



# Festival do Medronho

23 - 24 de março de 2024

Sabóia. Odemira.



## Diversidade genética do medronheiro em Portugal

**Maria Margarida Ribeiro<sup>1,2,3</sup>**

[mataide@ipcb.pt](mailto:mataide@ipcb.pt)

<sup>1</sup> Unidade Departamental de Silvicultura e Recursos Naturais, Escola Superior Agrária do Instituto Politécnico de Castelo Branco, Castelo Branco

<sup>2</sup> CEF. Centro de Estudos Florestais, Tapada da Ajuda, 1349-017 Lisboa

<sup>3</sup> CERNAS-IPCB. Centro de Estudos de Recursos Naturais, Ambiente e Sociedade, UID Instituto Politécnico de Castelo Branco, 6000-084 Castelo Branco





# Motivação



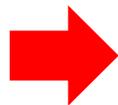
**Plantação de medronheiros do proprietário Jorge Simões no Estreito (Oleiros)**

- 1) Espécie autóctone**
- 2) Tolerante ao stresse hídrico**
- 3) Plasticidade quanto ao tipo de solos**
- 4) Resistência ativa ao fogo**
- 5) Domesticação em curso**
- 6) Produtores → apostam em plantações com plantas melhoradas**

# Melhoramento genético e conservação do medronheiro



**Domesticação**



**Prospecção e colheita de material vegetal em diferentes populações**



**Estimar a diversidade genética**

**Marcadores moleculares**

**Genotipagem**

**Estudo de populações**



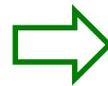
**Objetivos do trabalho**

**Objetivos**

**Qual a estrutura genética das populações?**



**Quais os fatores demográfico que determinaram a estrutura genética?**

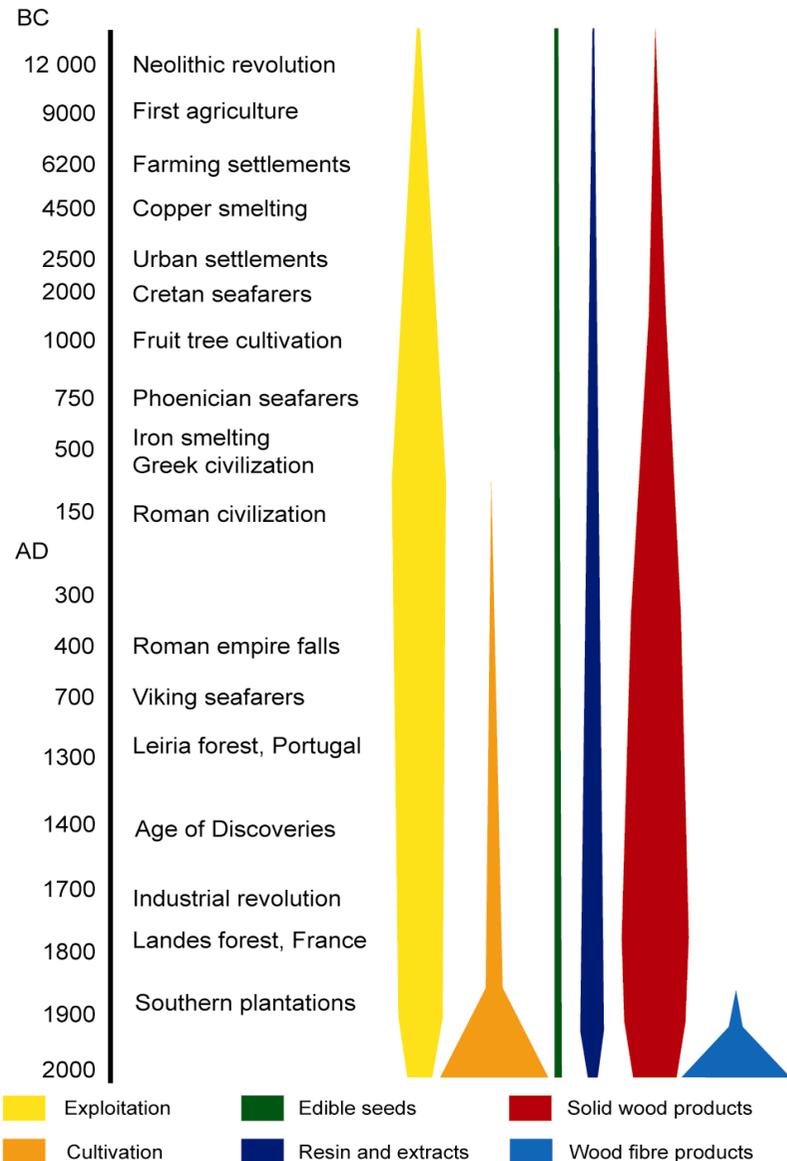


**Impacto no melhoramento e na conservação dos recursos genéticos**

# O que queremos saber sobre o medronheiro?

- 1) Existem diferenças (genéticas) nas populações de medronheiro do País ou trata-se de uma só população?**
- 2) Podemos construir uma população de base de melhoramento?**
- 3) Como domesticá-la sem prejudicar os recursos genéticos?**
- 4) Se fizermos floresta clonal com recurso a plantas melhoradas, corremos riscos (lembrar eucaliptização)?**

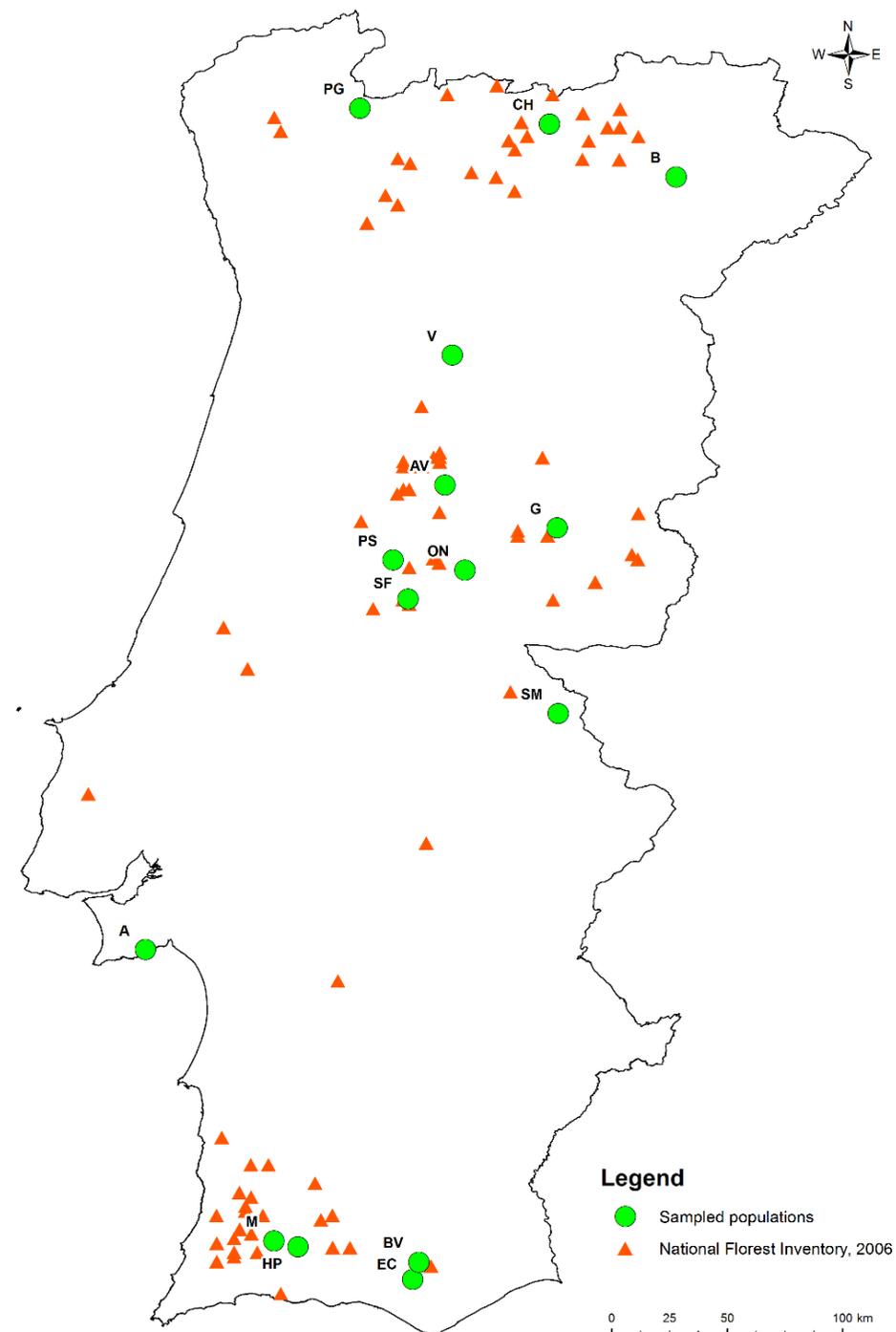
# Evolução da floresta em Portugal



- 1) A primeira evidência de presença de homínídeos na Costa Este do Mar Mediterrâneo data de 1.4 Ma AP. A Floresta é usada pelo Homem desde o Neolítico, sobretudo na região Mediterrânea.
- 2) Em Portugal as florestas naturais sofreram um uso intenso, do séc. 11 ao 16, devido aos arroteamentos medievos e ao consumo dos recursos florestais, aliado a um forte crescimento demográfico
- 3) Em 1565 foi criada a Lei das Árvores que iniciou a expansão do Pb em Portugal, pois obrigava a plantação desta espécie nos solos mais delgados, para além da Lei de 1901 (Regime Florestal ) e da Lei dos Baldios (1938), que fomentaram a expansão do Pb no país (centro em particular)
- 4) O Pb tal como o medronheiro são espécies que evoluíram com o fator ecológico fogo. A estratégia do Pb é da terra queimada, como espécie pioneira. O medronheiro está muito fragmentado.
- 5) O que sabemos relativamente à estratégia do medronheiro? → rebenta de touça e não tolera o ensombramento → tira benefício do fogo, mas...

# Populações amostradas

| Sigla | População           |
|-------|---------------------|
| PG    | Peneda-Gerês        |
| CH    | Chaves              |
| B     | Bragança            |
| G     | Gardunha            |
| AV    | Alvoco              |
| ON    | Oleiros Norte       |
| PS    | Pampilhosa da Serra |
| SF    | Sertã-Figueiredo    |
| A     | Arrábida            |
| V     | Viseu               |
| SM    | São Mamede          |
| HP    | Herdade Parra       |
| BV    | Barranco do Velho   |
| M     | Monchique           |
| EC    | Espinhaço Cão       |

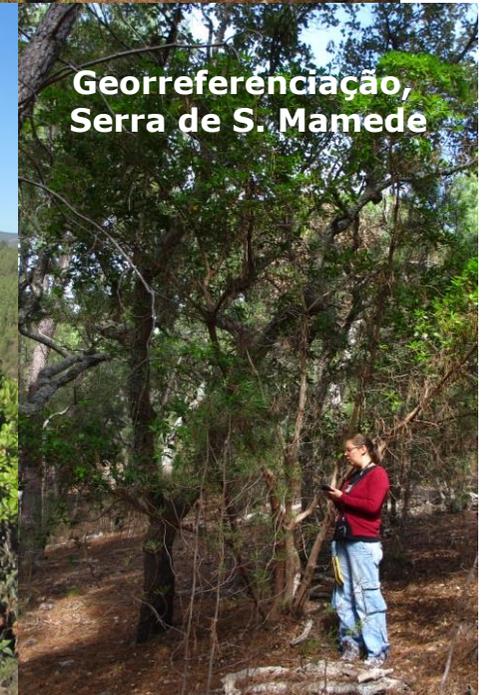
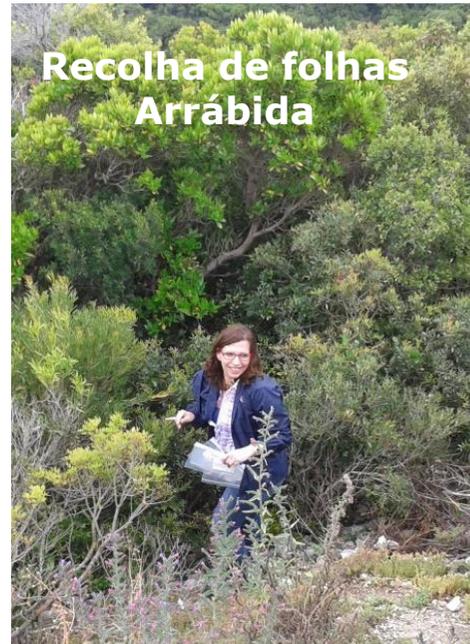


# Colheita de amostras

Recolha de folhas para extracção de DNA e posterior genotipagem com microssatélites e georreferenciação dos indivíduos amostrados



15 povoamentos e 30 indivíduos por povoamento.



# Extração do ADN e genotipagem

Amostra de folhas



Maceração

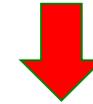


Preparação do produto PCR para o sequenciador automático

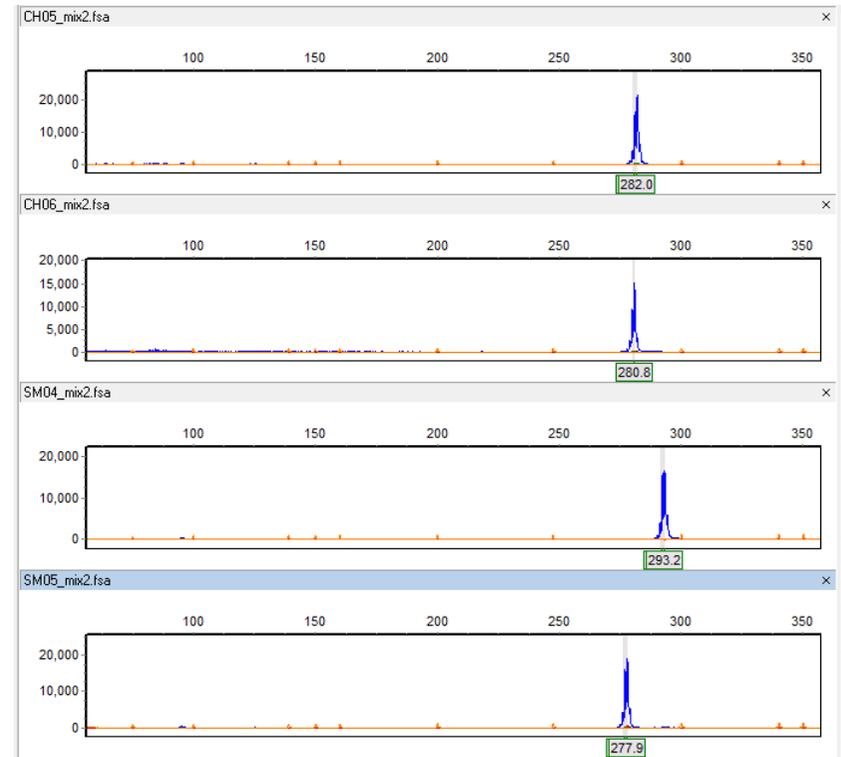
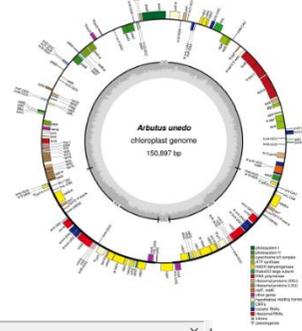


Análise de fragmentos no sequenciador automático do microssatélite do cloroplasto AU2

Extração do ADN a partir de folhas e genotipagem com marcadores moleculares do cloroplasto



Martínez-Alberola et al. 2013



# Agrupamento de populações

A análise BAPS indica uma partição dos 15 povoamentos estudados em 4 grupos.

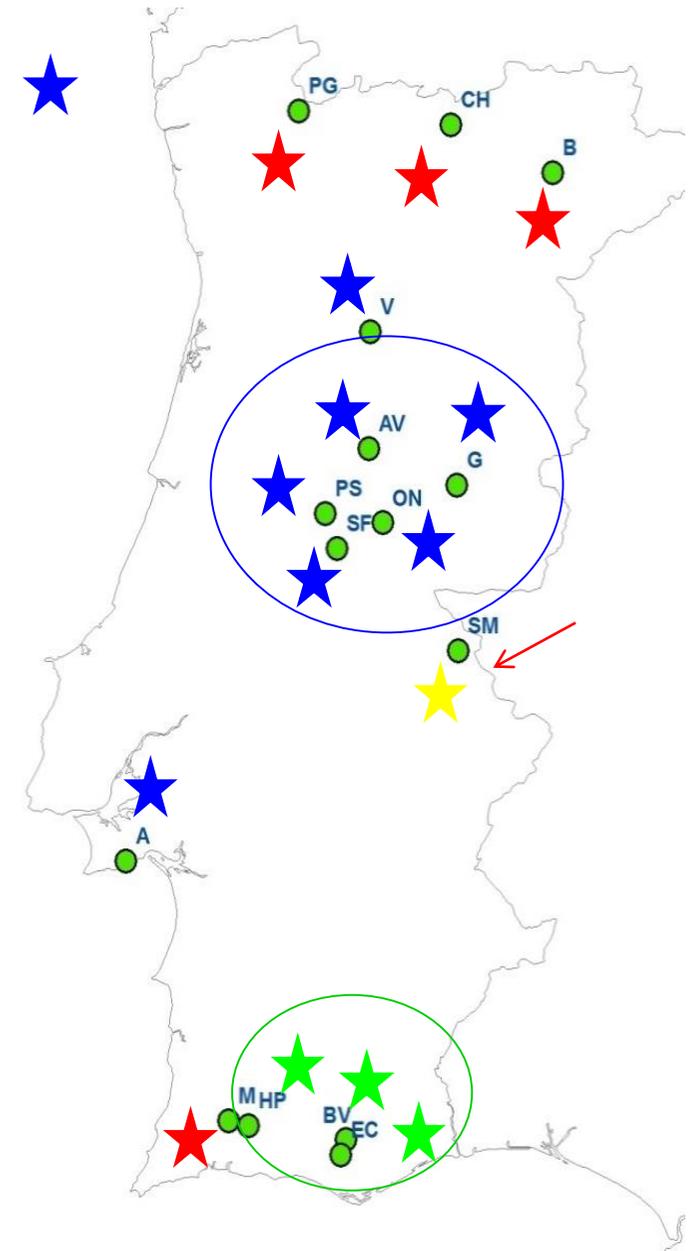
Um grupo a Norte, incluindo populações a Norte do Rio Douro, um grupo Central, com as populações do interior e litoral, um grupo a Sul, na região do Algarve, e um quarto grupo com uma só população (Serra de S. Mamede: SM).

**Grupo 1:** [M, PG, CH, B; estrela vermelha],

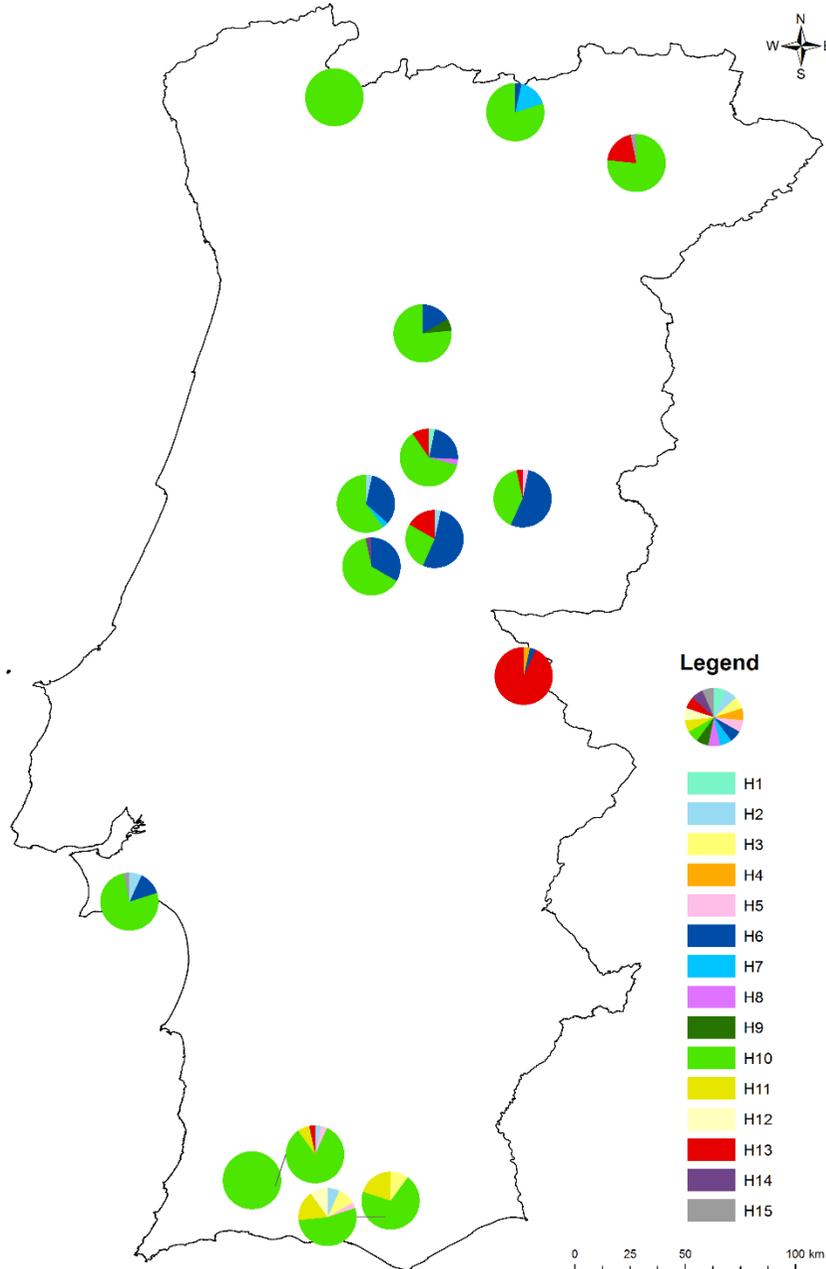
**Grupo 2:** [HP, BV, EC; estrela verde];

**Grupo 3:** [A, SF, ON, G, AV, PS, V; estrela azul]

**Grupo 4:** [SM, estrela amarela].

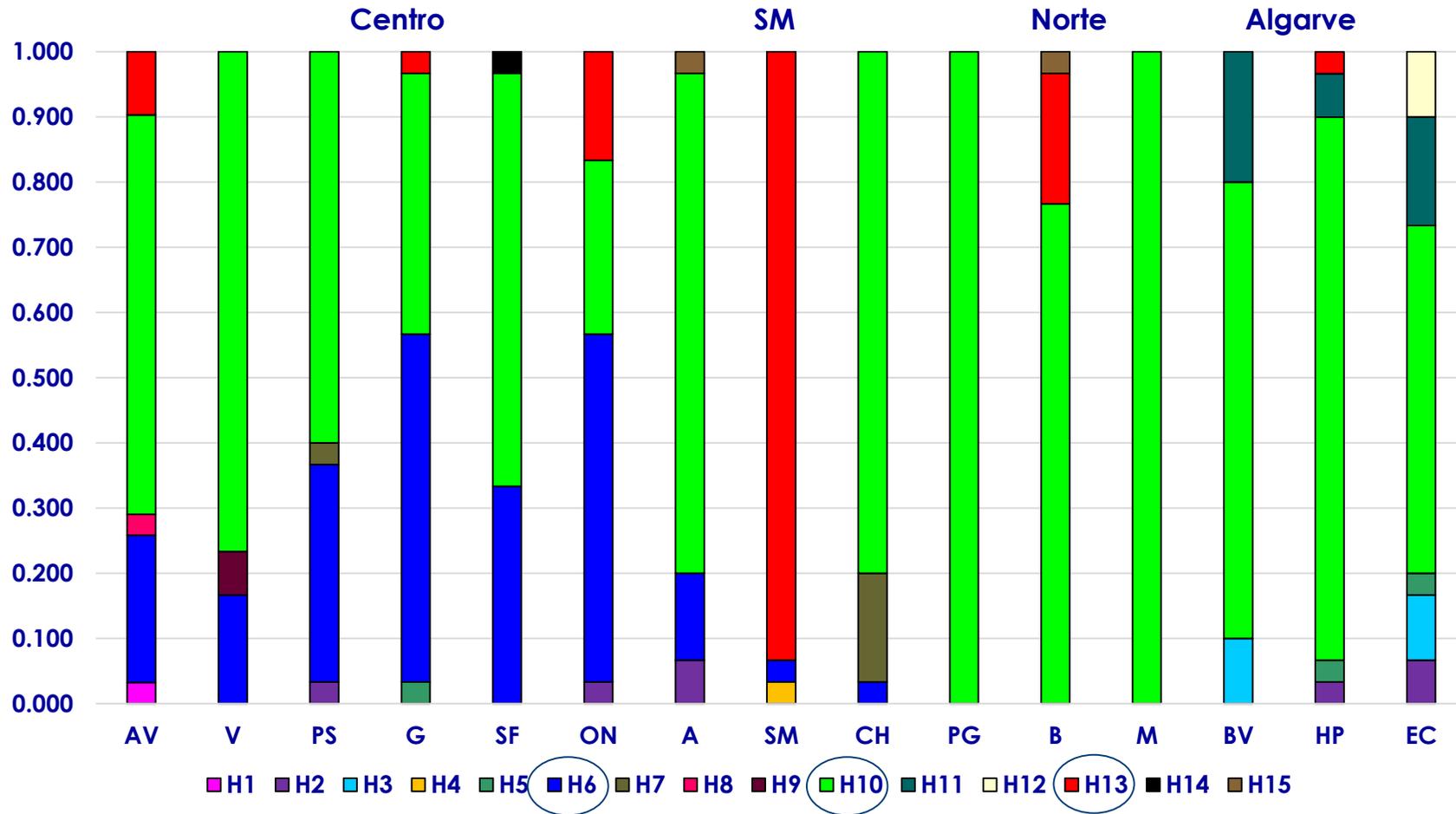


# Distribuição e frequência dos haplótipos



| Código     | Haplótipo       | Número | Frequência |
|------------|-----------------|--------|------------|
| <b>H1</b>  | 306/282/385/370 | 1      | 0.002      |
| <b>H2</b>  | 306/283/385/372 | 7      | 0.016      |
| <b>H3</b>  | 306/285/385/372 | 6      | 0.013      |
| <b>H4</b>  | 306/294/385/372 | 1      | 0.002      |
| <b>H5</b>  | 307/278/385/372 | 3      | 0.007      |
| <b>H6</b>  | 307/279/385/372 | 70     | 0.155      |
| <b>H7</b>  | 307/282/385/372 | 6      | 0.013      |
| <b>H8</b>  | 307/283/383/372 | 1      | 0.002      |
| <b>H9</b>  | 307/283/385/370 | 2      | 0.004      |
| <b>H10</b> | 307/283/385/372 | 291    | 0.645      |
| <b>H11</b> | 307/284/385/372 | 13     | 0.029      |
| <b>H12</b> | 307/285/385/372 | 3      | 0.007      |
| <b>H13</b> | 307/294/385/372 | 44     | 0.098      |
| <b>H14</b> | 308/279/385/372 | 1      | 0.002      |
| <b>H15</b> | 308/283/385/372 | 2      | 0.004      |

# Frequência dos haplótipos/população



O H10 é o haplótipo mais frequente em todas as pops, exceto na população SM, G e ON.

Na pop SM não existe H10 e têm 1 haplotipo privado H4.

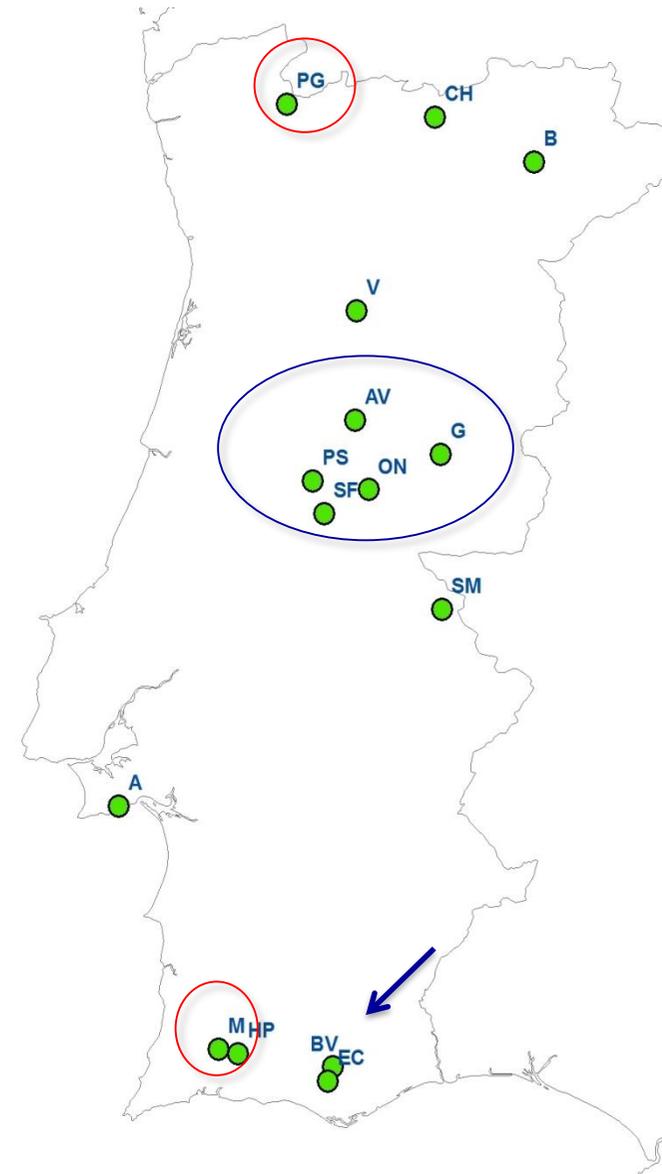
As populações PG e M só têm um haplótipo H10

A população EC têm o maior nº de haplótipos (6) e um haplótipo privado, H12

A população AV tem tb 2 haplótipo privado: H1 e H8

# Estimativas de diversidade genética

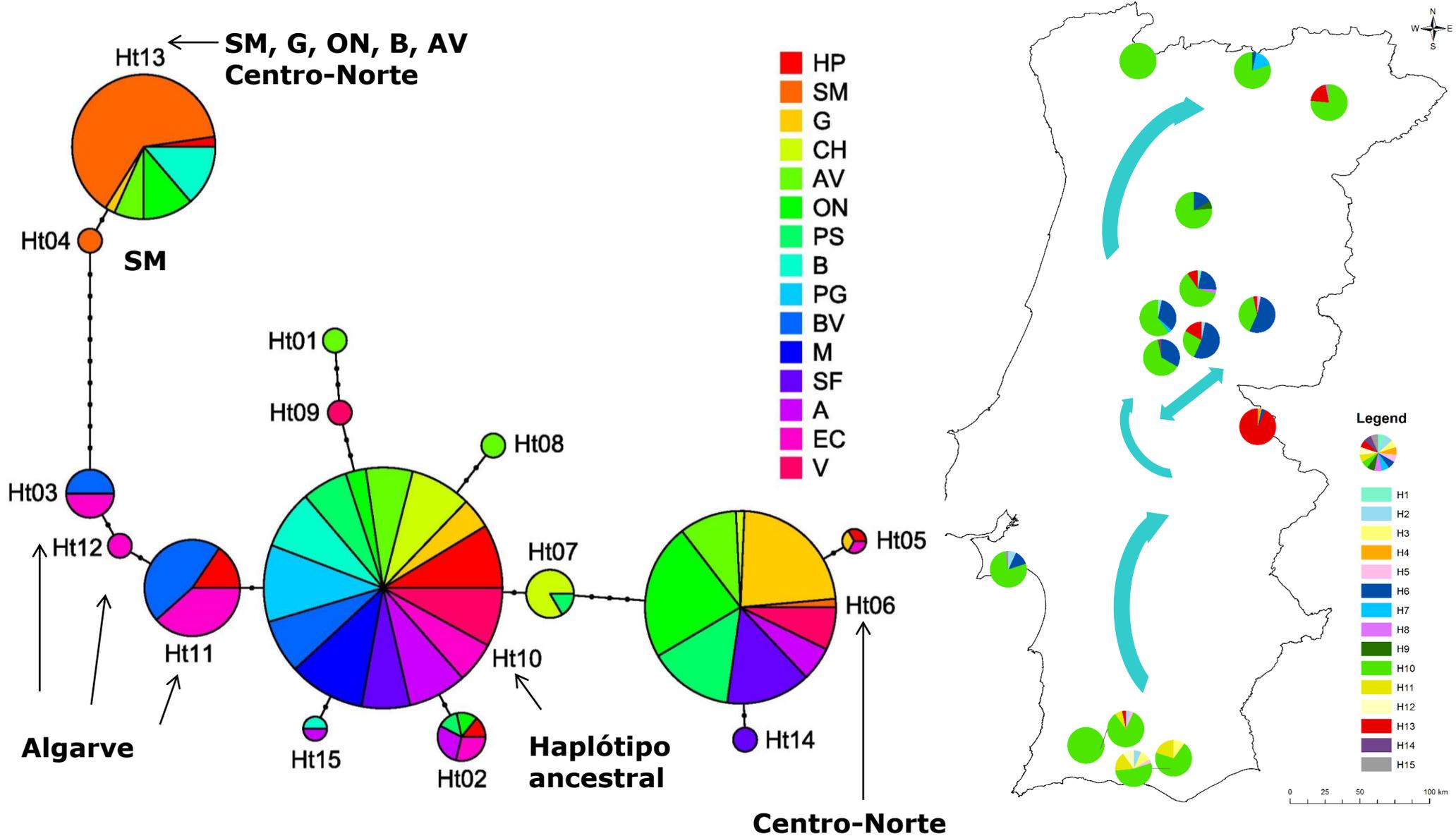
| Região | Pop | N     | N <sub>h</sub> | H <sub>e</sub> | D <sup>2</sup> <sub>sh</sub> | Ap  |
|--------|-----|-------|----------------|----------------|------------------------------|-----|
| Norte  | PG  | 30    | 1              | 0.00           | 0                            | 0   |
|        | CH  | 30    | 3              | 0.34           | 0.32                         | 0   |
|        | B   | 30    | 3              | 0.38           | 10.11                        | 0   |
|        | G   | 30    | 4              | 0.57           | 5                            | 0   |
|        | AV  | 31    | 5              | 0.58           | 8.52                         | 2   |
| Centro | ON  | 30    | 4              | 0.64           | 14.95                        | 0   |
|        | PS  | 30    | 4              | 0.54           | 1.87                         | 0   |
|        | SF  | 30    | 3              | 0.50           | 2.03                         | 1   |
|        | A   | 30    | 4              | 0.40           | 1.06                         | 0   |
|        | V   | 30    | 3              | 0.39           | 1.37                         | 1   |
|        | SM  | 30    | 3              | 0.13           | 3.78                         | 1   |
| Sul    | HP  | 30    | 5              | 0.31           | 2.55                         | 0   |
|        | BV  | 30    | 3              | 0.48           | 0.44                         | 0   |
|        | M   | 30    | 1              | 0.00           | 0                            | 0   |
|        | EC  | 30    | 6              | 0.69           | 1.11                         | 1   |
| Média  |     | 30.07 | 3.47           | 0.40           | 3.54                         | 0.4 |
| DP     |     | 0.07  | 0.35           | 0.06           | 4.38                         |     |



# Resultados: diversidade genética

- As pops. **EC e ON** têm valores de diversidade genética ( $H_e$ ) > a 64%, embora mais 3 pops. tenham valores > a 50%: **G, AV e PS**.
- Existe um núcleo central de populações com diversidade genética > no centro → grupo azul. Têm o haplótipo comum H6, que não aparece no Algarve 
- **EC** que têm o valores mais elevado dos parâmetros de diversidade genética, inclusa no grupo verde  → as outras pops deste grupo não.
- As pops do Norte (grupo vermelho) →  $H_e$  mais baixo
- **M e PG** só têm um haplótipo H10, o mais frequente 
- **SM** não tem o haplótipo mais frequente e tem um haplótipo privado . Tem um valor muito baixo de  $H_e$  (31%), pois o haplótipo H13 > 0.9.

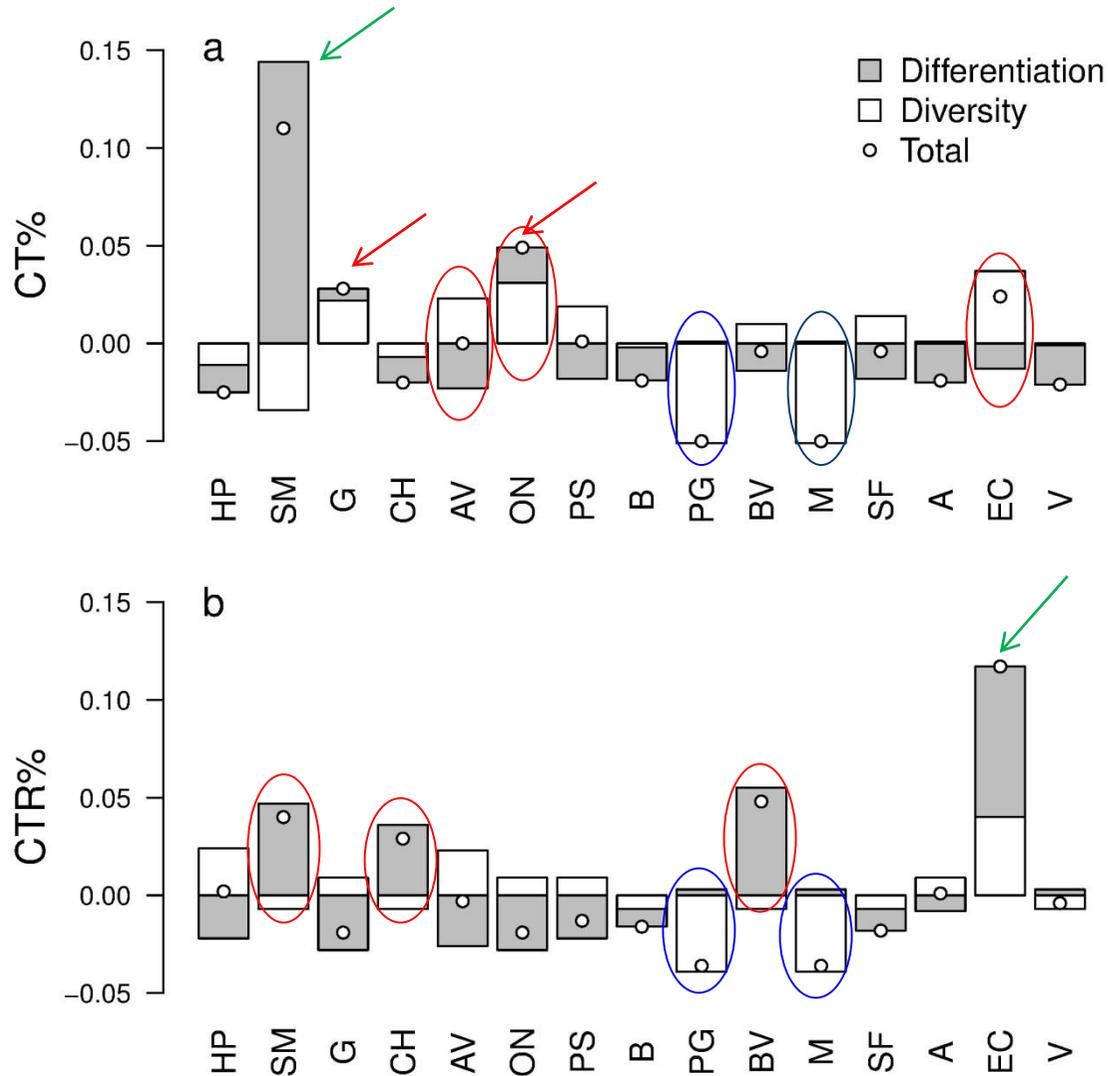
# Rede de haplótipos e rotas de migração



# Hipóteses de colonização

- O **Algarve** pode ter sido um refúgio e centro de diversidade da espécie, pois possui a população mais rica em diversidade: EC. Tem haplótipo privado H11 (exceto M). Foi colonizar pelo menos a região do Alentejo.
- O **Centro** pode ter constituído um refúgio da espécie e de receção de diversidade proveniente do Algarve/ou um centro de diversidade e **de radiação da espécie**, pois possui um haplótipo H6 que é comum a todas as outras pops mas não às do Algarve (e a B e PG no Norte). A herança cp é maternal e o fluxo de genes mais importante é por semente, através dos pássaros.
- **SM é diferenciada de todas as outras** → população não sujeita a fogos desde 1975, sofreu isolamento ou efeito fundador. Possui o H4 (indel) → H13 presente em algumas populações do C e N.
- **As populações do N derivaram das populações do Centro e perderam diversidade devido à demografia (deriva genética) e/ou fogos. Este último fator pode ter sido determinante na PG.**

# Subdivisão da diversidade (CT) e riqueza alélica (CTR) nas componentes diferenciação e diversidade de cada pop.



1. A população **SM** é aquela que tem um peso maior na diferenciação relativa à diversidade
2. Só as pop. **G** e **ON** têm contribuições positivas para ambos os parâmetros
3. As populações que mais contribuem para a diversidade total são **AV, ON e EC**.
4. **PG** e **M** contribuem negativamente para a diversidade total (têm um só háplótipo).
5. **EC** é a pop que mais contribui para a riqueza alélica total, seguida de **BV, SM e CH**.

# Conclusões

1. **Metade da variação genética** está entre os grupos e só 10% dentro dos grupos → elevada diferenciação da espécie → **fragmentação** da espécie devido à forma de dispersão da semente/pólen por pássaros e abelhas/bombos e impacto antrópico.
2. A **diversidade genética média das pops de 40%** não é muito elevada → é provável alguma consanguinidade biparental dentro dos povoamentos → os afunilamentos genéticos são difíceis de recuperar
3. Há que ter **cuidado** em programas de melhoramento no uso de poucos clones para estabelecimento de plantações clonais → apostar no aumento do número de clones e na propagação por semente
4. **Monitorizar a diversidade genética das populações** de melhoramento
5. Estabelecer um **programa de conservação da espécie** → ter em consideração as pops com haplótipos privados (AV, SM, V, SF, CH e EC), mais diversas e mais diferenciadas (ex<sup>o</sup> EC, ON, SM).

# Colaboradores



**Filomena Gomes**



**Rita Costa**



**Andrea Piotti**



**Illaria Spanu**



**Beppe Vendramin**

# Agradecimentos

**Engenheira Natália Roque**  
**Engenheira Ângela Antunes**  
**Engenheiro Tiago Caldeira**  
**Engenheiro Carlos Grácio**  
**Engenheiro Luís Manso**  
**Engenheira Graça Diogo**  
**Engenheira Teresa Coelho**  
**Aluno Mayller Correia Viegas**  
**Aluna Cláudia Isabel Facundo**  
**Eng.º João Gama**  
**Proprietário José Simão**  
**Engenheiro José Mata**  
**Senhora Ana dos**  
**Viveiros Aliança Florestal**

...



# Obrigada pela vossa atenção!

## Questões?

Financiamento: CEF (UIDB/00239/2020) e CERNAS (UIDB/00681/2020) (FCT), PTDC/AGR-FOR/3746/2012 ARBUTUS: Melhoramento das plantas e da qualidade dos produtos de *Arbutus unedo* para o sector agro-forestal

Ribeiro, M.M., Piotti, A., Ricardo, A., Gaspar, D., Costa, R., Parducci, L., Vendramin, G.G., 2017. Genetic diversity and divergence at the *Arbutus unedo* L. (Ericaceae) westernmost distribution limit. PLoS One 12, e0175239. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0175239>