

AVALIAÇÃO DA VARIABILIDADE GENÉTICA DE *ERAGROSTIS PLANA* NEES (POACEAE) ATRAVÉS DE ISSRs

Schumacher, Larissa L.^{1*}; Tedesco, Solange B.³; Essi, Liliana³; Perez, Naylor B.³.

1. Curso de Zootecnia, Universidade Federal de Santa Maria - UFSM;

3. Departamento de Biologia, UFSM

Embrapa Pecuária Sul.

Resumo:

O capim-annoni-2, *Eragrostis plana* Nees, é uma Poaceae perene, estival, exótica, com sistema fotossintético C4. Originária da África, foi introduzida acidentalmente no Brasil com outras sementes sendo importadas na década de 1950. Apresenta características com comportamento de planta invasora tais como a rejeição pelos animais, rápido crescimento, longa fase reprodutiva, longa presença de defesa alelopática e banco de sementes do solo persistente. Desta forma esta gramínea vem ocasionando sérios prejuízos ambientais, econômicos e sociais ao Bioma Pampa Rio Grandense. O presente estudo tem por objetivo compreender a estrutura genética e determinar sua variabilidade intra e inter-populacional. Para tal, estão sendo utilizados marcadores de DNA denominados ISSR (*Inter Simple Sequence Repeats*) que detectam polimorfismo genético. Foram testados 11 *primers*, e incluídos no estudo 101 indivíduos de 5 populações do Rio Grande do Sul. Destes, 5 *primers* foram selecionados, os quais apresentaram polimorfismo e repetibilidade. Em média, para os indivíduos analisados, os tamanhos de banda obtidos variam de 250 pb até 2300pb com uma percentagem 59,84 de loci polimórficos.

Palavras-chave: Poaceae; exótica; marcador molecular.

Trabalho selecionado para a JNIC pela instituição: UFSM

Introdução:

O capim-annoni-2 (*Eragrostis plana* Nees, Poaceae) é uma gramínea exótica e invasora, introduzida acidentalmente da África para o estado do Rio Grande do Sul (RS) na década de 1950 juntamente com remessas de sementes de *capim-rhodes* (*Chloris gayana*) ou *capim-chorão* (*E. curvula*). Mais tarde, foi encontrada na Estação Experimental de Tupaciretã e na fazenda Sarandí no município de Santa Maria.

Com o passar dos anos, foi sendo considerada uma “praga” do bioma Pampa,

por apresentar características de alta prolificidade, uma grande rusticidade, elevada resistência à tração mecânica, baixo valor bromatológico, índice inferior de digestibilidade por apresentar altos teores de lignina na sua estrutura, afetando negativamente a produção animal e interferindo na sobrevivência das 400 espécies de Poaceae e 150 de Fabaceae conhecidas no Bioma Pampa (BOLDRINI, 1997).

Além disso, sua alta produção de semente viável de pequeno tamanho, adaptadas ao entorro, e sua capacidade de colonizar e se estabelecer em uma ampla variedade de condições ambientais, a gramínea vem apresentando um impacto negativo no seu controle, aonde a perda da riqueza a homogeneização de espécies e a diminuição da biodiversidade do Bioma Pampa vem causando graves impactos ambientais, sociais e prejuízos econômicos.

NITER (1965) & ROBERTS (1973), ambos da África do Sul, descreveram aspectos botânicos desta espécie perene: colmos com 30 a 100 cm de altura, eretos ou suberetos, agrupados em densas e fortes touceiras, e com inflorescência em panícula interrompida com as glumas muito separadas, as sementes são lateralmente comprimidas (1,4 a 1,5 mm), de cor marrom-escuro, com superfície intumescida quando maduras. Esta gramínea possui a capacidade de resistir a pastejos e pisoteios, apresenta grande poder de disseminação, tolerância as flutuações do clima e plasticidade ecológica. Estima-se, segundo Medeiros et al. (2004), que aproximadamente 20% da vegetação campestre do Rio Grande do Sul encontra-se infestada com capim-annoni-2, o que corresponde a uma área de 3,1 milhões de hectares.

Diversos estudos passaram a ser conduzidos visando o controle dessa espécie, mas ainda não há estudos sobre a genética e estrutura populacional no Brasil. Devido a estes problemas, o presente estudo tem como objetivo compreender a estrutura genética de populações de capim-annoni-2 no estado do Rio Grande do Sul, avaliando a variabilidade

genética intra e inter-populacional através do uso de marcadores moleculares do tipo ISSR.

Os marcadores ISSRs (*Inter Simple Sequence Repeats*) são produzidos por amplificação via PCR (reação de Cadeia de Polimerase) com primers (iniciadores) que anelam em regiões de microssatélites (SSRs). Os ISSRs são marcadores ditos dominantes, que apresentam abundante polimorfismo e repetibilidade superior aos marcadores RAPD. Não requerem conhecimento prévio do genoma e seu custo é relativamente baixo, comparando-se com outras técnicas de Biologia Molecular.

Através desses marcadores foi possível verificar o grau de polimorfismo genético em populações de capim-annoni, e sua estruturação e distância genética, o que deverá contribuir na compreensão de sua biologia nas áreas invadidas pela espécie.

Metodologia:

O projeto conduziu-se no Laboratório de Genética do Departamento de Biologia da UFSM, em parceria com a EMBRAPA/Bagé. Foram coletadas amostras a campo de folhas de *E. plana* de dois municípios da região central do RS (Santa Maria e São Pedro do Sul). As amostras foram desidratadas em sílica gel, e em laboratório foi extraído DNA total das amostras, utilizando o procedimento descrito em Doyle & Doyle (1987), adaptado para tubos de microcentrífuga. Também foram testadas extrações de DNA com plantas mantidas em casa de vegetação, coletadas em outros três municípios do estado (Mostardas, Bagé e Tupaciretã), utilizando o mesmo protocolo, porém com material fresco, onde, totalizou-se a amostragem de cinco populações.

O DNA isolado foi dosado através de comparação com um padrão (diluições do DNA do fago lambda) em gel de agarose 0,8%, corado com GelRed e visualizado em transiluminador-UV. Para a amplificação dos ISSRs, foram realizadas reações em volumes finais de 25µl, contendo 20-25ng de DNA total, 0,25 µl Taq DNA Polimerase (5U/ul), 2,3 µl MgCl₂ (25mM), 2,5 µl de tampão 10x, 1 µl primer 10 pmol, 1 µl de mistura de dNTPs 40 mM (cada dNTP a 10mM), 1 µl DMSO (2%), e água ultra-pura esterilizada. A amplificação foi realizada em termociclador Minicycler, em 40 ciclos de 1 min. a 94°C, 45 seg. a 50°C e 2 min. a 72°C, precedidos de um ciclo de 5 min. a 92°C e completados com um ciclo de extensão final de 5 min. a 72°C. Os produtos de PCR foram separados em gel de agarose

1,5%, visualizados em transiluminador-UV e fotografados com máquina digital, para posterior análise dos padrões. A análise preliminar do polimorfismo e índices de diversidade foi realizada no software GenAEx.

Resultados e Discussão:

O DNA total foi extraído com sucesso para 101 amostras de cinco populações distintas. Foram testados 11 *primers*. Destes, cinco resultaram com bandas polimórficas e reprodutíveis para os indivíduos de Bagé, Mostardas, São Pedro do Sul, Santa Maria e Tupaciretã: P1 [(AC)₈T], P2 [(GA)₈T] e P₃[CTC)₄RC], P4 [(CT)₈G] e P7 [(CT)₈T]. Os tamanhos de banda obtidos variam de 250pb até 2300pb. O número médio de bandas por *primer* foi 6.

As análises realizadas até o momento mostraram uma média de 59,84% *loci* polimórficos (média de todas as populações analisadas). Já o índice informação média de Shannon (I) foi de 0,274, e para o índice de diversidade (H), o valor médio obtido foi de 0,202. Já a análise Amova evidenciou maior diversidade genética dentro das populações (95-99%) do que entre populações (1-5%) mostrando que a variabilidade genética intrapopulacional é alta.

Estão previstas análises de fluxo gênico e estrutura populacional, para a compreensão dos mecanismos que levaram a espécie a se disseminar tão intensamente nos ecossistemas campestres no estado do Rio Grande do Sul.

Conclusões:

A técnica ISSR é útil para o estudo da variabilidade de *E. plana*, apresentando polimorfismo satisfatório para análise intra e interpopulacional. A variabilidade genética intrapopulacional pode ser considerada relativamente alta. Porém principal método ainda é a prevenção do campo, bem como a realização de campanhas de esclarecimento sobre os prejuízos econômicos e as consequências ecológicas e sociais da degradação do bioma Pampa pela rápida devastação do capim-annoni-2. Serão realizadas novas pesquisas com a expansão das amostras, incluindo o local de origem (África). Ressaltando, que os resultados são preliminares, havendo ainda adição de novas, análises.

Referências bibliográficas

BOLDRINI, I. I. Campos do Rio Grande do Sul:

Caracterização Fisionômica e Problemática Ocupacional. **Boletim do Instituto de Biociências**, Porto Alegre, n. 56, p. 1-39, 1997

DOYLE, J. D. & DOYLE, J. L. 1987. **A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue**. *Phytochemical Bulletin*, 19: 11-15.

LYNCH, M.; MILLIGAN, B. G. **Analysis of population genetic structure with RAPD markers**. *Molecular Ecology*, v. 3, p. 91-99. 1994.

MEDEIROS, R. B.; FOCHT, T. **Invasão, prevenção, controle e utilização do capim-annoni-2 (*Eragrostis plana* Nees) no Rio Grande do Sul**. *Pesq. Agropec. Gaúcha*, v. 13, n. 1-2, p. 105-114, 2007.

NITER, Ode. **The grasses and pastures of South Africa**. *Africa do Sul*, 0. Meredith, 1955. p.156-7. ROBERTS, B.R. Common grasses of the orange free state.