

Filogenia Preliminar do Gênero *Rhabdocaulon* Epling

Preliminary Phylogeny of the Gender *Rhabdocaulon* Epling

Giovanni Colussi^{a*}; Maria Eduarda Venassi^b; Gustavo Agostini^c; Marcelo Rossato^d

^aUniversidade de Caxias do Sul, Programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu* em Biotecnologia. RS. Brasil.

^bUniversidade de Caxias do Sul, Curso de Ciências Biológicas. RS. Brasil.

^cUniversidade de Caxias do Sul, Instituto de Biotecnologia. RS. Brasil.

^dUniversidade de Caxias do Sul. RS. Brasil.

*E-mail: thecolussi@gmail.com.

Resumo

O gênero *Rhabdocaulon* é um grupo de plantas aromáticas da família Lamiaceae, conhecida por ter espécies com enorme importância econômica pelo emprego de seus óleos essenciais e atividade biológica que esses possuem. Plantas dessa família vêm sendo utilizadas há muito tempo devido às características olfativas e até mesmo capacidade de exercer inibição microbiana em determinados testes com micro-organismos. Esse gênero compreende inúmeros indivíduos no decorrer do Sul da América. O estudo populacional de espécies vegetais vem sendo cada vez mais abordado, a fim de compreender melhor as interações evolutivas que determinadas espécies desenvolveram com o passar do tempo e especiações. As extrações de DNA foram executadas com método tradicional para extração de material genômico vegetal com auxílio de CTAB. Após a extração, as regiões ITS de rDNA e plastidial trnL-F foram amplificadas e sequenciadas. O trabalho visou avaliação preliminar da separação genética de algumas espécies dentro desse gênero, já que o grupo apresenta distribuição ampla na América do Sul. Com a avaliação das sequências, pode-se observar polimorfismo específico do grupo.

Palavras-chave: Filogenia Preliminar. Lamiaceae. *Rhabdocaulon*.

Abstract

The genus *Rhabdocaulon* is a group of aromatic plants of the family Lamiaceae, known for having species of enormous economic importance due to use of their essential oils and biological activity that they have. Plants of this family have been used for a long time because of their olfactory characteristics and even ability to exert microbial inhibition in certain tests with microorganisms. This genus comprises countless individuals throughout the South America. The population study of plant species has been increasingly approached in order to better understand the evolutionary interactions that certain species have developed as time goes by and speciations. The DNA extractions were performed using a traditional method for extracting plant genomic material with the aid of CTAB. After extraction, the ITS rDNA and plastid trnL-F regions were amplified and sequenced. The focus of the work was the preliminary evaluation of the genetic separation of some species within this genus, since the group has a wide distribution in South America. With the evaluation of the sequences, specific polymorphism of the group can be observed.

Keywords: Preliminary Phylogeny. Lamiaceae. *Rhabdocaulon*.

1 Introdução

A família Lamiaceae Martinov (ou Labiatae Juss., Lamiales segundo a APG IV 2016) possui 236 gêneros e cerca de 7.000 espécies, com distribuição quase cosmopolita, ausente apenas nas regiões mais frias de alta latitude ou altitude. No Brasil está representada por 46 gêneros e 518 espécies (MOTA *et al.*, 2017).

Lamiaceae compreende plantas ricas em óleos essenciais destinados às indústrias na produção de fármacos, perfumes e cosméticos, como lavanda (*Lavandula angustifolia*) e boldo-brasileiro (*Plectranthus barbatus*). Algumas espécies também são cultivadas como plantas ornamentais, por exemplo, *Salvia splendens* (GONÇALVES *et al.*, 2013).

O gênero vegetal *Rhabdocaulon* Epling (Mentheae – Menthinae), é característico (ou endêmico) do Brasil, e compreende aproximadamente sete espécies distribuídas desde Mato Grosso até o Rio Grande do Sul. Espécies da subtribo

Menthinae vêm sendo destacadas em artigos internacionais como um grupo sem suporte filogenético e extremamente mal resolvido (AGOSTINI *et al.*, 2008; MARZINEK; JIMENA, 2002).

O estudo filogenético do gênero *Rhabdocaulon* tem por objetivo testar a monofilia do gênero, bem como suas relações filogenéticas com outros gêneros fortemente relacionados, indicados em estudos prévios. Este estudo, o qual possui parceria nacional e internacional, compreende parte de um grande projeto, que visa solucionar o lado Sul Americano de Menthinae (MARZINEK; JIMENA, 2002). Até então, não existem artigos publicados, especialmente, para o gênero, tornando essencial o seu estudo. Os experimentos ocorreram entre o ano de 2011 e 2012 no Instituto de Biotecnologia de Universidade de Caxias do Sul.

2 Material e Métodos

As amostras dos materiais vegetais foram coletadas de plantio interno na Universidade de Caxias do Sul, no ano de 2012.

O protocolo de extração de DNA vegetal foi adaptado, utilizando os reagentes: tampão de extração –Tris-HCl 100 mM pH 8,0; EDTA 20 mM pH 8,0; NaCl 1,4 M; CTAB 2%; PVP 40000 1%; 2- Mercaptoetanol 0,1%. TE - Tris-HCl 10 mM pH 8.0 e EDTA 1 mM. CIA - clorofórmio: álcool isoamílico (24:1) (DOYLE; DOYLE, 1987). As condições de amplificação se deram de acordo com Hodkison *et al.* (2002).

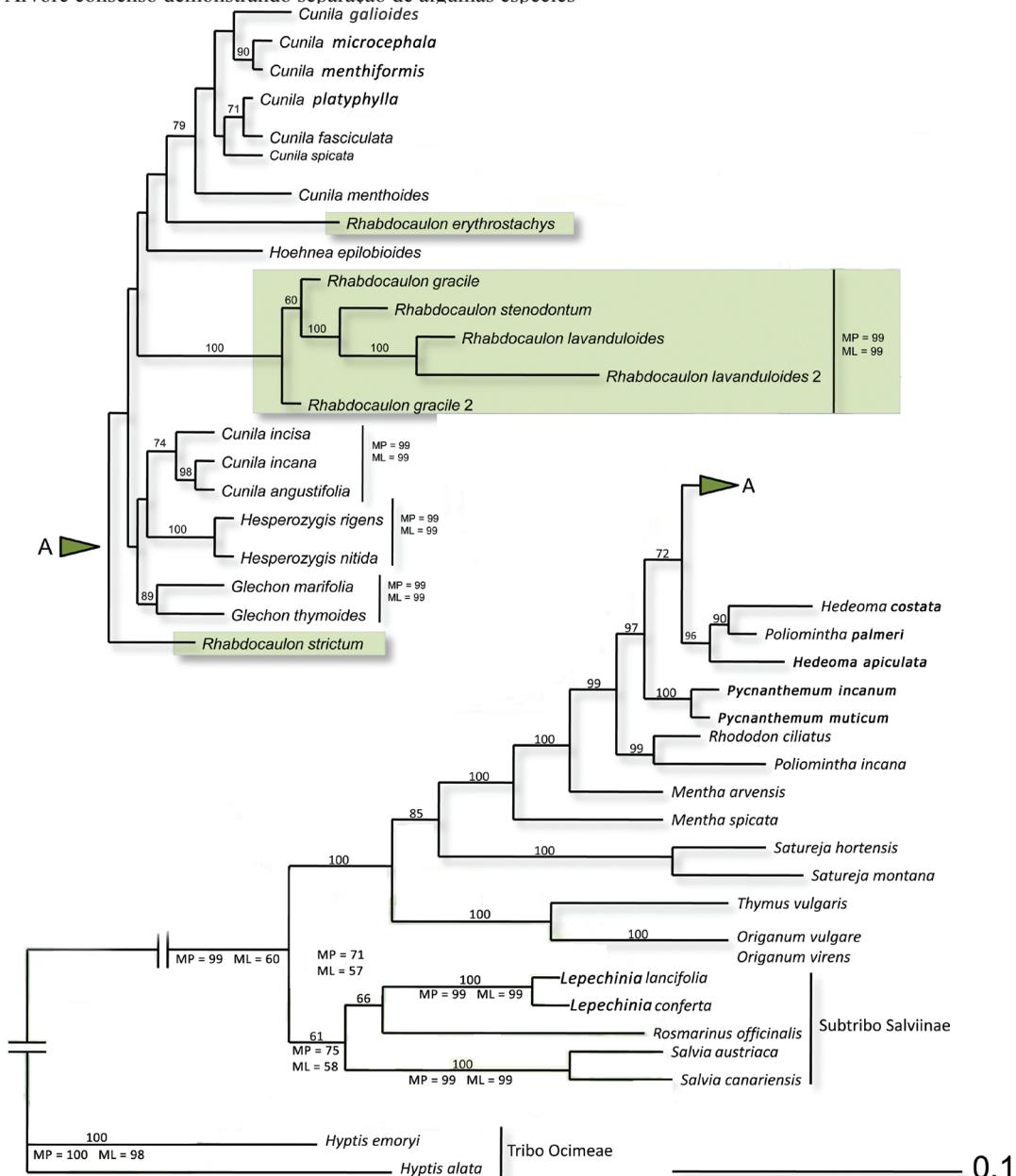
Com relação às espécies dos gêneros utilizados para a análise, todas pertencem ao banco de germoplasma do Laboratório de Óleos Essenciais da Universidade de Caxias do Sul.

Para o desenvolvimento do trabalho, as regiões nuclear ITS (1 e 2) e plastidial trnL-F foram amplificadas por PCR, sequenciadas e avaliadas concatenadamente. O alinhamento das seqüências foi realizado com o auxílio dos programas ClustalX 1.81 e BioEdit 7.0.9 e os métodos filogenéticos empregados são: máxima parcimônia, máxima verossimilhança e inferência Bayesiana, cada qual com suporte de ramos específicos. Para estimativa das relações filogenéticas, foram utilizados os programas MEGA e MrBayes com interface Windows e PAUP em Macintosh (AGOSTINI *et al.*, 2000).

3 Resultados e Discussão

As árvores consenso resultantes da avaliação pelos softwares de bioinformática, apresentam-se na Figura 1.

Figura 1 - Árvore consenso demonstrando separação de algumas espécies



Fonte: Os autores.

Visivelmente, o resultado demonstra a separação do gênero estudado, sendo que a espécie *R. strictum* ficou mais próxima à *Hedeoma* sp. *R. erythrostachys* aproximou-se de *Cunilla* sp.

Pela análise da árvore final preliminar, com pouca amostragem de vegetais, observa-se uma separação do gênero *Rhabdocaulon*, demonstrando polimorfismo e especiação.

Os resultados prévios baseados no sequenciamento de cinco espécies de *Rhabdocaulon* apontam relação muito estreita com espécies de *Cunila*, *Glechon*, *Hoehnea* e *Hesperozygis*. As espécies *R. lavanduloides*, *R. gracile*, e *R. stenodontum* apresentam-se agrupadas com alto suporte (99 a 100%), enquanto que as espécies *R. erythrostachys* e *R. strictum* se encontram dispersas no cladograma com baixo suporte, evidenciando um estado polifilético preliminar do gênero.

4 Conclusão

Com base no objetivo do estudo que era a avaliação preliminar do gênero, considera-se alcançado o objetivo do trabalho, porém se sugere continuação do projeto, com maior número de coletas para dar maior confiabilidade ao estudo.

Referências

AGOSTINI, G.; ECHEVERRIGARAY, S. Avaliação de variabilidade genética em lavandas através do uso de marcadores de *rapd*. *Horticultura Bras.*, v.18, p.185-186, 2000.

AGOSTINI, G.; ECHEVERRIGARAY, S.; SOUZA-CHIES, T.T. Genetic relationships among South American species of *Cunila* D. Royen ex L. based on ISSR. *Plant System. Evol.*, v.274, n.3/4, p.135-141, 2008.

AGOSTINI, G.; ECHEVERRIGARAY, S.; SOUZA-CHIES, T.T. A preliminary phylogeny of the genus *Cunila* D. Royen ex L. (Lamiaceae) based on ITS rDNA and trnL-F regions. *Mol. Phylogenet. Evol.*, v.65, n.2, p.739-747, 2012. doi: 10.1016/j.ympev.2012.07.030.

DOYLE, J.J.; DOYLE, J.L.; HORTORIUM, L.H.B. Isolation of plant DNA from fresh tissue. *Focus*, v.12, n.1, p.13-15, 1987.

GONÇALVES, J.S. et al. A família lamiaceae no complexo de serras da bocaina e de carrancas, minas gerais. In: CONGRESSO NACIONAL DE BOTÂNICA, 65., 2013, Belo Horizonte. *Anais...* Belo Horizonte, 2013.

HODKISON, T.R. et al. The use of DNA sequencing (ITS and trnL-F), AFLP, and fluorescent in situ hybridization to study allopolyploid *Miscanthus* (Poaceae). *Am. J. Bot.*, v.89, n.2, p.279-286, 2002.

MARZINEK, J; JIMENA, E. S. Os Gêneros *Glechon* SPRENG. *Hesperozygis* EPLING e *Rhabdocaulon* (BENTH.) EPLING (Lamiaceae) no Estado do Paraná. Curitiba [s.e], 2002.

MOTA, M.C.A. et al. Lamiaceae in the Serra Negra, Minas Gerais, Brazil. *Rodriguésia*, v.68, n.1, p.143-157, 2017. doi: <http://dx.doi.org/10.1590/2175-7860201768123>.