



XVI Encontro de Geneticistas do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, de 27 à 29 de julho de 2008

## Caracterização de populações de arroz vermelho do estado do Rio Grande do Sul utilizando marcadores de microssatélites

Oliveira, Luiz Felipe Valter; Dornelles, Sylvio Henrique Bidel; Loreto, Élgin Lúcio da Silva; Sepel, Lenira Maria Nunes.

Universidade Federal de Santa Maria - Email para contato: [felipevalter@mail.ufsm.br](mailto:felipevalter@mail.ufsm.br)

O arroz (*Oryza sativa*) é uma das bases mais importantes para a agricultura no mundo, sendo a principal fonte nutritiva para mais da metade da população humana. O gênero *Oryza* atualmente está dividido em 22 espécies, sendo que duas são cultivadas (*Oryza glaberrima* é cultivada na África, e *Oryza sativa* no resto do mundo). O Rio Grande do Sul é responsável por 60% da produção de arroz irrigado no Brasil. Um dos principais entraves para o aumento da produtividade desta cultura no RS é a presença de plantas daninhas nas várzeas arrozeiras. O arroz vermelho é também classificado com *Oryza sativa*, possuindo necessidades fisiológicas por água, luz e nutrientes em demandas muito próximas das cultivares. Por estes aspectos, o arroz vermelho é dito como a principal planta invasora das várzeas arrozeiras. Diversos trabalhos já reportaram cruzamentos naturais entre espécies do gênero *Oryza*. Este fenômeno ocorre principalmente entre espécies diplóides com o genoma AA, sendo este o grupo mais estudado, pois é a estrutura genômica das duas espécies cultivadas. Recentemente foi demonstrada a transferência, para o arroz vermelho, de genes provenientes de linhagens transgênicas ou mutantes de arroz cultivar que tenham algum tipo de resistência, como o caso das linhagens Clearfield. Nosso trabalho tem como objetivo caracterizar molecularmente populações de arroz vermelho, oriundas do Rio Grande do Sul, com a utilização de marcadores de microssatélites, e contribuir para compreensão da dinâmica destas populações e de suas interações com cultivares. As amostras utilizadas neste trabalho foram coletadas nas principais regiões orizícolas do estado do Rio Grande do Sul, resultando em um total de 83 acessos de arroz vermelho, todos apresentando variabilidade morfológica. Foram incluídas na análise: 5 cultivares antigas (Blue Belle, Cica 9, Formosa, Japonês Grande e Lebonet), as cultivares mais utilizadas nos últimos 25 anos (IRGA 417 e IRGA 422CL), uma cultivar colombiana (*Oryzica*) e *Oryza glumaepatula*, como grupo externo. O DNA destes materiais foi extraído a partir de plântulas com altura média de 7cm (0.01g). Os microssatélites (*RM154*, *RM204*, *RM212*, *RM422*, *RM454*) foram selecionados a partir das informações disponíveis em Gramene.org (<http://www.gramene.org>), por apresentarem de 25 a 30 repetições. As reações de PCR foram realizadas com um volume final de 10 ul e para confirmar a amplificação, 5 ul dos amplicons foram aplicados em gel de agarose 0,8%. Se confirmada a amplificação, o restante da reação era desnaturada em tampão com formamida 90%, a uma temperatura de 94°C durante 5 minutos. Após esse processo, as amostras eram aplicadas em gel de poliacrilamida 6% desnaturante, corados posteriormente com nitrato de prata. Após a revelação, os géis foram digitalizados e suas bandas analisadas com o software Gel-Pro Analyser 3.1. A partir dos dados de presença ou ausência de bandas, foi gerada uma filogenia com o software Paup\* 4, através do método neighborjoin. Tradicionalmente, o arroz vermelho vem sendo diferenciado das cultivares através de caracteres morfológicos tais como: porte alto, panícula ereta, a semente mais curta e larga, possuindo o pericarpo avermelhado. Estas eram as principais características que os produtores utilizavam para fazer o controle mecânico desta planta invasora (arrancar as plantas manualmente). Analisando nossas coletas, percebemos que do total dos 83 acessos, 20 apresentavam porte alto, 55 médio e 8 baixo. Outro dado interessante é que 21 dos acessos possuíam panícula ereta, 57 possuíam panícula nutante (padrão de cultivares) e 5 semi-nutante. Com os dados gerados pela análise dos microssatélites nos acessos de arroz vermelho, percebeu-se que estes não ficavam agrupados de acordo com o local de coleta. Por exemplo, o acesso MV1 procedente da cidade de Manuel Viana, fronteira oeste do Estado, agrupou com GUA3 coletado em Guaíba, região leste do Estado (fig1). Os dados indicam que, provavelmente, o arroz vermelho não possui populações isoladas e que devem existir mecanismos que favoreçam o compartilhamento destes marcadores entre indivíduos das diferentes localidades. Quando são acrescentados os dados de microssatélites das cultivares, elas ficam agrupadas com os acessos de arroz vermelho (fig 2), com exceção de Blue Belle e Lebonet que formam um grupo isolado com um único acesso de arroz vermelho. Esses dados podem ser interpretados com evidências de interações entre cultivares e arroz vermelho. Considerando que o arroz vermelho geralmente está em menor número na lavoura e cercado por plantas da cultivar, a maior



## XVI Encontro de Geneticistas do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, de 27 à 29 de julho de 2008

probabilidade de fecundação cruzada é entre indivíduos de arroz vermelho com cultivares. Até a década de 70, eram utilizadas cultivares do tipo japônica (porte alto, ciclo tardio). Após a década de 80, passou a ser utilizado no estado do RS, cultivares modernas, do tipo índica (baixas, panícula nutante, ciclo precoce). Durante 20 anos (da década de 80 até início deste século) a cultivar com maior expressão de plantio no estado do RS foi a IRGA 417. No dendograma gerado a partir dos microssatélites analisados por nós, a cultivar IRGA 417 foi a que agrupou com o maior número de acessos de arroz vermelho. Isso reforça a hipótese de que há fluxo gênico das cultivares para o arroz vermelho e pode explicar as semelhanças dos padrões moleculares encontrados em acessos de diferentes locais. Os dados morfológicos indicam a existência de uma forte seleção para que o arroz vermelho fixe caracteres que dificultem sua identificação em campo, tornando-se morfológicamente mais semelhante às cultivares. Quando essa tendência é associada ao que se observa nos dados moleculares, tem-se boas evidências do processo de introgressão do genoma das cultivares no arroz vermelho. Levando em consideração a hipótese de que o arroz vermelho está tornando-se cada vez mais semelhante às cultivares por introgressão e seleção, é possível antecipar que dentro de alguns anos, haverá um número maior de acessos de arroz vermelho semelhante a IRGA 422CL que atualmente é cultivada em 46% da área semeada do RS. Neste trabalho foram identificados 6 possíveis híbridos de arroz vermelho com esta cultivar. Considerando que as pressões seletivas criadas pela tecnologia *Clearfield* são muito mais intensas que a seleção para caracteres morfológicos, espera-se um rápido aumento no número de plantas de arroz vermelho que possuam tolerância a herbicidas, por cruzamento com o IRGA 422CL.



XVI Encontro de Geneticistas do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, de 27 à 29 de julho de 2008

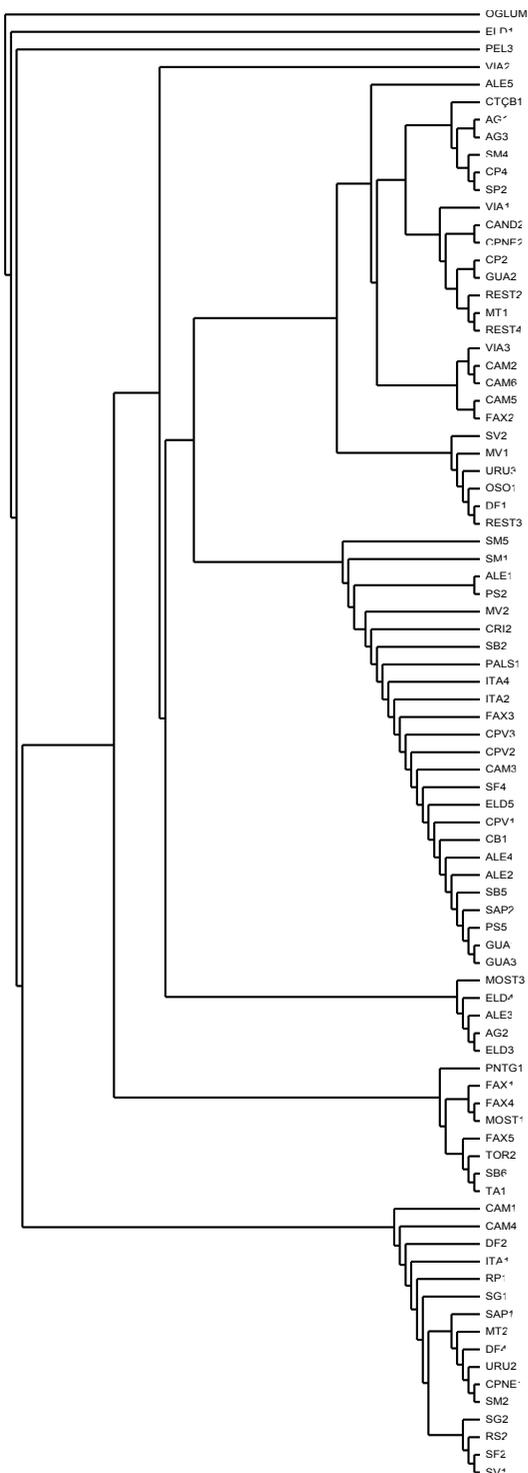


Figura 1: Cladograma gerado com base em marcadores de microssatélites de acessos de arroz vermelho.

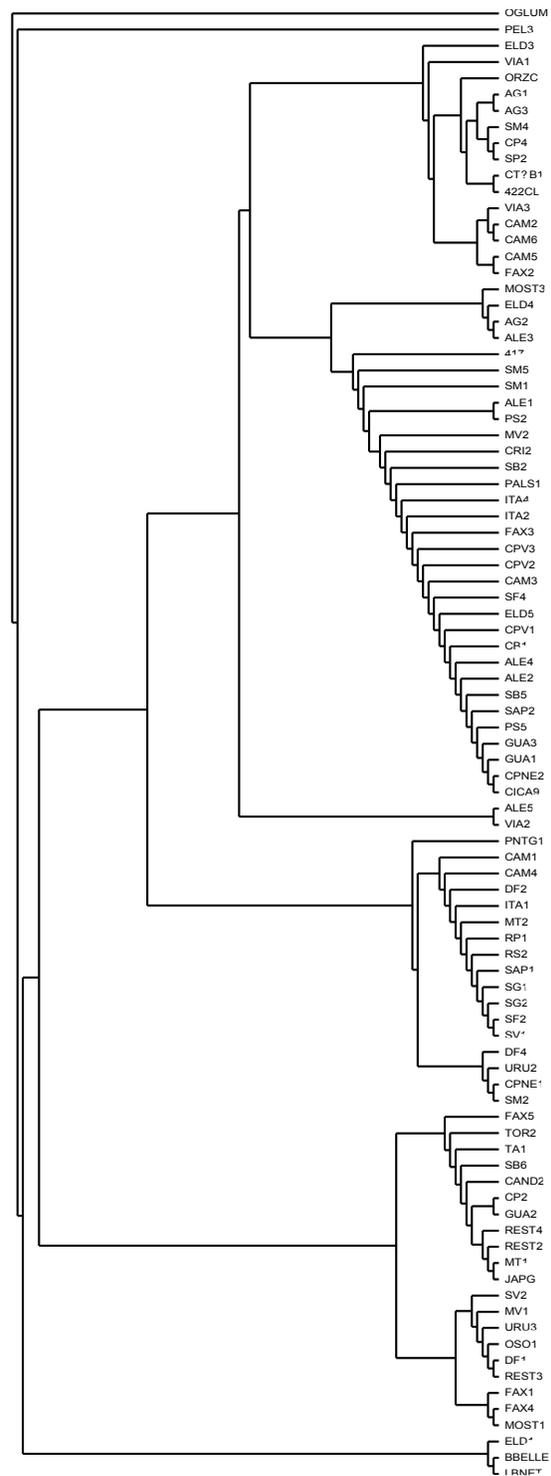


Figura 2: Cladograma gerado com base em marcadores de microssatélites de acessos de arroz vermelho, *Oryza glumaepatula* e cultivares.