

Qual a origem da variação morfológica observada em *Epidendrum flammeus* (Orchidaceae)?

Palavras-Chave: Especiação, Hibridação, Isolamento reprodutivo

Autores/as:

Jennifer Kely da Silva - Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP)

Prof.^a Dr.^a Fábio Pinheiro - Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP)

INTRODUÇÃO:

É comum que espécies de plantas semelhantes geneticamente, que se encontram na mesma região, acabem por experimentar troca de pólen recíproco podendo levar a geração de descendentes híbridos. Estes apresentam, em sua maioria, características morfológicas intermediárias entre as características das espécies parentais, onde pode-se encontrar uma mistura genética dos respectivos parentais (Cozzolino & Widmer, 2005).

Sendo assim, indivíduos geneticamente distintos podem sim em alguns casos gerar descendentes férteis, podendo acarretar em um processo de especiação por hibridação ao longo do tempo (Vallejo-Marin, 2012). O fenômeno da especiação é um dos processos que contribui para que a evolução ocorra, uma vez que novas espécies surgem a partir de outras pré-existentes.

O isolamento reprodutivo entre híbridos e espécies parentais pode ser fraca ou forte. Quando fraca os híbridos podem ser viáveis e férteis, o que pode levar ao passar do tempo evolutivo que as espécies sigam rumo ao mesmo material genético (introgressão), levando a extinção de uma delas (Goulet *et al*, 2017).

Segundo estudos de Gouveia & Pinheiro (2015) a introgressão e a hibridação são eventos que desempenham importante papel no processo evolutivo do gênero *Epidendrum*, uma vez que é observada uma grande diversificação no grupo. Isso revela a importância das investigações em zonas híbridas e processos de especiação em espécies de orquídeas neotropicais. As zonas de hibridação são campo de estudo sobre a especiação, pois é nelas que as barreiras reprodutivas mantêm a integridade ou não das espécies em contato (Baack & Rieseberg, 2007).

Segundo Pessoa *et al* (2012) *Epidendrum flammeus* foi considerada uma potencial nova espécie, possuindo dois morfótipos, onde um apresenta flores amarelas e grandes e o outro apresenta flores pequenas e vermelhas. Não existem informações sobre o sistema reprodutivo da espécie, e nem informações sobre um potencial isolamento reprodutivo entre estes morfótipos encontrados na população onde *E. flammeus* foi descrito, na localidade da Pedra do Cachorro, município de São Caitano, Pernambuco.

Nesta localidade foram encontrados apenas indivíduos de *E. flammeus*, sem evidências de simpatria com outras espécies de *Epidendrum* que ocorrem na mesma região, como *E. secundum* e *E. cinnabarinum*. Porém, Pinheiro *et al* (dados não publicados) observaram um baixo nível de fertilidade em autocruzamentos e fecundações cruzadas envolvendo o morfótipo vermelho, quando comparado ao morfótipo amarelo.

Deste modo, é provável que os indivíduos de flores vermelhas possam ser híbridos entre as plantas de *E. flammeus* com flores amarelas e outras espécies de *Epidendrum* que ocorrem na mesma região, *E. secundum* e *E. cinnabarinum*. Caso esta hipótese seja confirmada, os morfótipos vermelhos de *E. flammeus* poderiam caracterizar um caso de híbridos órfãos, onde apenas um dos parentais (morfótipos amarelos) estão presentes na população e a outra espécie parental não se encontra mais em simpatria, devido a alterações ambientais abióticas ou bióticas (Marques *et al*, 2010).



Figura 1: *E. flammeus* flor amarela (A), *E. flammeus* flor vermelha (B), *E. secundum* (C) e *E. cinnabarinum* (D).

METODOLOGIA:

No período compreendido entre os seis primeiros meses foram realizados experimentos de autofecundação e fecundação cruzada conduzidos entre os diferentes indivíduos de *E. flammeus* e *E. secundum* que se encontram em cultivo no Jardim Experimental da Unicamp no campus de Campinas-SP, para avaliar a compatibilidade e fertilidade entre as espécies e os morfotipos de *E. flammeus*. Os experimentos reprodutivos foram realizados com o auxílio de um alfinete para a retirada do pólen de uma flor para a deposição no estigma de outra flor ou na mesma. A maioria dos cruzamentos foram realizados de forma recíproca, onde os doadores de pólen também foram receptores.

A formação dos frutos gerados pela polinização artificial foi acompanhada através da marcação dos pedicelos das flores polinizadas com cola colorida, sendo cada cor referente a um cruzamento. Os frutos foram colhidos quando maduros, armazenados a 4°C até o armazenamento das sementes em tetrazólio para marcação dos embriões viáveis e posterior contagem sobre lupa.

RESULTADOS E DISCUSSÃO:

Ao todo foram feitos 96 cruzamentos, sendo 16 deles cruzamentos interespecíficos entre *E. flammeus* e a espécie *E. secundum*, 80 intraespecíficos e de autofecundação entre os morfotipos de *E. flammeus* (flor amarela e flor vermelha) e *E. secundum*. A porcentagem de frutos produzidos por cada tipo de cruzamento pode ser observado na tabela 1.

Tabela 1. Porcentagem de Frutos Produzidos por tipo de Cruzamento

	Receptor de pólen (N)	Doador de pólen (N)	Nº total de plantas	Nº de flores	Nº de frutos	Fruto/Flores
Cruzamentos interespecífico	S (7)	FV (7)	7	19	4	0,21
	S (1)	FA (1)	2	3	3	1
	FA (1)	S (1)	2	3	3	1
	FV (3)	S (3)	2	4	2	0,5
Cruzamentos intraespecífico	FV (24)	FV (24)	15	56	34	0,61
	FA (9)	FA (9)	5	22	16	0,72
	FV (15)	FA (15)	14	39	33	0,85
	FA (14)	FV (14)	14	37	29	0,78
Autofecundação	FA (4)	-	4	8	6	0,75
	FV (14)	-	14	28	11	0,39
	S (3)	-	3	6	2	0,33

Tabela 1. *E. flammeus* flor amarela (FA), *E. flammeus* flor vermelha (FV), *E. secundum* (S).

No plano inicial do projeto era previsto a realização de cruzamentos interespecíficos entre as espécies *E. cinnabarinum* e *E. flammeus*, além da análise do isolamento reprodutivo pós-zigótica como parte dos estudo, inferida através da viabilidade das sementes geradas pelos frutos com amostras de duzentas sementes por fruto. A porcentagem de sementes viáveis seria calculada dividindo o número de embriões viáveis pelo número total de embriões separados (duzentos), sendo essa informação utilizada para a medição da intensidade de isolamento entre os morfotipos de *E. flammeus*, e entre *E. flammeus* e as espécies que ocorrem em locais próximos, *E. secundum* e *E. cinnabarinum*. A viabilidade das sementes resultante dos experimentos reprodutivos interespecíficos e intraespecíficos seriam analisadas usando o teste de Kruskal–Wallis, através do software SPSS 11.0 (Pinheiro *et al*, 2015).

Todavia, com o fenômeno inesperado da pandemia da COVID-19 e com a necessidade imprescindível do distanciamento social obrigatório, não foi possível realizar a segunda parte das análises (cruzamentos interespecífico entre *E. cinnabarinum* e *E. flammeus* e o isolamento pós-zigótico). Sendo assim, os resultados apresentados no presente projeto referem-se apenas às análises pré-zigóticas.

CONCLUSÕES:

Dessa forma não foi possível aceitar ou rejeitar a hipótese inicial de que os morfótipos de flores vermelhas possam ser híbridos entre as plantas de *E. flammeus* com flores amarelas e outras espécies de *Epidendrum* que ocorrem na mesma região, *E. secundum* e *E. cinnabarinum*. Mas pode-se concluir com os dados obtidos até o presente momento que há grandes chances do morfótipo vermelho se tratar de um híbrido, visto que a porcentagem de frutos formados nos cruzamentos envolvendo esses indivíduos se mostraram baixos, característica essa comum a indivíduos híbridos.

BIBLIOGRAFIA

- Baack, E.J. & Rieseberg L. H. **A genomic view of introgression and hybrid speciation**. Current opinion in genetics & development 17:513-518. 2007.
- Cozzolino, S. & Widmer, A. **Orchid diversity: an evolutionary consequence of deception?** Trends in Ecology and Evolution 20:487-494. 2005.
- Goulet, B. E.; *et al.* **Hybridization in plants: old ideas, new techniques**. Plant physiology, 173: 65 – 78. 2017.
- Gouveia, T. M. Z. M. & Pinheiro, F. **Experimentos de cruzamentos recíprocos como ferramenta para avaliar o isolamento reprodutivo numa zona de hibridação natural da família Orchidaceae Juss**. Revista da Biologia 14: 17– 23. 2015.
- Marques, I.; *et al.* **Unraveling Cryptic Reticulate Relationships and the Origin of Orphan Hybrid Disjunct Populations in *Narcissus***. Evolution, 64: 2353-2368. 2010.
- Pessoa, E. M.; *et al.* **Integrating different tools to disentangle species complexes: A case study in *Epidendrum* (Orchidaceae)**. Taxon 61: 721-734. 2012.
- Pinheiro, F.; *et al.* **Strong postzygotic isolation prevents introgression between two hybridizing Neotropical orchids, *Epidendrum denticulatum* and *E. fungens***. Evol Ecol 29, 229-248. 2015.
- Vallejo-Marin, M. **Mimulus peregrinus (Phrymaceae): A new British allopolyploid species**. PhytoKeys, 14: 1 – 14. 2012.