURT e SEBBENN, 2008).

Estudos referentes à estrutura genética espacial são recentes (VEKEMANS e HARDY, 2004). Populações de espécies arbóreas, pelos seus mecanismos primários de dispersão de sementes, que geralmente ocorrem na vizinhança das árvores matrizes, costumam apresentar estrutura genética espacial (VEKEMANS e HARDY 2004).

Contudo, estudos de estrutura genética espacial de populações de plantas do Cerrado são recentes e escassos. Estruturação genética espacial em espécies típicas de Cerrado foram observados em *Eugenia dysenterica* (TELLES *et al.*, 2001), *Solanum lycocarpum* (MARTINS *et al.*, 2006), *Hymenaea stigonocarpa* (MORAES *et al.*, 2007) e *Dipteryx alata* (SOARES *et al.*, 2007).

Solanum lycocarpum e *Solanum crinitum* são espécies abundantes no Cerrado brasileiro, ambas conhecidas popularmente como lobeira, ocupando facilmente ambientes antropizados, local em que apresentam maiores densidades populacionais. Apesar de, aparentemente, estas espécies não serem diretamente danificadas pela intervenção humana, que vem aumentando de forma alarmante na região do Cerrado brasileiro nas últimas décadas, a influência antrópica na estrutura genética espacial destas populações ainda é desconhecida. Dentro deste contexto, o objetivo deste estudo foi quantificar e comparar por marcadores microssatélites a diversidade genética e a estrutura genética espacial intrapopulacional de populações de *S. lycocarpum* e *S. crinitum* por meio de marcadores moleculares microssatélites.

MATERIAL E MÉTODOS

Local de estudo e amostragem

As duas populações de *S. lycocarpum* estavam localizadas ao Sul do estado de Goiás. Uma consistia em uma área de pastagem (L1), 17° 55' S; 49° 00' W (Figura 1c) com predominância de *Brachiaria* spp. Nesta população, todos os indivíduos foram amostrados. A outra população estava localizada em uma Unidade de Conservação (L2), 17° 46' S; 48° 40' W, Parque Estadual da Serra de Caldas Novas – PESCAN (Figura 1d). Esta área apresentava vegetação típica de Cerrado no sentido restrito, com poucas árvores com alturas variando entre 7 e 8 m e uma alta diversidade de arbustos.

Foram selecionadas duas populações de *S. crinitum*, situadas a Nordeste do estado de Goiás, a aproximadamente 1350m de altitude. Ambas sofreram ação antrópica, porém uma das populações situava-se à margem da rodovia (C1), 19° 46' S; 49° 01' W (Figura 1b), em ambiente sob predominância de *Brachiaria* spp. e apresentava alta densidade de indivíduos de *S. crinitum* por hectare. A outra população de *S. crinitum* ocorria em área pouco perturbada (C2), 14° 07' S; 47° 31' W (Figura 1a) e apresentava

menor densidade de indivíduos por hectare do que a população localizada à margem da estrada. Nesta, foram observadas poucas árvores de altura média entre 7 e 8 m, sendo considerado, dentre as fitofisionomias do Cerrado, como um campo sujo. As populações de *S. crinitum* distanciavam-se entre si em 9 km, e as de *S. lycocarpum* em 41 km. Neste estudo, populações são definidas como conjuntos de indivíduos que ocorrem agrupados e espacialmente distantes de outro conjunto de indivíduos da mesma espécie. Assim, acredita-se que o processo de reprodução ocorra predominantemente entre os indivíduos dentro dos grupos, caracterizando populações distintas, embora não se descarte a possibilidade de troca gênica entre os grupos (fluxo gênico entre populações).

Foram coletadas folhas de aproximadamente 60 indivíduos de cada população. A amostragem foi aleatória e todas as árvores amostradas foram mapeadas com auxílio de um GPS. O material coletado foi conservado em sílica gel durante o transporte para o laboratório.

Marcadores microssatélites

A extração do DNA genômico seguiu o procedimento CTAB descrito por Ferreira e Grattapaglia (1998). Os iniciadores microssatélites (SSR) utilizados foram desenvolvidos por Buso *et al.* (2000), para o gênero *Capsicum* sp., Solanaceae, e transferidos para *S. lycocarpum* por Martins *et al.* (2006). A descrição detalhada da análise dos microssatélites pode ser encontrada em Martins *et al.* (2006). Para a análise genética dos genótipos foram utilizados três locos microssatélites (CA23, CA144, e CA158)

Análise da diversidade genética e endogamia

Para caracterizar a diversidade genética nas populações de ambas as espécies foram estimados os seguintes índices de diversidade: número total de alelos na população (\hat{A}), número médio de alelos por locos polimórficos (\hat{A}_m), heterozigosidade observada (H_o), heterozigosidade esperada (H_e), e o número efetivo de alelos por loco ($\hat{A}_e = 1/(1 - \hat{H}_e)$). Também foi calculado o índice de fixação, utilizando a expressão: $\hat{F} = 1 - (\hat{H}_o/\hat{H}_e)$. A significância dos valores de F foram testadas usando permutação (10.000) entre indivíduos de diferentes populações de mesma espécie. Todos os índices e as permutações foram calculados usando o programa FSTAT (GOUDET, 2002). Os desvios das proporções esperadas pelo modelo de equilíbrio de Hardy-Weinberg foram testados a partir do teste exato de Fisher e 10.000 permutações. Para investigar se existiam diferenças nos níveis de diversidade genética (A , H_o e H_e) e no índice de fixação (F) entre as amostras agrupadas das populações de cada espécie, foi utilizado um teste unicaudal (*one side test*) descrito por GouDET (2002) baseado em permutação (10.000).

Distribuição espacial dos genótipos

As análises para detectar se existia estrutura genética espacial nas populações de ambas as espécies foram realizadas com base na estimativa do coeficiente de coancestria. A estimativa do coeficiente (θ_{xy}) entre pares de árvores por classes de distância foi realizada segundo método descrito por Loiselle *et al.* (1995), definida para cada alelo (sendo que k varia de 1 a A) em cada par de indivíduos, x e y , como:

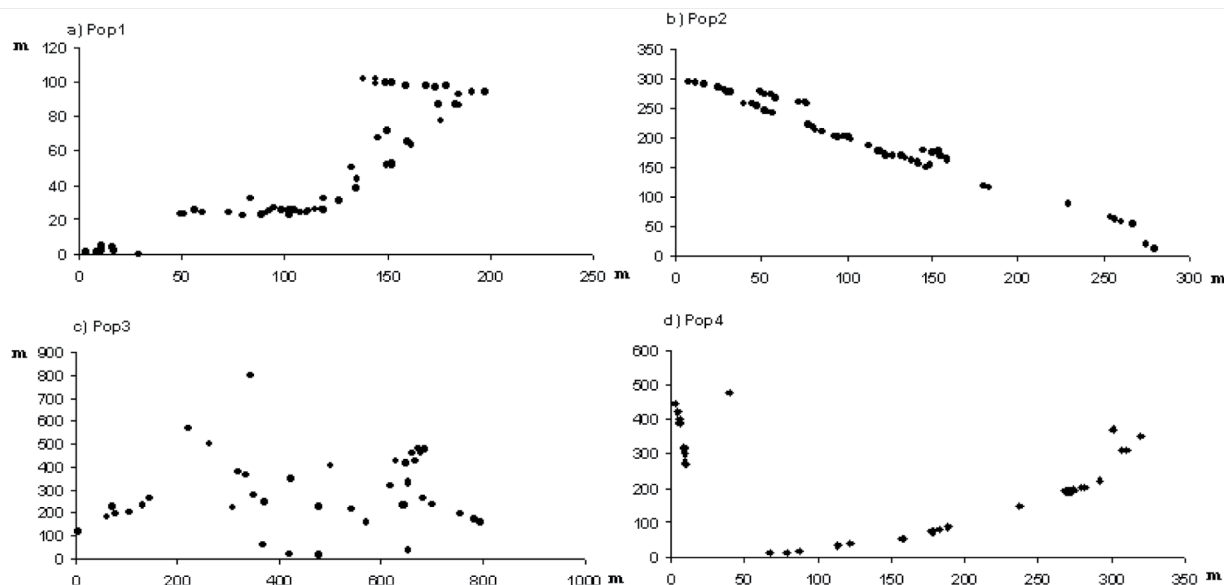


Figura 1. Distribuição espacial das árvores amostradas de *Solanum lycocarpum* (c, d) e *Solanum crinitum* (a, b).
Figure 1. Spatial distribution of the *Solanum lycocarpum* (c, d) and *Solanum crinitum* (a, b) sampled trees.

$$\hat{\theta}_{xy} = \frac{(p_x - \bar{p}_k)(p_y - \bar{p}_k)}{\bar{p}_k(1 - \bar{p}_k)} + \frac{1}{n-1}$$

em que, p_x e p_y são as frequências do alelo k nos indivíduos x e y (assumindo valores de 0, 0,5 e 1 em indivíduos homocigotos para o alelo alternativo, heterocigotos e homocigotos para o alelo sob consideração, respectivamente) e \bar{p}_k é a média da frequência do alelo k na subpopulação com tamanho amostral n . As estimativas da média multiloco foram calculadas pela ponderação de $\hat{\theta}_{xy}$ em função do índice de polimorfismo de cada alelo k , $\bar{p}_k(1 - \bar{p}_k)$.

O intervalo de confiança a 95% de probabilidade do coeficiente médio de coancestria para cada classe de distância foi estimado por permutação (1000 permutações) entre indivíduos em diferentes classes de distância. O coeficiente de coancestria e as permutações foram calculados usando o programa SPAGEDI versão 1.1 (HARDY e VEKEMANS, 2002). Como a distribuição espacial dos genótipos era diferente entre as populações e como são necessários pelo menos 80 pares de comparações de genótipos para obterem-se acuradas estimativas do coeficiente de coancestria entre pares de árvores (HARDY e VEKEMANS, 2002), foi necessário adotar diferentes classes de distâncias para as diferentes populações. As classes de distância foram criadas com base no critério de distâncias iguais entre classes. Na população 1 (Pop 1) foram utilizadas 11 classes de distância de 20 m, na população 2 (Pop 2), dez classes de 20 m e nas populações 3 (Pop 3) e 4 (Pop 4) adotaram-se 10 classes de 50 m.

RESULTADOS

Diversidade genética e endogamia

Um maior número total de alelos nos três locos (A) foi observado nas populações de *S. lycocarpum* (16 a 22 alelos), comparativamente às populações *S. crinitum* (11 a 17 alelos) (Tabela 1). Da mesma forma, um maior número médio de alelos por locos (A_m) foi observado nas populações de *S. lycocarpum* (5,29 a 7,13), comparativamente às populações *S. crinitum* (3,61 a 5,52). Contudo, o número efetivo de alelos por loco (A_e), embora baixo para as populações de ambas as espécies, foi maior nas populações de *S. crinitum* (2,06 a 1,88) do que de *S. lycocarpum* (1,49 a 1,69), mostrando que, embora a última espécie citada tenha maior número de alelos por locos, muitos destes alelos são de baixa frequência (frequência alélica entre 0,05 a 0,25) ou

raros (frequência menor que 0,05). A heterocigidade observada (H_o) foi maior que a esperada (H_e) em *S. lycocarpum*, sugerindo excesso de heterocigotos em relação ao modelo de equilíbrio de Hardy-Weinberg.

Já nas populações de *S. crinitum*, ocorreu o contrário, a heterocigidade observada foi menor do que esperada, sugerindo excesso de homocigotos. Este padrão fica mais claro observando o índice de fixação (F). O valor negativo e significativamente diferente de zero do índice F na população 1 (L1) de *S. lycocarpum* sugere seleção para heterocigotos. Por sua vez, o valor positivo e significativamente diferente de zero do índice F na população C1 de *S. crinitum* sugere endogamia. As outras duas populações (L2 e C2) apresentaram padrão similar, ou seja, ausência de endogamia, embora os valores de F tenham sido marginalmente significativos ($P < 0,1$).

Por sua vez, comparando os níveis de diversidade genética para os índices A_m , H_o , H_e e F entre as duas espécies, verificou-se ausência de diferenças significativas para os índices A_m ($P = 0,746$) e F ($P = 0,168$), mas diferenças significativas para H_o ($P = 0,000$) e H_e ($P = 0,000$).

Estrutura genética espacial

A distribuição espacial de genótipos a partir da análise do coeficiente de coancestria entre pares de árvores dentro de diferentes classes de distância (Figura 2) mostrou que ambas as populações das duas espécies estudadas apresentaram EGE. A população explorada da espécie *S. crinitum* apresentou EGE significativa até a classe de distância de 50 m (Figura 2a). O coeficiente de coancestria estimado para a primeira classe de distância ($\hat{\theta}_{xy} = 0,035$) foi próximo ao esperado entre indivíduos primos de segundo grau ($\theta_{xy} = 0,03125$). A outra população desta espécie (Figura 2b) apresentou EGE significativa entre 0 e 20 m, com coeficiente de coancestria estimado entre pares de árvores dentro desta classe ($\hat{\theta}_{xy} = 0,133$) próximo ao esperado entre meios-irmãos ($\theta_{xy} = 0,125$). A população explorada (Figura 2c) da espécie *S. lycocarpum* apresentou EGE significativa entre as classes de 0 a 80 m, com coeficiente de coancestria ($\hat{\theta}_{xy} = 0,105$) próximo ao esperado entre indivíduos meios-irmãos. Já a população natural (Figura 2d) apresentou EGE entre a classe de distância de 0 a 40 m, com coeficiente de coancestria ($\hat{\theta}_{xy} = 0,041$) próximo ao esperado entre primos de segundo e primeiro grau, $\theta_{xy} = 0,0625$.

Tabela 1. Descrição da diversidade genética e índice de fixação para populações de duas espécies arbóreas do gênero *Solanum*.

Table 1. Genetic diversity and fixation index description for populations of two species of the genus *Solanum*.

Espécie/População	<i>n</i>	<i>k</i>	\bar{A}	\bar{A}_e	H_o	H_e	\hat{F}
<i>S. lycocarpum</i> /L1	60	16	5,29	1,49	0,357	0,328	-0,184 **
<i>S. lycocarpum</i> /L2	60	22	7,13	1,69	0,480	0,409	-0,082 a
Média	60	19	6,21	1,72	0,418	0,368	-0,141
<i>S. crinitum</i> /C1	57	11	3,61	2,06	0,478	0,515	0,128 **
<i>S. crinitum</i> /C2	58	17	5,52	1,88	0,409	0,469	0,071 a
Média	57,5	14	4,56	1,97	0,444	0,493	0,098

** P<0,01; a P<0,1.

Em que: *n* = tamanho amostral; *k* = número total de alelos nos locos; \bar{A} = número médio de alelos por locos; H_o = heterozigidade observada; H_e = heterozigidade esperada; \hat{F} = índice de fixação.

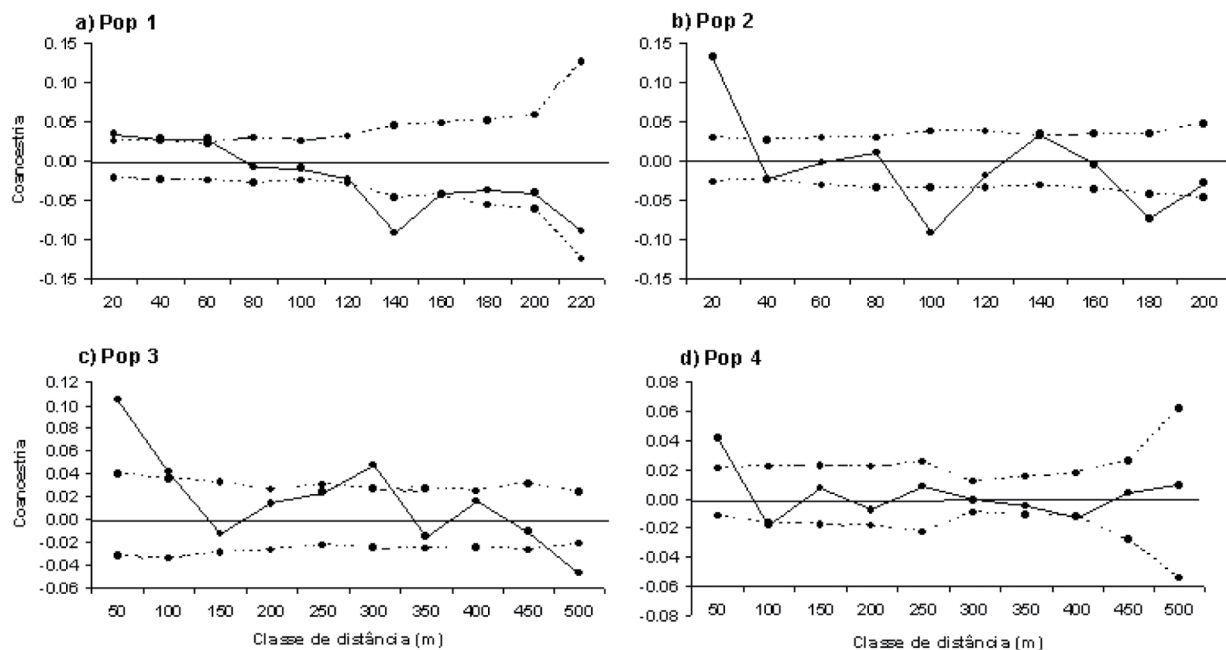


Figura 2. Coeficiente de coancestria (θ_{xy}) entre pares de indivíduos de *Solanum lycocarpum* (c, d) e *Solanum crinitum* (a, b) para diferentes classes de distâncias. (Linhas pontilhadas indicam o intervalo de confiança a 95% de probabilidade e a linha contínua é o coeficiente de coancestria).

Figure 2. Coefficient of coancestry (θ_{xy}) between pairs of individuals of *Solanum lycocarpum* (c, d) and *Solanum crinitum* (a, b) for different distance classes: (Dashed lines indicate the limits of error with a confidence interval of 95% of probability; and continuous lines the coancestry coefficient).

DISCUSSÃO

Diversidade genética

O número total de alelos encontrados em ambas as espécies foi baixo de acordo com o esperado para locos SSR. Isso ocorreu provavelmente devido ao fato de os iniciadores terem sido transferidos para *Solanum* de outro gênero de Solanaceae, *Capsicum*. Zucchi *et al.* (2003) transferiram iniciadores de gêneros distintos da família Myrtaceae, *Eucalyptus* para *Eugenia*, e também obtiveram um menor número médio de alelos por loco na espécie *Eugenia*, comparativamente ao *Eucalyptus*. A consequência de usar tais locos heterólogos é a subestimação nos níveis de diversidade genética nas populações. Contudo, como os mesmos locos foram revelados nas duas espécies, é possível a sua comparação, visto que se espera que esta subestimativa afete igualmente ambas.

Os resultados sugerem que a espécie *S. lycocarpum* apresenta maior diversidade genética em termos de número de alelos do que *S. crinitum*, embora, em termos de heterozigidades, os resultados tenham sido justamente o oposto. Foi detectado um maior número total (\bar{A}) e médio (\bar{A}_e) de alelos por loco nas populações de *S. lycocarpum* (16 a 22 alelos e 5,29 a 7,13) do que nas populações *S. crinitum* (11 a 17 alelos e 3,61 a 5,52). Contudo, o número efetivo de alelos por loco (\bar{A}_e) e a heterozigidade esperada (H_e) foram maiores nas populações de *S. crinitum* do que de *S. lycocarpum* (Tabela 1). Isto mostra que, embora *S. lycocarpum* tenha maior número de alelos por loco, muitos destes alelos são de baixa frequência ou raros, e como esta classe de alelos contribui pouco para as medidas de \bar{A}_e e H_e , visto que valores baixos de frequências alélicas elevados ao quadrado geram valores ainda mais

baixos, os valores observados de A_e e H_e foram baixos em *S. lycocarpum*. Ainda, as heterozigosidades esperada (H_e) e observada (H_o) apresentaram padrão distinto para as duas espécies. A comparação dos níveis de diversidade genética entre as duas espécies mostrou diferenças significativas para os índices H_o e H_e , sugerindo que as populações estudadas destas espécies têm características genéticas distintas.

A população que apresentou maior número de alelos (22) foi a população natural de *S. lycocarpum*, provavelmente devido ao fato de esta população ser a única situada em unidade de conservação. A população de *S. crinitum* situada na área de menor ação antrópica também apresentou número total de alelos (17) maior do que a outra população da mesma espécie (situada à margem da estrada). Esses dados sugerem que áreas naturais abrigam maior diversidade alélica mesmo para espécies que freqüentemente ocorrem em áreas antropizadas, como as duas espécies apresentadas neste trabalho. A população natural de *S. lycocarpum* também apresentou um maior número efetivo de alelos por loco ($\hat{A}_e=1,69$), heterozigosidade observada ($\hat{H}_o=0,480$) e esperada ($\hat{H}_e=0,409$) em relação à população antropizada ($\hat{A}_e=1,69$; $\hat{H}_o=0,357$; $\hat{H}_e=0,328$), reforçando a hipótese de que a localização desta em uma unidade de conservação possa ser a causa dos maiores níveis de diversidade genética.

Em *S. crinitum* o valor médio encontrado para diversidade gênica foi maior que a heterozigosidade observada (0,493 e 0,444, respectivamente), indicando excesso de homocigotos, em relação ao esperado. Padrão contrário foi observado em *S. lycocarpum*, sendo encontrada maior heterozigosidade observada que esperada ($\hat{H}_o=0,418$ e $\hat{H}_e=0,368$, valores médios) nas populações desta espécie e sugerindo um excesso de heterocigotos em relação ao esperado pelo Equilíbrio de Hardy-Weinberg. Estes padrões ficam mais claros observando-se diretamente os índices de fixação (F). Martins *et al.* (2006), estudando populações naturais de *S. lycocarpum*, obtiveram padrão semelhante ao encontrado para *S. crinitum*, no presente estudo. A heterozigosidade esperada ($\hat{H}_e=0,331$) foi maior que a observada ($\hat{H}_o=0,302$) para o conjunto de populações estudadas, porém o índice de fixação não foi significativamente diferente de zero para três das quatro populações estudadas por estes autores.

Em *S. lycocarpum*, Martins *et al.* (2006) obtiveram menor número médio de alelos por locos

($\hat{A}_m=3,90$) do que o aqui observado. Isso ocorreu devido ao fato de que, apesar de estes autores terem utilizado cinco locos SSR, dois destes (CA53 e CA161) apresentaram apenas dois alelos por loco, resultando em uma menor média aritmética de alelos por locos. No presente estudo, em ambas as populações das duas espécies estes locos foram homocigóticos para um alelo. Assim, como não traziam nenhuma informação relevante para a caracterização das populações, estes locos foram excluídos das presentes análises. Isto justifica o número elevado de alelos por locos aqui encontrados ($\hat{A}=6,21$) em relação aos resultados de Martins *et al.* (2006). Em contraste, o número médio efetivo de alelos por locos foi maior no estudo de Martins *et al.* (2006) ($\hat{A}_e=2,32$), comparativamente ao encontrado para ambas as populações e espécies, indicando que as duas populações de *S. lycocarpum* estudadas apresentam uma maior proporção de alelos raros do que ocorre nas populações estudadas por Martins *et al.* (2006).

Embora em *S. lycocarpum* tenham sido observados valores de H_e próximo aos detectados por Martins *et al.* (2006), estes autores encontraram maior heterozigosidade esperada (H_e) do que heterozigosidade observada (H_o). Porém, os valores observados por Martins *et al.* (2006) não diferiram estatisticamente de zero, sugerindo ausência de endogamia. Aqui, fato contrário foi observado e a diferença entre H_o e H_e foi significativamente diferente de zero para ambas as populações: o valor elevado de H_o indicou excesso de heterocigotos nas populações. Adicionalmente, é importante ressaltar que, apesar da baixa diversidade genética obtida para marcadores microssatélites nucleares, Martins *et al.* (2006) detectaram alta diversidade haplotípica em *S. lycocarpum*.

Estrutura genética espacial

Os resultados demonstraram que existe EGE para ambas as populações das duas espécies (Figura 2). As populações de *S. crinitum* apresentaram EGS nas classes de distância entre 0 a 50 m. Já *S. lycocarpum* apresentou EGE até 80 m em uma população e entre 0 e 40 m na outra população. Tais resultados sugerem que indivíduos localizados espacialmente próximos são parentes entre si. Esta estruturação genética intrapopulacional ocorre devido à dispersão das sementes próximo à árvore matriz. No caso das populações de *S. lycocarpum*, a EGE observada entre 0 a 80 m pode estar associada à dispersão

secundária das sementes por animais, embora seja bastante comum observar frutos desta espécie caídos embaixo da árvore matriz, o que sugere a existência de dispersores que conduzem tais frutos e sementes a distâncias maiores. O mesmo padrão pode ser observado na população natural de *S. crinitum*. Já na população antropizada de *S. crinitum*, situada à margem da estrada, pode-se constatar estruturação à distância inferior a 40 m. Isto pode ser o resultado da ausência ou de pouca atividade de dispersão animal em tal localidade.

Na população explorada de *S. lycocarpum* (Figura 2c), o coeficiente de coancestria entre a classe de distância de 0 a 50 m foi próximo ao esperado para indivíduos meios-irmãos ($\theta_{xy}=0,125$) e na natural (Figura 2d), foi próximo a primos de primeiro grau ($\theta_{xy}=0,0625$). Possivelmente, este maior coeficiente de coancestria na população explorada esteja associado ao processo de regeneração pós-exploração, resultando em uma estrutura formada por muitos indivíduos meios-irmãos. Já no caso da população menos antropizada (Figura 2d), um maior fluxo de genes via sementes e pólen (imigração de pólen e sementes externos a população) poderiam explicar a menor EGE. Em *S. crinitum*, também foi observada maior EGE na população explorada (Figura 2b) do que na natural (Figura 2a). O coeficiente de coancestria na população natural foi próximo ao esperado entre indivíduos meios-irmãos na primeira classe de distância (0 a 20 m). Já na população explorada, o coeficiente de coancestria entre a classe de distância de 0 a 20 m foi próximo ao esperado em primos de primeiro grau.

Valores semelhantes para esta espécie foram obtidos por Martins *et al.* (2006) que observaram estimativas para o coeficiente de coancestria próximas às esperadas para indivíduos meios-irmãos, para três das quatro populações estudadas pelos autores. O resultados de Martins *et al.* (2006) e os aqui obtidos sugerem que a presença de EGE nas populações de *S. lycocarpum* seja um fenômeno aparentemente comum.

Considerando que, sob cruzamentos aleatórios, o parentesco existente na população parental é igual ao coeficiente de endogamia na geração descendente (endogamia biparental), os presentes resultados sugerem a possibilidade de ocorrerem alguns níveis de endogamia por cruzamentos entre parentes nas gerações descendentes das populações de ambas as espécies. Teoricamente, se certos níveis de dispersão de

pólen e cruzamentos ocorrerem entre indivíduos localizados dentro das distâncias onde foi detectada estrutura genética espacial, pode-se esperar alguns níveis de endogamia biparental. Em relação às populações, maiores níveis de endogamia (0,125) podem ser esperados em sementes coletadas da população explorada de *S. lycocarpum* e da natural de *S. crinitum*. Nas outras populações, podem-se esperar menores níveis de endogamia biparental (0,0625).

Nas populações de *S. crinitum*, os atuais níveis de endogamia (Tabela 1) medidos pelo índice de fixação já foram próximos a estes níveis preditos pelo coeficiente de coancestria. Isto pode ter duas explicações: a endogamia detectada nas presentes populações é realmente de origem biparental e pode ser explicada pelo parentesco existente na população; ou a endogamia detectada nas populações é na realidade um reflexo da deriva genética e subdivisão (efeito Wahlund) e não endogamia propriamente dita. Em outros termos, os altos valores positivos observados para o índice de fixação seriam o resultado do efeito Wahlund, causados pela presença de EGE dentro das populações. Assim, o índice de fixação calculado estaria superestimado pela presença de EGE e mediria, na verdade, uma combinação dos efeitos da deriva genética com o sistema de reprodução ($F=F_{IT}$).

Esta mesma hipótese tem sido usada por outros autores para explicar altos níveis de endogamia em outras espécies arbóreas predominantemente de cruzamentos (CARNEIRO *et al.*, 2007; BITTENCOURT e SEBBENN, 2007; BITTENCOURT e SEBBENN, 2008). O estudo de gerações descendentes dessas populações, baseados em amostras de estrutura de progênies coletadas de polinização aberta, pode ajudar a desvendar esta incógnita.

CONCLUSÕES

As populações estudadas de *Solanum lycocarpum* apresentam maiores níveis de diversidade genética em termos de número de alelos e menores níveis de endogamia do que as populações de *S. crinitum*.

Ambas as populações estudadas de *S. lycocarpum* e *S. crinitum* apresentam estrutura genética espacial, portanto, pode-se esperar que sementes coletadas de polinização aberta apresentem certos níveis de endogamia biparental.

Há indicação de que a antropização causa, de modo geral, uma redução nos níveis de diversidade genética populacional.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à equipe do Laboratório de Reprodução e Genética de Espécies Arbóreas (LARGEA) da ESALQ/USP pelo apoio em laboratório; ao Prof. Dr. Vinícius Castro Souza (ESALQ/USP) e ao Dr. João Renato Stehmann (UFMG) pela identificação das espécies.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BITTENCOURT, J.V.M.; SEBBENN, A.M. Patterns of pollen and seed dispersal in a small fragmented population of a wind pollinated *Araucaria angustifolia* in southern Brazil. *Heredity*, Edinburg, v.99, p.580-591, 2007.
- BITTENCOURT, J.M.; SEBBENN, A.M. Pollen movement in a continuous forest of *Araucaria angustifolia*, inferred from paternity and TWOGENER analysis. *Conservation Genetics*, Amsterdam, v.9, p.855-868, 2008.
- BUSO, G.S.C.; BRONDANI, R.V.; AMARAL, Z.P.S.; REIS, A.M.M.; FERREIRA, M.E. Desenvolvimento de primers SSR para análise genética de pimentas e pimentões (*Capsicum* spp.) utilizando biblioteca genômica enriquecida. *Boletim de pesquisa. Embrapa Cenargen*, Brasília, n.15, p.1-27, 2000.
- CARNEIRO, F.; SEBBENN, A.M.; KANASHIRO, M.; DEGEN, B. Low inter-annual variation of mating system and gene flow of *Symphonia globulifera* in the Brazilian Amazon. *Biotropica*, Lawrence, v.39, p.628-636, 2007.
- FERREIRA, M.E.; GRATTAPAGLIA, D. **Introdução ao uso de marcadores RAPD e RFLP em análise genética**. 3.ed. Brasília: Embrapa Cenargen, 1998. 220 p.
- GOUDET, J. FSTAT: a computer program to calculate F-statistics (Version 2.9.3.2.). *Journal of Heredity*, Edinburg, v.86, p.485-486, 2002.
- HARDY, O.J.; VEKEMANS, X. SPAGeDI: a versatile computer program to analyze spatial genetic structure at the individual or population levels. *Molecular Ecology Notes*, Oxford, v.2, p.618-620, 2002.
- HARDY, O.J.; MAGGIA, L.; BANDOU, E.; BREYNE, P.; CARON, J.; CHEVALLIER, M.H.; DOLIGEZ, A.; DUTECH, C.; KREMER, A.; LATOUCHE-HALLÉ, C.; TROISPOUX, V.; VERON, V.; DEGEN, B. Fine-scale genetic structure and gene dispersal inferences in 10 neotropical tree species. *Molecular Ecology*, Oxford, v.15, p.559-571, 2006.
- LOISELLE, B.A.; SORK, V.L.; NASON, J.; GRAHAM, C. Spatial genetic structure of a tropical understory shrub, *Psychotria officinalis* (Rubiaceae). *American Journal of Botany*, New York, v.82, p.1420-1425, 1995.
- MARTINS, K.; CHAVES, L.J.; BUSO, G.S.C.; KAGEYAMA, P.Y. Mating system and fine-scale spatial genetic structure of *Solanum lycocarpum* St. Hill. (Solanaceae) in the Brazilian Cerrado. *Conservation Genetics*, Amsterdam, v.7, p.957-969, 2006.
- MORAES, M.L.T.; KAGEYAMA, P.Y.; SEBBENN, A.M. Sistema de reprodução em pequenas populações fragmentadas e em árvores isoladas de *Hymenaea stigonocarpa*. *Scientia Forestalis*, Piracicaba, n.74, p.75-86, 2007.
- SOARES, T.N.; CHAVES, L.J.; TELLES, M.P.C.; DINIZ FILHO, J.A.F.; RESENDE, L.V. Landscape conservation genetics of *Dipteryx alata* ("baru" tree: Fabaceae) from Cerrado region of central Brazil. *Genetica*, Gravenhage, v.132, p.9-19, 2008.
- TELLES, M.P.C.; DINIZ FILHO, J.A.F.; COELHO, A.S.G.; CHAVES, L.J. Autocorrelação espacial das frequências alélicas em subpopulações de cagaiteira (*Eugenia dysenterica* DC., Myrtaceae) no sudeste de Goiás. *Revista Brasileira de Botânica*, São Paulo, v.24, p.145-154, 2001.
- VEKEMANS, X.; HARDY, J. New insights from fine-scale spatial genetic structure analyses in plant populations. *Molecular Ecology*, Oxford, v.13, p.921-935, 2004.
- ZUCCHI, M.I.; BRONDANI, R.P.V.; PINHEIRO, J.B.; BRONDANI, C.; VENCOVSKY, R. Transferability of microsatellite markers from *Eucalyptus* spp. to *Eugenia dysenterica* (Myrtaceae family). *Molecular Ecology*, Oxford, v.2, p.512-513, 2002.

Recebido em 08/01/2008

Aceito para publicação em 15/06/2009