

AVALIAÇÃO DE VARIABILIDADE EM RESPOSTA AO ESTRESSE CAUSADO POR METAIS EM *POLYTRICHUM JUNIPERINUM* HEDW. NO CONTINENTE ANTÁRTICO UTILIZANDO REGIÕES ISSR

Karine Elise Janner¹; Antônio Batista Pereira²; Filipe de Carvalho Victoria³

¹UNIPAMPA-Campus São Gabriel – karinejanner@gmail.com

²UNIPAMPA-Campus São Gabriel – antoniopereira@unipampa.edu.br

³UNIPAMPA-Campus São Gabriel – filipevictoria@gmail.com

1. INTRODUÇÃO

A Antártica é um continente rico em biodiversidade, sendo o único bioma do Planeta a ter uma biota terrestre composta quase exclusivamente de organismos inferiores (OCHYRA, 2000). A Antártica é parte do sistema ambiental global, a região não apenas exporta sinais climáticos, que afetam o clima global, mas também importa sinais climáticos globais, sofrendo suas conseqüências. Impactos ambientais antrópicos que ocorrem no Planeta são refletidos na Antártica, sendo que o continente gelado responde a essas agressões de forma potencializada. O Pólo Sul do planeta já está mostrando sinais de poluição provenientes de muitas formas diferentes. Por meio do fenômeno chamado vórtice temporal onde os ventos dos Continentes levam partículas de poluição que se acumulam na neve quando há precipitação. Os metais pesados são um dos poluentes mais tóxicos a vida. Muitos metais são essenciais para o crescimento de todos os tipos de organismos, mas são requeridos em baixas concentrações. O estresse por metais produz uma vasta gama de mudanças na composição química e estrutura funcional das plantas, tais como a mudança de absorção de certos elementos e alterações na fotossíntese, resultando em modificações no fenótipo. As plantas necessitam de mecanismos para absorver do solo o ferro, em específico, e atender a demanda para o crescimento e desenvolvimento, e também evitar a toxicidade pelo excesso do metal, pois ambas as situações são responsáveis por várias disfunções nutricionais que afetam a fisiologia das plantas (PONNAMPERUMA et al. 1972, CHANEY et al. 1972). Na tentativa de se fazer a avaliação genotípica, os marcadores moleculares tornam-se uma alternativa, podendo ser utilizados como ferramenta para estudos de variabilidade genética em resposta a tratamentos visando avaliar a taxa de polimorfismo dos mesmos. O estudo aqui apresentado foi conduzido por meio dos marcadores dominantes ISSR ("inter simple sequence repeat") que, embora sejam reconhecidos como menos polimórficos, foram escolhidos porque não requerem informações prévias de seqüências de DNA da espécie-alvo, produzem fragmentos com grande reprodutibilidade, quando comparados a outros marcadores com base em PCR não específico e requerem pouca infra-estrutura em termos de equipamento de laboratório para execução dos experimentos. As espécies da família das *Polytrichaceae* Schwägr. estão amplamente distribuídas no Continente Antártico podendo ser utilizadas como ferramenta para avaliar as mudanças ambientais que ocorrem neste ecossistema, um dos mais frágeis do planeta. *Polytrichum juniperinum* desempenha um papel importante na vegetação terrestre na Antártica como constituinte essencial nas várias sub-formações de comunidades de musgo (OCHYRA, 1998).

Assim o objetivo foi avaliar o nível de variação genotípica em *Polytrichum juniperinum* Hedw., em resposta ao estresse por ferro (Fe-EDTA) sob condições de cultivo *in vitro*.

2. METODOLOGIA

O experimento foi conduzido no Laboratório de Botânica da Universidade Federal do Pampa (UNIPAMPA), *Campus* São Gabriel, Rio Grande do Sul, Brasil. Foram realizadas quatro concentrações de Ferro (Fe-EDTA) para o cultivo em meio MS e mantidos em câmara B.O.D à $\pm 25^{\circ}\text{C}$. A partir do 45º dia de cultivo, foi realizada a extração de DNA de *P. juniperinum* e posterior PCR utilizando primers ISSR, para a amplificação de inter-regiões microssatélites. A avaliação dos fragmentos amplificados foi realizado com o auxílio do programa NTSYSpc para a criação de uma matriz de similaridade e posterior árvore de agrupamento.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Control	5 ml Fe-EDTA
Test 1	0 ml Fe-EDTA
Test 2	10 ml Fe-EDTA
Test 3	50 ml Fe-EDTA

Tabela I: Diferentes concentrações de ferro utilizadas para o cultivo de *P. juniperinum* para o volume de 1 litro.

Os fragmentos de ISSR foram julgados como caracteres binários de presença ou ausência de bandas, sendo excluídos os fragmentos cuja presença era inconsistente ou que foram observados como fragmentos fracos e de pequena reprodutibilidade, em todos os tratamentos. A partir dos iniciadores ISSR selecionados foram obtidos 18 fragmentos ISSR amplificados.

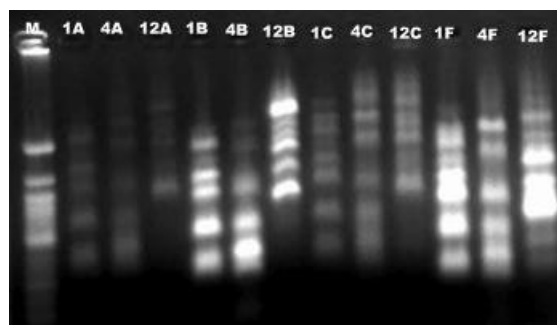


Figura I: Fragmentos amplificados utilizando 3 primers nos diferentes tratamentos. Sendo A, B, C, F, respectivamente teste 1, controle, teste 2, teste 3.

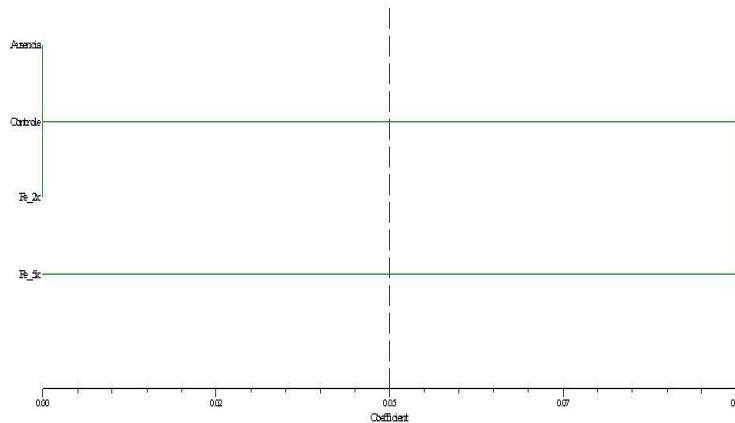


Gráfico I: Dendrograma gerado pelo programa NTSYSpc mostrando alteração na variabilidade nos fragmentos ISSR no tratamento com maior concentração de ferro.

De acordo com o dendrograma gerado a taxa de polimorfismo dos tratamentos com distintas concentrações de ferro mostrou diferenças significativas em comparação com o tratamento controle. Isso indica que a planta reagiu ao tratamento, sugerindo que em maiores concentrações deste metal, a variabilidade genotípica é alterada. Em plantas superiores os efeitos de tais alterações são minimizados com a ativação de famílias gênicas responsáveis pela homeostase de ferro. *P. juniperinum*, por representar uma linhagem basal, talvez esteja ativando mecanismos distintos para suportar concentrações elevadas de ferro minimizando os efeitos deletérios, já que na Antártica não são observadas grandes alterações morfológicas nessa planta. Segundo MEURER (2000), sintomas de toxidez por ferro ocorrem em diferentes condições de pH e de ferro ativo, verificando-se teores críticos de ferro na solução do solo que variam de 30 mgL⁻¹ até 500 mgL⁻¹, causando alteração fenotípica em plântulas de arroz e variação genotípica.

4. CONCLUSÕES

O ferro é um elemento que provoca toxicidade indireta em concentrações elevadas em plantas, alterando o fenótipo. Este estudo sugere que o marcador ISSR se mostra uma técnica útil para a avaliação rápida e fácil de variações genéticas em tratamentos com diferentes concentrações de ferro em *P. juniperinum*, sendo que a uma concentração de 50 ml de fe-EDTA em condições de cultivo *in vitro* de *P. juniperinum* ocorre alteração na variabilidade genética na planta, indicando que a espécie tem seu genoma alterado somente a concentrações elevadas de ferro. Na deficiência de ferro, *P. juniperinum* não tem seu fenótipo e variabilidade genética alterados, indicando que a planta não necessita do ferro para seu desenvolvimento.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BEDNAREK-OCHYRA, H., VÁNA, J., OCHYRA, R. & LEWIS SMITH, R.I. **The liverwort flora of Antarctica**. Polish Academy Of Sciences, Institute Of Botany, Cracow, 2000. 13v.

MEURER, E.J. **Fundamentos de química do solo**. Porto Alegre: Gênese:2000. Pp.174.

OCHYRA, R. **The moss flora of king george island antarctica**. Polish academy os sciences,W. Szafer Institute Of Botany, Cracow, 1998. 1ºEd.

PONNAMPERUMA, F.N. **The chemistry of submerged soils**. Advanced Agronomy. 1972. Pp. 24:29-96.