

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS**  
**Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel**  
**Programa de Pós-Graduação em Fitossanidade**



**Dissertação**

**FILOGENIA MOLECULAR DE ESPÉCIES DE *Eragrostis* Ness (Poaceae) NO  
PAMPA GAÚCHO**

**Rafael Cappellari**

Pelotas, 2025

**Rafael Cappellari**

**FILOGENIA MOLECULAR DE ESPÉCIES DE *Eragrostis* Ness (Poaceae) NO  
PAMPA GAÚCHO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Fitossanidade da Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciências (área de concentração: Herbologia).

Orientador: Dr. Fabiane Pinto Lamego

Coorientadores: Dr. Gustavo Heiden e Dr. Dirceu Agostinetto

Pelotas, 2025

Universidade Federal de Pelotas / Sistema de Bibliotecas  
Catalogação na Publicação

C247f Cappellari, Rafael

Filogenia molecular de espécies de *Eragrostis* Ness (Poaceae) no pampa gaúcho [recurso eletrônico] / Rafael Cappellari ; Fabiane Pinto Lamego, orientadora ; Gustavo Heiden, Dirceu Agostinnetto, coorientadores. – Pelotas, 2024.

72 f.

Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Fitossanidade, Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, 2024.

1. Planta invasora. 2. Marcadores moleculares. 3. Bioma Pampa. 4. Proximidade genética. I. Lamego, Fabiane Pinto, orient. II. Heiden, Gustavo, coorient. III. Agostinnetto, Dirceu, coorient. IV. Título.

CDD 632.58098165

Elaborada por Ubirajara Buddin Cruz CRB: 10/901

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Fitossanidade da Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciências (área de concentração: Herbologia).

Rafael Cappellari

FILOGENIA MOLECULAR DE ESPÉCIES DE *Eragrostis* Ness (Poaceae) NO  
PAMPA GAÚCHO

Dissertação aprovada, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre(a) em Ciências (área de concentração: Herbologia), Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas.

Data da Defesa: 12/03/2025

Banca examinadora:

---

Prof. Dr. Fabiane Pinto Lamego (Orientadora)  
Doutora em Fitotecnia pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul

---

Prof. Dr. Gustavo Heiden (Co-orientador)  
Doutor em Botânica pela Universidade de São Paulo

---

Prof. Dr. Liliana Essi  
Doutora em Botânica pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul

---

Prof. Dr. Leandro Vargas  
Doutor em Fitotecnia pela Universidade Federal de Viçosa

## **Agradecimentos**

A caminhada até aqui foi longa e cheia de desafios, mas também repleta de aprendizados e pessoas especiais que tornaram essa jornada mais leve e significativa.

À minha mãe, Eucineia Freitas, e ao meu pai, Isair Cappellari, meu amor e gratidão infinitos. Vocês foram minha base em todos os momentos, me ensinaram sobre força, resiliência e, acima de tudo, sobre amor incondicional. Sem o apoio, o carinho e a paciência de vocês, nada disso seria possível. Cada conquista minha é, na verdade, nossa.

Aos meus amigos, Vanessa Cardoso, Elsa Kuhn, Julia Nachtigall, Brenda Soares, Camila Langer, Jonathan Pereira, Juliana Wegner e Bruno Farias, vocês foram os raios de sol nos dias nublados. Entre risadas, desabafos e incentivos, cada um de vocês fez parte dessa jornada, tornando os momentos difíceis mais suportáveis e os momentos felizes ainda mais especiais. Obrigado por acreditarem em mim, mesmo quando eu duvidava.

À minha orientadora, Dra. Fabiane Pinto Lamego, minha profunda gratidão por toda a paciência, dedicação e incentivo ao longo desse processo. Seu olhar atento, suas palavras encorajadoras e sua confiança no meu trabalho fizeram toda a diferença. Ao meu coorientador, Dr. Gustavo Heiden, agradeço por todo conhecimento compartilhado e por me guiar com sabedoria nessa trajetória. Aprendi muito com vocês e levarei esse aprendizado para sempre.

À CAPES, agradeço o financiamento e concessão da bolsa, que foram essenciais para a realização deste trabalho.

Por fim, meu muito obrigado a todos que, de forma direta ou indireta, contribuíram para a realização deste projeto. Cada apoio, incentivo e gesto de carinho fizeram a diferença e tornaram essa conquista possível.

Cada um de vocês tem um pedacinho dessa conquista, e meu coração transborda gratidão por tê-los ao meu lado. Muito obrigado por fazerem parte dessa história!

“O estudo da natureza é um vasto campo onde a cada descoberta se encontram mais mistérios a serem desvendados.”

Carl Sagan

## Resumo

CAPPELLARI, Rafael. **FILOGENIA MOLECULAR DE ESPÉCIES DE *Eragrostis* Ness (Poaceae) NO PAMPA GAÚCHO**. 2025. Orientadora: Fabiane Pinto Lamego. 2025. 61 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Programa de Pós-graduação em Fitossanidade, Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2025.

O gênero *Eragrostis* compreende espécies gramíneas distribuídas globalmente, incluindo *E. plana* (capim-annoni), uma planta invasora de grande impacto ecológico e econômico no Bioma Pampa. A expansão dessa espécie tem causado prejuízos ambientais e produtivos, tornando essencial a compreensão de suas relações filogenéticas com espécies nativas do bioma, visando desenvolver ferramentas biotecnológicas futuramente para seu manejo. O objetivo deste trabalho foi investigar a proximidade filogenética entre *E. plana* e espécies nativas do gênero *Eragrostis* ocorrentes no estado do Rio Grande do Sul (RS), utilizando os marcadores moleculares ITS e *rbcL*. Foram coletadas e identificadas *Eragrostis* em diferentes localidades do RS. O DNA foi extraído para amplificação em cadeia de polimerase com primers para ITS e *rbcL*, visando a construção de árvores filogenéticas pelo Método da Máxima Verossimilhança. Os resultados com base no marcador ITS indicaram que *E. plana* forma um grupo monofilético distinto das espécies nativas, sugerindo uma divergência genética significativa e maior proximidade com *E. lemanhiana* de origem no continente Africano, assim como a invasora. As espécies nativas no Bioma Pampa, como *E. bahiensis*, *E. neesii* e *E. lugens*, apresentaram maior similaridade genética entre si, formando um grupo mais coeso e distinto de *E. plana*, o que indica que compartilham um ancestral comum mais recente entre si do que com *E. plana*. O marcador ITS demonstrou maior capacidade discriminatória para estabelecer relações filogenéticas dentro do gênero, permitindo agrupar as espécies analisadas com melhor resolução, enquanto *rbcL* apresentou menor suporte, com valores reduzidos de bootstrap. A caracterização genética realizada neste estudo contribui para a compreensão da evolução do gênero *Eragrostis* e fornece informações essenciais para futuras estratégias de manejo da espécie invasora.

Palavras-chave: Planta invasora; Marcadores moleculares; Bioma Pampa; Proximidade genética.

## Abstract

CAPPELLARI, Rafael. **MOLECULAR PHYLOGENY OF *Eragrostis* Ness (Poaceae) SPECIES IN THE PAMPA GAÚCHO**. 2025. 59p. Dissertation (Master in Sciences) - Postgraduate Program in Plant Protection, Faculty of Agronomy Eliseu Maciel, Federal University of Pelotas, Pelotas, 2025.

The genus *Eragrostis* comprises grass species distributed globally, including *Eragrostis plana* (lovegrass), an invasive plant with significant ecological and economic impact in the Pampa Biome. The expansion of this species has caused environmental and productive losses, making it essential to understand its phylogenetic relationships with native species of the biome to develop future biotechnological tools for its management. This study aimed to investigate the phylogenetic proximity between *E. plana* and native *Eragrostis* species occurring in the pampas of the state of Rio Grande do Sul, Brazil, using the molecular markers ITS and *rbcL*. *Eragrostis* species were collected and identified in different locations across RS. DNA was extracted for polymerase chain reaction (PCR) amplification using primers for ITS and *rbcL*, aiming to reconstruct phylogenetic trees through the Maximum Likelihood Method. The results based on the ITS marker indicated that *E. plana* forms a monophyletic group distinct from native species, suggesting significant genetic divergence and a closer relationship with *E. lehmanniana*, which originates from the African continent, like the invasive species. Native species of the Pampa Biome, such as *E. bahiensis*, *E. neesii*, and *E. lugens*, exhibited greater genetic similarity among themselves, forming a more cohesive group distinct from *E. plana*. This suggests that these species share a most recent common ancestor, distinct of the African species. The ITS marker demonstrated greater discriminatory power in recovering phylogenetic relationships within the genus, discriminating the analyzed species with better resolution, while *rbcL* showed lower resolution with reduced bootstrap values. The genetic characterization performed in this study contributes to the understanding of *Eragrostis* evolution and provides essential information for future strategies to manage the invasive species.

Keywords: Invasive plant; molecular markers; Pampa biome; genetic proximity.

## Lista de Figuras

Figura 1	<p>Filograma construído pelo método de Máxima Verossimilhança (ML), utilizando a sequência do marcador nuclear ITS (<i>Internal Transcribed Spacer</i>) para a identificação dos acessos das espécies de <i>Eragrostis</i>. A árvore foi gerada no programa Geneious 2025.0.3, seguindo o modelo evolutivo GTR+I+G, selecionado pelo software jModelTest. A confiabilidade dos ramos foi avaliada por meio do teste de bootstrap, utilizando o método Neighbor-Joining.....</p>	24
Figura 2	<p>Filograma construído pelo método de Máxima Verossimilhança mostrando a identificação dos genótipos das espécies de <i>Eragrostis</i> com base na sequência do marcador cloroplastidial <i>rbcl</i>. O filograma foi construído pelo programa Geneious 2025.0.3 segundo o modelo GTR+I+G, selecionado pelo programa jModelTest. A medida de confiabilidade dos ramos foi feita pelo teste de bootstrap neighbor-joining.....</p>	27
Figura 3a	<p>Filograma construído pelo método de Máxima Verossimilhança mostrando a identificação dos genótipos das espécies de <i>Eragrostis</i> com base na sequência do marcador nuclear <i>rpS16</i>. O filograma foi construído pelo programa Geneious 2025.0.3 segundo o modelo GTR+I+G, selecionado pelo programa jModelTest. A medida de confiabilidade dos ramos foi feita pelo teste de bootstrap neighbor-joining.....</p>	30
Figura 3b	<p>Filograma construído pelo método de Máxima Verossimilhança mostrando a identificação dos genótipos das espécies de <i>Eragrostis</i> com base na sequência do marcador nuclear <i>rpS16</i>. O filograma foi construído pelo programa Geneious 2025.0.3 segundo o modelo GTR+I+G, selecionado pelo programa jModelTest. A medida de confiabilidade dos ramos foi feita pelo teste de bootstrap neighbor-joining.....</p>	31
Figura 4a	<p>Filograma construído pelo método de Máxima Verossimilhança mostrando a identificação dos genótipos das espécies de <i>Eragrostis</i> com base na sequência do marcador nuclear <i>rp32</i>. O filograma foi construído pelo programa Geneious 2025.0.3 segundo o modelo GTR+I+G, selecionado pelo programa jModelTest. A medida de confiabilidade dos ramos foi feita pelo teste de bootstrap neighbor-joining.....</p>	33

- Figura 4b Filograma construído pelo método de Máxima Verossimilhança mostrando a identificação dos genótipos das espécies de *Eragrostis* com base na sequência do marcador nuclear *rpl32*. O filograma foi construído pelo programa Geneious 2025.0.3 segundo o modelo GTR+I+G, selecionado pelo programa jModelTest. A medida de confiabilidade dos ramos foi feita pelo teste de bootstrap neighbor-joining..... 34
- Figura 5 Filograma construído pelo método de Máxima Verossimilhança mostrando a identificação dos genótipos das espécies de *Eragrostis* com base na sequência do marcador cloroplastidial *trnL*. O filograma foi construído pelo programa Geneious 2025.0.3 segundo o modelo GTR+I+G, selecionado pelo programa jModelTest. A medida de confiabilidade dos ramos foi feita pelo teste de bootstrap neighbor-joining..... 36

## Lista de Tabelas

Tabela 1	Sequência de nucleotídeos e propriedades dos marcadores empregados na amplificação do DNA cloroplastidial e nuclear..	19
Tabela 2	Espécies do gênero <i>Eragrostis</i> , coordenadas geográficas e locais de coleta. Rio Grande do Sul/RS, março, 2024.....	23
Tabela 3	Códigos de acesso ao NCBI das espécies utilizadas, referente ao marcador ITS.....	51
Tabela 4	Códigos de acesso ao NCBI das espécies utilizadas, referente ao marcador <i>rbcL</i> .....	52
Tabela 5	Códigos de acesso ao NCBI das espécies utilizadas, referente ao marcador <i>rpS16</i> .....	53
Tabela 6	Códigos de acesso ao NCBI das espécies utilizadas, referente ao marcador <i>rp32</i> .....	56
Tabela 7	Códigos de acesso ao NCBI das espécies utilizadas, referente ao marcador <i>trnL</i> .....	59

## **Lista de abreviaturas e siglas**

CPACT – Embrapa Clima Temperado

Embrapa - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária

## Sumário

1	Introdução .....	1
2	Revisão de literatura .....	6
2.1	O Bioma Pampa e a pecuária .....	6
2.2	A família Poaceae e o gênero <i>Eragrostis</i> .....	8
2.3	<i>Eragrostis plana</i> .....	10
2.4	Forma de manejo por filogenia molecular e RNAi.....	12
2.5	Caracterização genética .....	14
3	Metodologia.....	17
3.1	Identificação Taxonômica de Plantas do Gênero <i>Eragrostis</i> coletadas no RS e Herborização:.....	17
3.2	Investigação molecular da proximidade genética entre espécies do gênero <i>Eragrostis</i> do RS e a invasora <i>Eragrostis plana</i> .....	18
3.2.1	Extração do DNA .....	18
3.2.2	Processo de amplificação em cadeia da polimerase .....	19
3.3	Análise dos dados.....	21
4	Resultados e Discussão .....	23
6	Considerações finais .....	39
7	Referências bibliográficas .....	40
	Apêndices.....	51

## 1 Introdução

*Eragrostis plana* Nees (Poaceae) ou capim-annoni, como chamada no Brasil, é uma planta conhecida também como “South African lovegrass” ou “lovegrass” em países de língua inglesa e “Éragrostide” em países de língua francesa (BITANCOURT, 1932; GBIF, 2023). Historicamente, foi introduzida no Brasil devido a contaminação de um lote de sementes forrageiras possivelmente vindo da África do Sul, de onde é nativa, e tornou-se invasora das pastagens naturais do bioma Pampa, onde o clima sulino brasileiro favoreceu sua proliferação (REIS, 2000; CARATTI, 2019).

Originária da África do Sul, o capim-annoni revela uma trajetória marcada pela adaptação e pela competição acirrada em seu ambiente nativo. No entanto, ao ser introduzida no Brasil, essa barreira natural sem predadores específicos ou competidores igualmente adaptados, o capim-annoni encontrou no bioma Pampa um território fértil para sua proliferação desenfreada (VAN DER WESTHUIZEN; SNYMAN; FOUCHÉ, 2005; REIS, 2000).

Plantas, como o capim-annoni, podem ser consideradas como produtoras basais na cadeia trófica. Em seu ambiente natural as espécies apresentam competição entre si, assim como espécies animais se adaptaram evolutivamente para o consumo dessas espécies nativas em seu ambiente original (AGOSTINHO, 1997; RADOSEVICH, 2003). Seus ciclos de vida geralmente são regulados por sua genética e pelos organismos e animais que os cercam (PITELLI, 1987). Entretanto, *Eragrostis plana* como espécie invasora, tem dominado as pastagens sulinas, uma vez que não há predação específica ou outros tipos de controle biológico, impondo um domínio agressivo, eliminando plantas locais e reduzindo drasticamente a diversidade da vegetação.

A competição entre as plantas impacta diretamente a rotina e a dieta dos animais em pastagem. Em busca de alimento, eles podem migrar para outras áreas ou se contentar com pasto de menor qualidade, o que, por sua vez, afeta negativamente a produtividade e a saúde do rebanho, refletindo nos resultados da pecuária (LENZI, 2003; SILVA; JUNIOR, 2007), como resultado pastagens empobrecidas, gado subnutrido e um impacto econômico severo para os produtores rurais. As plantas daninhas, nativas ou invasoras representam um

grande problema para a agricultura e pecuária no Brasil; esses organismos competem com as plantas cultivadas e nativas por recursos essenciais, como água, nutrientes, luz solar e espaço, reduzindo a eficiência das lavouras e pastagens e elevando os custos de produção (RADOSEVICH, 2003). Além disso, algumas espécies de plantas daninhas podem liberar substâncias químicas no solo processo conhecido como alelopatia, que influenciam ou inibem o crescimento de outras plantas (SOUZA; VELINI; MAIOMONI-RODELLA, 2003).

A introdução de uma espécie exótica proveniente de ambientes naturais inóspitos, hostis ou de alta competitividade, pode resultar em uma alta capacidade de competição em áreas mais favorecidas, onde há maior disponibilidade de recursos. Esse efeito é intensificado na ausência de predadores naturais, o que facilita o sucesso e a adaptação da espécie no novo ambiente, especialmente se as condições forem semelhantes ou mais favoráveis do que as de sua região de origem. Assim, essas espécies podem invadir diferentes tipos de áreas, incluindo pastagens e diversas culturas (RADOSEVICH, 2003; ARJONA, 2021). Neste contexto, o capim-annoni se tornou a principal planta invasora em pastagens naturais do bioma Pampa no Rio Grande do Sul e em áreas degradadas.

Historicamente, o capim-annoni foi pensado como uma opção forrageira, destacando-se pela alta capacidade de crescimento e pela produção de folhas vigorosas, que poderiam complementar a dieta dos bovinos e auxiliar na proteção do solo (REIS, 1993; REIS, 2000; MEDEIROS; FOCHT, 2007). Todavia, como pastagem demonstrou qualidade inferior às espécies consideradas de menor potencial nutritivo no campo nativo para engorda de animais (BOGGIANO et al. 2004; MEDEIROS; SAIBROS; FOCHT, 2009). Assim, acabou gerando além do impacto direto na competição por recursos com espécies nativas, também com as espécies de interesse econômico.

O capim-annoni impacta negativamente a qualidade das pastagens, tornando-as menos nutritivas para o gado. A planta tende a acumular altos níveis de fibra e apresenta um valor nutricional significativamente inferior ao de outras espécies forrageiras. Além disso, produtores relatam que o excesso de fibras nas folhas desgasta os dentes dos animais, dificultando ainda mais seu

consumo. Outro fator que favorece a persistência do capim-annoni no ambiente é sua alta produção de sementes viáveis (cerca de 37 mil a 111 mil por indivíduo), o que mantém um banco de sementes robusto no solo (REIS, 2000; CARATTI, 2019; BETTEGA, 2022).

As principais famílias de espécies vegetais que constituem os campos sulinos brasileiros pertencem às famílias Asteraceae, Poaceae, Fabaceae, Cyperaceae, Rubiaceae, Euphorbiaceae, Apiaceae, Solanaceae, Malvaceae, Amaranthaceae, Verbenaceae, Plantaginaceae, Orchidaceae, Lamiaceae, sendo Asteraceae e Poaceae as mais comuns em todo o RS (RITTER; DE MOURA BAPTISTA, 2005; SCHNEIDER, 2007; BOLDRINI, 2009; LEMOS, 2019; BRACK et al., 2020; LUZ, 2020; BARBIERI et al., 2023). Dentro da família Poaceae, o gênero *Eragrostis* é o mais distribuído mundialmente; espécies podem ser identificadas em diferentes locais das regiões tropicais, subtropicais, temperadas e em ambos os hemisférios, sendo considerada cosmopolita (WRÓBEL et al., 2021). A invasão por *Eragrostis albensis* foi relatada na Europa Central, sendo reportada em pelo menos, 1300 localidades com ampla expansão após os anos 2000 (WRÓBEL et al., 2021).

O gênero *Eragrostis* possui cerca de 400 espécies e se desenvolve principalmente em regiões abertas e secas. De acordo com Boechat (2000), podemos identificar 23 espécies do gênero no estado do Rio Grande do Sul, sendo 17 nativas e seis introduzidas (CLAYTON, RENVOIZE, 1986; CARATTI, 2019): *E. acutiglumis*, *E. airoides* Ness, *E. bahiensis* Schrad. ex Schult., *E. cataclasta* Nicora, *E. hypnoides* Lam., *E. lugens* Nees, *E. mexicana* subsp. *virescens* (J.Presl) S.D.Koch & Sánchez Vega, *E. neesii* var. *neesii* Trinius, *E. neesii* var. *lindmanni* (Hack.) Ekman, *E. curvula* (Schrad.) Nees, *E. glomerata* (Walter) L.H.Dewey, *E. polytricha* Nees, *E. purpurascens* (Spreng.) Schult., *E. retinens* Hack. & Arechav., *E. rojasii* Hack., *E. seminuda* Trin., *E. trichocolea* Hack. & Arechav., e *E. perennis* Döll como nativas, além das exóticas: *E. cilianensis* (All.) Vignolo ex Janch., *E. ciliaris* (L.) R.Br., *E. pilosa* (L.) P. Beauv. e *E. plana* Nees que formam as paisagens atuais do bioma (BOECHAT; LONGHI-WAGNER, 2000; BOLDRINI, 2005; CAPORAL, 2007; WELKER, 2007; PALMA, 2008; DALMOLIM, 2013).

Algumas espécies do gênero *Eragrostis* possuem potencial de colonizar ambientes antropizados e degradados, normalmente apresentando características de plantas ruderais, que as destacam por crescerem e se reproduzirem mesmo em condições pouco favoráveis, sendo altamente resistentes e muitas vezes competitivas (BOECHAT; LONGHI-WAGNER, 2000; WELKER, 2007). Sendo assim, é de suma importância compreender que a espécie *E. plana* causa prejuízos no campo nativo e deve ser controlada para evitar sua propagação, dominância e permanência no ambiente agrícola e natural, assim como é importante compreender a proximidade genética entre o capim-annoni com as outras espécies do mesmo gênero (AMORIM; CORONEL; TEIXEIRA, 2009).

A Embrapa dispõe de soluções para o manejo do capim-annoni, que mostram sucesso se utilizadas efetivamente (PEREZ, 2015) dentro de um programa de manejo. O método inclui uso do herbicida glifosato que tem como alvo inibir a enzima enol piruvil shiquimato sintase (EPSPS), da rota de síntese de aminoácidos aromáticos não seletivo as demais espécies *Eragrostis* presentes no campo nativo. Deste modo, buscando auxiliar e trazer inovação para o controle, entender aspectos fisio-genéticos da planta invasora pode auxiliar na contenção da espécie invasora, sem prejudicar o campo nativo (BASTIANI, 2019; CARATTI, 2019).

Ferramentas biotecnológicas de controle poderão ser uma opção e hoje são tendência mundial (VIDAL, 2006; SAUSEN, 2020). Deste modo, para que novas estratégias se tornem viáveis é fundamental entender a proximidade de *E. plana* com espécies do mesmo gênero, nativas e/ou exóticas presentes no bioma Pampa.

As hipóteses do presente trabalho são: 1) *Eragrostis plana* compartilha um ancestral comum recente com espécies africanas e forma um grupo monofilético com espécies deste continente, diferenciando-se evolutivamente das espécies nativas do Bioma Pampa. 2) As espécies nativas do Bioma Pampa formam um clado, que indica eventos evolutivos próximos para essas espécies e diferente para as de outras regiões.

Portanto, o objetivo do trabalho foi realizar uma análise filogenética entre a espécie invasora *E. plana* e espécies nativas e introduzidas de *Eragrostis* spp. no Rio Grande do Sul, utilizando marcadores moleculares nucleares e de cloroplasto.

## **2 Revisão de literatura**

### **2.1 O Bioma Pampa e a pecuária**

O Brasil é um dos países com maior diversidade biológica do mundo, graças à vasta extensão territorial e variedade climática que favorecem a presença de diferentes biomas. Os biomas brasileiros englobam a Amazônia, o Cerrado, a Mata Atlântica, a Caatinga, o Pantanal e o Pampa, cada um com características ecológicas e biológicas distintas e únicas (LEWINSOHN, 2002; JOLY et al., 2011). Essas áreas são de extrema importância, tanto para a preservação da biodiversidade quanto para a manutenção de serviços ambientais essenciais, como o equilíbrio climático, o fornecimento de água e a manutenção da fertilidade do solo (MEDEIROS, 2006; ALHO, 2012).

O Bioma Pampa, exclusivo da região sul da América do Sul, ocupa uma área significativa no Brasil, Argentina, Paraguai e Uruguai. No Brasil, está localizado majoritariamente no estado do Rio Grande do Sul, cobrindo cerca de 63% de sua extensão territorial, o que equivale a aproximadamente 176.496 km<sup>2</sup>, ou 2% de toda a superfície nacional. Caracterizado por áreas de campos naturais, o Pampa apresenta paisagens de planícies e colinas suaves, predominando gramíneas e vegetação rasteira que formam ecossistemas únicos e integrados aos países vizinhos, consolidando-se como um importante bioma da região sul do continente. (MONTEBLANCO, 2021; FARIAS, 2023). Esses locais do bioma fornecem habitats para uma diversidade de espécies de plantas e animais, muitos dos quais são endêmicos ou dependentes de condições particulares (LIPINSKI, 2014; MARCHI, 2018; GÓES, 2021; PEIXOTO, 2023).

A pecuária é uma atividade econômica profundamente enraizada no Bioma Pampa, especialmente no estado do Rio Grande do Sul, onde as condições naturais favorecem o desenvolvimento da atividade. A região é propícia para a criação extensiva de gado, uma prática tradicional que utiliza os campos naturais como pastagem. Esse tipo de manejo não apenas se integra com o ecossistema local, mas também se torna viável economicamente, aproveitando as gramíneas nativas que se adaptam ao clima e solo do bioma (PINTO; BOLDRINI; NABINGER, 2006; NABINGER, 2007; BORDA; TRINDADE, 2009; CARVALHO, 2016; FREITAS, 2018).

A pecuária, além de ter um papel cultural importante na região, emprega uma parte expressiva da população rural do Rio Grande do Sul. Esse setor é uma fonte significativa de renda e desenvolvimento econômico, sendo responsável por um percentual considerável dos empregos na zona rural e, conseqüentemente, impulsionando a economia local. A integração da pecuária com a preservação do bioma é, portanto, uma questão relevante para as políticas de uso sustentável e conservação ambiental (BORGES, 2016; RAMOS; VIEIRA FILHO, 2023; MACIEL; TROIAN; VIANA, 2024; BARDEN, 2024).

Posto que a pecuária extensiva possa ser vantajosa do ponto de vista econômico, ambientalmente enfrenta desafios em relação à conservação do Bioma. A expansão de outras atividades econômicas e a pressão por novas áreas de cultivo ameaçam a manutenção dos campos naturais e das espécies que dependem desse habitat. A prática de manejo sustentável torna-se essencial para evitar o desmatamento e a degradação dos recursos naturais, promovendo o equilíbrio entre produção econômica e preservação ambiental (CUNHA, 2008; PRADO; RIBEIRO, 2011; LITRE; BURSZTYN, 2015; KOHLER, 2021).

A conservação dos Biomas é estratégica para a manutenção de diversos serviços ecossistêmicos, incluindo o sequestro de carbono, o controle de erosão e a regulação do ciclo hídrico. A vegetação nativa desempenha um papel essencial na proteção do solo e no armazenamento de água, prevenindo problemas como a desertificação e a perda de qualidade do solo. Dessa forma, conhecer sua posição no ecossistema, as espécies que coexistem no mesmo ambiente e aquelas do mesmo gênero é fundamental para compreender suas interações e seu papel na manutenção do equilíbrio ecológico. Essas funções ecológicas ressaltam a importância de preservar o bioma não apenas para a biodiversidade, mas também para a sustentabilidade agrícola e para a qualidade de vida das populações locais (FERNANDES et al., 2007; MORAIS, et al., 2017; QUINTÃO et al., 2021).

## 2.2 A família Poaceae e o gênero *Eragrostis*

A família Poaceae é uma das mais importantes e amplamente distribuídas famílias de plantas do mundo, desempenhando um papel essencial nos ecossistemas e na economia humana. Compreende cerca de 12 mil espécies distribuídas em mais de 700 gêneros, incluindo gramíneas que variam de plantas herbáceas a bambus gigantes (BAKER et al., 2001; KINUPP, 2007; GOULART, 2011; BARBOSA, 2012; EGOH, 2016; SQUIRES, 2018; GBIF, 2024).

Tendo espécies que são responsáveis por cerca de 70% da produção alimentar global com culturas como arroz (*Oryza sativa*), trigo (*Triticum aestivum*), milho (*Zea mays*), cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum*) e cevada (*Hordeum vulgare*); além de fornecerem nutrição para humanos, também são fonte de forragem para animais e podem também ser utilizadas como fontes de produtos industriais como fibras para produção de papel, biomassa para biocombustíveis, entre outras aplicações (BRANDÃO, 1989; BRANDÃO, 1992; SHAVANOV, 2021).

No âmbito ecológico, as gramíneas desempenham papel vital em diversos biomas, como savanas, pradarias e o cerrado, onde ajudam na conservação do solo, controle de erosão e ciclagem de nutrientes. Sua capacidade de adaptação a condições adversas, como seca e pastoreio, faz com que essas plantas sejam dominantes em muitos habitats naturais e modificados (PILAU, 2005; GOULART et al. 2011; EUCLIDES, 2009; BATISTA, 2024; MENEZES; 2024).

O gênero *Eragrostis* Wolf pertence à família Poaceae e possui mais de 350 espécies encontradas em diferentes regiões do mundo (CLAYTON; RENVOIZE, 1986; HUTANG, 2023), principalmente em áreas tropicais e subtropicais. Essas espécies variam desde gramíneas anuais até perenes e podem ser encontradas em uma ampla diversidade de habitats, incluindo pastagens, campos secos, áreas costeiras e margens de estradas, em maioria são espécies de gramíneas comuns sem uso específico, sendo usadas principalmente como forrageiras (PETERSON; CANAS, 2012; BOECHAT, 2000;

OLIVEIRA, 2017; HOMEM, 2018; HUTANG, 2023) Em geral, as plantas do gênero possuem flores pequenas organizadas em inflorescências do tipo espiguetas, sendo dispersas principalmente por zoocoria através dos animais que pastam na região (BALBINOT et al., 2002; ABICHEQUER, 2009; STEFANELLO; FERNANDES-BULHÃO; MARTINS, 2009; LAMEGO et al., 2022a; REIMICHE, 2022).

A divergência evolutiva que a adaptação ao ambiente proporciona demonstra que dependente das condições ambientais ao longo do tempo, as espécies tomam características diferentes assim como *Eragrostis tef* que cresce sob diversos estresses com insumos agrícolas em quantidades mínimas e é um exemplo do gênero muito utilizada para consumo humano na Etiópia, sendo consumida como um cereal em forma de farinha por milhares de pessoas e movimentando indústrias e mercados (HOMEM, 2018; HOMEM, 2020; HUTANG, 2023).

Do ponto de vista evolutivo, a família Poaceae é um excelente modelo para investigar mecanismos de especiação e diversificação (BOECHAT, 2000). Estudos filogenéticos utilizando marcadores moleculares, como DNA nuclear e cloroplastidial, têm revelado a complexidade das relações evolutivas dentro da família (ZAPPACOSTA et al., 2011; BARRETT; PETERSON; ROMASCHENKO, 2020). A hibridização e a poliploidia, comuns em muitas espécies da família Poaceae (INGRAM; DOYLE, 2003; AINOUCHE et al., 2004; AINOUCHE et al., 2009; TKACH et al., 2019) também foram observadas no gênero *Eragrostis*. Essas características desempenham um papel fundamental na adaptação a diferentes ambientes e na formação de novas espécies, tornando o gênero um exemplo relevante para estudos evolutivos e de diversidade genética dentro das gramíneas (HUTANG et al., 2023).

Algumas espécies do gênero *Eragrostis* são vistas como ameaças ecológicas em certas regiões, como *Eragrostis plana*, o capim-annoni. Esta espécie é uma planta invasora notória no sul do Brasil, onde tem causado sérios prejuízos econômicos ao competir com gramíneas nativas e reduzir a produtividade das pastagens (ZABALA-PARDO & LAMEGO, 2024). Essa espécie se espalha rapidamente e é difícil de erradicar, o que torna seu manejo muito complicado. Esse problema sublinha a importância de estudos que

investiguem métodos eficazes de controle e manejo de espécies invasoras, com implicações tanto para a conservação da biodiversidade quanto para a sustentabilidade agrícola.

### **2.3 *Eragrostis plana***

A região denominada “Bioma Pampa”, também conhecida como *Pastizales del Río de la Plata*, não está restrita apenas ao Brasil, mas também está presente nos países vizinhos Uruguai, Argentina e Paraguai, num total de cerca de 750 mil km<sup>2</sup> de extensão; desses, 178 mil km<sup>2</sup> compreendem o território sulino do Brasil, com diversas espécies animais, vegetais e outros tipos de organismos, muitas delas endêmicas e que já habitavam essas terras a milhares de anos antes da ocupação humana (BENCKE, G. A.; CHOMENKO, L.; SANT'ANNA, D. M., 2016).

A diversidade genética dos organismos está atrelada ao fato de que existem diferentes características de ambiente e distintas interações entre as espécies. Cada região pode possuir espécies particulares, ditas espécies endêmicas; o bioma Pampa se difere com as espécies presentes no território que demarcam os atributos que definem o ambiente, a mudança em algum nível trófico ou alteração da composição tanto florística quanto faunística, pode ter um impacto prejudicial e perigoso na conformação do bioma, assim quanto na sua preservação (OLIVEIRA, 2004; OVERBECK, G. E. et al., 2007; WERNECK, 2011).

A área invadida pelo capim-annoni ocupa cerca de 20 mil km<sup>2</sup> dentro do bioma Pampa (MEDEIROS; FOCHT, 2007; FIPKE et al., 2022); sendo perene cresce de forma cespitosa gerando touceiras com muitas folhas, fibrosas o suficiente para que o gado perca o interesse de consumi-las, além de possuir baixo valor nutricional. Conseqüentemente, muitas vezes é vista em aglomerados da espécie que tomam conta do campo (FERRI, 1981; NABINGER, 2019; CARATTI, 2019).

Introduzida acidentalmente, mas depois pensada como opção forrageira, o fato é que esta espécie se espalhou rapidamente e hoje estima-se mais de 1 milhão de hectares comprometidos do bioma com a invasora (MEDEIROS, FOCHT, 2007). Considerada como rústica, a planta de capim-annoni possui uma

grande capacidade de se adaptar e sobreviver em diferentes condições ambientais, mesmo em condições adversas; possui um sistema radicular fasciculado, isto é, possui feixes grossos e profundos que crescem em formato de cabeleira que favorece sua aderência no solo, tornando-a de difícil remoção manual (FERRI, 1981; REIS, 2000; CARATTI, 2019; NABINGER, 2019).

O caule das plantas de *E. plana* possuem nós pouco salientes que podem dar origem a novas folhas, assim como as novas raízes adventícias possuem entre a bainha e o limbo uma lígula curta e pouco saliente, a qual confere uma defesa física-mecânica ao nó. Suas folhas podem ser identificadas por serem longas e em forma de lâminas, normalmente eretas até próximo do ápice, desprovidas de tricomas, ou seja, glabras (FERRI, 1981; NABINGER, 2019; CARATTI, 2019). Sua inflorescência de cor roxa é do tipo panícula laxa de distribuição esparsa, crescendo em um cacho composto que diminui gradativamente de tamanho da base até o ápice formando um aspecto morfológico piramidal ou cônico (FERRI, 1981; NABINGER, 2019; CARATTI, 2019).

*E. plana* é uma planta classificada como C4, o que significa que ela utiliza uma via fotossintética eficiente em ambientes com alta luminosidade, temperaturas elevadas e condições de estresse hídrico, através do ciclo de Calvin-Benson, o que é normalmente associado a uma vantagem em habitats áridos e semiáridos, onde a planta frequentemente se encontra (PYŠEK et al., 2020).

A poliploidia pode resultar em uma maior variabilidade genética, o que é benéfico para a adaptação a diferentes ambientes (HUTANG et al., 2023). O gênero *Eragrostis* apresenta uma ampla gama de níveis de ploidia, incluindo espécies poliplóides. No caso específico de *E. plana*, de acordo com Hutang et al., (2023), estima-se que a invasora apresente um número total de cromossomos somáticos igual a  $2n=6x=60$ , sendo hexaploide, ou seja, possui seis conjuntos completos de cromossomos básicos (6x). Caratti (2019), utilizando citometria de fluxo identificou duas populações de *E. plana* do RS como diplóides igual a  $2n=20$ . A discrepância nos resultados sobre o número de ploidia de *Eragrostis plana* pode ser explicada, em parte, pela diferença geográfica nas coletas realizadas; Hutang et al. (2023) analisaram amostras

provenientes da África do Sul. As diferenças podem refletir variações genéticas ou adaptações locais das populações em resposta a condições ambientais distintas, sugerindo que processos evolutivos, como poliploidia ou seleção natural, podem ter desempenhado um papel na diversificação da espécie em diferentes regiões (HUTANG et al., 2023).

Dentre as nativas do bioma Pampa como as espécies *E. bahiensis* e *E. lugens*, o número total de cromossomos somáticos equivale a  $2n=8x=80$ , sendo octaploide, ou seja, possui oito conjuntos completos de cromossomos básicos (8x), enquanto *E. neesii* apresenta um número total de cromossomos somáticos igual a  $2n=2x=20$ , sendo diplóide; essas variações ressaltam a complexidade genética ou a evolução de cada espécie dentro do grande gênero *Eragrostis* (HUTANG et al., 2023). Ainda, outras espécies exóticas no bioma Pampa como *E. pilosa*, possuem número total de cromossomos somáticos igual a  $2n = 60$ , assim como *E. tef*, possui um número total de cromossomos somáticos igual a  $2n = 40$ , sendo tetraploide (HUTANG et al., 2023).

A presença do capim-annoni no bioma Pampa destaca a complexidade das interações ecológicas e os desafios enfrentados para a conservação da vegetação nativa. Nesse contexto, compreender a biologia e a variabilidade genética de *Eragrostis plana* torna-se essencial para desenvolver estratégias eficazes de manejo e controle dessa espécie invasora. O estudo de suas características morfológicas, fisiológicas e citogenéticas permite não apenas elucidar sua capacidade de adaptação e expansão, mas também avaliar seu impacto sobre as espécies nativas e o equilíbrio do ecossistema. Dessa forma, ao aprofundar o conhecimento sobre *E. plana*, é possível aprimorar medidas que minimizem seus efeitos negativos e favoreçam a restauração das áreas degradadas.

## **2.4 Forma de manejo por filogenia molecular e RNAi**

O RNA de interferência (RNAi) é um mecanismo natural de regulação gênica presente em diversos organismos, como plantas e insetos, que atua por meio de pequenos fragmentos de RNA capazes de se ligarem a sequências complementares de RNA mensageiro (mRNA), promovendo seu silenciamento

e impedindo a tradução de proteínas específicas (BARBOSA, 2004; SMALL, 2004).

Esse processo de inativação gênica, constitui uma estratégia poderosa para atribuição de função a genes e mapeamento de vias regulatórias intracelulares. O silenciamento pós-transcricional por meio da ativação do RNAi, mediado por RNAs fita-dupla (dsRNA). Inicialmente é utilizado em pesquisa biomédica para silenciamento pontual e genômica funcional em larga escala, o RNAi tem sido cada vez mais explorado na agricultura como ferramenta promissora para o controle fitossanitário, por permitir a inibição específica de genes essenciais em organismos-alvo, como pragas e plantas daninhas. Essa especificidade oferece vantagens significativas frente aos defensivos químicos, reduzindo o risco de resistência e minimizando os impactos ambientais (BARBOSA, 2004; KIM; ZHANG, 2022).

Com o avanço da biotecnologia, surgiram propostas como o silenciamento de gene induzido por pulverização (Spray-Induced Gene Silencing – SIGS), que representa uma estratégia de próxima geração no manejo de plantas daninhas (GHOSH; PATRA, 2023). Apesar dos avanços no controle de pragas e doenças com o uso de RNAi, a aplicação dessa tecnologia para o manejo de plantas invasoras ainda enfrenta desafios, especialmente relacionados à identificação de alvos moleculares ideais e à entrega eficiente do RNA interferente (VETUKURI et al., 2021; RODRIGUES et al., 2022). Nesse sentido, torna-se fundamental identificar sequências gênicas conservadas e únicas nos organismos a serem controlados, o que exige estudos aprofundados de caracterização molecular e análises filogenéticas.

O presente trabalho contribui com essa abordagem ao caracterizar marcadores moleculares (ITS, *rbcL*, *rpS16*, *rpL32* e *trnL*) por meio de análises filogenéticas e comparativas entre diferentes espécies de plantas. A identificação de regiões conservadas e a detecção de inserções e deleções (indels) em sequências obtidas experimentalmente e de bancos públicos fornecem uma base sólida para o mapeamento de possíveis alvos para RNAi. Embora o estudo não tenha desenvolvido ou testado diretamente tecnologias baseadas em interferência gênica, os dados apresentados podem representar uma importante

base conceitual e metodológica para futuras aplicações em biotecnologia agrícola.

Adicionalmente, a análise detalhada dos loci com foco na estabilidade evolutiva das regiões conservadas pode ajudar a mitigar a possibilidade de escape adaptativo por mutações rápidas nos organismos-alvo, o que é essencial para estratégias de controle duráveis. Assim, a interface entre filogenia molecular e RNAi revela-se promissora para o aprimoramento do controle fitossanitário, principalmente ao considerar o potencial de desenvolvimento de tecnologias sustentáveis voltadas à redução da carga química nos sistemas de produção.

## **2.5 Caracterização genética**

Os estudos genéticos permitem identificar variações nas sequências de DNA que podem estar associadas à plasticidade fenotípica do capim-annoni, auxiliando no desenvolvimento de estratégias mais eficazes para seu controle. Entre os marcadores moleculares amplamente utilizados, destacam-se os espaçadores internos transcritos (ITS) do DNA ribossomal e o gene plastidial *rbcL*, que possibilitam análises evolutivas e filogenéticas, contribuindo para a identificação da espécie e seu posicionamento dentro da família Poaceae.

Espaçadores internos transcritos - ITS (“Internal transcribed spacer”) são regiões presentes no DNA, sendo encontradas entre os genes ribossomais (rDNA) e que fazem parte do DNA ribossômico (nrDNA) (HILLIS, 1991). Estes espaçadores ficam entre os genes que codificam as subunidades do RNA ribossômico 18S, 5.8S e 28S no núcleo celular, responsáveis pela produção dos componentes estruturais dos ribossomos (HILLIS, 1991; GIUDICELLI, 2015; CARATTI, 2019; WRÓBEL, 2021).

As regiões incluem o ITS1, o gene conservado 5.8S e o ITS2, e desempenham um papel essencial no processamento do rRNA. Os números associados a essas regiões indicam a posição específica das bases nucleotídicas na sequência de DNA ou RNA transcrito. Por exemplo, o ITS1 está situado entre os genes 18S e 5.8S, enquanto o ITS2 se encontra entre o 5.8S e o 28S. Essas numerações delimitam as regiões, permitindo identificar variações

genéticas ou sequências conservadas, fundamentais para análises evolutivas e filogenéticas. As regiões ITS1 e ITS2 são altamente variáveis entre espécies, enquanto o 5.8S é altamente conservado, tornando essa combinação uma ferramenta poderosa para estudos de identificação de espécies e relações evolutivas (HILLIS; DIXON, 1991; SCHLOTTERER; HAUSER; HUESLER; TAUTZ, 1994; HSIAO, 1995; GNUTIKOV, 2024). A amplificação dessas regiões é frequentemente realizada com o uso de primers universais como ITS1, ITS4, ITS-Y4 e ITS-Y5, permitindo maior eficiência na obtenção de sequências para análises filogenéticas (WHITE et al., 1990; KITA; ITO, 2000).

No estudo conduzido por CARATTI (2019) com populações de *Eragrostis plana*, os primers ITS4 e ITS5 foram utilizados com sucesso. Esses primers amplificam a região compreendida entre o ITS1, 5.8S e ITS2, permitindo uma análise detalhada das variações genéticas presentes nessas sequências.

A variabilidade genética acessada por meio desses marcadores pode permitir a relação entre características genéticas e atributos morfoanatômicos, oferecendo uma visão integrada dos processos adaptativos e evolutivos. Além disso, as regiões ITS podem ser combinadas com outras abordagens, como a determinação do nível de ploidia e a estimativa do tamanho do genoma, ampliando a compreensão da biologia e do potencial adaptativo das espécies. Essa estratégia possibilita a inferência de processos evolutivos, como especiação, hibridização e adaptação a diferentes ambientes (CARATTI, 2019).

O gene *rbcL*, é cloroplastidial e responsável pela subunidade maior da enzima Ribulose-1,5-bisfosfato carboxilase/oxigenase (RuBisCO), a enzima essencial no processo de fotossíntese. Esse gene é amplamente utilizado em estudos filogenéticos de plantas, especialmente para análises de grandes grupos taxonômicos, como ordens e famílias (INGRAM, 2011; WATTOO, 2016; SOMARATNE, 2019; UTAMA, 2024). Sendo encontrado no genoma plastidial (cloroplastos) principalmente de plantas e algas, e menos variável que o ITS, mas sua sequência é suficientemente conservada e informativa para diferenciar espécies, principalmente em plantas, distinguindo famílias e gêneros, que proporcionam uma visão geral da diversidade das relações filogenéticas (DOYLE et al., 1997; MONTEIRO; MANTOVANI, FORZZA, 2015; ZAPPELINI, 2022).

Em Poaceae, a caracterização utilizando o gene *rbcl* apontam locais mais conservados, o que ajuda a organização dos gêneros, e possibilitam com combinação de outros genes a caracterização de espécies selvagens, além das cultivadas, facilitando estudos que favoreçam a conservação dos organismos ameaçados (COLLI-SILVA; IVANAUSKAS; SOUZA, 2019; PISCHL et al., 2020; NEGI, 2021).

O gene ITS é altamente conservado e amplamente reconhecido pela eficiência em análises filogenéticas, sendo frequentemente utilizado na identificação e revisão taxonômica para delimitação precisa de fronteiras entre gêneros. A combinação dos marcadores ITS com marcadores plastidiais contribui para o aumento da resolução filogenética, revelando-se complementar em análises mais abrangentes. Os genes ITS e *rbcl* destacam-se por sua aplicabilidade em estudos filogenéticos e genéticos, devido à combinação de características conservadas e variáveis em diferentes espécies. Adicionalmente, a região não codificante denominada íntron *trnL-F*, presente no DNA do cloroplasto, é de particular relevância, pois possibilita a análise e comparação de sequências entre organismos cloroplastídicos (ROMANO, 1999; BARRETT; PETERSON; ROMASCHENKO, 2020).

O gênero *Eragrostis* é reconhecido como parafilético, com espécies de outros gêneros, como *Cladoraphis* Franch., *Ectrosia* R.Br., *Harpachne* Hochst. ex A. Rich., *Heterachne* Benth., *Neeragrostis* Bush, *Planichloa* B. K. Simon, *Psammagrostis* C. A. Gardner & C. E. Hubb., e *Stiburus* Stapf, as quais formam um clado bem suportado em associação com *Eragrostis*.

### 3 Metodologia

Para o desenvolvimento deste estudo, plantas possivelmente do gênero *Eragrostis* foram coletadas em campos nativos, áreas antropizadas e beiras de rodovia. As coletas foram realizadas no estado do Rio Grande do Sul, Brasil, nos municípios de Alecrim, Bagé, Dom Pedrito, Pelotas, Pinheiro Machado e Santa Maria, num total de 20 plantas, no período de agosto de 2023 a março de 2024 e transportadas para a Embrapa Clima Temperado, Pelotas/RS. Lá foram plantadas em vasos plásticos de 5 litros, preenchidos com mistura de solo e substrato agrícola. Os vasos foram mantidos em espaço sem controle de temperatura, com luz natural, sendo regadas manualmente, diariamente e mantidas ao longo da condução dos experimentos.

#### 3.1 Identificação Taxonômica de Plantas do Gênero *Eragrostis* coletadas no RS e Herborização:

As plantas do gênero *Eragrostis* coletadas no período de agosto de 2023 a março de 2024, foram submetidas a confirmação e identificação, utilizando a chave taxonômica de Reitz et al. (1981), no Herbário ECT do Laboratório de Recursos Genéticos da Embrapa Clima Temperado, Pelotas/RS. Os caracteres taxonômicos observados em três plantas coletadas de cada espécie, tiveram como base os descritores morfológicos: tipo de colmo, folha, panícula, palea, lema, gluma, espiguetas e cariopse de acordo com SMITH; WASSHAUSEN; KLEIN (1981).

Após checagem e confirmação das espécies por taxonomista do mesmo Laboratório, as amostras seguiram para as etapas subsequentes do processo. Primeiramente, foi separada uma planta de cada espécie dentre as coletadas, priorizando aquelas em bom estado e com representatividade de folhas, flores e, sempre que possível, raízes. Em seguida, o material foi prensado entre camadas de papelão e submetido à secagem em estufa a 60 °C por 24 horas no Laboratório de Recursos Genéticos da Embrapa Clima Temperado, Pelotas/RS. Posteriormente, as plantas secas foram utilizadas para a montagem das

exsecutas, sendo fixadas em folhas de papel jornal devidamente identificadas individualmente, armazenadas e catalogadas no Herbário da Embrapa Clima Temperado, Pelotas/RS para conservação e futuras análises. As amostras (voucher) receberam o número de tombo.

### **3.2 Investigação molecular da proximidade genética entre espécies do gênero *Eragrostis* do RS e a invasora *Eragrostis plana***

As espécies coletadas a campo e identificadas como pertencentes ao gênero *Eragrostis* (Estudo 3.1) foram utilizadas neste estudo para investigação da relação filogenética, comparativamente a planta invasora *Eragrostis plana*.

#### **3.2.1 Extração do DNA**

A obtenção do material genético consistiu na extração de DNA utilizando o protocolo CTAB (DOYLE & DOYLE, 1987) modificado, onde as folhas mais jovens e verdes foram selecionadas por serem menos lignificadas quando comparadas com folhas mais desenvolvidas. Foram coletadas 4 folhas de cada espécie coletada a campo e confirmada como do gênero *Eragrostis*, incluindo *Eragrostis plana* coletada em Bagé, Rio Grande do Sul.

O material vegetal foi macerado no Laboratório de Biologia Molecular da Embrapa Clima Temperado, Pelotas/RS utilizando nitrogênio líquido em um almofariz de porcelana com auxílio de um pistilo até tornar-se um pó fino. Este pó foi coletado em um tubo de coleta de 2mL (eppendorf), levado para uma capela de exaustão química e adicionado 891µl de tampão CTAB 2x e 9 µl de 1% β-mercaptoethanol, previamente aquecido em banho maria a 65 °C. As amostras foram postas em um vórtex e levadas para o banho maria, onde permaneceram a 65 °C por 45 minutos; durante este passo, a cada 10 minutos as amostras eram retiradas e feito novamente o processo de vórtex e levadas novamente ao banho maria. Após este procedimento, os tubos foram resfriados até alcançarem a temperatura ambiente, sendo adicionado igual volume (900 µl) de clorofórmio/álcool isoamílico (24:1) gelados. Os tubos foram agitados por inversão por 2 minutos, e centrifugados em uma ultracentrífuga por 10 minutos a 13.000 rpm.

O sobrenadante (aproximadamente 700 µl) foi recuperado, adicionando no novo tubo igual volume de isopropanol gelado; os tubos foram agitados por inversão por 2 minutos e levados para o refrigerador a -20 °C por 45 minutos. Após retirar os tubos do congelador, estes foram levados para a ultracentrífuga por 10 minutos a 13.000 rpm, para novamente ser descartado o sobrenadante e mantendo o *pellet* formado no processo. Foi adicionado 500 µl de etanol 75% e as amostras foram mantidas 20 minutos em temperatura ambiente. Os tubos então foram levados para uma mini centrífuga por 1 minuto a 13.000 rpm. Os sobrenadantes foram descartados e os tubos foram levados para o concentrador rotativo a vácuo, onde permaneceram por 15 minutos até sua secagem total. O material então foi eluído em 50 µl de água DEPC e armazenado a -20 °C.

### 3.2.2 Processo de amplificação em cadeia da polimerase

Para análise da similaridade genética entre as espécies do gênero *Eragrostis* coletadas e *Eragrostis plana*, dois marcadores foram escolhidos após um *screening* prévio, com base em marcadores utilizados por Ingram et al., (2011), Caratti (2019) e Hutang et al. (2023). Os marcadores escolhidos foram ITS (primers ITS-4 e ITS-5 de Caratti, 2019) e *rbcL* (primers 7F e 1433R de Ingram et al., 2011), sendo os primers sintetizados pela Síntese Biotecnologia (Belo Horizonte, MG).

**Tabela 1** - Sequência de nucleotídeos (primers) e propriedades dos marcadores empregados na amplificação do DNA cloroplastidial e nuclear.

Marcador	Sequência	Fragmento (pb)	Região	Referência
ITS-4	CCCGCCTGACCTGGGGTTCGC	650	ITS (nrDNA)	WHITE et al., 1990
ITS-5	TAGAGGAAGGAGAAGTCGTAACAA			KITA; ITO, 2000
7F	GGGACTTATGTCACCACAAAC	1290	<i>rbcL</i> (cpDNA)	INGRAM et al., 2011
1443R	ACTTAATCGATGGTATCTACCG			INGRAM et al., 2011

As reações de PCR (reação em cadeia da polimerase) foram conduzidas no Laboratório de Biologia Molecular da Embrapa Clima Temperado, Pelotas/RS, utilizando termociclador modelo Veriti 96 well thermal cycler. As reações seguiram o protocolo adaptado de Caratti (2019): 2,4 µL de DNA (50-100 ng/ul), 12 µL de tampão 5X, 1,2 µL de dNTPs, 2,5 µL de cada primer (forward e reverse) a 10 µM, 1,2 µL de Taq DNA polimerase (0,5U) e 38,2 µL de água DEPC para completar o volume de 60µL. Esse preparo foi realizado sob condições controladas, visando a otimização da amplificação dos fragmentos de interesse e a minimização de possíveis contaminações.

O protocolo de PCR para os primers ITS foi estruturado com uma etapa inicial de desnaturação das fitas de DNA a 94°C por 3 minutos, seguida por 35 ciclos: 60 segundos a 94°C para desnaturação, 60 segundos a 63°C para o anelamento dos primers, e 60 segundos a 72°C para a extensão da fita complementar. Para amplificação de fragmentos mais longos, foi realizada uma etapa final de 5 minutos a 72°C (CARATTI, 2019).

O protocolo de PCR para os primers *rbcl* incluiu uma etapa inicial de desnaturação das fitas de DNA a 94°C por 1 minuto. Em seguida, foram realizados 35 ciclos com as seguintes condições: 30 segundos a 94°C para a desnaturação, 40 segundos a 55°C para o anelamento dos primers, e 40 segundos a 72°C para a extensão da fita complementar. Para promover a amplificação de fragmentos mais extensos, foi incluída uma etapa final de 10 minutos a 72°C (INGRAM, 2011).

Os produtos da amplificação (amplicons) foram analisados em gel de agarose a 2%, utilizando GelRed, por 50 minutos a 100V, 50W e 120mA, em tampão TBE 1X (mM Tris, EDTA, pH=8,0). A determinação dos tamanhos dos fragmentos foi realizada por comparação visual com um marcador de 1Kb (ladder) da INVITROGEN. Em seguida, cada gel foi fotografado utilizando câmeras de celular para registro dos resultados.

Após checagem dos fragmentos esperados, as reações de PCR foram purificadas utilizando PureLink® PCR Purification Kit (Invitrogen). O produto purificado do PCR foi coletado no tubo de eluição e seco em *Speed Vacuum*

(Eppendorf) por 30 minutos para envio, visando sequenciamento Sanger pela empresa GenOne Biotech (Rio de Janeiro/RJ).

### 3.3 Análise dos dados

Utilizando o software Geneious Prime, versão 2024.0.7, foi realizada a checagem da qualidade das sequências retornadas do sequenciamento Sanger. Nesse processo, efetuou-se a interpretação e a correção das bases, ajustando-as conforme os picos gerados pelo sequenciador, com o objetivo de garantir maior precisão nas sequências. Em seguida, procedeu-se à montagem da fita consenso das sequências, utilizando as orientações *Forward* e *Reverse*. Com as sequências finalizadas, foi realizada uma pesquisa no NCBI por meio do BLASTn, a fim de verificar a similaridade das amostras com espécies do gênero *Eragrostis*, de acordo com o par de primers utilizado. Posteriormente, empregou-se a ferramenta "Agent" com o termo de busca "*Eragrostis*", o que resultou na obtenção de uma lista de mais de 90 mil arquivos relacionados disponíveis no GenBank.

A partir da lista obtida de sequências, realizou-se a seleção dos arquivos relevantes ao estudo, priorizando aqueles relacionados aos marcadores ITS e *rbcL*. Para organização dos dados, foram criadas pastas separadas para cada marcador, contendo as sequências geradas, juntamente com as sequências extraídas do GenBank. Em etapa subsequente, procedeu-se à montagem de um alinhamento envolvendo todas as sequências selecionadas para alinhar as sequências de consenso e ajustar o alinhamento final com as outras obtidas.

Concluído o alinhamento, o arquivo foi exportado no formato ".nex" e analisado no software jModelTest, versão 2.1.10. Nesta etapa, realizou-se a análise "Compute Likelihood Score", identificando-se o modelo de substituição GTR como o mais adequado para ambos os marcadores.

Após o alinhamento das sequências, a reconstrução da árvore filogenética foi realizada por meio da análise de máxima verossimilhança (ML), a fim de inferir a hipótese evolutiva mais provável. Para garantir a robustez dos agrupamentos, a análise foi conduzida com 1.000.000 de réplicas, utilizando 1.000 sequências de adição aleatória por réplica.

Os arquivos contendo as sequências genéticas foram previamente preparados no software Geneious e exportados no formato .newick. Em seguida, esses arquivos foram processados no software MEGA11 (versão 11.0.13), empregando a funcionalidade "Filogenia". Especificamente, a construção e visualização das árvores filogenéticas foram realizadas por meio da opção "Construct/Test Neighbor-Joining Tree" usando modelo/método Maximum Composite Likelihood e teste de filogenia de "bootstrap method", permitindo a avaliação da topologia e do suporte estatístico das ramificações.

O método de bootstrap foi aplicado para avaliar a robustez estatística dos agrupamentos nas árvores filogenéticas geradas. Este procedimento envolveu a execução de 2000 replicações, garantindo maior confiabilidade aos resultados obtidos.

A espécie *Cladoraphis spinosa* (L.f.) S.M.Phillips foi selecionada como grupo externo para a construção de árvores filogenéticas geradas neste estudo (GBIF, 2024; PAFTOL, 2024; RUSSELL; PAUL; KONSTANTIN, 2020).

A fim de complementar os dados obtidos e realizar uma pesquisa com maior alicerçamento que reforcem os resultados obtidos para as sequências extraídas, sequências adicionais foram obtidas do National Center for Biotechnology Information (NCBI) (NCBI, 2024) para ampliar a amostragem, com o intuito de obter análise mais robusta e representativa da filogenia dentro do gênero *Eragrostis*, focando na relação da invasora *E. plana* com *Eragrostis* do bioma Pampa. Como critério de escolha, foram selecionados os marcadores cloroplastidiais *rpS16*, *rp32* e *trnL-F*, resultando em um total de cinco árvores filogenéticas.

As árvores produzidas respectivamente possuem tamanhos de pares de base relativos à região genica de onde são oriundas, assim como ITS se apresenta com aproximadamente 650bp, os acessos disponíveis no NCBI, assim como os obtidos por meio da extração realizada neste trabalho variam em valores próximos a 650, assim como *rbcL* com 1290bp, *rp32* com 450bp, *rpS16* com 800bp e *trnL* com 700 bp.

## 4 Resultados e Discussão

Vinte plantas foram coletadas no período de agosto de 2023 a março de 2024 no Rio Grande do Sul, sendo identificadas e confirmadas seis espécies como pertencentes ao gênero *Eragrostis* (Tabela 2). As espécies identificadas foram: *Eragrostis plana* Ness., *Eragrostis bahiensis* Schult., *Eragrostis pilosa* (L.) P. Beauv., *Eragrostis airoides* Ness., *Eragrostis neesi* Trin. e *Eragrostis lugens* Ness. Apesar das coletas terem sido realizadas em diferentes localidades do estado, constatou-se que todas estavam presentes nas coletas realizadas na cidade de Bagé-RS. Dessa forma, foi selecionado um espécime representativo de cada espécie proveniente desse município para compor o estudo.

**Tabela 2.** Espécimes do gênero *Eragrostis*, coordenadas geográficas e locais de coleta. Rio Grande do Sul/RS, março, 2024.

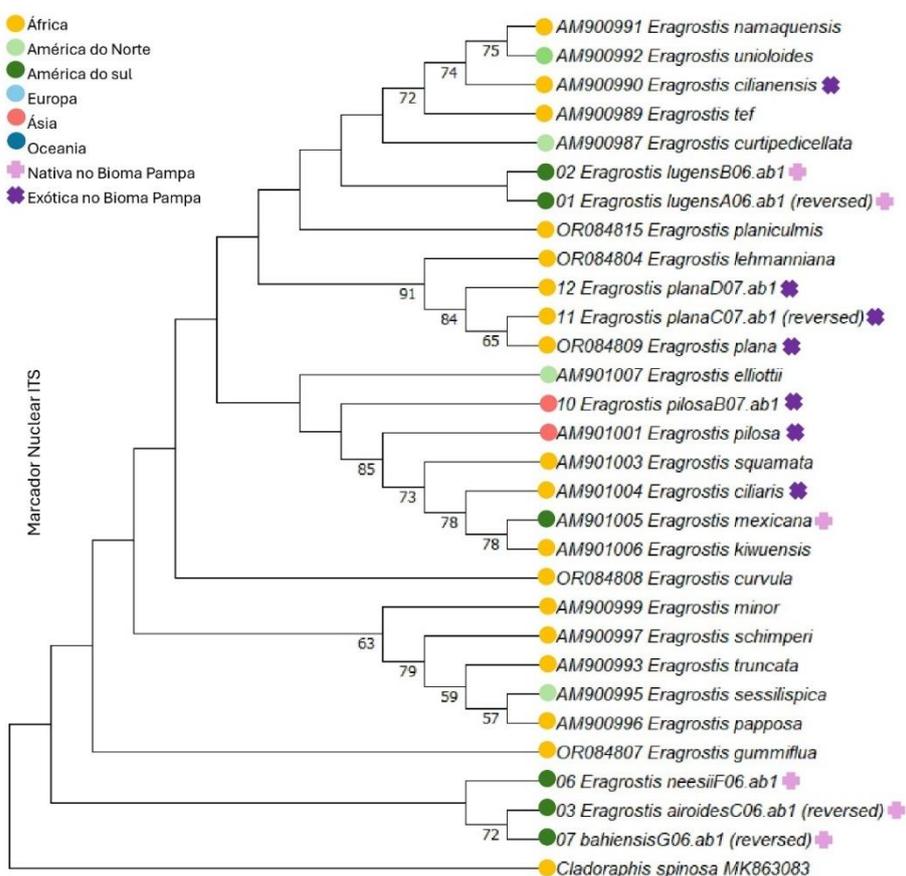
Nº de tomo	<i>Eragrostis</i>	Coordenadas geográficas				Município
ECT9962	<i>E. airoides</i>	31° 40' 41"	S	52° 26' 24"	W	Pelotas
ECT9963	<i>E. airoides</i>	31° 40' 41"	S	52° 26' 24"	W	Pelotas
ECT9964	<i>E. airoides</i>	31° 40' 41"	S	52° 26' 24"	W	Pelotas
ECT9966	<i>E. pilosa</i>	27° 39' 18"	S	54° 45' 50"	W	Alecrim
ECT9967	<i>E. neesi</i>	31° 20' 59"	S	54° 1' 1,2"	W	Bagé
ECT9968	<i>E. airoides</i>	31° 21' 0"	S	54° 1' 1"	W	Bagé
ECT9969	<i>E. lugens</i>	30° 59' 10"	S	54° 39' 44"	W	Dom Pedrito
ECT9970	<i>E. airoides</i>	31° 17' 54"	S	53° 56' 47"	W	Bagé
ECT9971	<i>E. lugens</i>	31° 36' 46"	S	53° 17' 20"	W	Pinheiro Machado
ECT9972	<i>E. neesi</i>	31° 36' 46"	S	53° 17' 20"	W	Pinheiro Machado
ECT9973	<i>E. bahiensis</i>	31° 18' 1"	S	53° 56' 51"	W	Bagé
ECT9974	<i>E. pilosa</i>	31° 18' 5"	S	53° 57' 3"	W	Bagé
ECT9975	<i>E. airoides</i>	31° 36' 46"	S	53° 17' 20"	W	Pinheiro Machado
2066	<i>E. airoides</i>	29° 37' 14"	S	54° 10' 44"	W	São Pedro do Sul
2064	<i>E. neesi</i>	29° 37' 44,2"	S	53° 52' 27,4"	W	Santa Maria
2065	<i>E. bahiensis</i>	29° 37' 44,2"	S	53° 52' 27,4"	W	Santa Maria
2058	<i>E. bahiensis</i>	29° 37' 44,2"	S	53° 52' 27,4"	W	Santa Maria
2059	<i>E. bahiensis</i>	29° 37' 44,2"	S	53° 52' 27,4"	W	Santa Maria
2067	<i>E. pilosa</i>	29° 43' 10,2"	S	53° 42' 25,3"	W	Santa Maria

Fonte: o autor

*Cladoraphis spinosa* é reconhecida como grupo-irmão de *Eragrostis* e foi utilizada como grupo externo (*outgroup*) na reconstrução de árvores para os dois marcadores utilizados, ITS e *rbcL* (INGRAM; DOYLE, 2007; RUSSELL; PAUL; KONSTANTIN, 2020).

As sequências obtidas no NCBI estão organizadas em cinco tabelas distintas, cada uma correspondente a um marcador genético específico. A Tabela 3 apresenta as sequências relacionadas ao marcador ITS, a Tabela 4 reúne aqueles referentes ao marcador *rbcl*. Já as sequências do marcador *rpS16* estão dispostas na Tabela 5, as do *rp32* na Tabela 6, e, por fim, as sequências correspondentes ao marcador *trnL-F* encontram-se na Tabela 7.

Para ITS e *rbcl* (Figura 1 e Figura 2), as árvores filogenéticas geradas apresentam as espécies demarcadas conforme suas respectivas localidades de origem e separadas por continente.



**Figura 1** – Filogenia construída pelo método de Máxima Verossimilhança (ML), utilizando a sequência do marcador nuclear ITS (*Internal Transcribed Spacer*) para a identificação dos acessos das espécies de *Eragrostis*. A árvore foi gerada no programa Geneious 2025.0.3, seguindo o modelo evolutivo GTR+I+G, selecionado pelo software jModelTest. A confiabilidade dos ramos foi avaliada por meio do teste de bootstrap, utilizando o método Neighbor-Joining.

Fonte: o autor

A análise filogenética baseada no marcador ITS revelou que os acessos de *Eragrostis plana* representados pelos números de coleta 11 e 12, juntamente com a sequência obtida a partir do banco de dados NCBI (Tabela 3), formam um grupo monofilético bem suportado (91 e 84) com *E. lehmanniana*, também da África, a qual seria a espécie-irmã evolutivamente mais próxima de *E. plana*, dentre as espécies amostradas na análise. Essa relação sugere uma proximidade filogenética refletindo uma origem comum recente ou eventos históricos de dispersão e especiação.

Por outro lado, *E. lugens*, nativa do bioma Pampa, não compartilha um ancestral comum mais recente com *E. plana*, indicando que a similaridade morfológica entre essas espécies pode ter resultado de eventos evolutivos independentes, como convergência adaptativa. Além disso, *E. plana* forma um grupo monofilético bem definido, distinto por exemplo de *E. pilosa*, exótica no bioma Pampa, e de *E. mexicana*, que é nativa da América Latina. Essa separação filogenética indica que essas espécies pertencem a diferentes linhagens evolutivas dentro do gênero *Eragrostis*, sugerindo que suas semelhanças podem ser resultado de adaptação convergente a ambientes semelhantes, em vez de uma ancestralidade comum recente.

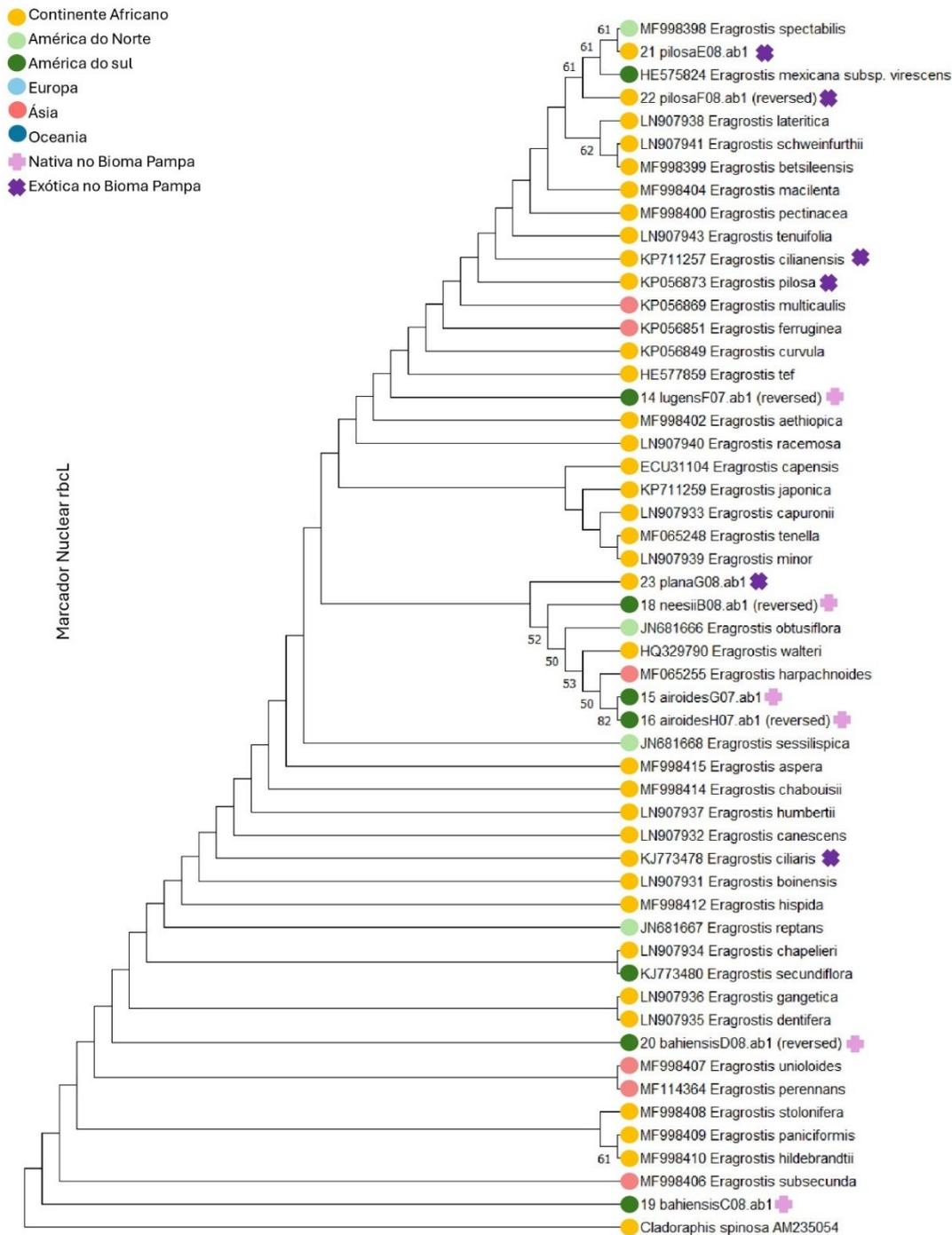
As espécies nativas do bioma Pampa *E. neesii*, *E. airoides* e *E. bahiensis* formaram grupo monofilético com suporte baixo indicado pelos valores de bootstrap de 47 e 72 (Figura 1). No entanto, *E. plana* aparece distante desse grupo na árvore filogenética, sugerindo uma divergência maior em relação às demais espécies nativas do bioma. Ao mesmo tempo, *E. mexicana*, outra espécie nativa da América do Sul, formou um grupo monofilético distinto, mas mais próximo de *E. plana*. Já *E. lugens*, também nativa do bioma Pampa, apresentou-se próxima a outras espécies que não são nativas, indicando uma possível afinidade filogenética com táxons de outras regiões de origem.

ITS mostrou-se informativo para a análise filogenética entre espécies do gênero *Eragrostis*. Valores de bootstrap elevados como os mencionados com *E. plana* e *E. lehmanniana*, sugerem que o marcador ITS seja uma boa ferramenta para detectar agrupamentos monofiléticos e analisar a filogenia dentro do gênero *Eragrostis*, assim como demonstrado por diversos autores (ROODT-WILDING;

SPIES, 2006. INGRAM, 2011; CARATTI, 2019; BARRETT; PETERSON; ROMASCHENKO, 2020; WRÓBEL et al., 2021; HUTANG, 2023).

Observou-se a ocorrência expressiva de gaps ao longo da região conservada analisada para o marcador ITS, indicando a presença de indels entre as sequências avaliadas. Estes gaps foram particularmente frequentes nas regiões entre os sítios 200–220 e 430–450, sendo compartilhados entre as diferentes espécies analisadas. As sequências utilizadas incluem tanto dados obtidos experimentalmente no presente estudo quanto sequências de referência depositadas no NCBI. As indels detectadas foram observadas em ambas as origens tanto em sequências próprias quanto naquelas obtidas publicamente o que pode sugerir que essas variações são características do locus ITS e não representam artefatos experimentais.

A árvore filogenética apresentada na Figura 2 ilustra as relações evolutivas entre diferentes espécies do gênero *Eragrostis*, com base na sequência do marcador cloroplastidial *rbcL* (Tabela 4). No entanto, a confiabilidade dessas relações é limitada, visto que a maioria dos valores de suporte de bootstrap obtidos na análise são baixos, carecendo de análises adicionais para corroborar os agrupamentos observados.



**Figura 2** - Filograma construído pelo método de Máxima Verossimilhança mostrando a identificação dos genótipos das espécies de *Eragrostis* com base na seqüência do marcador cloroplastidial *rbcL*. O filograma foi construído pelo programa Geneious 2025.0.3 segundo o modelo GTR+I+G, selecionado pelo programa jModelTest. A medida de confiabilidade dos ramos foi feita pelo teste de bootstrap neighbor-joining.

Fonte: o autor

A espécie *E. plana* está inserida no mesmo grupo monofilético que algumas espécies nativas do bioma, como *E. neesii* e *E. airoides*. No entanto, os valores de suporte obtidos para este agrupamento variaram entre 42, 52, 50, 53 e 50, o que indica baixa confiabilidade na inferência das relações evolutivas entre essas espécies. Apenas *E. airoides* apresenta um suporte de 82, que pode ser considerado mais confiável, mas os demais valores abaixo de 75 sugerem que a proximidade entre *E. plana* e as outras espécies não podem ser afirmadas com segurança e podem ser um artefato resultante da baixa resolução do marcador e da amostragem limitada em relação ao total de espécies conhecidas do gênero.

No contexto geral da árvore filogenética (Figura 2), a distribuição das espécies sugere que *rbcl* sozinho não foi um marcador adequado para inferir relações filogenéticas dentro do gênero *Eragrostis*. A maioria dos valores de suporte encontrados está abaixo de 75, o que indica que as relações propostas entre muitas espécies são incertas. Para uma compreensão mais confiável da evolução do grupo, seria necessária a inclusão de outros genes ou regiões genômicas, além da análise combinada de múltiplos marcadores moleculares.

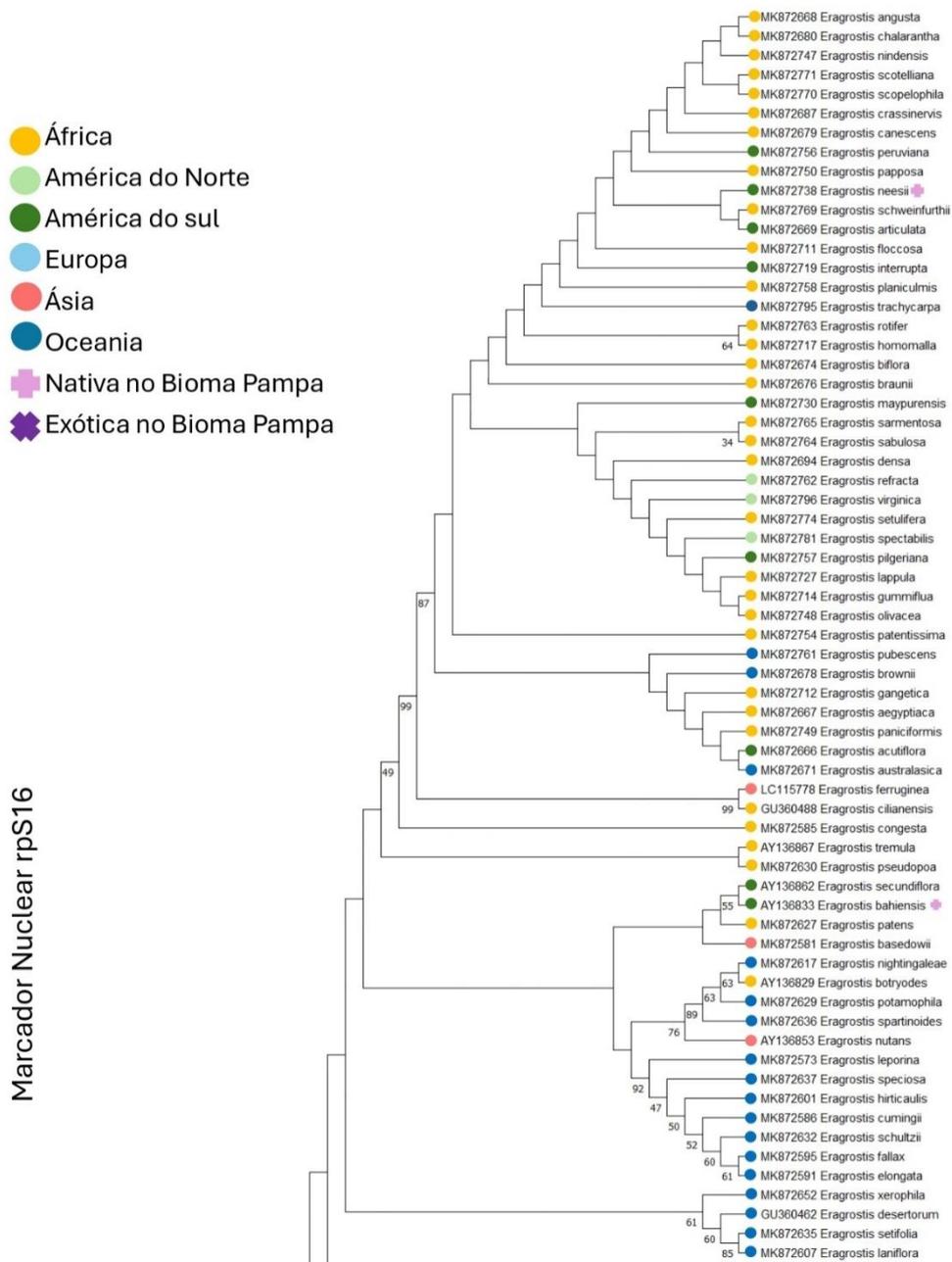
As sequências obtidas dos acessos coletados foram utilizadas na construção de árvores filogenéticas com base em ITS e *rbcl* (Figuras 1 e 2); adicionalmente, foram obtidas sequências depositadas no NCBI (NCBI, 2024) para ampliar a amostragem, com o intuito de obter uma análise mais robusta e representativa da filogenia dentro do gênero *Eragrostis*, focando na relação da invasora *E. plana* com espécies do bioma Pampa. Para isso, os marcadores cloroplastidiais *rpS3* (Figura 3), *rpL32* (Figura 4) e *trnL-F* (Figura 5) foram utilizados para reconstruir novas árvores filogenéticas. O enfoque em *Eragrostis plana* tornou-se plausível, uma vez que sua presença nos marcadores ITS e *rbcl* é válida e se manifesta em clados distintos das espécies nativas do bioma Pampa. Além disso, *E. plana* agrupa-se com *E. lehmanniana*, uma espécie presente na mesma região geográfica (África), o que sugere que ambas podem ter compartilhado um ancestral comum mais recente, distinto das espécies nativas da América do Sul. No entanto, a escassez de dados para os demais marcadores permite apenas uma inferência indireta sobre a posição filogenética de *E. plana* nesses loci. O método inicialmente empregado para inferir o

posicionamento geral da espécie resultou em múltiplos casos de polifiletismo, dificultando a interpretação cladística. Diante disso, a análise separada desses genes pode contribuir para o reforço das informações sobre a diferenciação genética entre as espécies.

No alinhamento do marcador *rbcl*, foi observada a presença de gaps ao longo da sequência analisada, embora o *rbcl* seja conhecido por sua natureza mais conservada, notou-se a formação de gaps principalmente entre os sítios 180–190. Esses eventos foram detectados tanto em sequências geradas experimentalmente quanto naquelas recuperadas do banco de dados do NCBI, reforçando que se trata de variações naturais do locus.

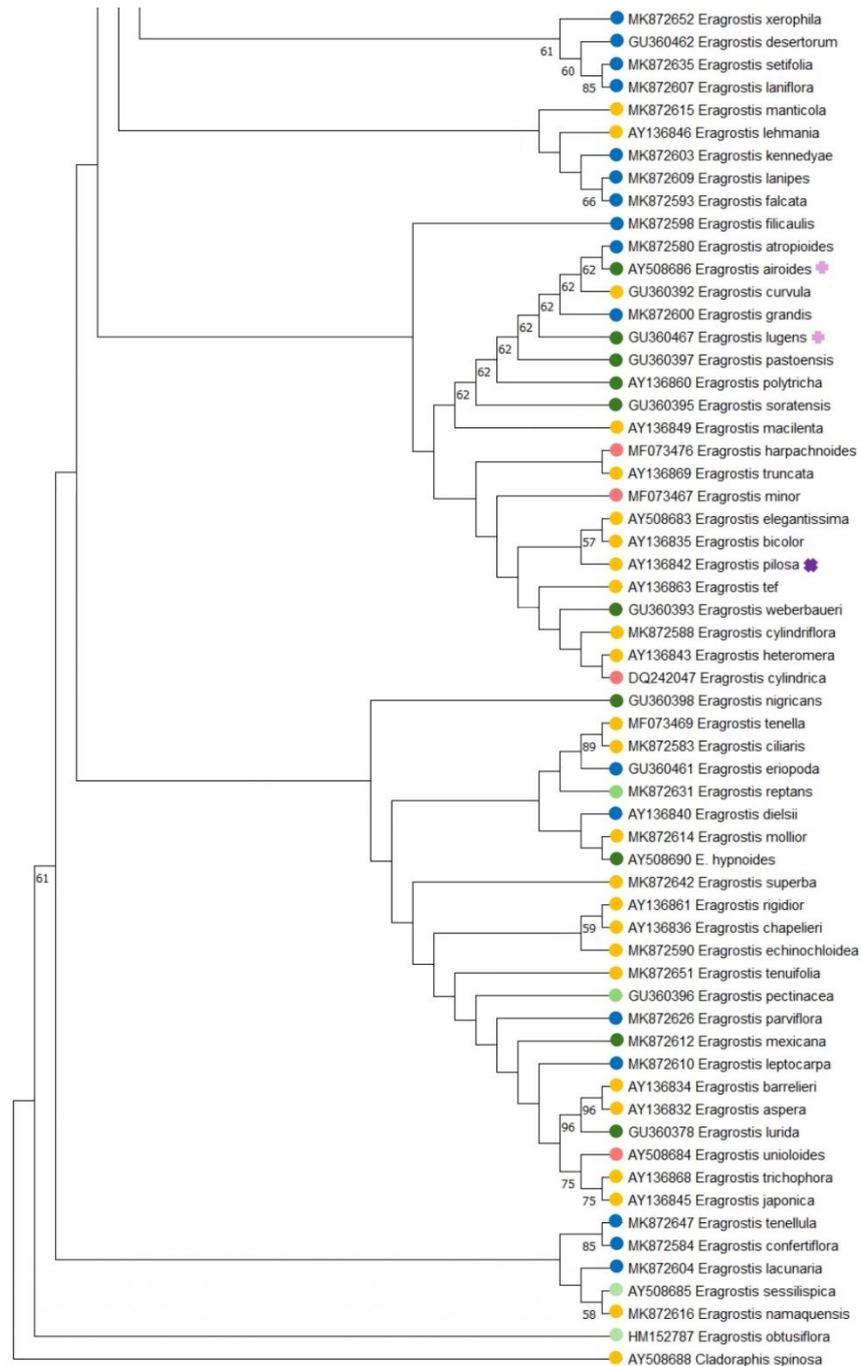
Na Figura 3a e Figura 3b, que apresenta a árvore filogenética construída com o marcador molecular *rpS16*, verificou-se que as espécies não foram agrupadas de acordo com seu continente de origem. Esse padrão indica que, embora *rpS16* esteja situado em uma região gênica variável, a divergência genética entre as espécies analisadas é bastante reduzida. Assim, os resultados com base em *rpS16* sugerem este marcador não ser o mais apropriado para análise de filogenia com base na localidade de origem, reforçando a necessidade de associá-lo a outros marcadores moleculares para uma análise mais precisa.

A análise mostrou que *E. lehmanniana* se agrupou com *E. manticola*, uma espécie de mesma origem, e com outras espécies provenientes de uma região distinta. O agrupamento incluiu espécies que ocorrem em locais geograficamente afastados, mas que compartilham características genéticas suficientes para serem classificadas dentro do mesmo clado. As características que aproximam *E. plana* de *E. lehmanniana* indicam que, apesar da similaridade com espécies de outro continente, a variação nesse gene pode não ser suficiente para agrupar essas espécies. Alternativamente, essa proximidade também pode estar relacionada a possíveis inconsistências na catalogação dos dados.



**Figura 3a.** Filograma construído pelo método de Máxima Verossimilhança mostrando a identificação dos genótipos das espécies de *Eragrostis* com base na sequência do marcador nuclear *rpS16*. O filograma foi construído pelo programa Geneious 2025.0.3 segundo o modelo GTR+I+G, selecionado pelo programa jModelTest. A medida de confiabilidade dos ramos foi feita pelo teste de bootstrap neighbor-joining.

Fonte: o autor.



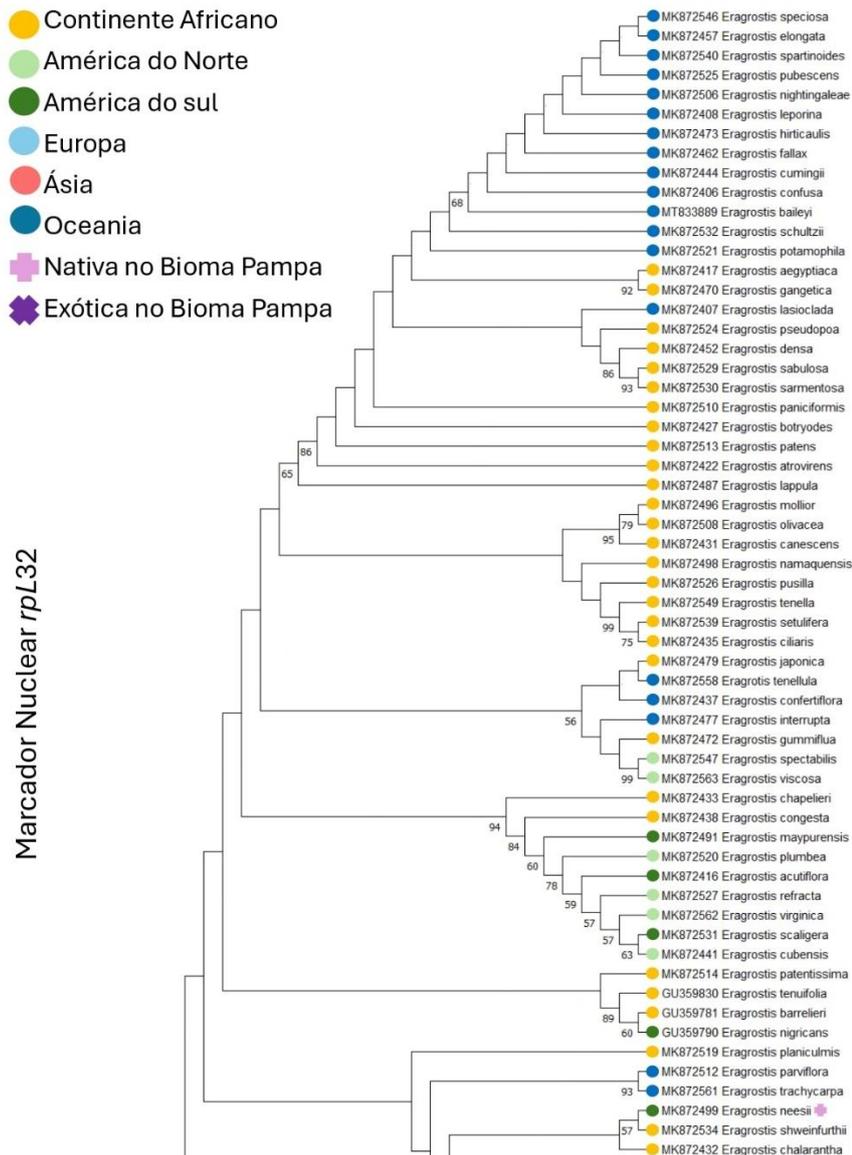
**Figura 3b.** Filograma construído pelo método de Máxima Verossimilhança mostrando a identificação dos genótipos das espécies de *Eragrostis* com base na sequência do marcador nuclear *rpS16*. O filograma foi construído pelo programa Geneious 2025.0.3 segundo o modelo GTR+I+G, selecionado pelo programa jModelTest. A medida de confiabilidade dos ramos foi feita pelo teste de bootstrap neighbor-joining.

Fonte: o autor.

O alinhamento das sequências do gene *rpS16* revelou a ocorrência expressiva de gaps ao longo da região analisada, especialmente entre os sítios 250–340. A presença desses indels foi constatada em sequências públicas obtidas no NCBI. A distribuição dos gaps entre diferentes espécies pode refletir eventos evolutivos antigos de inserção/deleção, com possível relevância filogenética. Como um gene de intron plastidial, o *rpS16* tende a apresentar maior variabilidade em comparação com genes codificantes.

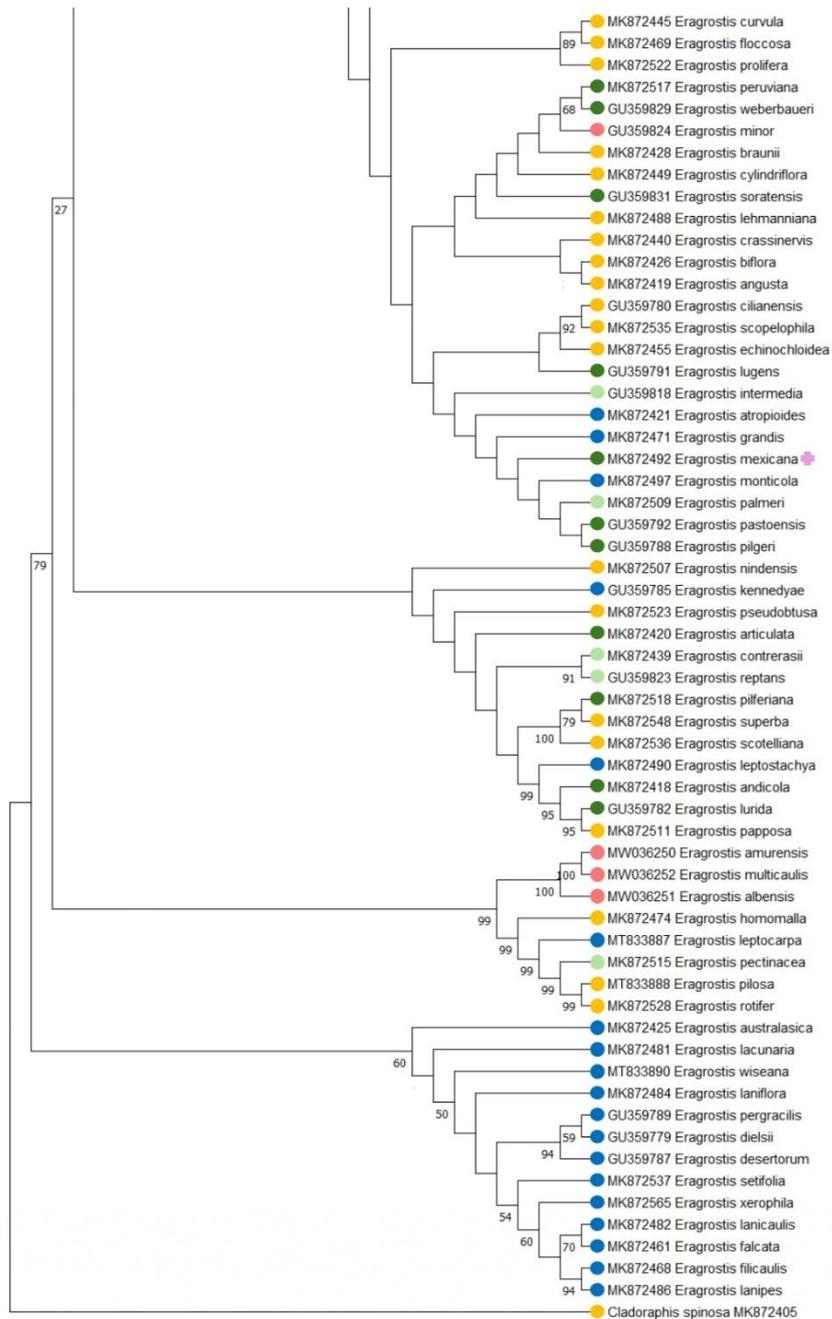
Para *rpl32* (Figura 4a, Figura 4b e Tabela 5), observou-se que algumas espécies foram agrupadas de acordo com sua região de origem. Destaca-se um grupo monofilético formado por espécies da Austrália, sustentado por um alto valor de suporte de bootstrap (92), que inclui *E. leporina* (R.Br.) R.L.Barrett & P.M.Peterson, *E. speciosa* (Roem. & Schult.) Steud., *E. Hirticaulis* Lazarides, *E. cumingii* Steud., *E. schultzii* Benth e *E. Fallax* Lazarides. Além desse agrupamento, outros clados da mesma região, sugerem que *rpl32* pode prover informações, em alguns casos, para recuperar padrões de relação geográfica entre as espécies. De maneira semelhante, algumas espécies africanas também foram agrupadas, embora os valores de suporte nesses clados sejam inferiores (Figura 4). Isso limita a confiabilidade das inferências, uma vez que valores de bootstrap abaixo de 75 não são considerados robustos para sustentar relações filogenéticas.

Nesta árvore, *E. lehmanniana* foi posicionada em um grupo monofilético no qual não há nenhuma espécie nativa do Bioma Pampa. Esse agrupamento incluiu espécies de diferentes regiões geográficas, abrangendo táxons de origem asiática, sul-americana e africana. Essa distribuição gerada por esse marcador sugere que *E. lehmanniana* compartilha uma relação evolutiva mais próxima com espécies de diversas localidades, possivelmente refletindo eventos históricos de dispersão ou adaptação a diferentes ambientes.



**Figura 4a.** Filograma construído pelo método de Máxima Verossimilhança mostrando a identificação dos genótipos das espécies de *Eragrostis* com base na sequência do marcador nuclear *rpl32*. O filograma foi construído pelo programa Geneious 2025.0.3 segundo o modelo GTR+I+G, selecionado pelo programa jModelTest. A medida de confiabilidade dos ramos foi feita pelo teste de bootstrap neighbor-joining.

Fonte: o autor.



**Figura 4b.** Filograma construído pelo método de Máxima Verossimilhança mostrando a identificação dos genótipos das espécies de *Eragrostis* com base na sequência do marcador nuclear *rpl32*. O filograma foi construído pelo programa Geneious 2025.0.3 segundo o modelo GTR+I+G, selecionado pelo programa jModelTest. A medida de confiabilidade dos ramos foi feita pelo teste de bootstrap neighbor-joining.

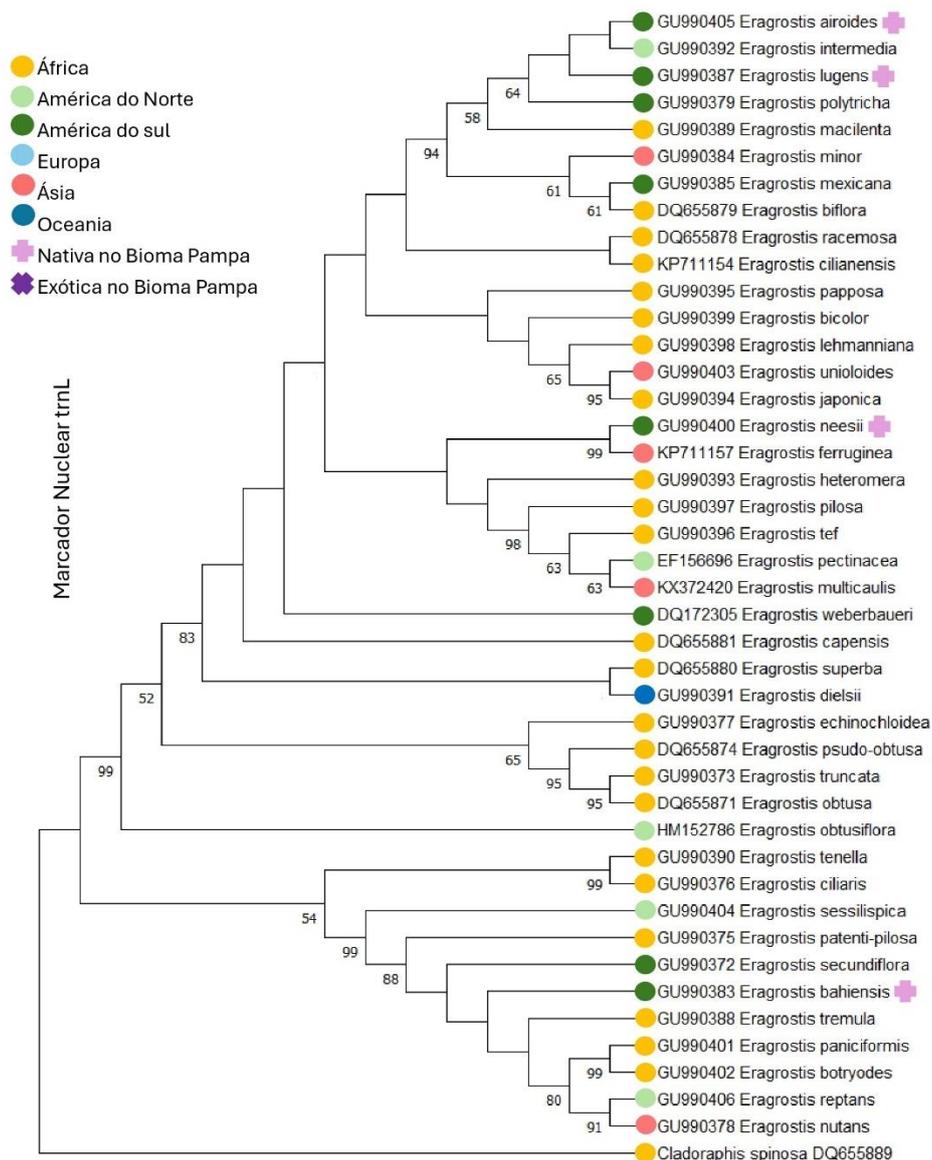
Fonte: o autor.

Durante a análise das sequências do gene *rp32*, foram identificados diversos gaps ao longo do alinhamento, especialmente concentrados entre os sítios 200–225 e 311–340. Isso pode apontar que tais variações não são artefatos de amplificação ou sequenciamento, mas sim características recorrentes do locus *rp32*.

Na Figura 5 (e Tabela 6), que apresenta a árvore filogenética construída com o marcador *trnL-F*, observou-se uma variação nos valores de suporte de bootstrap, com alguns agrupamentos mais confiáveis e outros de baixa robustez. Um dos clados mais bem sustentados reúne as espécies africanas *E. pilosa* (exótica no Bioma Pampa) e *E. tef*, com um alto valor de suporte de 98, indicando uma relação filogenética bem estabelecida entre elas.

Por outro lado, o agrupamento formado por *E. lugens* e *E. airoides*, ambas nativas do Bioma Pampa, também se apresentou como monofilético, mas com um suporte de bootstrap extremamente baixo (41), o que impede conclusões definitivas sobre sua proximidade evolutiva. Em toda a árvore, apenas o clado composto pelas espécies africanas *E. obtusa* Munro ex Ficalho & Hiern., *E. truncata* Hack., *E. pseudo-obtusa* e *E. echinochloidea* Stapf demonstrou um padrão geograficamente coerente, com valores de suporte (95 e 95), reforçando a confiabilidade desse agrupamento.

A espécie *E. lehmanniana*, que apareceu como a mais próxima de *E. plana* na árvore filogenética de ITS (Figura 1 e Tabela 7), foi agrupada em um clado com outras espécies africanas, o que sugere uma possível relação evolutiva mais estreita com esse grupo, neste agrupamento, não há presença de espécies nativas do bioma Pampa. No entanto, a presença de valores baixos em diversas partes da árvore reforça que *trnL* pode não ser suficiente para inferências filogenéticas precisas dentro do gênero *Eragrostis*, sendo necessário o uso complementar de outros marcadores moleculares para validar as relações evolutivas observadas.



**Figura 5.** Filograma construído pelo método de Máxima Verossimilhança mostrando a identificação dos genótipos das espécies de *Eragrostis* com base na sequência do marcador cloroplastidial *trnL*. O filograma foi construído pelo programa Geneious 2025.0.3 segundo o modelo GTR+I+G, selecionado pelo programa jModelTest. A medida de confiabilidade dos ramos foi feita pelo teste de bootstrap neighbor-joining.

Fonte: o autor.

No alinhamento das sequências referentes ao gene *trnL*, observou-se uma ocorrência significativa de gaps, principalmente nas regiões entre os sítios 200–220 e 250–270. Esses indels foram identificados em sequências públicas disponíveis no NCBI, indicando que se trata de características consistentes do marcador e não de falhas técnicas. A recorrência desses eventos ao longo de

regiões conservadas e entre diferentes espécies pode refletir aspectos da evolução plastidial e influenciar diretamente as inferências filogenéticas baseadas nesse locus. A presença recorrente de gaps em regiões conservadas, especialmente quando compartilhados entre táxons, é um fator que pode impactar a reconstrução filogenética, uma vez que pode introduzir ambiguidades na delimitação de homologias e nos modelos evolutivos aplicados.

O valor de bootstrap é uma medida estatística utilizada em análises filogenéticas para avaliar a sustentação dos agrupamentos (clados) em uma árvore filogenética (RIZZO; CYMROT, 2006). Ele é calculado com base em um procedimento de re-amostragem com reposição dos dados originais (alinhamento de sequências), seguido pela reconstrução de múltiplas árvores filogenéticas. O resultado é expresso como uma porcentagem, indicando a frequência com que cada agrupamento aparece nas árvores reconstruídas (RIZZO; CYMROT, 2006). Para muitos dos marcadores aqui analisados, os valores foram baixos, permitindo, em sua maioria, apenas inferências.

Inferir padrões evolutivos é uma tarefa complexa, especialmente devido à influência da distribuição geográfica dos organismos na diferenciação genética. Embora a dispersão das espécies ao longo do tempo possa fornecer indícios sobre sua evolução, a utilização de um número restrito de marcadores moleculares impede a determinação precisa de um ponto de origem (ALMDEIDA; EL-HANI, 2010).

No contexto deste estudo, o aspecto mais relevante era estabelecer se *E. plana* está mais relacionada a espécies africanas ou às sul-americanas, especialmente àquelas nativas do Bioma Pampa. Com base nos dois marcadores utilizados, ITS e *rbcL*, apenas o primeiro permite inferir maior proximidade da invasora a uma espécie de origem africana que a alguma das sul-americanas analisadas (Figura 1). Compreender a diferenciação é um fator positivo para o desenvolvimento de estratégias de manejo mais eficazes como já discutido anteriormente e quando bem direcionadas, minimiza os impactos sobre a biodiversidade local.

Em áreas extensas, como um continente, a distribuição das espécies é influenciada pela magnitude do território e pelas variações de relevo. Dessa forma, é possível que uma espécie apresente maior proximidade morfológica e

genética com outra que esteja geograficamente mais próxima, mesmo que em uma região distinta, do que com uma espécie do mesmo continente, mas localizada a uma grande distância. Assim, espécies separadas por vastas extensões dentro de um mesmo continente podem ter menor similaridade entre si do que com aquelas situadas em regiões geograficamente mais próximas, ainda que pertencentes a diferentes continentes. (BOECHAT; LONGHI-WAGNER, 2000; MARCHIORETTO, 2009).

O aporte de sequências do GenBank com base nos marcadores *rpS16*, *rpL32* e *trnL* não foi suficiente para auxiliar no entendimento da filogenia entre a espécie *E. plana* com demais espécies do gênero, especialmente aquelas presentes no bioma Pampa.

Compreender as diferenças genéticas entre *E. plana* e as espécies nativas pode contribuir significativamente para o desenvolvimento de estratégias de controle mais específicas, reduzindo os impactos sobre a biodiversidade do Bioma Pampa. Diante da crescente disseminação de *E. plana* na região, a determinação de sua posição filogenética em comparação com as espécies locais oferece subsídios importantes para a formulação de programas de manejo integrados. A variação genética identificada entre as espécies estudadas indica que suas distintas trajetórias evolutivas podem influenciar a forma como respondem a diferentes métodos de controle, evidenciando a importância de adotar ações eficientes para minimizar os efeitos prejudiciais dessa invasora sobre as pastagens nativas e a atividade pecuária regional.

Sugere-se que estudos futuros explorem a análise de outros marcadores moleculares, como cpDNA e nrDNA, para refinar ainda mais as relações filogenéticas dentro do grupo *Eragrostis*. Além disso, é importante investigar as características evolutivas distintas entre as espécies analisadas, a fim de otimizar as estratégias de controle e conservação da biodiversidade do Bioma Pampa.

## 6 Considerações finais

A utilização do marcador molecular ITS permite estabelecer relações filogenéticas dentro do gênero *Eragrostis*, com foco na planta invasora *E. plana* e espécies nativas e exóticas do bioma Pampa.

Espécies nativas do bioma Pampa ou da América do Sul como *E. bahiensis*, *E. neesi* e *E. lugens* apresentam maior similaridade genética entre si, formando um grupo coeso e distinto de *E. plana*, a qual demonstra maior proximidade a *E. lehmanniana*, também oriunda da África, com base no marcador ITS.

O marcador cloroplastidial *rbcL* não foi adequado para inferir relações filogenéticas dentro do gênero *Eragrostis*, uma vez que os valores de sustentação encontrados (bootstrap) indicam relações incertas.

## 7 Referências bibliográficas

- ABICHEQUER, André Dabdab *et al.* Crescimento e distribuição de raízes de capim-annoni-2 e do campo nativo: vantagem competitiva do capim-annoni-2?. **Pesquisa Agropecuária Gaúcha**, v. 15, n. 1, p. 7-12, 2009.
- AGOSTINHO, Angelo Antônio. Estrutura Trófica. In. VAZZOLER, Anna Emília A.; AGOSTINHO, Angelo Antônio; HAHN, Norma Segatti. **A planície de inundação do alto rio paraná. 20. ed.** Maringá: Eduem, 1997. p.229-248. 465p.
- AÏNOUCHE, Malika L. *et al.* **Hybridization, polyploidy and invasion: lessons from *Spartina* (Poaceae).** *Biological Invasions*, v. 11, p. 1159-1173, 2009.
- AÏNOUCHE, Malika L. *et al.* **Hybridization, polyploidy and speciation in *Spartina* (Poaceae).** *New Phytologist*, v. 161, n. 1, p. 165-172, 2004.
- ALHO, Cleber JR. **Importância da biodiversidade para a saúde humana: uma perspectiva ecológica.** *Estudos Avançados*, v. 26, p. 151-166, 2012.
- AMORIM, Airton Lopes; CORONEL, Daniel Arruda; TEIXEIRA, Eryl Cardoso. **A agropecuária na economia brasileira: uma análise de insumo-produto.** *Perspectiva econmica*, v. 5, n. 2, p. 1-19, 2009.
- ARJONA, Bárbara Scorsim. **Diversidade genética de uma Poaceae invasora aquática na região Neotropical.** (Dissertao) Mestrado em Ecologia de Ambientes Aquáticos Continentais. Universidade Estadual de Maringá, PR. 35 p. 2021.
- BACCHI, Henrique Rodrigues Correia *et al.* **Mecanismos de adesão celular: uma janela para a evoluo da multicelularidade.** *Lumen et Virtus*, v. 15, n. 41, p. 5102-5107, 2024.
- BAKER, Nigel P. *et al.* **Phylogeny and subfamilial classification of the grasses (Poaceae).** *Annals of the Missouri Botanical Garden*, p. 373-457, 2001.
- BALBINOT JR, Alvadi Antonio *et al.* **Predao de sementes de plantas daninhas em áreas cultivadas.** *Ciência Rural*, v. 32, p. 707-714, 2002.
- BARBIERI, Fabrícia *et al.* **Flora vascular dos banhados do Parque Natural Municipal da Ronda, São Francisco de Paula, Rio Grande do Sul, Brasil.** *Iheringia, Série Botânica*, v. 78, p. e2023017, 2023.
- BARBOSA, Angela Silva; LIN, Chin Jia. Silenciamento de genes com RNA interferência: um novo instrumento para investigao da fisiologia e fisiopatologia do córtex adrenal. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, v. 48, p. 612-619, 2004.
- BARBOSA, Julierme Zimmer; CONSALTER, Rangel; MOTTA, Antonio Carlos Vargas. Fixao biológica de nitrogênio em Poaceae. **Evidência**, v. 12, n. 1, p. 7-18, 2012.
- BARDEN, Júlia Elisabete *et al.* Produo pecuária e desafios ambientais: agricultura familiar no Vale do Taquari, RS. **Interao (Campo Grande)**, v. 25, n. 2, p. e2523836, 2024.
- BARRETT, Russell L.; PETERSON, Paul M.; ROMASCHENKO, Konstantin. A molecular phylogeny of *Eragrostis* (Poaceae: Chloridoideae: Eragrostideae): making lovegrass monophyletic in Australia. **Australian Systematic Botany**, v. 33, n. 5, p. 458-476, 2020.

- BASTIANI, Marlon Ouriques. **Drought tolerance in tough lovegrass (*Eragrostis plana*) and their implications on competitiveness relations with *Paspalum notatum* and chemical control.** (Tese) Programa de Pós-Graduação em Fitossanidade, Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Pelotas-RS, 125 p. 2019.
- BATISTA, Pedro H. S. *et al.* BOAS PRÁTICAS NA PRODUÇÃO DE SILAGEM PARA BOVINOS. I **Seminário de Gestão Integrada em Qualidade**, n. 1, p. 1-4, 2024.
- BETTEGA, Renan de Palleja. Controle da germinação de capim annoni (*Eragrostis plana* Nees): **inovação com bioinsumos botânicos**. 2022.
- BITANCOURT, Agesilau. Uma Grama Africana. **Brazilian Journal of Agriculture**. V. 7, n. 7-10, 1932.
- BOECHAT, Sonja de Castro; LONGHI-WAGNER, Hilda M. Padrões de distribuição geográfica dos táxons brasileiros de *Eragrostis* (Poaceae, Chloridoideae). **Brazilian Journal of Botany**, v. 23, p. 177-194, 2000.
- BOGGIANO, Pablo; ZANONIANI, Ramiro; VAZ, Alicia; ASHFIELD, Liliana. Capim-annoni - *Eragrostis plana* Nees: una maleza que desvaloriza nuestros campos. *Revista del Plan Agropecuario*, v. 110, p. 46-50, 2004.
- BOLDRINI, Ilsi Lob. Morfologia e taxonomia de gramíneas sul-rio-grandenses. UFRGS, 2005.
- BORBA, Marcos; TRINDADE. José Pedro Pereira. Desafios para conservação e a valorização da pecuária sustentável In: **Campos Sulinos: conservação e uso sustentável da biodiversidade**. 1 ed. Brasília : Ministério do Meio Ambiente, p. 391-403, 2009.
- BORGES, Anelise Miritz *et al.* Agricultura familiar e a conservação da saúde humana e ambiental. **Revista Brasileira de Enfermagem**, v. 69, n. 2, p. 326-334, 2016.
- BRACK, Paulo *et al.* Frutas nativas do Rio Grande do Sul, Brasil: riqueza e potencial alimentício. **Rodriguésia**, v. 71, p. e03102018, 2020.
- BRANDAO, Antônio Salazar P; CARVALHO, Jose L. **The Political Economy of Agricultural Pricing Policy: Trade, Exchange Rate and Agricultural Policies in Brazil**. World Bank. *Comparative Studies*. 1992.
- BRANDÃO, Antônio Salazar P; REZENDE, Gervasio Castro. **Land prices and land rents in Brazil**. In A. Maudner & A. Valdés, eds. Agriculture and government in an interdependent world. Dartmouth, International Association of Agricultural Economists, Dartmouth Publishing Company. 1989.
- CAPORAL, Francisco José Machado; BOLDRINI, Ilsi lob. Florística e fitossociologia de um campo manejado na Serra do Sudeste, Rio Grande do Sul. **Brazilian Journal of Biosciences**. Porto Alegre. v. 5, p. 37-44, 2007.
- CARATTI, Fernanda Cassiane. **Capim-annoni: germinação, caracterização morfoanatômica, genética e absorção de herbicidas**. (Tese) Programa de Pós-Graduação em Fitossanidade, Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Pelotas-RS, 126 p. 2019.
- CARVALHO, Juliana dos Santos *et al.* Evolução de atributos físicos, químicos e biológicos em solo hidromórfico sob sistemas de integração lavoura-pecuária no bioma Pampa. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 51, n. 9, p. 1131-1139, 2016.

- CHOMENKO, Luiza; BENCKE, Glayson A.; BECKER, Adriano Nygaard. O que é o Pampa. In: **Nosso Pampa desconhecido**. Fundação Zoobotânica do Rio Grande do Sul, 2016. Porto Alegre: Fundação Zoobotânica do Rio Grande do Sul, p. 17-27, 2016.
- CLAYTON, William Derek; RENVOIZE, Stephen Andrew. **Genera Graminum: Grasses of the World**. London: Her Majesty's Stationery Office. 389 p. 1986.
- COLLI-SILVA, Matheus; IVANAUSKAS, Natália Macedo; SOUZA, Flaviana Maluf. **Diagnóstico do conhecimento da biodiversidade de plantas vasculares nas unidades de conservação do estado de São Paulo**. Rodriguésia, 2019.
- CUNHA, Nina Rosa da Silveira *et al.* A intensidade da exploração agropecuária como indicador da degradação ambiental na região dos Cerrados, Brasil. **Revista de Economia e Sociologia Rural**, v. 46, p. 291-323, 2008.
- DA COSTA, Diulie Almansa *et al.* **Análise de potencial alelopático de extratos de Eragrostis plana Nees (capim-annoni)**. Cadernos de Agroecologia, v. 15, n. 2, 2020.
- DALMOLIM, Emilaine Biava. **Poaceae dos campos de altitude do Parque Nacional de São Joaquim, Santa Catarina, Brasil**. 2013. Tese de Doutorado. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Santa Catarina, Brasil.
- DE CLERCK, Olivier; BOGAERT, Kenny A.; LELIAERT, Frederik. Diversity and evolution of algae: primary endosymbiosis. In: **Advances in botanical research**. Academic Press, 2012. p. 55-86.
- DE MORAES JÚNIOR, Antônio Travassos; TEIXEIRA, Dárlio Inácio Alves. Algas e suas utilidades: do surgimento da vida em nosso planeta ao aquecimento global. **Cadernos de Cultura e Ciência**, v. 2, n. 2, 2007.
- DE OLIVEIRA, Márcia Divina. Introdução de espécies-uma das maiores causas de perda de biodiversidade. Embrapa Pantanal, 2004. Disponível em: <<http://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/handle/doc/811285>>. Acesso em: 26 de junho de 2023.
- DESSIE, Abebaw. Cereal crops research achievements and challenges in Ethiopia. **International journal of research studies in agricultural sciences**, v. 4, n. 6, p. 23-29, 2018.
- DEVELEY, Pedro Ferreira *et al.* Conservação das aves e da biodiversidade no bioma Pampa aliada a sistemas de produção animal. **Revista Brasileira de Ornitologia**, v. 16, n. 4, p. 308-315, 2008.
- DOYLE, Jeff J. *et al.* A phylogeny of the chloroplast gene *rbcL* in the Leguminosae: taxonomic correlations and insights into the evolution of nodulation. **American Journal of Botany**, v. 84, n. 4, p. 541-554, 1997.
- DOYLE, Jeff J.; DOYLE, Jane L. A Rapid DNA Isolation Procedure for Small Quantities of Fresh Leaf Tissue. **Phytochemical Bulletin**, v. 19, p. 11-15, 1987.
- EGOH, Benis N. *et al.* The importance of grasslands in providing ecosystem services: opportunities for poverty alleviation. In: **Routledge handbook of ecosystem services**. Routledge, 2016. p. 421-441.
- EUCLIDES, Valéria Pacheco Batista *et al.* Valor nutritivo da forragem e produção animal em pastagens de *Brachiaria brizantha*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 44, p. 98-106, 2009.

- FARIAS, Fabiane Melo *et al.* O cerne do Pampa: Conhecendo o mais austral dos biomas brasileiros. **Ciência e Cultura**, v. 75, n. 4, p. 01-08, 2023.
- FERNANDES, Tarcísio José Gualberto *et al.* **Quantificação do carbono estocado na parte aérea e raízes de Hevea sp., aos 12 anos de idade, na Zona da Mata Mineira.** Revista *Árvore*, v. 31, p. 657-665, 2007.
- FERREIRA, Nailson R.; MEDEIROS, Renato B. de; SOARES, Geraldo Luiz G. **Potencial alelopático do capim-annoni-2 (*Eragrostis plana* Nees) na germinação de sementes de gramíneas perenes estivais.** Revista Brasileira de Sementes, v. 30, p. 43-50, 2008.
- FERRI, Mário Guimarães; DE MENEZES, Nanuza Luiza; MONTEIRO, Walkyria Rossi. **Glossário ilustrado de botânica.** NBL Editora, 1981.
- FIORENZA, Mireli *et al.* **Análise fitoquímica e atividade alelopática de extratos de *Eragrostis plana* Nees (capim-annoni).** Iheringia, Série Botânica., v. 71, n. 2, p. 193-200, 2016.
- FIPKE, Marcus Vinicius *et al.* **Stress memory mechanism involved in increasing tolerance of *Eragrostis plana* to glyphosate herbicide.** In: 8th International Weed Science Congress 'Weed Science in a Climate of Change', 2022, Thailand. 8th International Weed Science Congress "Weed Science in a Climate of Change", 2022.
- FREITAS, David Santos. **Desafios da pecuária de corte frente à conservação dos ecossistemas campestres: desenvolvimento sustentável no Bioma Pampa.** Unisinos. 2018.
- GBIF. *Cladoraphis spinosa* (L.f.) S.M.Phillips. in GBIF Secretariat (2023). GBIF Backbone Taxonomy. Disponível em: <<https://doi.org/10.15468/39omei>>. Acesso em 12 de Dezembro de 2024
- GBIF. *Eragrostis plana* Nees In: GBIF Secretariat (2022). GBIF Backbone Taxonomy. Disponível em: <<https://doi.org/10.15468/39omei>>. Acesso em 22 de Maio de 2023.
- GIUDICELLI, Giovanna Câmara. **Avaliação do marcador nuclear ITS para estudos evolutivos de espécies do gênero *Passiflora* L.(Passifloraceae).** (Dissertação) Programa de Pós-Graduação em Genética e Biologia Molecular. 81 p. 2015.
- GNUTIKOV, Alexander A. *et al.* **Genetic Diversity of the Species of the Genus *Deschampsia* P. Beauv.(Poaceae) Based on the Analysis of the ITS Region: Polymorphism Proves Distant Hybridization.** International Journal of Molecular Sciences, v. 25, n. 21, p. 11348, 2024.
- GÓES, Queirina Ramos *et al.* **Análise da fauna edáfica em diferentes usos do solo no Bioma Pampa.** Ciência Florestal, v. 31, n. 1, p. 123-144, 2021.
- GHOSH, Snigdha; PATRA, Snehanjana; RAY, Sarmistha. A combinatorial nanobased spray-induced gene silencing technique for crop protection and improvement. **ACS omega**, v. 8, n. 25, p. 22345-22351, 2023.
- GOMES, Fabio da Silva. **Conflitos de interesse em alimentação e nutrição.** Cadernos de Saúde Pública, v. 31, p. 2039-2046, 2015.
- GOULART, Carolina Gomes *et al.* A importância das famílias poaceae e fabaceae em uma área de vegetação campestre na região do Alto Camaquã, RS. In: CONGRESSO

DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA, 20.; MOSTRA CIENTÍFICA, 3., 2011, Pelotas.[Anais...]. Pelotas: UFPel, 2011.

HILLIS, David M.; DIXON, Michael T. **Ribosomal DNA: molecular evolution and phylogenetic inference**. The Quarterly review of biology, v. 66, n. 4, p. 411-453, 1991.

HOMEM, Raísa Vieira *et al.* Qualidade nutricional e tecnológica de farinha de tef (*Eragrostis tef*) em preparações: uma revisão. Simpósio de Segurança Alimentar (6.: 2018: Gramado, RS).[Anais][recurso eletrônico]. Gramado: SBCTA-RS, 2018., 2018.

HOMEM, Raísa Vieira. Efeito da adição de tef (*Eragrostis tef*) e farinhas associadas na qualidade de produtos de panificação como alternativa para celíacos. 2020.

HSIAO, Chatterton *et al.* Molecular phylogeny of the Pooideae (Poaceae) based on nuclear rDNA (ITS) sequences. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 90, p. 389-398, 1995.

HUTANG, Ge-Ran *et al.* Genome size variation and polyploidy prevalence in the genus *Eragrostis* are associated with the global dispersal in arid area. **Frontiers in Plant Science**, v. 14, p. 1066925, 2023.

INGRAM, Amanda L.; CHRISTIN, Pascal-Antoine; OSBORNE, Colin P. Molecular phylogenies disprove a hypothesized C4 reversion in *Eragrostis walteri* (Poaceae). **Annals of Botany**, v. 107, n. 2, p. 321-325, 2011.

INGRAM, Amanda L.; DOYLE, Jeff J. *Eragrostis* (Poaceae): Monophyly and infrageneric classification. **Aliso: A Journal of Systematic and Floristic Botany**, v. 23, n. 1, p. 595-604, 2007.

INGRAM, Amanda L.; DOYLE, Jeff J. The origin and evolution of *Eragrostis tef* (Poaceae) and related polyploids: evidence from nuclear waxy and plastid *rpS16*. **American Journal of Botany**, v. 90, n. 1, p. 116-122, 2003.

JOLY, Carlos A. *et al.* Diagnóstico da pesquisa em biodiversidade no Brasil. **Revista Usp**, p. 114-133, 2011.

KAWAKITA, Kazue *et al.* Poaceae em uma planície de inundação no Brasil: distribuição espacial e conservação. **Rodriguésia**, v. 69, n. 2, p. 577-594, 2018.

KEW.ORG. *Cladoraphis spinosa*. Tree of life explorer. Disponível em: <<https://treeoflife.kew.org/tree-of-life/9441>>. Acesso em 15 de Outubro de 2024.

KINUPP, Valdely Ferreira; DE BARROS, Ingrid Bergman Inchausti. Riqueza de plantas alimentícias não-convencionais na região metropolitana de Porto Alegre, Rio Grande do Sul. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 5, n. S1, p. 63-65, 2007.

KIM, Dae Sung; ZHANG, Jiang. Strategies to improve the efficiency of RNAi-mediated crop protection for pest control. **Entomol. Gen**, v. 10, 2022.

KOHLER, Marisa Regina *et al.* O desmatamento da Amazônia brasileira sob o prisma da pecuária: a degradação dos recursos hídricos no contexto da região norte de Mato Grosso. **Research, Society and Development**, 2021.

LAMEGO, Fabiane Pinto *et al.* **Manejo de capim-annoni: prevenindo a disseminação de sementes por animais**. Embrapa Pecuária Sul, 2022. 13 p.

Disponível em : <<http://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/handle/doc/1152242>>  
Acesso em: 02 de julho de 2023. a.

LAMEGO, Fabiane Pinto *et al.* Next-generation sequencing: genome and transcriptome of the invasive *Eragrostis plana*. XXXIII Congresso Brasileiro da ciência das plantas daninhas e XXV Congresso Latinoamericano de malezas. 2024, Expo D. Pedro, SP. **Anais [...]**. Campinas, SP. 2024. 891 p.

LAMEGO, Fabiane Pinto *et al.* Sequenciamento genômico de capim-annoni. XXXII Congresso Brasileiro da ciência das plantas daninhas. 2022, Centro de convenções da universidade de Rio Verde, GO. **Anais [...]**. Rio Verde, GO. 2022. 493 p. b.

LAMEGO, Fabiane Pinto; CARATTI, Fernanda Cassiane; PEREZ, Naylor Bastiani Perez. **Ocorrência de Capim-annoni no banco de sementes do solo de áreas infestadas**. Embrapa Pecuária Sul, 2020, 26p. (Boletim). Disponível em: <[infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/bitstream/doc/1127393/1/BPD-46-online.pdf](http://infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/bitstream/doc/1127393/1/BPD-46-online.pdf)>. Acesso: 02 de julho de 2023.

LEMOS, Gabriel Martini *et al.* Levantamento da flora em uma área de campos rupestres em Santa Margarida do Sul-RS. 2019.

LENZI, Alexandre. Desempenho animal e produção de forragem em dois sistemas de uso da pastagem: pastejo contínuo & pastoreio racional voisin. **Florianópolis: Universidade Federal de Santa Catarina**, 2003.

LEWINSOHN, Thomas; PRADO, Paulo Inácio. **Biodiversidade brasileira: síntese do estado atual do conhecimento**. Editora Contexto, 2002.

LIPINSKI, Victor M.; SANTOS, Tiago G. Estrutura e organização espacial de duas comunidades de anuros do bioma Pampa. **Iheringia. Série Zoologia**, v. 104, p. 462-469, 2014.

LITRE, Gabriela; BURSZTYN, Marcel. Percepções e adaptação aos riscos climáticos e socioeconômicos na pecuária familiar do Bioma Pampa. **Ambiente & Sociedade**, v. 18, p. 55-80, 2015.

LONGHI-WAGNER, Hilda Maria. Poaceae: an overview with reference to Brazil. **Rodriguésia**, v. 63, p. 089-100, 2012.

LUZ, Fernanda de Oliveira. Flora nativa e exótica da dunas frontais dos balneários do município de Osório-Rio Grande do Sul-Brasil. 2020.

MACEDO, Manuel Claudio Motta. Integração lavoura e pecuária: o estado da arte e inovações tecnológicas. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 38, p. 133-146, 2009.

MACIEL, Mitali Daian Alves; TROIAN, Alessandra; VIANA, João Garibaldi Almeida. As práticas inovadoras da agricultura familiar agroecológica: o contramovimento em Santana do Livramento, RS. **Interações (Campo Grande)**, v. 25, n. 2, p. e2524015, 2024.

MARCHI, Marene Machado *et al.* Flora herbácea e subarbusciva associada a um ecossistema de butiazal no Bioma Pampa. **Rodriguésia**, v. 69, n. 2, p. 553-560, 2018.

MARCHIORETTO, Maria Salete; MIOTTO, Silvia Teresinha Sfoggia; SIQUEIRA, Josafá Carlos de. **Padrões de distribuição geográfica das espécies brasileiras de Pfaffia (Amaranthaceae)**. **Rodriguésia**, v. 60, n. 3, p. 667-681, 2009.

MEDEIROS, Renato Borges de *et al.* Seed longevity of *Eragrostis plana* Nees buried in natural grassland soil. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 43, p. 561-567, 2014.

MEDEIROS, Renato Borges; FOCHT, Telmo. Invasão, prevenção, controle e utilização do capim-annoni-2 (*Eragrostis plana* Nees) no Rio Grande do Sul. **Pesquisa Agropecuária Gaúcha** v. 13 p. 105-114. 2007.

MEDEIROS, Renato Borges; SAIBROS, João Carlos; FOCHT, Telmo. Invasão de capim-annoni (*Eragrostis plana* Nees) no Bioma Pampa do Rio Grande do Sul. **In: Campos Sulinos – Conservação E Uso Sustentável Da Biodiversidade** (eds V. P. Pillar, S. C. Müller, Z. M. S. Castilhos & A. V. A. Jacques) pp. 319–30. Ministério do Meio Ambiente, Brasília, 2009.

MEDEIROS, Rodrigo. Desafios à gestão sustentável da biodiversidade no Brasil. **Floresta e Ambiente**, v. 13, n. 2, p. 1-10, 2006.

MENEZES, Alexia Jhenny Valente *et al.* **Sistemas de produção animal na área de Várzea do Baixo Amazonas, sob os aspectos da Etnozootecnia-Levantamento de espécies forrageiras pela rede Sociobiodiversidade da Amazônia**. Monografia (Zootecnia - Bacharelado), ICSEZ - Instituto de Ciências Sociais, Educação e Zootecnia, Parintins, Amazonia, 2024.

MONTEBLANCO, Felipe Leindecker *et al.* Relicários da paisagem pastoril: uma geografia do pampa remanescente no Brasil. 2021. (Tese). Universidade Federal de Santa Maria.

MONTEIRO, Raquel Fernandes; MANTOVANI, André; FORZZA, Rafaela Campostrini. Morphological phylogenetic analysis of two early-diverging genera of Bromelioideae (Bromeliaceae). **Rodriguésia**, v. 66, n. 2, p. 505-521, 2015.

MORAIS, Ygor Cristiano Brito *et al.* Análise do Sequestro de Carbono em áreas de Caatinga do Semiárido Pernambucano. **Revista Brasileira de Meteorologia**, v. 32, n. 4, p. 585-599, 2017.

NABINGER, Carlo; DALL'AGNOL, Miguel. Guia para reconhecimento de espécies dos Campos Sulinos. **IBAMA**, Brasília, 2019.

NABINGER, Carlos. O Pampa e o desenvolvimento: considerações sobre seu potencial produtivo e econômico. **In: 4 Simpósio COTRISAL da carne bovina**, 2006, São Borja. Anais do 4 Simpósio Cotrisal da carne bovina. São Borja: COTRISAL, 2006.

NCBI. **NCBI BLAST**. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/>>. Acesso em 24 de outubro de 2024.

NEGI, Ranjana K. *et al.* *rbcl*, a potential candidate DNA barcode loci for aconites: conservation of himalayan aconites. **Molecular Biology Reports**, v. 48, n. 10, p. 6769-6777, 2021.

OLIVEIRA, Giselle Paulino dos Reis de *et al.* Um estudo de caso sobre o PAA África, na Etiópia, no contexto da cooperação Sul-Sul Brasileira em segurança alimentar e nutricional na Etiópia. 2017.

OLIVEIRA, Mariana Cabral. **Origem e evolução das algas eucarióticas e de seus cloroplastos com ênfase nas algas vermelhas (Rhodophyta)**. 2005. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo.

OVERBECK, Gerhard E. *et al.* Brazil's neglected biome: the South Brazilian Campos. **Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics**, v. 9, n. 2, p. 101-116, 2007.

PEIXOTO, Carlos Augusto Brasil; OLIVEIRA-COSTA, Jorge Luis. **Geodiversidade e biodiversidade no bioma pampa**. Ciência Geográfica XXVII. Bauru, 2023.

PEREZ, Naylor Bastiani. **Método integrado de recuperação das pastagens MIRAPASTO: foco capim-annoni**. Embrapa Pecuária Sul, 2015, 24p. (Folheto) Disponível em: <embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/1023496/metodo-integrado-de-recuperacao-de-pastagens-mirapasto-foco-capim-annoni>. Acesso em: 20 de junho de 2023.

PETERSON, Paul M.; CANAS, D. Giraldo. *Eragrostis* Wolf. Monocotyledoneae, Poaceae: Aristidoideae a Pharoideae, 2012.

PILAU, Aucides *et al.* Produção de forragem e produção animal em pastagem com duas disponibilidades de forragem associadas ou não à suplementação energética. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 34, p. 1130-1137, 2005.

PIMENTEL, Róberson Machado *et al.* Ecofisiologia de plantas forrageiras. **Pubvet**, v. 10, p. 636-720, 2016.

PINTO, Marcelo Fett *et al.* **Impacto de diferentes intensidade de pastejo sobre a vegetação de uma pastagem nativa no Bioma Pampa: Uma análise de 20 anos**. Salão de Iniciação Científica. Livro de resumos. Porto Alegre : UFRGS, 2007.

PISCHL, Phyllis H. *et al.* Plastome phylogenomics and phylogenetic diversity of endangered and threatened grassland species (Poaceae) in a North American tallgrass prairie. **Ecology and evolution**, v. 10, n. 14, p. 7602-7615, 2020.

PITELLI, Robinson Antonio. Competição e controle das plantas daninhas em áreas agrícolas. **Série técnica IPEF**, v. 4, n. 12, p. 1-24, 1987.

PRADO, Gabriela Bordini; RIBEIRO, Helena. Pecuarização na Amazônia e consumo de carne: o que está por trás?. **Saúde e Sociedade**, v. 20, p. 730-742, 2011.

PYŠEK, Petr *et al.* **South Africa as a Donor of Naturalised and Invasive Plants to Other Parts of the World**. In: VAN WILGEN VAN, B. *et al.* (org.). *Biological Invasions in South Africa. Invading Nature-Springer Series in Invasion Ecology*. 14. ed. Cham: Springer, Cham, 2020. p. 759–785. E-book. Disponível em: [https://doi.org/10.1007/978-3-030-32394-3\\_26](https://doi.org/10.1007/978-3-030-32394-3_26)

QUINTÃO, José Maurício B. *et al.* Mudanças do uso e cobertura da terra no Brasil, emissões de GEE e políticas em curso. **Ciência e Cultura**, v. 73, n. 1, p. 18-24, 2021.

RADOSEVICH, Steven R.; HOLT, Jodie S.; GHERSA, Claudio M. Ecology of weeds and invasive plants: relationship to agriculture and natural resource management. **John Wiley & Sons**, 472 p. 2007.

RADOSEVICH, Steven R.; STUBBS M. M.; GHERSA, Claudio M. Plant Invasions: Process and Patterns. **Weed Science**, Lawrence, n. 51, p. 254-259, 2003.

RAJAURIA, Gaurav; YUAN, Yvonne V. Algae: A Functional Food with a Rich History and Future Superfood. **Recent Advances in Micro and Macroalgal Processing: Food and Health Perspectives**, p. 1-13, 2021.

- RAMOS, Érica Basílio Tavares; VIEIRA FILHO, José Eustáquio Ribeiro. Desenvolvimento regional da agricultura familiar: Cooperativismo e associativismo. **Revista Brasileira de Economia**, v. 77, p. e052023, 2023.
- REIMICHE, Felipe Esau *et al.* Emergência de espécies daninhas em fezes de ovinos. In: CONGRESSO BRASILEIRO DA CIÊNCIA DAS PLANTAS DANINHAS, 32., 2022, Rio Verde. Plantas daninhas e suas interações nos sistemas de produção agrícola: anais. Rio Verde: SBCPD, 2022.
- REIS, José Carlos Leite. *Capim annoni-2*: a origem, morfologia, características, disseminação. In: REUNIÃO REGIONAL DE AVALIAÇÃO DE PESQUISA COM ANNONI 2. 1991, Bagé. Anais. Bagé: EMBRAPA-CPPSUL, 1993. p. 5-23. (EMBRAPA-CPPSUL. Documentos, 7)
- REIS, José Carlos Leite; COELHO, R. W. Controle do capim-annoni-2 em campos naturais e pastagens. EMBRAPA Clima Temperado. **Circular Técnica**. Pelotas, 2000.
- REITZ, Raulino *et al.* **Flora ilustrada catarinense**. Itajaí: Herbário Barbosa Rodrigues, 1981.
- RITTER, Mara Rejane; DE MOURA BAPTISTA, Luís Rios. Levantamento florístico da família Asteraceae na “Casa de Pedra” e áreas adjacentes, Bagé, Rio Grande do Sul. **Iheringia, Série Botânica.**, v. 60, n. 1, p. 5-10, 2005.
- RIZZO, Ana Lucia Tucci; CYMROT, Raquel. Estudo e aplicações da técnica bootstrap. **II Jornada de iniciação científica. Universidade Presbiteriana Mackenzie, São Paulo**, 2006.
- RODRIGUES, João Victor Medeiros *et al.* **TERAPIA DE SILENCIAMENTO GÊNICO NA DOENÇA DE HUNTINGTON: REVISÃO INTEGRATIVA DE LITERATURA**. RECIMA21. Revista Científica Multidisciplinar. ISSN 2675-6218, v. 3, n. 1, p. e311052-e311052, 2022.
- ROMANO, Eduardo; BRASILEIRO, Ana Cristina Miranda. Extração de DNA de plantas. **Biotecnologia**, v.2, n.9, p.40-43, 1999.
- ROODT-WILDING, Rouvay; SPIES, Johan J. Phylogenetic relationships in southern African chloridoid grasses (Poaceae) based on nuclear and chloroplast sequence data. **Systematics and Biodiversity**, v. 4, n. 4, p. 401-415, 2006.
- SAUSEN, Darlene *et al.* **Biotecnologia aplicada ao manejo de plantas daninhas**. *Brazilian Journal of Development*. 2020.
- SCHLOTTERER, Cristian *et al.* Comparative evolutionary analysis of rDNA ITS regions in *Drosophila*. **Molecular Biology and Evolution**, Oxford, v.11, n.3, p.513-522, 1994.
- SCHNEIDER, Angelo Alberto. A flora naturalizada no estado do Rio Grande do Sul, Brasil: herbáceas subespontâneas. **Biociências**, v. 15, n. 2, p. 257-268, 2007.
- SHAVANOV, Musa Vahaevich. The role of food crops within the Poaceae and Fabaceae families as nutritional plants. In: **IOP Conference Series: Earth and Environmental Science**. IOP Publishing, 2021. p. 012111.
- SILVA, Sila Carneiro; JÚNIOR, Domicio Nascimento. Avanços na pesquisa com plantas forrageiras tropicais em pastagens: características morfofisiológicas e manejo do pastejo. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 36, p. 122-138, 2007.

- SMALL, Ian. RNAi for revealing and engineering plant gene functions. **Current Opinion in Biotechnology**, v. 18, n. 2, p. 148-153, 2007.
- SMITH, Lyman B.; KLEIN, Roberto M. **Flora Ilustrada Catarinense: Gramineas: Generos: 1. Bambusa ate 44. Chloris**. Herbario "Barosa Rodrigues", 1981.
- SOMARATNE, Yamuna *et al.* Comparison of the complete *Eragrostis pilosa* chloroplast genome with its relatives in Eragrostideae (Chloridoideae; Poaceae). **Plants**, v. 8, n. 11, p. 485, 2019.
- SOUZA, Luciano Soares; VELINI, Edivaldo Domingues; RODELLA, Rita Cássia Maimoni. Efeito alelopático de plantas daninhas e concentrações de capim-braquiária (*Brachiaria decumbens*) no desenvolvimento inicial de eucalipto (*Eucalyptus grandis*). **Planta daninha**, v. 21, p. 343-354, 2003.
- SQUIRES, Victor R. *et al.* Grasslands of the World. **Diversity, management and**, 2018.
- STEFANELLO, Daniel; FERNANDES-BULHÃO, Clarissa; MARTINS, Sebastião Venâncio. Síndromes de dispersão de sementes em três trechos de vegetação ciliar (nascente, meio e foz) ao longo do rio Pindaíba, MT. **Revista Árvore**, v. 33, p. 1051-1061, 2009.
- TKACH, Natalia *et al.* Phylogeny, morphology and the role of hybridization as driving force of evolution in grass tribes Aveneae and Poeae (Poaceae). **bioRxiv**, p. 707588, 2019.
- UTAMA, Muhammad Nanda *et al.* New specific primer *matK* and *rbcL* region for DNA barcode pitcher plant *Nepenthes spathulata*. **Biodiversitas Journal of Biological Diversity**, v. 25, n. 6, 2024.
- VETUKURI, Ramesh R. *et al.* Spray-induced gene silencing: an innovative strategy for plant trait improvement and disease control. **Crop breeding and applied biotechnology**, v. 21, p. e387921S11, 2021.
- VIDAL, Ribas Antonio; LAMEGO, Fabiane Pinto; TREZZI, Michelangelo Muzell. Diagnóstico da resistência aos herbicidas em plantas daninhas. **Planta daninha**, v. 24, p. 597-604, 2006.
- WATTOO, Javed Iqbal *et al.* DNA Barcoding: Amplification and sequence analysis of *rbcL* and *matK* genome regions in three divergent plant species. **Advancements in Life Sciences**, v. 4, n. 1, p. 03-07, 2016.
- WELKER, Cassiano Aimberê Dorneles; LONGHI-WAGNER, Hilda Maria A família Poaceae no Morro Santana, Rio Grande do Sul, Brasil. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 5, n. 4, 2007.
- WERNECK, Fernanda P. The diversification of eastern South American open vegetation biomes: historical biogeography and perspectives. **Quaternary Science Reviews**, v. 30, n. 13-14, p. 1630-1648, 2011.
- WRIGLEY, Colin. The cereal grains: Providing our food, feed and fuel needs. In: **Cereal Grains**. Woodhead Publishing, 2017. p. 27-40.
- WRÓBEL, Anna Klichowska *et al.* Invasion of *Eragrostis albensis* in Central Europe: distribution patterns, taxonomy and phylogenetic insight into the *Eragrostis pilosa* complex. **Biological Invasions**, v. 23, n. 7, p. 2305-2327, 2021.

ZABALA-PARDO, Diana; LAMEGO, Fabiane Pinto. **Biology of the invasive species *Eragrostis plana* in Southern Brazil: What have we learned and how may this help us manage it?**. *Weed Research*, v. 64, n. 2, p. 107-118, 2024.

ZAPPACOSTA, Diego *et al.* Molecular markers to study the variability within the *Eragrostis curvula* complex. **Phyton-Revista Internacional de Botanica Experimental**, p. 211, 2011.

ZAPPELINI, Julia *et al.* Evolução molecular em Bambusoideae Luer. (Poaceae Barnhart): taxonomia molecular e caracterização de genoma plastidial de espécies nativas. 2022.

## Apêndices

**Tabela 3.** Códigos de acesso ao NCBI das espécies utilizadas, referente ao marcador ITS1, 5.8S rRNA gene e ITS2.

Código de acesso	Espécie
AM900993	<i>Eragrostis truncata</i>
AM900995	<i>Eragrostis sessilispica</i>
AM900996	<i>Eragrostis papposa</i>
AM900997	<i>Eragrostis schimperi</i>
AM900987	<i>Eragrostis curtipedicellata</i>
AM900989	<i>Eragrostis tef</i>
AM900990	<i>Eragrostis cilianensis</i>
AM900991	<i>Eragrostis namaquensis</i>
AM900992	<i>Eragrostis unioloides</i>
AM900999	<i>Eragrostis minor</i>
AM901007	<i>Eragrostis elliotii</i>
AM901001	<i>Eragrostis pilosa</i>
AM901003	<i>Eragrostis squamata</i>
AM901004	<i>Eragrostis ciliaris</i>
AM901005	<i>Eragrostis mexicana</i>
AM901006	<i>Eragrostis kiwuensis</i>
OR084808	<i>Eragrostis curvula</i>
OR084807	<i>Eragrostis gummiflua</i>
OR084815	<i>Eragrostis planiculmis</i>
OR084804	<i>Eragrostis lehmanniana</i>
OR084809	<i>Eragrostis plana</i>
MK863083	<i>Cladoraphis spinosa</i>

**Tabela 4.** Códigos de acesso ao NCBI das espécies utilizadas, referente ao marcador ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase (*rbcL*) gene.

Código de acesso	Espécie
JN681666	<i>Eragrostis obtusiflora</i>
HE577859	<i>Eragrostis tef</i>
LN907933	<i>Eragrostis capuronii</i>
MF114364	<i>Eragrostis perennans</i>
MF998412	<i>Eragrostis hispida</i>
KJ773480	<i>Eragrostis secundiflora</i>
HQ329790	<i>Eragrostis walteri</i>
KJ773478	<i>Eragrostis ciliaris</i>
HE575824	<i>Eragrostis mexicana</i>
MF998402	<i>Eragrostis aethiopica</i>
MF998415	<i>Eragrostis aspera</i>
LN907931	<i>Eragrostis boinensis</i>
KP711257	<i>Eragrostis cilianensis</i>
KP056849	<i>Eragrostis curvula</i>
KP056851	<i>Eragrostis ferruginea</i>
LN907937	<i>Eragrostis humbertii</i>
LN907941	<i>Eragrostis schweinfurthii</i>
MF998414	<i>Eragrostis chabouisii</i>
JN681667	<i>Eragrostis reptans</i>
LN907938	<i>Eragrostis lateritica</i>
KP711259	<i>Eragrostis japonica</i>
JN681668	<i>Eragrostis sessilispica</i>
MF998404	<i>Eragrostis macilenta</i>
LN907936	<i>Eragrostis gangetica</i>
MF065248	<i>Eragrostis tenella</i>
MF998409	<i>Eragrostis paniciformis</i>
MF998400	<i>Eragrostis pectinacea</i>
LN907943	<i>Eragrostis tenuifolia</i>
MF998399	<i>Eragrostis betsileensis</i>
MF998410	<i>Eragrostis hildebrandtii</i>
MF998406	<i>Eragrostis subsecunda</i>
LN907935	<i>Eragrostis dentifera</i>
KP056869	<i>Eragrostis multicaulis</i>
ECU31104	<i>Eragrostis capensis</i>
MF998408	<i>Eragrostis stolonifera</i>
MF998407	<i>Eragrostis unioloides</i>
MF065255	<i>Eragrostis harpachnoides</i>
MF998398	<i>Eragrostis spectabilis</i>
LN907932	<i>Eragrostis canescens</i>
KP056873	<i>Eragrostis pilosa</i>
LN907934	<i>Eragrostis chapelieri</i>
LN907940	<i>Eragrostis racemosa</i>
LN907939	<i>Eragrostis minor</i>
AM235054	<i>Cladoraphis spinosa</i>

**Tabela 5.** Códigos de acesso ao NCBI das espécies utilizadas, referente ao marcador ribossomal protein S16 (*rpS16*) gene.

Código de acesso	Espécie
MK872585	<i>Eragrostis congesta</i>
AY136867	<i>Eragrostis tremula</i>
MK872627	<i>Eragrostis patens</i>
AY136862	<i>Eragrostis secundiflora</i>
AY136833	<i>Eragrostis bahiensis</i>
AY136853	<i>Eragrostis nutans</i>
MK872637	<i>Eragrostis speciosa</i>
MK872601	<i>Eragrostis hirticaulis</i>
MK872586	<i>Eragrostis cumingii</i>
MK872573	<i>Eragrostis leporina</i>
MK872632	<i>Eragrostis schultzei</i>
MK872595	<i>Eragrostis fallax</i>
MK872591	<i>Eragrostis elongata</i>
MK872636	<i>Eragrostis spartinoide</i>
MK872629	<i>Eragrostis potamophila</i>
MK872617	<i>Eragrostis nightingaleae</i>
AY136829	<i>Eragrostis botryodes</i>
MK872630	<i>Eragrostis pseudopoa</i>
MK872581	<i>Eragrostis basedowii</i>
MK872642	<i>Eragrostis superba</i>
AY508685	<i>Eragrostis sessilispica</i>
HM152787	<i>Eragrostis obtusiflora</i>
MK872647	<i>Eragrostis tenellula</i>
MK872584	<i>Eragrostis confertiflora</i>
MF073476	<i>Eragrostis harpachnoides</i>
AY136843	<i>Eragrostis heteromera</i>
AY136869	<i>Eragrostis truncata</i>
AY508683	<i>Eragrostis elegantissima</i>
GU360395	<i>Eragrostis soratensis</i>
AY136860	<i>Eragrostis polytricha</i>
GU360397	<i>Eragrostis pastoensis</i>
GU360467	<i>Eragrostis lugens</i>
MK872600	<i>Eragrostis grandis</i>
GU360392	<i>Eragrostis curvula</i>
MK872580	<i>Eragrostis atropioides</i>
AY508686	<i>Eragrostis airoides</i>
AY136849	<i>Eragrostis macilenta</i>
AY136835	<i>Eragrostis bicolor</i>
GU360393	<i>Eragrostis weberbaueri</i>
AY136863	<i>Eragrostis tef</i>
AY136842	<i>Eragrostis pilosa</i>
MF073467	<i>Eragrostis minor</i>
MK872588	<i>Eragrostis cylindriflora</i>
DQ242047	<i>Eragrostis cylindrica</i>
MK872616	<i>Eragrostis namaquensis</i>
MK872604	<i>Eragrostis lacunaria</i>
MF073469	<i>Eragrostis tenella</i>
MK872583	<i>Eragrostis ciliaris</i>
MK872652	<i>Eragrostis xerophila</i>
GU360462	<i>Eragrostis desertorum</i>
GU360378	<i>Eragrostis lurida</i>

AY136834	<i>Eragrostis barrelieri</i>
AY136832	<i>Eragrostis aspera</i>
MK872614	<i>Eragrostis mollior</i>
AY508690	<i>Eragrostis hypnoides</i>
GU360398	<i>Eragrostis nigricans</i>
MK872590	<i>Eragrostis echinochloidea</i>
AY508684	<i>Eragrostis unioloidea</i>
AY136868	<i>Eragrostis trichophora</i>
AY136845	<i>Eragrostis japonica</i>
AY136861	<i>Eragrostis rigidior</i>
AY136836	<i>Eragrostis chapelieri</i>
MK872651	<i>Eragrostis tenuifolia</i>
GU360396	<i>Eragrostis pectinacea</i>
MK872626	<i>Eragrostis parviflora</i>
MK872612	<i>Eragrostis mexicana</i>
MK872610	<i>Eragrostis leptocarpa</i>
MK872635	<i>Eragrostis setifolia</i>
MK872607	<i>Eragrostis laniflora</i>
MK872609	<i>Eragrostis lanipes</i>
MK872593	<i>Eragrostis falcata</i>
GU360461	<i>Eragrostis eriopoda</i>
MK872598	<i>Eragrostis filicaulis</i>
AY136840	<i>Eragrostis dielsii</i>
MK872631	<i>Eragrostis reptans</i>
MK872603	<i>Eragrostis kennedyae</i>
MK872615	<i>Eragrostis manticola</i>
AY136846	<i>Eragrostis lehmania</i>
LC115778	<i>Eragrostis ferruginea</i>
GU360488	<i>Eragrostis cilianensis</i>
MK872666	<i>Eragrostis acutiflora</i>
MK872671	<i>Eragrostis australasica</i>
MK872761	<i>Eragrostis pubescens</i>
MK872678	<i>Eragrostis brownii</i>
MK872749	<i>Eragrostis paniciformis</i>
MK872712	<i>Eragrostis gangetica</i>
MK872667	<i>Eragrostis aegyptiaca</i>
MK872757	<i>Eragrostis pilgeriana</i>
MK872714	<i>Eragrostis gummiflua</i>
MK872727	<i>Eragrostis lappula</i>
MK872781	<i>Eragrostis spectabilis</i>
MK872796	<i>Eragrostis virginica</i>
MK872762	<i>Eragrostis refracta</i>
MK872774	<i>Eragrostis setulifera</i>
MK872765	<i>Eragrostis sarmentosa</i>
MK872764	<i>Eragrostis sabulosa</i>
MK872730	<i>Eragrostis maypurensis</i>
MK872754	<i>Eragrostis patentissima</i>
MK872694	<i>Eragrostis densa</i>
MK872748	<i>Eragrostis olivacea</i>
MK872719	<i>Eragrostis interrupta</i>
MK872668	<i>Eragrostis angusta</i>
MK872679	<i>Eragrostis canescens</i>
MK872747	<i>Eragrostis nindensis</i>
MK872676	<i>Eragrostis braunii</i>
MK872738	<i>Eragrostis neesii</i>

MK872680	<i>Eragrostis chalarantha</i>
MK872750	<i>Eragrostis papposa</i>
MK872674	<i>Eragrostis biflora</i>
MK872711	<i>Eragrostis floccosa</i>
MK872763	<i>Eragrostis rotifer</i>
MK872717	<i>Eragrostis homomalla</i>
MK872771	<i>Eragrostis scotelliana</i>
MK872770	<i>Eragrostis scopelophila</i>
MK872687	<i>Eragrostis crassinervis</i>
MK872756	<i>Eragrostis peruviana</i>
MK872758	<i>Eragrostis planiculmis</i>
MK872795	<i>Eragrostis trachycarpa</i>
MK872769	<i>Eragrostis schweinfurthii</i>
MK872669	<i>Eragrostis articulata</i>
AY508688	<i>Cladoraphis spinosa</i>

---

**Tabela 6.** Códigos de acesso ao NCBI das espécies utilizadas, referente ao marcador ribossomal protein L32 (*rpL32*) gene.

Código de acesso	Espécie
MK872425	<i>Eragrostis australasica</i>
MK872452	<i>Eragrostis densa</i>
MK872487	<i>Eragrostis lappula</i>
MK872514	<i>Eragrostis patentissima</i>
MK872529	<i>Eragrostis sabulosa</i>
MK872530	<i>Eragrostis sarmentosa</i>
MK872422	<i>Eragrostis atrovirens</i>
MK872417	<i>Eragrostis aegyptiaca</i>
MK872532	<i>Eragrostis schultzei</i>
MK872470	<i>Eragrostis gangetica</i>
MK872524	<i>Eragrostis pseudopoa</i>
MK872427	<i>Eragrostis botryodes</i>
MK872510	<i>Eragrostis paniciformis</i>
MK872407	<i>Eragrostis lasioclada</i>
MK872546	<i>Eragrostis speciosa</i>
MK872521	<i>Eragrostis potamophila</i>
MT833889	<i>Eragrostis baileyi</i>
MK872406	<i>Eragrostis confusa</i>
MK872444	<i>Eragrostis cumingii</i>
MK872462	<i>Eragrostis fallax</i>
MK872473	<i>Eragrostis hirticaulis</i>
MK872408	<i>Eragrostis leporina</i>
MK872506	<i>Eragrostis nightingaleae</i>
MK872525	<i>Eragrostis pubescens</i>
MK872540	<i>Eragrostis spartinoides</i>
MK872457	<i>Eragrostis elongata</i>
MK872513	<i>Eragrostis patens</i>
MK872433	<i>Eragrostis chapelieri</i>
MK872520	<i>Eragrostis plumbea</i>
MK872531	<i>Eragrostis scaligera</i>
MK872438	<i>Eragrostis congesta</i>
MK872491	<i>Eragrostis maypurensis</i>
MK872416	<i>Eragrostis acutiflora</i>
MK872527	<i>Eragrostis refracta</i>
MK872562	<i>Eragrostis virginica</i>
MK872441	<i>Eragrostis cubensis</i>
MK872431	<i>Eragrostis canescens</i>
MK872496	<i>Eragrostis mollior</i>
MK872508	<i>Eragrostis olivacea</i>
MK872539	<i>Eragrostis setulifera</i>
MK872435	<i>Eragrostis ciliaris</i>
MK872549	<i>Eragrostis tenella</i>
MK872547	<i>Eragrostis spectabilis</i>
MK872563	<i>Eragrostis viscosa</i>
MK872498	<i>Eragrostis namaquensis</i>
MK872526	<i>Eragrostis pusilla</i>
MK872479	<i>Eragrostis japonica</i>
MK872472	<i>Eragrostis gummiflua</i>
MK872437	<i>Eragrostis confertiflora</i>
MK872558	<i>Eragrostis tenellula</i>
MK872477	<i>Eragrostis interrupta</i>

MK872518	<i>Eragrostis pilferiana</i>
MK872548	<i>Eragrostis superba</i>
MW036251	<i>Eragrostis albensis</i>
MW036250	<i>Eragrostis amurensis</i>
MW036252	<i>Eragrostis multicaulis</i>
MK872474	<i>Eragrostis homomalla</i>
MT833887	<i>Eragrostis leptocarpa</i>
MK872515	<i>Eragrostis pectinacea</i>
MT833888	<i>Eragrostis pilosa</i>
MK872528	<i>Eragrostis rotifer</i>
MK872512	<i>Eragrostis parviflora</i>
MK872561	<i>Eragrostis trachycarpa</i>
MK872536	<i>Eragrostis scotelliana</i>
MK872519	<i>Eragrostis planiculmis</i>
MK872507	<i>Eragrostis nindensis</i>
GU359781	<i>Eragrostis barrelieri</i>
GU359790	<i>Eragrostis nigricans</i>
GU359830	<i>Eragrostis tenuifolia</i>
MK872455	<i>Eragrostis echinocloidea</i>
MK872499	<i>Eragrostis neesii</i>
MK872523	<i>Eragrostis pseudobtusa</i>
MK872420	<i>Eragrostis articulata</i>
MK872418	<i>Eragrostis andicola</i>
GU359782	<i>Eragrostis lurida</i>
MK872511	<i>Eragrostis papposa</i>
MK872490	<i>Eragrostis leptostachya</i>
GU359780	<i>Eragrostis cilianensis</i>
MK872432	<i>Eragrostis chalarantha</i>
MK872426	<i>Eragrostis biflora</i>
MK872535	<i>Eragrostis scopelophila</i>
GU359824	<i>Eragrostis minor</i>
MK872428	<i>Eragrostis braunii</i>
MK872419	<i>Eragrostis angusta</i>
MK872517	<i>Eragrostis peruviana</i>
GU359829	<i>Eragrostis weberbaueri</i>
MK872534	<i>Eragrostis shweinfurthii</i>
MK872522	<i>Eragrostis prolifera</i>
MK872445	<i>Eragrostis curvula</i>
MK872469	<i>Eragrostis floccosa</i>
MK872440	<i>Eragrostis crassinervis</i>
MK872449	<i>Eragrostis cylindriflora</i>
GU359791	<i>Eragrostis lugens</i>
MK872488	<i>Eragrostis lehmanniana</i>
GU359831	<i>Eragrostis soratensis</i>
MK872421	<i>Eragrostis atropioides</i>
MK872471	<i>Eragrostis grandis</i>
MK872492	<i>Eragrostis mexicana</i>
MK872497	<i>Eragrostis monticola</i>
MK872509	<i>Eragrostis palmeri</i>
GU359792	<i>Eragrostis pastoensis</i>
GU359788	<i>Eragrostis pilgeri</i>
GU359818	<i>Eragrostis intermedia</i>
MK872484	<i>Eragrostis laniflora</i>
MK872481	<i>Eragrostis lacunaria</i>
MK872537	<i>Eragrostis setifolia</i>

MT833890	<i>Eragrostis wiseana</i>
GU359787	<i>Eragrostis desertorum</i>
GU359789	<i>Eragrostis pergracilis</i>
GU359779	<i>Eragrostis dielsii</i>
MK872482	<i>Eragrostis lanicaulis</i>
MK872468	<i>Eragrostis filicaulis</i>
MK872486	<i>Eragrostis lanipes</i>
MK872461	<i>Eragrostis falcata</i>
MK872565	<i>Eragrostis xerophila</i>
GU359785	<i>Eragrostis kennedyae</i>
MK872439	<i>Eragrostis contrerasii</i>
GU359823	<i>Eragrostis reptans</i>
MK872405	<i>Cladoraphis spinosa</i>

---

**Tabela 7.** Códigos de acesso ao NCBI das espécies utilizadas, referente ao marcador *trnL-trnF* intergenic spacer gene.

Código de acesso	Espécie
GU990390	<i>Eragrostis tenella</i>
GU990376	<i>Eragrostis ciliaris</i>
GU990404	<i>Eragrostis sessilispica</i>
GU990375	<i>Eragrostis patenti-pilosa</i>
GU990401	<i>Eragrostis paniciformis</i>
GU990402	<i>Eragrostis botryodes</i>
GU990406	<i>Eragrostis reptans</i>
GU990378	<i>Eragrostis nutans</i>
GU990388	<i>Eragrostis tremula</i>
GU990372	<i>Eragrostis secundiflora</i>
GU990383	<i>Eragrostis bahiensis</i>
HM152786	<i>Eragrostis obtusiflora</i>
GU990377	<i>Eragrostis echinochloidea</i>
DQ655874	<i>Eragrostis pseudo-obtusa</i>
GU990373	<i>Eragrostis truncata</i>
DQ655871	<i>Eragrostis obtusa</i>
DQ655880	<i>Eragrostis superba</i>
DQ655881	<i>Eragrostis capensis</i>
GU990396	<i>Eragrostis tef</i>
EF156696	<i>Eragrostis pectinacea</i>
KX372420	<i>Eragrostis multicaulis</i>
GU990397	<i>Eragrostis pilosa</i>
GU990391	<i>Eragrostis dielsii</i>
DQ172305	<i>Eragrostis weberbaueri</i>
GU990398	<i>Eragrostis lehmanniana</i>
DQ655878	<i>Eragrostis racemosa</i>
KP711154	<i>Eragrostis cilianensis</i>
GU990400	<i>Eragrostis neesii</i>
KP711157	<i>Eragrostis ferruginea</i>
GU990393	<i>Eragrostis heteromera</i>
GU990405	<i>Eragrostis airoides</i>
GU990384	<i>Eragrostis minor</i>
GU990385	<i>Eragrostis mexicana</i>
DQ655879	<i>Eragrostis biflora</i>
GU990379	<i>Eragrostis polytricha</i>
GU990387	<i>Eragrostis lugens</i>
GU990392	<i>Eragrostis intermedia</i>
GU990389	<i>Eragrostis macilenta</i>
GU990403	<i>Eragrostis uniolooides</i>
GU990394	<i>Eragrostis japonica</i>
GU990395	<i>Eragrostis papposa</i>
GU990399	<i>Eragrostis bicolor</i>
DQ655889	<i>Cladoraphis spinosa</i>