

7 DIVERSIDADE DE ECOTIPOS DE CINCO ESPECIES DE RAIGRÁS DO NOROESTE DE ESPANHA MEDIANTE CARACTERES FENOTÍPICOS E MICROSATÉLITES





Autores artigo orixinal: Cristina Isabel Fernández-Otero, Ana María Ramos-Cabrer e Santiago Pereira-Lorenzo
En: *BMC Plant Biology*, 24:740. <https://doi.org/10.1186/s12870-024-05440-7>. 2024

Introdución

Os raigrases (*Lolium* spp.) son plantas herbáceas usadas para os pastos, que destacan pola súa elevada produción de biomasa, cunhas boas calidades nutricionais e moi apetecibles para o gando. Algunhas destas especies tamén contribúen a controlar a erosión do solo e o establecemento de coberturas vexetais. En Galicia, unha parte importante dos cultivos forraxeiros multiespecie corresponden ao raigrás. Nos últimos anos, debido ao descenso dos prezos do leite e ao aumento dos custos dos insumos, moitos gandeiros trataron de realizar un uso máis eficiente dos recursos propios para garantir a rendibilidade das súas granxas. Neste contexto, incluíuse o uso de material xenético ben adaptado ás condicións locais.

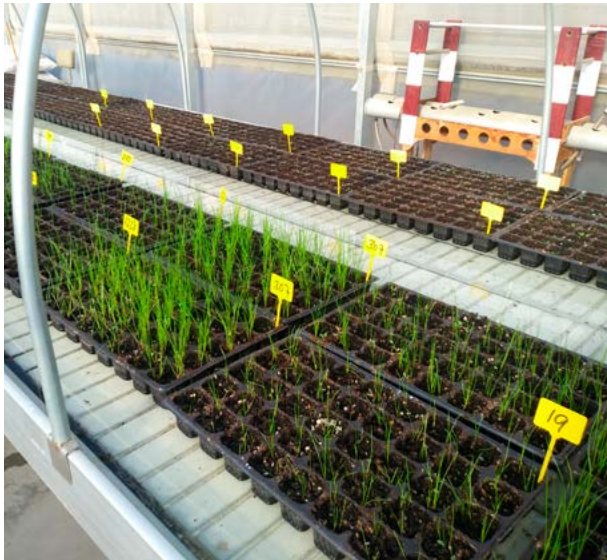
As sementes de raigrás, conservadas no Banco de Xermoplasma do Centro de Investigacións Agrarias de Mabegondo (CIAM), son moi demandadas, tanto por parte dos produtores como dos investigadores, xa que se utilizan en cruzamentos ou en investigación. Isto crea a necesidade de caracterizar as poboacións naturais, co obxectivo de coñecer o seu potencial agronómico e empregalas en cruzamentos con outras variedades, ademais da posible obtención de variedades comerciais máis adaptadas ás condición edafoclimáticas de Galicia. Durante máis de 40 anos, diversos investigadores do CIAM obtiveron unha serie de cultivares de ecotipos galegos de raigrás, entre os que se atopan os *Lolium perenne* ‘Brigantia’ e ‘Ciami’ e o *Lolium multiflorum* ‘Pomba’. Para avaliar esta variabilidade, empregáronse marcadores moleculares de tipo microsatélites (SSRs). No estudo que se resume a continuación, utilizáronse 10 caracteres agromorfolóxicos e 11 marcadores moleculares para caracterizar agronómica e xeneticamente unha parte da extensa colección de *Lolium* conservada no CIAM (58 ecotipos e 10 cultivares comerciais).

Metodoloxía

Plantas: as poboacións analizadas da colección do CIAM foron: 23 ecotipos e 5 cultivares comerciais de *L. multiflorum* Lam., 29 ecotipos e 5 cultivares comerciais de *L. perenne* L., 2 ecotipos de *L. canariense* Steud, 3 ecotipos de *L. rigidum* Gaudin e 1 de *L. temulentum* L. Os cultivares comerciais analizados foron ‘Campivert’, ‘Litonio’, ‘Pomba’, ‘Promenade’ e ‘Vallivert’ de *L. multiflorum*; e ‘Barsintra’, ‘Brigantia’, ‘Barforma’, ‘Ciami’ e ‘Maraeko’ de *L. perenne*.

Caracteres fenotípicos analizados: a avaliación baseouse nos protocolos da Unión Internacional para a Protección de Novas Variedades de Plantas (UPOV). Recolléronse os seguintes parámetros: FES (data do espigado), CRI (crecemento de inverno), CRP (crecemento de primavera), CRE (crecemento no espigado), FLW (ancho da folla na inflorescencia), FLL (lonxitude da folla na inflorescencia), AIN (número de inflorescencias), HAB (hábito de crecemento), ENF (tolerancia a enfermidades) e APH (altura media da planta en floración).

Análises estatísticas: realizouse unha análise ANOVA para probar as diferenzas entre *L. perenne* e *L. multiflorum*, así como outra para probar as diferenzas entre ecotipos/cultivares agrupados en RPP (Poboacións Panmíticas Reconstruídas, ou poboacións reconstruídas mediante o software *Structure*), partindo do suposto de que todos os individuos teñen a mesma probabilidade de cruzarse e o cruzamento é ao azar. Tamén se fixo unha análise factorial (AF) de compoñentes empregando o método de compoñentes principais (CP) para ver cales eran as variables que presentaban maior diversidade.



Ecotipos de raigrás no invernadoiro do CIAM



Análise de microsatélites: usáronse 11 microsatélites, que son secuencias simples repetidas (SSR). As relacións entre as mostras estudáronse empregando técnicas estatísticas de análise multivariante.

Resultados e discusión

L. perenne diferenciouse de *L. multiflorum* en varios aspectos: espigaba máis tarde (FES), presentaba un maior crecemento na primavera (CRP), un maior crecemento no espigado (CRE), un maior número de inflorescencias no espigado (AIN) e unha menor lonxitude das follas no momento da inflorescencia (FLL). Mediante o estudo estatístico dos datos, baseado na análise de compoñentes principais, observouse que **a maior variación estaba nas variables relacionadas co crecemento e a aparición da inflorescencia** (CRE, AIN, CRP e FES).

En canto á diversidade observada mediante a análise dos microsatélites, detectáronse 673 xenotipos e 238 alelos. Todos os ecotipos e cultivares mostraron variación intraespecífica, de xeito que se observou máis dun xenotipo por ecotipo/cultivar. Os altos niveis de variabilidade xenética observados poderían explicarse porque algunhas das especies incluídas neste estudo non son capaces de cruzarse entre si, ou tamén pola migración de material de sementeira, tanto

por medios naturais como pola acción do home, incluído o fitomelloramento.

Os estudos desenvolvidos con microsatélites permitiron identificar dous grandes grupos de poboacións xenéticas, cunha lixeira diferenza relacionada coa altitude sobre o nivel do mar, sendo maior en *L. perenne*. Nunha das poboacións agrupáronse moitos dos xenotipos de *L. perenne* e *L. canariense* (RPP1), mentres que a maioría dos xenotipos de *L. multiflorum* e *L. rigidum* se incluíron na segunda poboación xenética (RPP2). Este agrupamento de distintas especies podería deberse a unha rápida evolución molecular, que ocasionaría que os caracteres de distintos grupos sexan similares aínda que teñan distinta orixe evolutiva. Dentro destes grupos, diferenciáronse subgrupos de ecotipos non relacionados con cultivares comerciais. Un subgrupo de *L. multiflorum* identificouse principalmente en Galicia e Asturias, o que podería ser interesante para a obtención de cultivares locais.

O perfil xenético proporciona unha información que permite a identificación de variedades e a certificación da pureza das sementes. Non obstante, dos 58 ecotipos incluídos no estudo, só 22 estaban no mesmo grupo (RPP). Algúns dos ecotipos (6) non puideron ser asignados a un grupo (RPP) determinado, como pasou con *L. temulentum*. Isto podería deberse a que *L. temulentum* é xeneticamente próximo a outras especies de *Festuca-Lolium*, o que suxire em-



Campo de ensaio de *Lolium*

pregar novos microsátélites que permitan unha maior discriminación entre especies.

Os microsátélites analizados neste estudo (SSR) resultarían útiles para a identificación de cultivares e para estudos da evolución e da proximidade filoxenética entre especies. A estrutura xenética observada relacionouse coa variación fenotípica, permitindo a identificación de ecotipos locais non relacionados coas variedades comerciais.

Conclusión

As diferenzas observadas no fenotipo das variedades de raigrás estudadas poderían permitir a obtención de novas variedades comerciais, así como contribuír á conservación da biodiversidade e a súa utilización na agricultura de baixos insumos ou na recuperación de áreas biodegradadas.