

IDENTIFICAÇÃO DE ESPÉCIES DE CAPIM-ARROZ (*Echinochloa sp*) ATRAVÉS DE DESCRITORES MORFOLÓGICOS E MOLECULARES

BORTOLY, E. D. (UFRGS – Porto Alegre/RS – edbortoly@yahoo.com.br), MENEGUZZI, C. (UFRGS, Porto Alegre/RS – catimeneguzzi@hotmail.com), MARKUS, C. (UFRGS – Porto Alegre/RS – catarine.markus@gmail.com), MARIOT, C. H. P. (DOW AgroSciences – São Paulo/SP – cpmariot@dow.com), RUBIN, R. (DOW AgroSciences – São Paulo/SP – rsrubin@dow.com), MENEZES, V. G. (IRGA – Cachoeirinha/RS – vmgaedke@yahoo.com.br), KALSING, A. (IRGA – Cachoeirinha/RS – augustokalsing@gmail.com), MEROTTO JR, A. (UFRGS – Porto Alegre/RS – merotto@ufrgs.com.br).

RESUMO: A correta identificação das espécies de capim-arroz é dificultada pela existência de semelhanças morfológicas entre espécies e presença de plantas com características intermediárias. O objetivo deste estudo foi identificar diferentes espécies de capim-arroz através de determinações filogenéticas com base em descritores morfológicos e marcadores moleculares em populações de capim-arroz coletadas no estado do RS. O material vegetal consistiu de 29 acessos coletados em áreas de cultivo de arroz irrigado no estado do RS e uma população coletada nos EUA. Foram analisadas as principais características das chaves taxonômicas de Kissmann e Pfitscher e Barreto em 10 plantas por acesso. As análises moleculares foram realizadas através da amplificação da região *trnT – trnL* e *trnL – trnF* de DNA de cloroplasto. As sequências foram analisadas através do programa Mega 5.1, usando o método UPGMA. A avaliação morfológica apresentou grande variabilidade tanto para características vegetativas como reprodutivas dificultando a utilização das chaves taxonômicas para vários acessos. Os melhores descritores morfológicos foram o comprimento do eixo secundário para espécie *E. colonum*, e a largura do antécio que foi característica discriminadora de *E. crus-pavonis* em relação a *E. crus-galli*. A sequência nucleotídica das regiões *trnT – trnL* e *trnL – trnFA* foi discriminadora para *E. colonum* através de vários indels e mutações, e duas mutações diferenciaram as espécies *E. crus-galli* e *E. crus-pavonis*.

Palavras-chave: *Echinochloa colonum*, *Echinochloa crus-galli*, Avaliação morfológica.

INTRODUÇÃO

A correta identificação das espécies de capim-arroz é dificultada pela existência de semelhanças morfológicas entre espécies, da possível ocorrência de híbridos que apresentam características intermediárias entre as espécies e também pela existência das

plantas *mimics* pertencentes a uma espécie que apresenta características semelhantes de outra espécie. Este problema é exemplificado a partir de um estudo conduzido na Itália, onde apenas 44% das plantas de capim-arroz encontradas em lavouras de arroz irrigado apresentaram identificação possível através de chaves taxonômicas (SPARACINO et al., 1994).

Devido à elevada complexidade na identificação das espécies de capim-arroz com o uso de chaves taxonômicas, há necessidade de empregar outras técnicas para auxiliar a identificação de espécies. Marcadores moleculares presentes no DNA de cloroplasto são mais apropriados para a identificação taxonômica devido à herança materna, por apresentarem baixas taxas de mutação e alta conservação do genoma entre as diferentes espécies de plantas (TABACCHI et al., 2006). Em lavouras de arroz irrigado no Sul do Brasil existem relatos da ocorrência principalmente das espécies *Echinochloa colona*, *E. crus-galli* e *E. crus-pavonis*. Entretanto, tem-se verificado grande variabilidade dos padrões morfológicos característicos destas espécies, ocorrência de tipos intermediários e a possível existência de outras espécies deste gênero. O objetivo deste estudo foi identificar diferentes espécies de capim-arroz através de determinações filogenéticas com base em descritores morfológicos e marcadores moleculares em populações de capim-arroz coletadas no estado do RS.

MATERIAL E MÉTODOS

O material vegetal empregado neste estudo consistiu de 29 acessos coletados em áreas de cultivo de arroz irrigado no estado do RS e uma população proveniente dos EUA. Foram analisadas 10 plantas por população, semeadas em vasos com capacidade de 500ml. As análises morfológicas foram realizadas com base nas principais características morfológicas das chaves taxonômicas de Kissmann (1991) e Pfitscher e Barreto (1976). As características morfológicas avaliadas foram comprimento total da planta, presença ou não de aristas, comprimento e largura da panícula, do 3° eixo secundário, espiguetas, das glumas superiores e inferiores, lemas e pálea, e comprimento do antécio. A caracterização molecular foi iniciada pela avaliação dos marcadores moleculares, *trnV-16SrRNA*, *rbcLA-rbclajf634*, *Equisetum-Matk2F*, *trnH-psbA*, *psbK-psbL*, *trnS-trnG*, *trnT-trnL* e *trnL-trnF* (dados não apresentados). Foram escolhidos os marcadores moleculares *trn-a* e *trn-b* que amplificam da região *trnT – trnL* e os primers *trn-c* e *trn-f* que amplificam a região *trnL – trnF* (TABERLET et al., 1991) que resultam em sequência nucleotídica de 900 bp. O DNA foi extraído de folhas jovens usando método CTAB e a reação de PCR foi adaptada de Shaw et al. (2005). O sequenciamento do DNA foi realizado através do equipamento Applied Biosystems 3730XL.

Os resultados das avaliações morfológicas foram submetidos às chaves taxonômicas.

As sequências obtidas foram editadas pelo programa BIOEDIT Versão 7.1.3, e alinhadas através do programa CLUSTAL W. Após, foram comparadas através do programa Blast do GeneBank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>). A análise filogenética foi realizada através do programa Mega 5.1, usando o método UPGMA (ROHLF, 1990). Nessa análise foram utilizadas outras sequências de referência obtidas do Genebank.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram encontradas grandes variações das características morfológicas entre os acessos avaliados. A altura de planta apresentou-se como uma característica com grande variabilidade entre os acessos avaliados. Por outro lado esta característica permite certa facilidade na identificação de espécies como, por exemplo, *Echinochloa colonum* a qual apresenta porte baixo. O tamanho da panícula permitiu a identificação das espécies, sendo que *E. colona* possui panículas estreitas com os eixos secundários curtos com menos de 2 cm. A largura do antécio também pode ser utilizada na classificação das espécies. A espécie *E. crus-galli* apresenta largura do antécio de 1,3 a 2 mm e a espécie *E. crus-pavonis* apresenta largura inferior a 1,2 mm. Entretanto, a estrutura do racemo foi a característica morfológica mais consistente para a classificação das espécies, sendo que em *E. crus-galli* o racemo possui cerdas longas (Figura 1a), e em *E. crus-pavonis* quando existentes as cerdas do racemo são curtas e com eixos terciários (Figura 1b). Esta característica foi diferenciadora mesmo para plantas que apresentavam outras características intermediárias entre os padrões de cada espécie. Outras características foram diferenciadoras entre as espécies analisadas. As aristas na espécie *E. colonum* são ausentes, curtas variando entre 0,3 a 0,5cm em *E. crus-pavonis* e em *E. crus-galli* há ocorrência de aristas curtas e longas variando de 0,4 a 2,4cm, porém com variação na mesma panícula onde há sementes com arista e outras sem. Da mesma forma, a coloração da planta auxilia na distinção entre as espécies onde, *E. crus-pavonis* apresentou toda a planta com coloração púrpura desde o caule, folhas até as sementes. Entretanto, *E. colonum* e *E. crus-galli* não apresentam a mesma intensidade da cor roxo e na maioria das avaliações a coloração variou de verde claro, verde escuro e algumas plantas com coloração mais arroxeada.

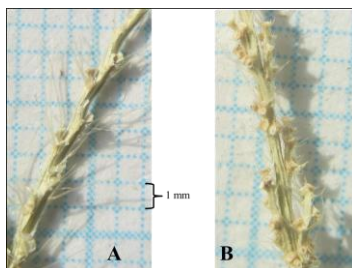


Figura 1. Figura ilustrativa do racemo das espécies *E. crus-galli* (a) e *E. crus-pavonis* (b) com auxílio de uma lupa (40x). Porto Alegre, RS. 2013.

que os marcadores moleculares que amplificam o intron *trn* podem ser usados para classificação das espécies de capim-arroz.

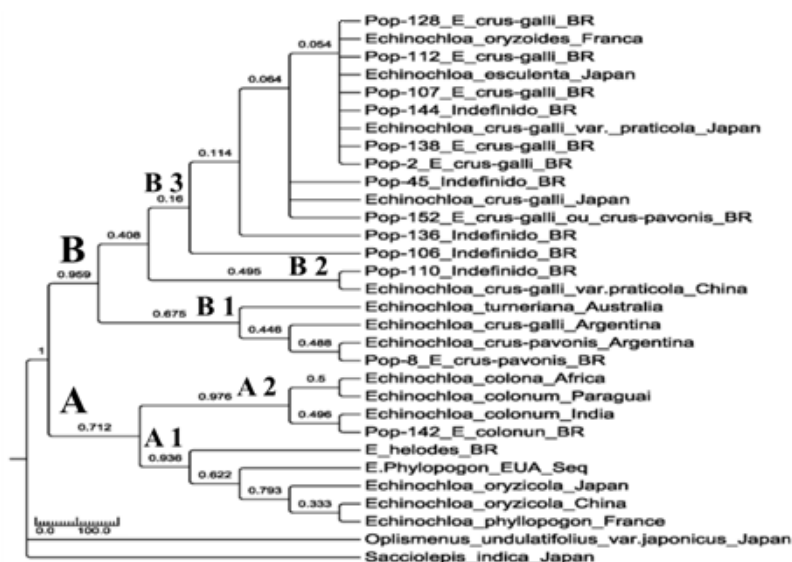


Figura 3. Dendrograma realizado com base na sequência nucleotídica das regiões *trnT* – *trnL* e *trnL* – *trnF* de acessos de *Echinochloa* originados de lavouras do RS (descrição “BR” após o nome) e sequências de cpDNA de diversas espécies do gênero *Echinochloa*. Porto Alegre, RS. 2013.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

KISSMANN, K.G. 1991. **Plantas infestantes e nocivas**, vol 1. BASF Brasileiras S. A.

PFITSCHER, E. M. & BARRETO, I. L. 1976. **As espécies do gênero *Echinochloa* (Gramineae) ocorrentes no Rio Grande do Sul**. *Anuário Téc. Inst. Pesq. Zootéc. Francisco Osorio* 3: 245-289.

ROHLF, F. J. NTSYS-pc. Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System, Version 2.02. New York: Exeter Software. 1990.

SHAW, J. et al. 2005. The tortoise and the hare II: relative utility of 21 noncoding chloroplast DNA sequences for phylogenetic analysis. **American Journal of Botany** 92: 142–166.

SPARACINO, A. C., A. FERRERO, R. FERRO, AND N. RIVA. Morphological analysis of the main *Echinochloa* species in Italian rice fields. Pages 285–292 in Proceedings 1994 5th **European Weed Research Society**. Mediterranean Symposium on Weed Control In Sustainable Agriculture in the Mediterranean Area, Perugia, Italy. 1994.

TABACCHI, M., et al. Morphological traits and molecular markers for classification of *Echinochloa* species from Italian rice fields. **Weed Sci.** v. 54, n. 6, p. 1086-1093, 2006.

TABERLET P, GIELLY L, PAUTOU G ET AL. Universal *primers* for amplification of three non-coding regions of chloroplast DNA. **Plant Mol Biol** 17:1105–1109. 1991.

YAMAGUCHI, H., et al. A molecular phylogeny of wild and cultivated *Echinochloa* in East Asia inferred from non-coding region sequences of *trnT*-L-F. **Weed Biol. Manag.** Oxford, v. 5, n. 4, p. 210-218, 2005.