

# DISSIMILARIDADE GENÉTICA ENTRE POPULAÇÕES DE AZEVÉM ANUAL DO RIO GRANDE DO SUL

## GENETIC DISSIMILARITY AMONG ANNUAL RYEGRASS POPULATIONS FROM THE RIO GRANDE DO SUL STATE, BRAZIL

Carla Rejane Caneda Jardim de Vargas<sup>1</sup>; Antonio Costa de Oliveira<sup>2\*</sup>; Fernando Irajá Félix de Carvalho<sup>2</sup>; Paulo Dejalma Zimmer<sup>3</sup>; Mauricio Marini Kopp<sup>4</sup>; Fabio Almeida de Freitas<sup>4</sup>; Élisson Constante Bernardi<sup>5</sup>

### RESUMO

Os objetivos deste trabalho foram caracterizar em nível morfológico e molecular a variabilidade genética entre 26 populações de azevém coletadas em quatro regiões distintas do Rio Grande do Sul. Para a caracterização morfológica utilizou-se o espaçamento de 0,30 m dentro da linha e entre linhas. As variáveis mensuradas foram número de filhinhos por planta, diâmetro de cobertura do solo e duração do ciclo vegetativo. Os dados foram submetidos à análise de variância e teste de comparação de médias, além de uma análise de correlação entre os caracteres. Para a avaliação molecular duas extrações independentes de DNA foram realizadas a partir de dois bulks de dez plantas por população, que foram utilizadas para a caracterização molecular através da técnica de RAPD. Foram testados 130 primers, sendo utilizados os 15 mais polimórficos. As análises realizadas foram de componentes principais e de agrupamento pelo método da ligação média. Para o caráter número de filhinhos as populações Dom Pedrito – 2 e Dom Pedrito – Guatambu foram superiores, com média de 36,9 e 31,9 filhinhos por planta, respectivamente. Para o caráter diâmetro de cobertura do solo as populações Cruz Alta, Santo Ângelo e Sarandi, apresentaram as maiores médias, de 55,01; 53,82 e 90,99 cm, respectivamente. A população Santo Ângelo teve o menor ciclo vegetativo com 136 dias. Em nível molecular, foi possível diferenciar todas as 26 populações estudadas. As diferenças moleculares apresentaram uma boa associação com os caracteres morfológicos número de filhinhos e diâmetro de cobertura do solo.

Palavras-chave: populações de azevém, caracteres morfológicos, RAPD.

### ABSTRACT

The objectives of this work were to characterize at morphological and molecular levels the genetic variability in 26 ryegrass populations collected in four different areas from Rio Grande do Sul state - Brazil. Plants were sowed with 0.30 m space within and between rows for the morphological characterization. The variables evaluated were: tiller number, canopy diameter and vegetative cycle. Analysis of variance, test of comparison of means and correlation analysis among the characters were performed. For the molecular evaluation two independent extractions of DNA were obtained from two bulks of ten plants each per population, which were used for the molecular characterization with the RAPD technique. A total of 130 primers were tested, and the 15 most polymorphic were used. Main components and clustering analyses were performed using the average linkage method from the SAS statistical program. For tiller number, the populations Dom Pedrito - 2 and Dom Pedrito - Guatambu were superior, with average of 36.9 and 31.9 tillers per plant, respectively. For canopy diameter, the populations Cruz Alta, Santo

Ângelo and Sarandi, with averages of 55.01; 53.82 and 90.99 cm, respectively, presented the higher means. The population Santo Ângelo had the smallest vegetative cycle with 136 days. At the molecular level all the 26 studied populations were able to be discriminated. The molecular differences showed a good association with the morphological characters tiller number and canopy diameter.

Key words: ryegrass population, morphological traits, RAPD.

### INTRODUÇÃO

Cerca de 61% da cobertura vegetal do estado do Rio Grande do Sul é composta por pastagens nativas que apresentam crescimento vegetativo na primavera e no verão e grande queda na produção na estação fria, evidenciando a necessidade de complementar a alimentação do gado com espécies que produzam forragem para as estações do outono e do inverno (MOTA et al., 1981). Uma alternativa para suprir esta demanda é a utilização do azevém anual (*Lolium multiflorum* Lam), uma forrageira de clima temperado com boa adaptabilidade às condições climáticas do estado. A origem do azevém anual não é bem definida, mas provavelmente seja originária do norte da Itália (SPEDDING & DIEKMAHNS, 1972), sendo que no Brasil foi introduzida por colonizadores italianos em 1875 no estado do Rio Grande do Sul (ARAÚJO, 1978).

No gênero *Lolium*, há grande variabilidade entre populações selvagens e cultivadas o que reflete a existência de ampla base genética, caracterizada pela presença de espécies selvagens e semi-selvagens em todos os gêneros, criando um cenário privilegiado ao melhoramento vegetal (BREESE & HAYWARD, 1972). Contudo é de fundamental importância que todos os acessos disponíveis sejam amplamente caracterizados, previamente ao estabelecimento de um Programa de Melhoramento Genético (AULER et al., 2002). No que concerne ao melhoramento genético do azevém para o Rio Grande do Sul é muito importante que a seleção de constituições genéticas superiores considere algumas características principais como tolerância ao encharcamento (FREITAS et al., 2003), produção de forragem, palatabilidade aos bovinos, rebrote e fácil semeadura (CARAMBULA, 1971), além de ciclo vegetativo, diâmetro de cobertura do solo e número de filhinhos (TCACENCO, 1989). O azevém é a gramínea anual forrageira de clima temperado de

<sup>1</sup> Bióloga, Mestranda do Programa de Pós-graduação em Agronomia Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel (FAEM), Universidade Federal de Pelotas (UFPel);

<sup>2</sup> Engenheiro Agrônomo, Ph.D., Professor Adjunto Departamento de Fitotecnia FAEM/UFPel. \* Universidade Federal de Pelotas, Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Campus Universitário S/N, Caixa Postal-354, CEP: 96001-970, Pelotas, Rio Grande do Sul, Brasil. E-mail: acostol@terra.com.br;

<sup>3</sup> Engenheiro Agrônomo, Dr., Professor Adjunto Departamento de Fitotecnia FAEM/UFPel;

<sup>4</sup> Engenheiro Agrônomo, Mestrando do Programa de Pós-graduação em Agronomia FAEM/UFPel;

<sup>5</sup> Acadêmico do Curso de Agronomia, Estagiário do Centro de Genômica e Fitomelhoramento FAEM/UFPel.

(Recebido para Publicação em 19/07/2004, Aprovado em 13/04/2006)

maior utilização no estado (MAIA, 1995), que possui cerca de 5,4 milhões de hectares de terras baixas (PINTO et al., 2004), com o sistema de produção alicerçado no cultivo do arroz irrigado e na pecuária extensiva (PORTO et al., 1998). O azevém poderá se tornar uma boa alternativa para sucessão de cultura com o arroz, além de fornecer forragem nos períodos de escassez de pastagem natural, desde que seja melhorado e adaptado para as condições do agroecossistema das terras baixas.

A obtenção de uma população base para o melhoramento requer a identificação de genitores convenientes, para permitir um bom ganho genético na seleção das características desejadas. Uma maneira que pode tornar rápida e eficiente a seleção de genitores é a utilização de técnicas de marcadores moleculares para caracterização da variabilidade genética (OLIVEIRA et al., 1996; POWELL et al., 1996; OUBORG et al., 1999), porém a possibilidade de correlação dos dados moleculares com dados fenotípicos (BERED et al., 2001) possibilita a geração de informações mais precisas para a escolha de genitores e obtenção da população base para o programa de melhoramento.

Os objetivos deste trabalho foram caracterizar em nível morfológico e molecular a variabilidade genética entre 26 populações de azevém anual coletadas em diferentes regiões do Rio Grande do Sul.

## MATERIAL E MÉTODOS

Foram estudadas 26 populações de azevém anual (*Lolium multiflorum* Lam), oriundas de 4 regiões do estado do Rio Grande do Sul (Tabela 1). Para o estabelecimento das regiões, utilizou-se os mesmos critérios que o IBGE utiliza na separação das regiões do estado (IBGE, 2004). As análises moleculares foram realizadas no Laboratório de Genômica e Fitomelhoramento e as análises morfológicas foram realizadas na área experimental do Centro Agropecuário da Palma FAEM/UFPel, Capão do Leão - RS. O experimento foi realizado entre abril e outubro de 2000 e adotou o delineamento de blocos completamente casualizados com três repetições, sendo cada parcela formada por uma linha com 15 plantas. Adotou-se o espaçamento de 0,30 m dentro da linha e entre linhas, de modo que fosse possível a avaliação individual de cada planta. Durante o desenvolvimento vegetativo foram controladas as invasoras mas não foram realizadas adubações nem controle de insetos e moléstias.

### Avaliações morfológicas

As variáveis mensuradas foram número de filhinhos por planta, diâmetro de cobertura do solo e ciclo vegetativo. O número de filhinhos e o diâmetro de cobertura do solo foram mensurados 103 dias após a semeadura, avaliando-se as 15 plantas de cada parcela. Para a avaliação do ciclo vegetativo foi contabilizado o período entre a semeadura e o florescimento de 50% das espigas da linha.

### Avaliações moleculares

De cada uma das 26 populações foram obtidas duas extrações independentes de DNA, cada uma constituída de 10 indivíduos coletados em *bulk*, pelo método CTAB 2% (SAGHAI-MAROOF et al., 1984). O DNA foi quantificado em gel de agarose 0,8%. Foram testados 130 *primers* provenientes da *University of British Columbia* (UBC) ([www.biotech.ubc.ca/services/naps/primers/Primers.pdf](http://www.biotech.ubc.ca/services/naps/primers/Primers.pdf)), sendo que os quinze com maior polimorfismo e consistência foram utilizados em todas as populações.

Para cada reação de RAPD utilizou-se 25 ng de DNA genômico; 0,2 mM de dNTPs; 0,02% de corante "cresol red"

para marcação da corrida eletroforética; 0,5 pM de *primer*; 2,5 mM de MgCl<sub>2</sub>; 50 mM de KCl; 10 mM de Tris-HCl pH 9,0; 0,8 unidades de Taq DNA polimerase (Pharmacia) e 0,1% de Triton X-100 para melhor eficiência da Taq de acordo com protocolo descrito por BERED et al. (2001). As reações de amplificação foram programadas para 45 ciclos a 94°C por 90 segundos (desnaturação), 36°C por 60 segundos (anelamento) e 72°C por 120 segundos (extensão). Um período de 5 minutos a 72°C foi programado após o último ciclo para o reparo das extremidades dos fragmentos. Os fragmentos amplificados foram separados em gel de agarose 1,2%, corados com brometo de etídio, visualizados em transluminador ultravioleta e fotografados.

### Análise Estatística

#### Dados morfológicos

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e, a partir das médias das variáveis para cada população, foi realizado o teste de comparação de médias proposto por SCOTT & KNOTT (1974) com a utilização do programa estatístico GENES (CRUZ, 2001). Além disso, foi analisada a correlação fenotípica simples entre os caracteres no programa estatístico SAS (STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM, 1989).

#### Dados moleculares

Todo fragmento de DNA identificado no gel, caracterizado por uma banda, foi avaliado em função da presença ou ausência em cada genótipo, adotando-se zero (0) para ausência da banda e 1 (um) para presença. Apenas as bandas presentes nas duas amplificações independentes de cada genótipo foram consideradas (OLIVEIRA et al., 1996). A análise de agrupamento foi realizada pelo método UPGMA (*Unweighted Pair-Group Method Using Arithmetic Averages*) obtido através da matriz de similaridade calculada pelo coeficiente de DICE (DICE, 1945) utilizando-se o programa estatístico SAS (STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM, 1989) e a estabilidade estatística dos agrupamentos foi estimada pela análise de bootstrap com 100 repetições através do programa computacional Winboot (YAP & NELSON, 1996).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

### Análise morfológica

Os resultados obtidos na análise de variância mostraram diferenças significativas entre as populações para todos as variáveis analisadas. O resultado do teste de comparação de médias para os caracteres número de filhinhos por planta, diâmetro de cobertura do solo e ciclo vegetativo além dos coeficientes de variação (C.V.) pode ser visualizado na Tabela 1. O número de filhinhos é um caráter que pode contribuir de forma decisiva no estabelecimento da cultura, além disso está diretamente relacionado com a produtividade de forragem (NELSON et al., 1977). Para este caráter, o teste de comparação de médias de Scott-Knott separou as populações em três grupos distintos (a, b, c) sendo que duas populações foram consideradas superiores: Dom Pedrito – 2 e Dom Pedrito – Guatambu, ambas coletadas no mesmo município (Região Sudoeste). Estas populações apresentaram média de filhinhos por planta de 36,9 e 31,9, respectivamente. Sete populações foram classificadas como intermediárias, variando de 23,16 até 27,8 filhinhos por planta. Dezesete populações apresentaram médias inferiores, variando de 12,4 até 22,24. O número de filhinhos é um caráter afetado negativamente por baixas temperaturas (TCACENCO, 1989). Em função disso, populações adaptadas a regiões com temperaturas superiores do que aquelas registradas em Capão do Leão podem não ter

expressado todo o potencial genético para este caráter, devido ao ambiente local.

Para o caráter diâmetro de cobertura do solo o teste de comparação de médias separou as populações em quatro grupos distintos (a, b, c, d) sendo que três populações foram superiores para este caráter: populações Cruz Alta, Santo Ângelo e Sarandi (Região Noroeste). Para estas populações o diâmetro de cobertura do solo variou de 50,99 a 55,01 cm. Cinco populações tiveram comportamento um pouco inferior, com diâmetro médio de 45,61 a 49,39 cm de cobertura do solo, 11 populações variaram de 40,01 até 43,52 cm de cobertura do solo e o restante das populações apresentaram médias de 31,16 até 38,06 cm de cobertura do solo.

Quanto ao caráter ciclo vegetativo as populações foram separadas em seis grupos (a, b, c, d, e, f). O menor nível (menor ciclo) foi verificado em apenas uma população (Santo Ângelo - Região Noroeste). Esta população apresentou ciclo vegetativo de apenas 136 dias. Por outro lado o maior ciclo vegetativo foi verificado em seis populações, sendo que neste grupo o ciclo vegetativo variou de 184 até 194 dias. As demais populações apresentaram ciclos intermediários. A grande diferença no intervalo de florescimento entre a população mais

precoce e as mais tardias (pelo menos 48 dias), contrasta com os resultados obtidos por CASTRO et al. (2003), onde as diferenças limitaram-se a uma semana. Esta variação certamente é decorrente do grande número de populações avaliadas oriundas de ambientes bem diferenciados. No entanto, outros fatores podem ter contribuído, como por exemplo, as baixas temperaturas e as precipitações acima do esperado para o período. A data de florescimento é geneticamente controlada por um sistema poligênico, principalmente de efeito aditivo (HAYWARD, 1967), mas com forte influência ambiental, pois é dependente do fotoperíodo que é controlado por um ou poucos genes e constituem o sistema poligênico de controle da data de florescimento. A transferência de populações naturais para ambientes distintos poderá até inibir o florescimento, desde que o período fotocrítico não seja atingido (COOPER, 1950). Além disso, foi observado que as populações que apresentaram um ciclo maior, foram oriundas de regiões de latitude mais baixa. Portanto, estes resultados são consistentes com os resultados de AAMLID et al. (2000), que concluíram que o ciclo vegetativo aumenta em função da latitude, uma vez que o manejo dado a todas as populações foi o mesmo.

Tabela 1 – Média das variáveis número de afilhos por planta, diâmetro de cobertura do solo e ciclo vegetativo, para as populações coletadas em diferentes municípios do estado do RS. Pelotas, UFPel, 2000.

Região de Coleta †	Designação da população em função do município	Variáveis					
		Número de afilhos		Diâmetro de cobertura do solo (cm)		Ciclo vegetativo (dias)	
Central (C)	Julio de Castilhos	17,44	c	40,79	c	172,0	c
	Pantano Grande	21,53	c	40,12	c	172,0	c
	Rio Pardo	24,97	b	40,69	c	186,0	a
	Tupanciretã	17,49	c	42,23	c	177,0	b
Noroeste (NO)	Campo Novo	23,2	b	34,31	d	163,5	d
	Cruz Alta	18,93	c	55,01	a	155,0	e
	Erechim	18,75	c	37,52	d	166,33	d
	Ijuí	21,93	c	46,26	b	165,66	d
	Lagoa Vermelha	19,6	c	43,19	c	190,0	a
	Marau	23,35	b	40,01	c	172,0	c
	Panambi	17,2	c	46,36	b	159,66	d
	Passo Fundo	27,8	b	49,39	a	169,0	c
	Santo Ângelo	18,24	c	53,82	b	136,0	f
	Santo Augusto	12,33	c	35,01	d	172,0	c
	São Luiz Gonzaga	12,4	c	42,5	c	171,33	c
	Sarandi	27,06	b	50,99	a	152,0	e
	Tucunduva	23,16	b	43,52	c	154,5	e
Vacaria	27,23	b	37,85	d	185,0	a	
Sudeste (SE)	Camaquã	22,24	c	38,06	d	172,0	c
	Capão do Leão	17,98	c	39,37	c	194,0	a
Sudoeste (SO)	Dom Pedrito – 1	21,5	c	31,16	d	184,0	a
	Dom Pedrito – 2	36,9	a	42,5	c	176,0	b
	Dom Pedrito - Guatambú	31,9	a	36,14	d	190,0	a
	São Borja	20,53	c	46,99	b	160,66	d
	São Gabriel	13,46	c	45,61	b	166,33	d
	Uruguaiana	18,15	c	41,27	c	177,0	b
C.V. (%)		22,73		9,8		3,34	

† - Conforme critério estabelecido pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística – IBGE

\* - Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem estatisticamente pelo teste de SCOTT & KNOTT a 5 % de significância C.V. – Coeficiente de variação

Com relação ao desempenho individual das populações, não foram identificadas populações superiores para todos os caracteres avaliados, sugerindo que o melhoramento genético desta espécie possa ser direcionado ao desenvolvimento de sintéticos combinados entre as populações superiores para os diferentes caracteres. Futuros estudos poderão discutir a

possibilidade de seleção intrapopulacional no melhoramento genético. As populações Dom Pedrito – 2, e Dom Pedrito – Guatambú se destacaram para o caráter número de afilhos por planta, importante para a produção de forragem e cobertura do solo. Já para a variável diâmetro de cobertura do solo, as populações Cruz Alta, Santo Ângelo e Sarandi se destacaram.

As populações que apresentaram maior período de ciclo vegetativo foram Rio Pardo, Lagoa Vermelha, Vacaria, Capão do Leão, Dom Pedrito - 1 e Dom Pedrito – Guatambu. Assim fica evidenciado que nenhuma população foi superior para todas as variáveis no entanto a população Dom Pedrito – Guatambu merece especial atenção devido a apresentarem médias elevadas em duas variáveis apenas baixo diâmetro de cobertura do solo, sendo uma excelente população para utilização em programas de melhoramento.

#### Correlação das variáveis morfológicas

De uma forma geral, as correlações entre os caracteres avaliados foram baixas, com exceção da correlação negativa entre diâmetro de cobertura do solo e ciclo vegetativo (Tabela 2). Esta correlação alta e negativa é esperada, pois quanto mais precoces as plantas (menores valores) maiores serão os seus valores de diâmetro de cobertura do solo, indicando uma rápida capacidade de cobertura do solo nas populações precoces avaliadas.

Tabela 2 – Correlação simples entre os caracteres número de filhos por planta, diâmetro de cobertura do solo e ciclo vegetativo. Pelotas, UFPel, 2000.

	Número de filhos	Diâmetro de cobertura	Ciclo vegetativo
Número de filhos	1,00	0,15	0,14
Diâmetro de cobertura		1,00	- 0,50*
Ciclo vegetativo			1,00

\* Significativo a 5% de probabilidade de erro pelo teste t

A população que mais evidenciou correlação negativa entre os caracteres diâmetro de cobertura do solo e ciclo vegetativo foi a população Santo Ângelo (Tabela 1) pois apresentou maior média para diâmetro de cobertura de solo e menor média para ciclo vegetativo.

O número de filhos por planta também apresentou baixas correlações com os demais caracteres, além disso, esta variável apresentou o maior coeficiente de variação (22,73 %). Este caráter costuma sofrer grande efeito do ambiente (espaçamento). No entanto, o experimento foi conduzido com bastante critério no que concerne ao espaçamento entre plantas, o que deve ter evitado comportamento compensatório de alguns genótipos no sentido de preencher espaços vazios mediante a emissão de novos filhos. Neste sentido pode ser sugerido que o elevado coeficiente de variação seja decorrente do possível polimorfismo genético intrapopulacional para este caráter, devendo ser confirmado em futuros estudos.

#### Análise molecular

Os 15 *primers* utilizados neste trabalho detectaram 132 alelos RAPD. Os *primers* UBC 64, UBC 65, UBC 66, UBC 75, UBC 79, UBC 92, UBC 351, UBC 353, UBC 354, UBC 358, UBC 370, UBC 375, UBC 383, UBC 385, UBC 388 originaram, 9; 12; 6; 5; 14; 1; 13; 6; 5; 5; 12; 11; 10; 13 e 10 alelos polimórficos, respectivamente. A média de alelos polimórficos por *primer* foi de 8,8. No entanto, o perfil de alelos detectados não pode ser considerado como o resultado da soma dos produtos amplificados de cada constituição genética utilizada no *bulk* de plantas, não sendo capaz de refletir todo o polimorfismo da população (SWEENEY & DANNEBERGER, 1994), pois a técnica de RAPD pode ser capaz de detectar a presença de apenas um indivíduo constituinte do *bulk*

subestimando a variabilidade entre as populações.

A análise de componentes principais dos dados moleculares explica 20,88% da variação total, sendo que o primeiro componente explica 11,17% e o segundo 9,71%. Os resultados não permitem inferências sobre a influência geográfica na diferenciação molecular das populações.

A análise de agrupamento com base nos dados moleculares evidenciou alta variabilidade genética entre as populações utilizadas. Vinte e duas populações foram agrupadas em seis grupos, os quais foram constituídos por mais de uma população. Por outro lado, três populações da região central (Rio Pardo, Júlio de Castilhos e Pantano Grande) e uma população do noroeste (Santo Augusto) não formaram agrupamentos, permanecendo isoladas das demais populações, evidenciando que estas constituições genéticas são as mais dissimilares do restante das populações (Figura 1). As populações geneticamente mais similares foram Ijuí e Cruz Alta (região noroeste). Os grupos dois e cinco agruparam apenas genótipos coletados na região noroeste, sendo que as populações Lagoa Vermelha e Marau foram agrupadas no grupo dois e as populações Panambi, Santo Ângelo e São Luiz Gonzaga, foram agrupadas no grupo cinco. Embora as populações dos grupos dois e cinco pertençam a mesma região é possível distinguir os microclimas de Marau / Lagoa Vermelha do microclima de Cruz Alta / Santo Ângelo / Panambi. No entanto, novamente não é possível inferir sobre o efeito do ambiente sobre a diferenciação geográfica destas populações, em função de que não há informação disponível no que concerne a troca de sementes de um município para outro. O grupo quatro foi formado por dez populações com a menor variabilidade genética para os locos RAPD acessados neste estudo. Este grupo foi formado por seis populações coletadas na região noroeste, três populações coletadas na região sudoeste e uma população coletada na região sudeste. Os resultados evidenciam uma base genética comum destas populações. Os grupos um e seis foram formados por apenas duas populações coletadas em regiões distintas.

Comparando os resultados obtidos no dendrograma baseado em marcadores moleculares e as médias das populações para os caracteres morfológicos, é possível inferir que para o caráter número de filhos, as populações superiores ocorreram nos grupos três e quatro, porém ambas populações foram coletadas na região sudoeste. Para o caráter diâmetro de cobertura do solo as populações superiores foram Sarandi, Cruz Alta e Santo Ângelo, coletadas na região noroeste, porém estas ocorreram nos grupos três, quatro e cinco, respectivamente. A baixa relação entre os dados morfológicos e moleculares para esse caráter pode ser atribuída a um número insuficiente de marcadores utilizados, assim, futuros estudos com maior número de marcadores, poderão proporcionar uma melhor estimativa da variabilidade e associação entre os dados. Com relação ao caráter ciclo vegetativo não houve associação do caráter com os grupos formados com base nos dados moleculares.

As populações de azevém avaliadas neste trabalho puderam ser classificadas em grupos superiores e inferiores, apresentando diferenças significativas para os caracteres morfológicos número de filhos por planta, diâmetro de cobertura do solo e ciclo, de maneira que possam ser identificadas e utilizadas em cruzamentos intergrupos com o objetivo de maximizar a heterose. Além disso, foi constatado que para os caracteres número de filhos por planta e diâmetro de cobertura do solo as populações superiores foram coletadas da região sudoeste e noroeste do estado respectivamente. Em nível molecular, com o uso de

marcadores RAPD, foi possível agrupar em diferentes níveis todas as 26 populações estudadas. As diferenças moleculares

mantiveram uma boa associação com os caracteres morfológicos número de filhos e diâmetro de cobertura do solo.

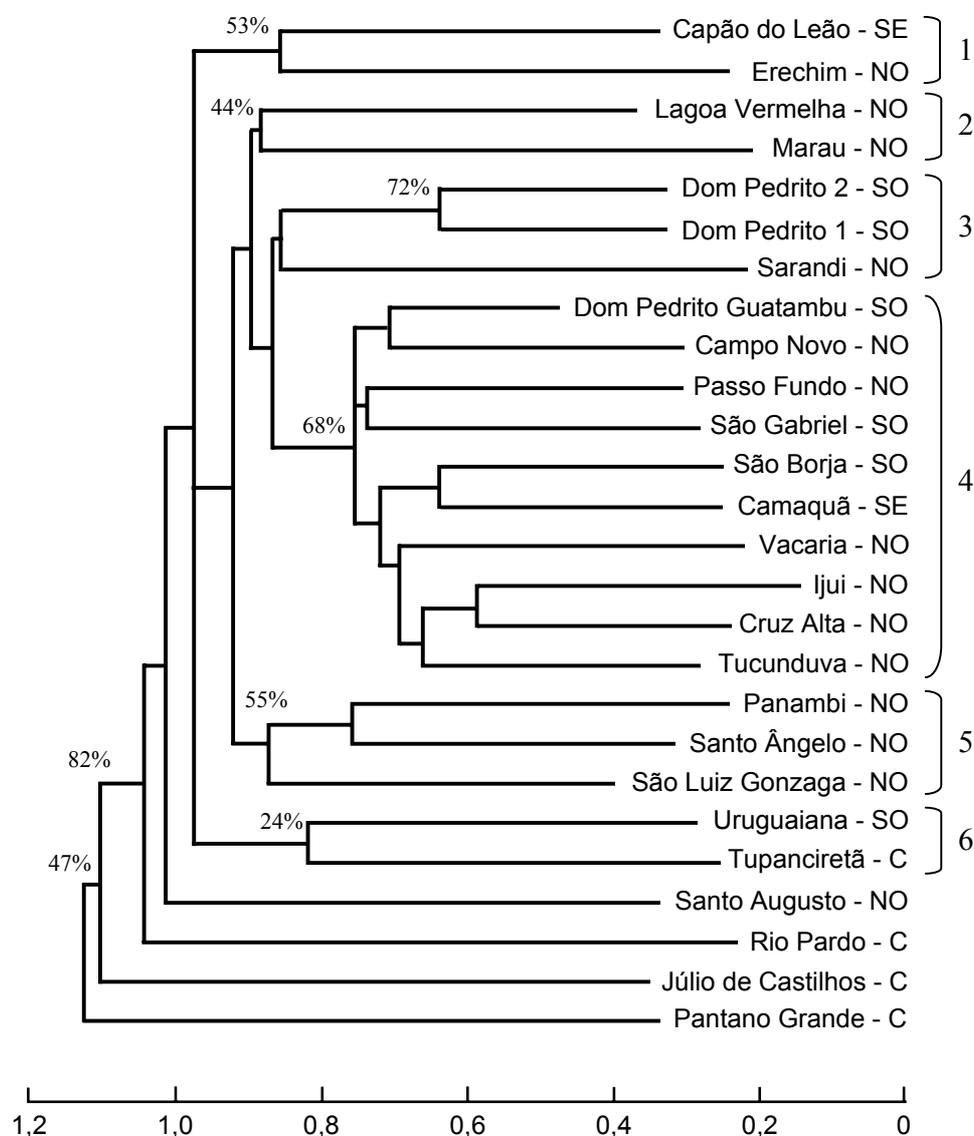


Figura 1 – Dendrograma obtido a partir da análise de RAPD utilizando o índice de similaridade de DICE e o método de agrupamento de ligação média (UPGMA) mostrando o grau de variabilidade genética entre as 26 populações de azevém (*Lolium multiflorum* Lam). Os valores em % indicam o número de vezes que os genótipos agruparam juntos em 100 ciclos de análise de bootstrapping. O nome à direita representa o município de coleta da população. C – região central; NO – região noroeste; SE – região sudeste; SO - região sudoeste, conforme critério utilizado pelo IBGE. Pelotas, UFPel, 2000.

O entendimento da distribuição da variabilidade intra e interpopulacional de azevém (VIEIRA et al., 2004), associado a estudos de prospecção de genótipos com superioridade em caracteres morfológicos (CASTRO et al., 2003) além de futuros estudos sobre a estrutura genética de populações através de AMOVA (EXCOFFIER et al., 1992), e o presente estudo, permitirão aos melhoristas de azevém um mais rápido ganho genético para esta forrageira.

#### AGRADECIMENTOS

Esta pesquisa foi realizada com recursos da FAO/IAEA

(*International Atomic Energy Agency*), Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado do Rio Grande do Sul (FAPERGS), do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e da Universidade Federal de Pelotas (UFPel).

#### REFERÊNCIAS

AAMLID, T.S.; HEIDE, O.O.M.; BOELT, B. Primary and secondary induction requirements for flowering of contrasting European varieties of *Lolium perenne*. **Annals of Botany**,

London, v.86, n.6, p.1087-1095, 2000.

ARAÚJO, A. A. **Forrageiras para ceifa: capineiras, fenação e ensilagem**. Porto Alegre: Sulina, 1978. 196p.

AULER, N.M.F.; REIS, M.S.; GUERRA, M.P. et al. The genetics and conservation of *Araucaria angustifolia*: I. Genetic structure and diversity of natural populations by means of non-adaptative variation in the state of Santa Catarina, Brazil. **Genetics and Molecular Biology**, Ribeirão Preto, v.25, n.3, p.329-338, 2002.

BERED, F.; BARBOSA NETO, J.F.; ROCHA, B.M. et al. Genetic variability in common wheat based on morphological traits, coefficients of parentage and RAPD's. **Journal of New Seeds**, Binghamton, v.3, n.2, p.73-87, 2001.

BREESE, E.L.; HAYWARD, M.D. The Genetics basis of present breeding methods in forage crops. **Euphytica**, Dordrecht, v.21, n.2, p.234-236, 1972.

CARAMBULA, M. **Producción y manejo de pasturas sembradas**. Montevideo: Hemisfério Sur, 1971. 463p.

CASTRO, C.M.; OLIVEIRA, A.C.; CARVALHO, F.I.F.; et al. Morphological and molecular characterization of Italian ryegrass populations. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, Londrina, v.3, p.245-254, 2003.

COOPER, J.P. Day-length and head formation in the ryegrasses. **Journal of the British Grassland Society**, Herts, v.5, p.105-112, 1950.

CRUZ, C.D. **Genes**: Aplicativo computacional em genética e estatística. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 2001. 648p.

DICE, L.R. Measures of the amount of ecological association between species. **Ecology**, Washington, v.26, n.3, p.297-307, 1945.

EXCOFFIER, L.; SMOUSE, P.E.; QUATTRO, J.M. Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA halotypes: Application to human mitochondrial DNA restriction sites. **Genetics**, Baltimore, v.131, p.479-491, 1992.

FREITAS, F.A.; OLIVEIRA, A.C.; CARVALHO, F.I.F. et al. Análise multivariada de populações de azevém (*Lolium multiflorum* L.) em diferentes regimes de água. **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, v.9, n.1, p.17-23, 2003.

HAYWARD, M.D. The genetic organization of natural populations of *Lolium perenne*. II: inflorescence production. **Heredity**, Oxon, v.22, n.1, p.105-116, 1967.

IBGE: Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística 2004. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br/home/geografia/cartogramas/ctb.html>>. Acesso em 19 fev. 2004.

MAIA, M.S. **Secagem de sementes de azevém anual (*Lolium multiflorum* Lam.) com ar em ambiente controlado**. Pelotas, 1995. 108p. Tese (Doutorado em Agronomia) - Faculdade de Agronomia "Eliseu Maciel", Universidade Federal de Pelotas.

MOTA, F.S.; BERNY, Z.B.; MOTA, J.F.A.S. Índice climático de crescimento de pastagens naturais no Rio Grande do Sul.

**Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.16, n.4, p.453-472, 1981.

NELSON, C.J.; ASA, Y.K.H.; SLEPER, D.A. Mechanisms of canopy development of tall fescue genotypes. **Crop Science**, Madison, v.17, n.3, p.449-452, 1977.

OLIVEIRA, A.C.; RICHTER, T.; BENNETZEN, J. Regional and racial specificities in sorghum germplasm assessed with DNA markers. **Genome**, Montreal, v.39, n.3, p.579-587, 1996.

OUBORG, N.J.; PIQUOT, Y.; GRONENDAEL, J.M. Population genetics, molecular markers and the study of dispersal in plants. **Journal of Ecology**, Oxon, v.87, n.4, p.551-568, 1999.

PINTO, L.F.E.; LAUS, J.A.; PAULETTO, E.A. Solos de várzea no sul do Brasil. In: GOMES, A.S.; MAGALHÃES Jr, A.M. **Arroz irrigado no sul do Brasil**. Embrapa-Informação Tecnológica, Distrito Federal, Brasília, 2004. cap.3, p.75-95.

PORTO, M.P.; PARFITT, J.M.B.; GASTAL, M.F.C. et al. **Culturas alternativas ao arroz irrigado nas várzeas do sul do Brasil**. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 1998. 42p.

POWELL, W.; MORGANTE, M.; ANDRE, C. et al. The comparison of RFLP, RAPD, AFLP and SSR (microsatellite) markers for germplasm analysis. **Molecular Breeding**, Dordrecht, v.2, n.3, p.225-238, 1996.

SAGHAI-MAROOF, M.A.; SOLIMAN, K.M.; JORGENSEN, R.A. et al. Ribosomal DNA spacer length polymorphism in barley: Mendelian inheritance, chromosome location and population dynamics. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the U.S.A.**, Washington, v.81, n.24, p.8014-8018, 1984.

SCOTT, A.J.; KNOTT, M. A cluster analysis method for grouping means in the analysis of variance. **Biometrics**, Washington, v.30, n.3, p.507-512, 1974.

SPEDDING, O.R.W.; DIEKMAHNS, E.O. **Grasses and legumes in british agriculture**. Bucks: Commonwealth Agricultural Bureaux, 1972. 250p.

STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM - SAS institute inc. **SAS statistical user's guide**. Version 6. 4.ed., v.2, Cary:NC, SAS Institute Inc., 1989. 846p.

SWEENEY, P.M.; DANNEBERGER, T.K. Random amplified polymorphic DNA in perennial ryegrass: A comparison of bulk samples vs. individuals. **HortScience**, Corvallis, v.29, n.6, p.624-626, 1994.

TCACENCO, F.A. Desempenho de Cultivares de *Lolium multiflorum* Lam. em Lages Santa Catarina. **Pesquisa Agropecuária Gaúcha**, Porto Alegre, v.1, n.1, p.119-123, 1989.

VIEIRA, E.A.; CASTRO, C.M.; OLIVEIRA, A.C. et al. Genetic structure of annual ryegrass (*Lolium multiflorum*) populations estimated by RAPD. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v.61, n.4, p.407-413, 2004.

YAP, I.V.; NELSON, R.J. **Winboot**: a program for performing bootstrap analysis of binary data to determine the confidence limits of UPGMA-based dendrograms. Manila: IRRI, 1996. 22p.