

Determinação da origem poliplóide em *Bromelia antiacantha* (Bromeliaceae) através de análises citogenéticas e do padrão de segregação alélica

Pinheiro, FG^{1,2}; Bered, F²

¹ Instituto de Matemática, Departamento de Matemática Aplicada, Universidade Federal do Rio Grande do Sul

² Instituto de Biociências, Departamento de Genética, Universidade Federal do Rio Grande do Sul
pinheirofg@gmail.com



Introdução

Bromelia antiacantha é uma bromélia terrícola, parcialmente auto-incompatível, polinizada por beija-flores e com alta taxa de reprodução clonal (figura 1). A espécie tem distribuição geográfica do Espírito Santo até o Uruguai, sendo uma planta tetraplóide com $2n=ca100$ cromossomos.

Poliploidia:

- Alteração citogenética → especiação simpátrica: evolução vegetal;
- Aumento da heterozigosidade, diversidade genética e bioquímica e a multiplicidade enzimática → adaptações ecológicas: história evolutiva das espécies;
- Autopoliploidia: (AA → AAAA);
- Alopoliploidia: (AA x BB → AB → AABB);
- Tipos de poliploidia: relação com o padrão de segregação alélica na progênie.

Objetivo

Determinar o tipo de poliploidia presente em *B. antiacantha* através do padrão de segregação alélica de *loci* de microssatélites (SSRs) e análises de viabilidade de pólen.



Figura 1. *Bromelia antiacantha* Bertol.

Materiais e Métodos

- Cruzamentos entre 15 plantas-mãe de *B. antiacantha* em três localidades do Parque Estadual de Itapuã, Viamão/RS (figura 2);
- Padrão de segregação alélica: métodos bayesianos;



Figura 2. Locais de amostragem no Parque Estadual de Itapuã, Viamão/RS.

Genotipagem: Inferência das dosagens alélicas dos pais baseado na progênie

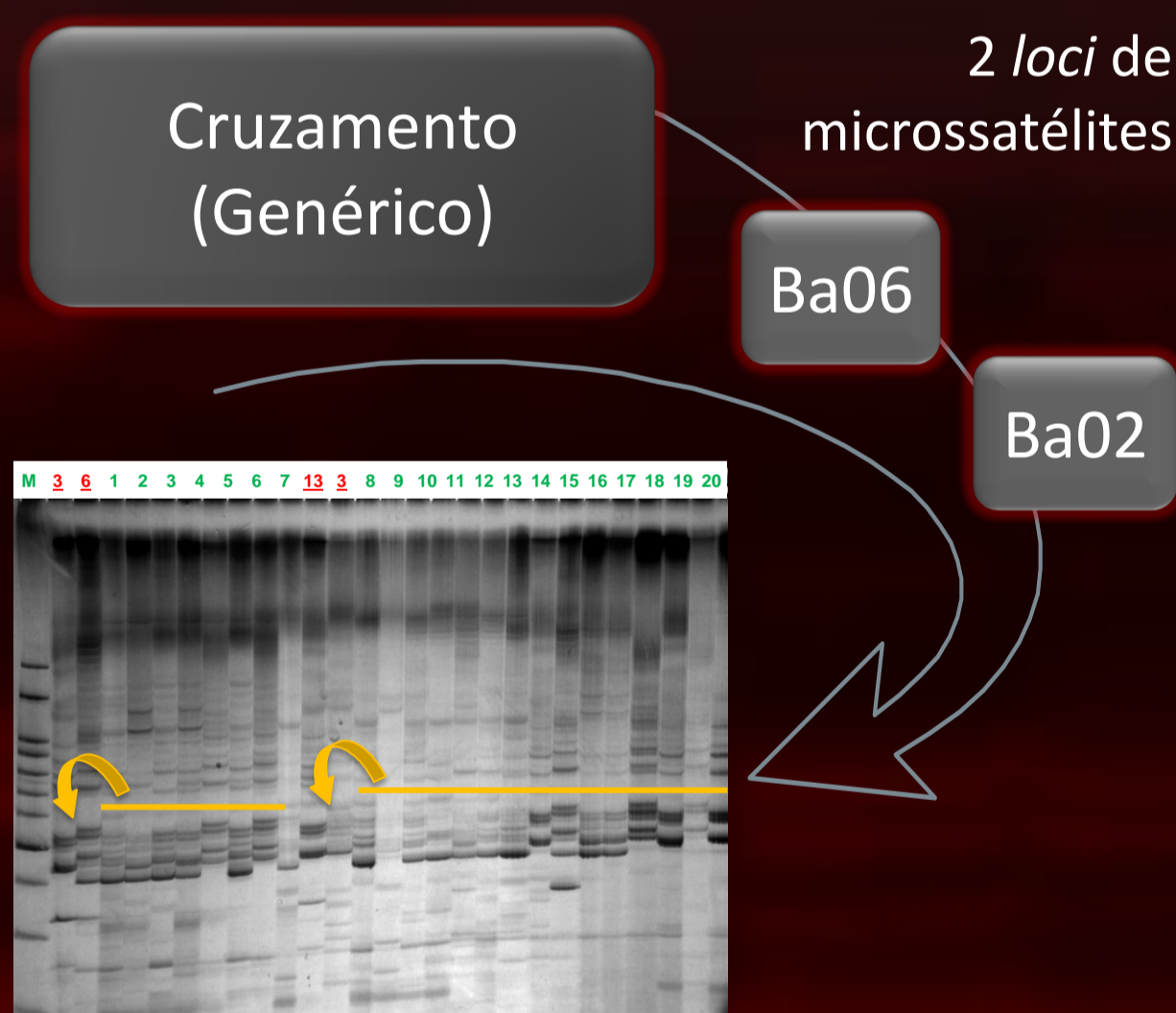


Figura 3. Gel de poliacrilamida a 6%. No exemplo, dois cruzamentos (3x6 e 13x3) genotipados para *locus* Ba06 (dados não utilizados nas análises).

Probabilidade da observação dos genótipos da progênie no padrão H_j :

$$P(\text{dados} | H_j) = \frac{n!}{\prod_{i=1}^k g_i(H_j)!} \cdot \prod_{i=1}^k P g_i(H_j)^{n_i}$$

Probabilidade do padrão H_j ser verdadeiro frente aos dados:

$$P(H_j | \text{dados}) = \frac{P(\text{dados} | H_j) \cdot P(H_j)}{\sum_{i=1}^N P(\text{dados} | H_i) \cdot P(H_i)}$$

H_i e H_j : i e j -ésima hipótese de segregação (T1, D1, D2, ..., D9);

n : número de indivíduos da progênie;

k : número de genótipos possíveis;

N : número de hipóteses;

g_i : número de indivíduos da progênie com o genótipo g_i ;

$P g_i(H_j)$ probabilidade do genótipo g_i na hipótese H_j ;

$P(H_i)$ e $P(H_j)$: probabilidade *a priori* da hipótese H_i e H_j .

- Viabilidade de pólen: foram contados 2000 grãos de diferentes flores e anteras, em cada uma das 18 plantas, através do método de Alexander (1980), diferenciando-os em viáveis e inviáveis (figura 4). Uma ANOVA foi realizada para comparar os locais de coleta.

Resultados e Discussão

Tabela 1. Análise da segregação alélica do marcador de microssatélite Ba06 para o cruzamento 5 (1245) x 14 (1344).

Genótipo da Progênie	Hipóteses					Observado
	Tetrassômica	Dissômica 1 5 (25)(44)	Dissômica 2 5 (25)(44)	Dissômica 3 5 (24)(45)	Dissômica 4 5 (24)(45)	
		14 (13)(44)	14 (14)(34)	14 (13)(44)	14 (14)(34)	
1234	1/36	0	0	0	1/16	3
1235	2/36	0	0	2/16	1/16	0
1244	2/36	0	2/16	0	1/16	1
1245	2/36	0	0	2/16	1/16	0
1344	2/36	0	2/16	0	1/16	3
1345	4/36	4/16	2/16	2/16	1/16	0
1444	1/36	0	0	0	1/16	0
1445	4/36	4/16	2/16	2/16	1/16	0
2344	4/36	4/16	2/16	2/16	1/16	0
2345	1/36	0	0	0	1/16	9
2444	4/36	4/16	2/16	2/16	1/16	6
2445	2/36	2/36	2/16	0	1/16	0
3444	2/36	0	0	2/16	1/16	0
3445	2/36	0	2/16	0	1/16	2
4444	2/36	0	0	2/16	1/16	0
4445	1/36	0	0	0	1/16	0
P(Hi dados)	0.1175	0.0000	0.0000	0.0000	0.8825	
BF =	0.1332					

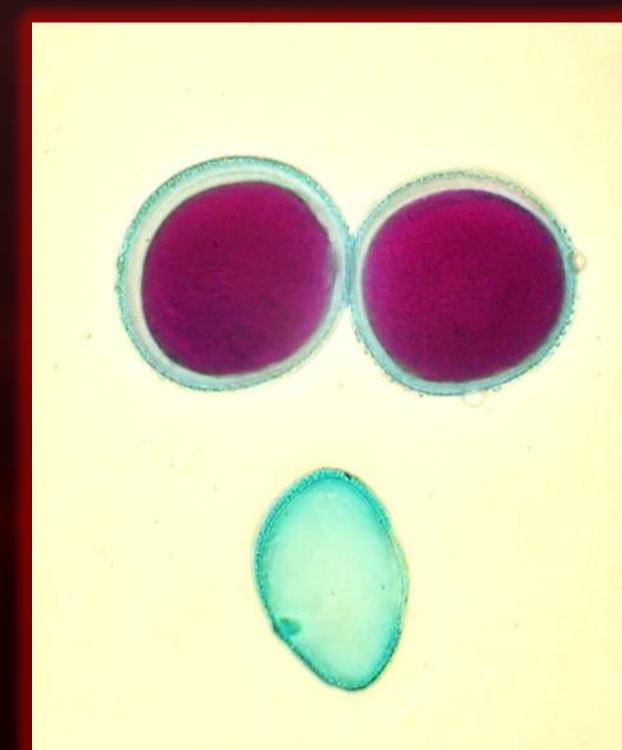


Figura 4. Grãos de pólen viáveis (com deposição de amido) e grão inviável (vazio). Aumento: 1000x.

Tabela 2. Fator de Bayes (BF) calculado para cada *locus* (o quanto o padrão tetrassômico prevalece sobre o dissômico).

<i>Locus</i>	Cruzamento	$BF = \frac{P(\text{tetra} \text{dados})}{\sum P(\text{di} \text{dados})}$
Ba06	5x14(1245x1344)	0.1332
Ba02	5x14(1135x1124)†	0.0166
Ba02	5x14(1135x1224)†	102.3018‡
Ba02	5x14(1135x1244)†	115.0895‡

† Cruzamento 5x14 em Ba02: O parental 14 pode assumir duplex para quaisquer dos seus três alelos.



Figura 5. Valores do Fator de Bayes (BF) indicativos de tetra ou dissomia. BF=1: as probabilidades são iguais para ambos os padrões, BF<1: a dissomia é mais provável, BF>1: a tetrassomia é mais provável.

A viabilidade média de pólen foi de $97,72 \pm 0,2\%$, não havendo diferenças significativas entre as três localidades de coleta para esta medida ($n=72$, $p>0,05$), o que revela uma aparente regularidade meiótica.

Os resultados obtidos com a análise dos *loci* de SSRs na progênie oriunda de cruzamentos controlados são os primeiros indícios sobre o padrão de segregação em *B. antiacantha* (tabelas 1 e 2).

O alto BF para o *locus* Ba02 em dois dos seus possíveis cruzamentos (tabela 2, observar ‡) é uma forte evidência de tetrassomia a qual está ligada à autopoliploidia.

O fato dos marcadores Ba02 e Ba06 indicarem padrões de segregação distintos pode estar relacionado:

- aos *loci* terem evoluções independentes;
- à tendência de diploidização (paleopoliploidia).

Perspectivas

Baseado nos resultados preliminares, verifica-se a necessidade analisar um maior número de marcadores a fim de identificar a segregação alélica de outros cromossomos e, assim, melhor inferir a origem de poliploidia da espécie em estudo. Será realizada uma análise do comportamento meiótico das células-mãe de pólen, o que reforçará os resultados.