

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL**  
Instituto de Biociências  
Programa de Pós-Graduação em Genética e Biologia Molecular

**Dissertação de Mestrado**

*SISYRINCHIUM PALMIFOLIUM* L. (IRIDACEAE) E ESPÉCIES RELACIONADAS:  
ESTUDOS CITOGENÉTICOS E DE DIVERSIDADE GENÉTICA



**Paula Burchardt Piccoli**

Porto Alegre  
Maio de 2015

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL**  
Instituto de Biociências  
Programa de Pós-Graduação em Genética e Biologia Molecular

*SISYRINCHIUM PALMIFOLIUM* L. (IRIDACEAE) E ESPÉCIES RELACIONADAS:  
ESTUDOS CITOGENÉTICOS E DE DIVERSIDADE GENÉTICA

**Paula Burchardt Piccoli**

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Genética e Biologia Molecular da UFRGS como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre em Genética e Biologia Molecular.

**Orientadora: Profa. Dra. Eliane Kaltchuk dos Santos**

**Coorientadora: Profa. Dra. Tatiana Teixeira de Souza Chies**

Porto Alegre  
Maio de 2015

Este trabalho foi realizado nas instalações do Laboratório de Citogenética Vegetal do Departamento de Genética e do Laboratório de Sistemática Molecular do Departamento de Botânica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre/RS, BR. O projeto foi subvencionado pelo Conselho Nacional de Pesquisa (CNPq) e pela Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio Grande do Sul (FAPERGS). A doutoranda obteve bolsa do CNPq (24 meses).

Dedico este trabalho à minha família.

## **AGRADECIMENTOS**

---

À Profa. Dra. Eliane Kaltchuk dos Santos pois desde que ingressei como aluna de iniciação científica em seu laboratório, recebi dela apenas incentivo e apoio. Obrigada pela confiança e por todas as oportunidades maravilhosas que me proporcionaste. Eu não poderia ter pedido por uma orientadora melhor!

À Profa Dra. Tatiana Teixeira de Souza Chies, que também acreditou e apostou em mim, abrindo as portas do laboratório de Sistemática Molecular, e permitindo que nele eu fizesse parte da minha formação.

À Profa. Dra. Lilian Eggers, por me apresentar às iridáceas. Agradeço pela orientação e auxílio nas coletas e pelos esclarecimentos taxonômicos.

Ao Prof. Dr. André Luís Laforga Vanzela, por ter me acolhido tão generosamente em seu laboratório e por ter me iniciado no mundo da citogenética molecular.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico pela bolsa de Mestrado.

Ao Programa de Pós Graduação em Genética e Biologia Molecular da UFRGS pela excelência no ensino.

A todos os professores do Departamento de Genética, por mostrarem o quão fascinante é o estudo da genética.

Aos funcionários da UFRGS e do Departamento de Genética. Em especial, ao Elmo, por toda a paciência e atenção.

À Eudes pelos ensinamentos, pela orientação extraoficial e pelas contribuições na dissertação. Não sei o que seria de nós sem ti!

À Rogéria, por ter me apresentado a genética molecular e pela confiança ao querer que eu participasse de seu projeto.

À Luana pelo assessoramento citogenético.

À Camila, pela ajuda nas coletas!

Aos queridos colegas de laboratório, Joana, Tamara, Daniela, Maurício, Cris, Leonardo. Obrigada pela parceria, pelas risadas e por tornarem mais leves aqueles dias

mais difíceis.

A Vanessa, Joana e Thiago, do laboratório de Citogenética e Diversidade Vegetal, da UEL, por toda ajuda e por terem me recebido tão bem.

A todos os colegas iridólogos, geneticistas, botânicos e estudantes de iniciação científica que passaram pelo nosso grupo de pesquisa e fizeram parte, de alguma forma, desta experiência.

À minha mãe Norah e aos meus irmãos Daniel e Norah Ana, por existirem e por serem inspirações na minha vida. Mãe, obrigada por apoiar o caminho que escolhi e por vibrar com minhas conquistas!

## SUMÁRIO

---

<b>RESUMO</b> .....	9
<b>ABSTRACT</b> .....	11
<b>INTRODUÇÃO GERAL</b> .....	13
1 A família Iridaceae .....	13
1.1 A família Iridaceae no Brasil .....	14
2 O gênero <i>Sisyrinchium</i> .....	14
3 Citogenética de Iridaceae .....	15
4 Variabilidade genética e marcadores ISSR .....	19
5 As espécies em estudo .....	20
6 Objetivos .....	23
6.1 Objetivos específicos .....	24
<b>CAPÍTULO I</b> .....	25
Cytogenetic aspects of <i>Sisyrinchium palmifolium</i> (Iridaceae) and related species ...	26
Abstract .....	27
Introduction .....	28
Material and Methods .....	31
Results .....	33
Discussion .....	35
References .....	42
<b>CAPÍTULO II</b> .....	53
Genetic diversity of the endemic <i>Sisyrinchium decumbens</i> (Asparagales, Iridaceae) reveals highly structured populations in southern Brazil.....	54
Abstract .....	55
Introduction .....	56
Material and Methods .....	58
Results .....	60
Discussion .....	61
References .....	64

<b>CAPÍTULO III</b> .....	74
Caracterização cromossômica de três espécies de <i>Sisyrinchium</i> (Iridaceae) –	
<b>DADOS PRELIMINARES</b> .....	75
Introdução .....	75
Material e Métodos .....	76
Resultados preliminares e Discussão.....	78
Aspectos gerais e Perspectivas.....	85
Referências .....	85
<b>DISCUSSÃO GERAL</b> .....	87
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	91
<b>ANEXO</b> .....	96



## RESUMO

---

*Sisyrinchium palmifolium* L. é a espécie do gênero *Sisyrinchium* L. que apresenta maior distribuição e abundância na região Sul do Brasil. Este estudo busca melhor compreender a espécie *S. palmifolium* L. subsp. *palmifolium* e outras espécies pertencentes ao mesmo clado infragenérico através de análises citogenéticas e moleculares. Foram analisados 15 acessos, incluindo-se quatro espécies do clado IV (*S. palmifolium* subsp. *palmifolium*, *S. decumbens* Ravenna, *S. nidulare* (Hand.-Mazz.) I.M.Johnst e *S. rectilineum* Ravenna). As análises citológicas compreenderam determinação de número cromossômico, estudo cariotípico, comportamento meiótico, viabilidade e morfologia de pólen, além do conteúdo de DNA. Três das espécies investigadas tiveram seu número cromossômico determinado pela primeira vez, sendo estas diploides ( $2n = 2x = 18$ ). Tais espécies apresentaram comportamento meiótico regular e alta viabilidade polínica (acima de 87%). Todas as espécies apresentaram grãos de pólen do tipo oblado esferoidal. Os dados relativos ao tamanho de genoma mostraram uma clara diferença entre as quatro espécies estudadas com valores  $2C$  variando de 2.64 pg em *S. decumbens* a 5.30 pg em *S. rectilineum*. Tal variação reflete o tamanho dos cromossomos das espécies analisadas. Resultados preliminares de cariótipo revelaram que em *S. decumbens* os cromossomos variam de pequenos a médios enquanto *S. palmifolium* subsp. *palmifolium* e *S. rectilineum* possuem cromossomos médios a grandes. Apesar de apresentarem tamanhos cromossômicos diferentes, os cariótipos de *S. decumbens*, *S. palmifolium* subsp. *palmifolium* e de *S. rectilineum* parecem representar arquiteturas semelhantes, sendo que cromossomos submetacêntricos predominam entre as espécies. Além disso, observou-se que os cariótipos dessas espécies são simétricos.

Com relação a *Sisyrinchium decumbens*, espécie endêmica do Sul do Brasil e com

distribuição restrita, foi realizado o estudo da diversidade genética de três populações. Dados de variabilidade intra e interpopulacionais foram obtidos com marcadores de ISSR. Alto polimorfismo e grande variação genética entre indivíduos nas populações foram observados. Valores de  $\Phi_{IS} = 0,68$  e  $\Phi_{ST} = 0,32$  indicaram que a maior parte da variação encontra-se ao nível intrapopulacional e não entre as populações. Esses resultados, associados à PCoA, revelaram importante estruturação genética das populações. O teste de Mantel mostrou não haver correlação entre distâncias genéticas e geográficas. O tipo de dispersão das sementes (barocoria, neste caso) e o comportamento dos polinizadores dessa espécie podem estar contribuindo de maneira significativa para que estas populações se mantenham como entidades separadas.

Este estudo revela, de forma inédita, a diversidade e estruturação populacional de uma espécie endêmica de *Sisyrinchium*. Também é reforçada, pelas análises de número cromossômico e de morfologia do grão de pólen, a forte relação filogenética dessa espécie com *S. palmifolium* subsp. *palmifolium*, *S. nidulare* e *S. rectilineum*, enquanto que as diferenças no tamanho de genoma e de cromossomos possibilitaram a diferenciação das espécies abordadas.

## ABSTRACT

---

*Sisyrinchium palmifolium* L. is the most abundant and widely distributed species within *Sisyrinchium* L. in southern Brazil. This study aims a better comprehension of *S. palmifolium* L. subsp. *palmifolium* and other species belonging to the same infrageneric clade through cytogenetical and molecular analyses. Fifteen accessions were assessed which included four species from the clade IV (*S. palmifolium* subsp. *palmifolium*, *S. decumbens* Ravenna, *S. nidulare* (Hand.-Mazz.) I.M.Johnst and *S. rectilineum* Ravenna). Cytological analyses included chromosome number determination, karyotype study, meiotic behaviour, pollen viability and morphology, and DNA content. Three of the investigated species had their chromosome number determined for the first time; all of which were diploids ( $2n = 2x = 18$ ). These species presented stable meiotic behaviour and high pollen viability (over 87%). All species had oblate spheroidal type pollen grains. Data regarding genome size showed a clear difference between the four studied species, which had 2C values ranging from 2.64 pg in *S. decumbens* to 5.30 pg em *S. rectilineum*. Such variation reflects the chromosome sizes of the analysed species. Preliminary karyotype results revealed that in *S. decumbens*, chromosome sizes range from small to medium whereas *S. palmifolium* subsp. *palmifolium* and *S. rectilineum* have medium to large chromosomes. In spite of having different chromosome sizes, *S. decumbens*, *S. palmifolium* subsp. *palmifolium* and *S. rectilineum* appear to have similar karyotypic architectures, in which there is a predominance of submetacentric chromosomes among the species. We also found that these species have symmetrical karyotypes.

Concerning *Sisyrinchium decumbens*, an endemic species to southern Brazil with restricted distribution, a study on the genetic diversity of three populations was carried out. Data on intra and interpopulational variability were obtained from ISSR markers. High

polymorphism and great genetic variability among individuals within populations were observed.  $\Phi_{IS}$  and  $\Phi_{ST}$  values (0.68 and 0.32, respectively) indicated that genetic variation was mostly found at the intrapopulation level rather than among populations. These results, associated with the PCoA, reveal an important genetic structuring of these populations. Mantel test showed no correlation between genetic and geographic distances. The type of seed dispersal (barochory, in this case) and pollinator behaviour may significantly contribute to this species's population structure.

This study reveals, for the first time, the diversity and population structure of an endemic *Sisyrinchium* species. By means of chromosome number and pollen grain morphology analyses, the strong phylogenetic relations of this species with *S. palmifolium* subsp. *palmifolium*, *S. nidulare* and *S. rectilineum* is reinforced, while differences in genome sizes and chromosome sizes enabled the differentiation of the species assessed in this work.

