

**Ferramentas moleculares no melhoramento genético de *Megathyrus maximus* para o semiárido: uma revisão**

**Molecular tools in genetic breeding of *Megathyrus maximus* for semiarid region: a review**

**Herramientas moleculares en el mejoramiento genético de *Megathyrus maximus* para el semiárido: una revisión**

Recebido: 22/09/2020 | Revisado: 27/09/2020 | Aceito: 17/10/2020 | Publicado: 18/10/2020

**Antonieta Alexandrina de Jesus**

ORCID: <https://orcid.org/0000-001-7562-0405>

Universidade Federal do Piauí, Brasil

E-mail: [antonieta.jesus@ufpi.edu.br](mailto:antonieta.jesus@ufpi.edu.br)

**Luíce Gomes Bueno**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5395-4455>

Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária Caprinos e Ovinos, Brasil

E-mail: [luice.bueno@embrapa.br](mailto:luice.bueno@embrapa.br)

**Wilder Hernando Ortiz Vega**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9742-4501>

Universidade Estadual Vale do Acaraú, Brasil

E-mail: [wilortvet@yahoo.es](mailto:wilortvet@yahoo.es)

**Fábio Mendonça Diniz**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0867-3552>

Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária Caprinos e Ovinos, Brasil

E-mail: [fabio.diniz@embrapa.br](mailto:fabio.diniz@embrapa.br)

**Resumo**

A necessidade de ter alimentos à disposição do rebanho, ao longo do ano, gera esforços para desenvolver métodos e técnicas para adaptar forrageiras tropicais a regiões com déficit hídrico. Nessa perspectiva, o objetivo desta investigação foi realizar uma revisão de literatura sobre gramíneas forrageiras da espécie *Megathyrus maximus* e ferramentas moleculares para seu melhoramento, tendo em vista a capacidade de adaptação da espécie ao ambiente semiárido brasileiro. Para tanto, obtiveram-se informações por meio de publicações em base

de dados nacionais e internacionais, base de dados de patrimônio intelectual e agências detentoras de proteção de cultivar. Os resultados alcançados foram favoráveis, quanto às características, ao potencial produtivo e à capacidade de resiliência das forrageiras do gênero *Megathyrsus*. Sugerem-se estudos no sentido de selecionar espécies com potencial de alta tolerância ao déficit hídrico, por meio da adaptação, persistência e elevada produção de massa, auxiliado por marcadores moleculares para complementar e otimizar as informações agronômicas que levam em consideração a relação clima-solo-planta.

**Palavras-chave:** Forrageiras tropicais; Marcadores moleculares; Semiárido; *Panicum maximum*.

### **Abstract**

The need to have food available to the herd, throughout the year, generates efforts to develop methods and techniques to adapt tropical forages to regions with water deficit. In this perspective, the objective of this research was to carry out a literature review on forage grasses of the species *Megathyrsus maximus* and molecular tools for its improvement, in view of the adaptation capacity of the species to the Brazilian semiarid environment. To this end, information was obtained through publications in national and international databases, intellectual property databases and agencies with cultivar protection. The results achieved were favorable, in terms of characteristics, productive potential and resilience of forages of the genus *Megathyrsus*. Studies are suggested in order to select a species with a high tolerance potential to water deficit, through adaptation, persistence and high mass production, aided by molecular markers to complement and optimize the agronomic information that takes into account the climate-soil-plant relationship.

**Keywords:** Tropical forage; semiarid; molecular markers; *Panicum maximum*.

### **Resumen**

La necesidad de tener alimentos disponibles para el rebaño, durante todo el año, genera esfuerzos para desarrollar métodos y técnicas para adaptar los forrajes tropicales a regiones con déficit hídrico. En esa perspectiva, el objetivo de esta investigación fue realizar una revisión de literatura sobre gramíneas forrajeras de la especie *Megathyrsus Maximus* y herramientas moleculares para su mejora, teniendo en cuenta la capacidad de adaptación de la especie al ambiente semiárido brasileño. Para ello, se obtuvo información a través de publicaciones en bases de datos nacionales e internacionales, bases de datos de propiedad intelectual y agencias con protección de cultivares. Los resultados obtenidos fueron favorables, en cuanto a características, potencial produtivo y resiliencia de las forrajeras del

género *Megathyrus*. Se sugieren estudios para seleccionar especies con alto potencial de tolerancia al déficit hídrico, a través de la adaptación, persistencia y alta producción en masa, con la ayuda de marcadores moleculares para complementar y optimizar la información agronómica que toma en cuenta la relación clima-suelo-planta.

**Palabras clave:** Forraje tropical; semiárido; marcadores moleculares; *Panicum maximum*.

## 1. Introdução

O Brasil possui o maior rebanho comercial criado a pasto, por ser dotado de características climáticas e extensão territorial favoráveis à pecuária, embora em toda a sua extensão não ocorram as mesmas condições. Tendo isso em vista, planejam-se estratégias para amenizar os efeitos negativos de chuvas irregulares em região semiárida. Sabendo da necessidade expressiva de alimentos nestas regiões, o melhoramento de plantas tem papel essencial na identificação e recomendação de genótipos adaptados às condições edafoclimáticas para reduzir esse impacto negativo, diminuindo a desigualdade produtiva de forma eficiente.

O melhoramento de forrageiras, assim como o melhoramento de grandes culturas, tem dentre os principais objetivos o aumento da produtividade e da qualidade (biomassa e/ou sementes), a adaptação a estresses edáficos e climáticos, a resistência a pragas e doenças, o uso eficiente de fertilizantes (Valle et al., 2008). Valle et al. (2009) acrescentam que para as forrageiras existe ainda o adicional da utilização animal, em que o potencial da cultura é mensurado de forma indireta, ou seja, quando convertido em proteína e produtos animais de alto valor agregado (carne, leite, couro e peles).

No entanto, muitos programas de melhoramento de plantas em países desenvolvidos e em desenvolvimento lutam para acompanhar as mudanças tecnológicas (Baranski, 2015). Não obstante, estão aquém os resultados que atendam à maioria dos agricultores em desenvolvimento e aos pequenos agricultores, diante das diversas condições enfrentadas (Lopes et al., 2012; Masuka et al., 2017).

Em face das dificuldades, optar por rebanho criado a pasto é fundamental para minimizar custos de produção. No semiárido nordestino, o criatório de pequenos ruminantes é uma das mais importantes atividades econômicas, onde o suprimento de forragens é restrito devido à sazonalidade do período chuvoso e às secas periódicas que ocorrem na região (Araújo & Silva, 2000).

Entende-se por forrageiras plantas consumidas por herbívoros, variando de herbáceas até arbustivas, usadas para a formação de pastagens, produção de forragem, adubação verde e biomassa para biocombustíveis (Silva & Gameiro, 2005; Gonzalez-Herandez et al., 2009).

Embora as plantas forrageiras nativas da região estejam adaptadas às condições edafoclimáticas, tornam-se indisponíveis para os animais no período de estiagem. Em virtude dessa condição, para maximizar a produção de forragem, é necessário adaptar outras gramíneas forrageiras exóticas ao ambiente, com vistas a suprir a demanda alimentícia.

Neste contexto, avaliações de cultivares e acessos do gênero *Megathyrsus* na região semiárida têm apresentado resultados favoráveis (Nascimento et al. 2002; Lopes et al. 2013), incluindo-se caracteres como densidade populacional de perfilhos, produção de biomassa no período seco com elevada tolerância ao déficit hídrico (Bueno et al., 2019).

Dessa forma, o desenvolvimento e utilização de cultivares adaptadas desse gênero no semiárido certamente contribuiria para o aumento da produtividade animal. O melhoramento genético de plantas integra processos, métodos e técnicas que podem envolver a biotecnologia para obter dados moleculares a fim de complementar as informações morfoagronômicas e estreitar a relação planta-ambiente, por meio de características selecionadas nos genótipos e identificação de perfis genéticos, por exemplo.

Com efeito, pode-se dizer que os marcadores moleculares se apresentam como ferramentas de alto potencial na geração de informações úteis nas mais diferentes etapas em um programa de melhoramento genético, por serem altamente polimórficos, de rápida identificação, e sua expressão ser independente das condições ambientais, além de permitirem acessar o genótipo, a variabilidade do DNA nas plantas e associar à genes de maior efeito (Ramalho et al., 2012).

Por definição, um marcador de DNA é uma pequena região da sequência de nucleotídeos que mostra polimorfismo (deleção, inserção, duplicação e translocação de mutações) em diferentes indivíduos (Jiang, 2013; Nadeem et al., 2018).

Isso posto, o objetivo deste trabalho foi realizar uma revisão bibliográfica sobre gramíneas forrageiras tropicais com foco para a espécie *Megathyrsus maximus* e sua capacidade de adaptação ao ambiente semiárido e uso de tecnologias emergentes para o melhoramento genético da espécie.

## 2. Metodologia

A atual pesquisa é uma revisão bibliográfica sobre gramíneas da espécie *Megathyrsus maximus* e ferramentas moleculares para seu melhoramento. O estudo possui natureza

qualitativa, como ainda não está totalmente elucidado sobre adaptação do *Megathyrus maximus* nas regiões semiárida e as ferramentas biotecnológicas específicas para auxiliar no seu melhoramento, optou-se por utilizar o método hipotético-dedutivo (Pereira et al., 2018).

Dessa forma, as informações coletadas estão disponíveis em bases de dados – e referem-se a trabalhos publicados no Brasil e exterior – e em bases de propriedade intelectual, a exemplo da Organização Mundial da Propriedade Intelectual – *World Intellectual Property Organization* (WIPO), do Escritório Europeu de Patentes – *European Patent Office* (ESPACENET), do Escritório de Marcas e Patentes dos Estados Unidos – *United States Patent and Trademark Office* (USPTO) e do Instituto Nacional de Propriedade Intelectual (INPI).

Outrossim, são provenientes de cultivares registradas nos bancos de dados do Serviço de Proteção de Cultivares (SNPC) – órgão do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) que tem a competência para a concessão de proteção de uma cultivar no Brasil; do banco The International Union for the Protection of New Varieties of Plants (UPOV), instituição responsável pela proteção de variedades de plantas, em âmbito internacional.

A seleção de patentes baseia-se nos seguintes critérios de inclusão: patentes publicadas contendo os seguintes termos, como palavras-chave no título ou no resumo, sem restrição de ano de publicação: *primer*; *Megathyrus maximus* e *Panicum maximum* (Jacq.). Tais descritores foram pesquisados em português, nas bases de dados do Brasil, e em inglês nas demais bases.

### 3. Revisão de Literatura

As gramíneas da espécie *Megathyrus maximus* (syn *Panicum maximum*), presentes no Brasil, são nativas da África Tropical. Em 1781 o botânico holandês Nikolaus Joseph Freiherr von Jacquin descreveu a espécie no livro *Icones Plantarum Rariorum* de sua autoria.

Seu *habitat* é diversificado, encontrado em áreas de elevadas altitudes, regiões desmatadas, em pastagem com pouco sombreamento, e em margens de florestas (Jank, 1995). O gênero *Megathyrus* pertence à ordem Poales, família Poaceae, e conta com duas espécies (GBIF, 2019), sendo o *Megathyrus maximus* (Jacq.) B. K. Simon & S.W.L. Jacobs, o mais difundido nos trópicos brasileiros, conhecido por sinônimo homótipo *Panicum maximum* jacq.

A Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA), em particular, a unidade Embrapa Gado de Corte, em Campo Grande – MS, possui em seu banco de

germoplasma 426 acessos apomíticos e 417 plantas sexuais para trabalhar o melhoramento dessa espécie (Jank et al., 2008), sendo tais acessos obtidos por concessão junto à instituição de pesquisa internacional, no ano de 1982.

No Brasil, a relevância econômica da espécie *M. maximus* é registrada pelo aumento produtivo no agronegócio. O país, além de grande consumidor, é o maior produtor e exportador de sementes forrageiras tropicais do mundo (Pandolfi et al., 2016). No ano de 2018, o envio de sementes foi de 9.467 mil toneladas, com movimentação anual de um montante de US\$ 46,685 milhões (Abrasem, 2019). Essa valoração ocorre por priorizar o uso de material forrageiro registrado que tenha sido desenvolvido em programas de melhoramento genético, ao invés de materiais “comuns” (Amabile et al., 2018).

No ano de 2018, segundo relatório anual da Associação Brasileira das Indústrias da Alimentação (ABIA) (2019), o Brasil manteve-se como maior produtor mundial de carne e segundo maior exportador. Atualmente, a área de pastagem plantada no Brasil corresponde a 19,97% do território nacional (Laboratório de Processamento de Imagem e Geoprocessamento [LAPIG], 2019).

Os sistemas de produção estão mais intensivos, demandando cultivares forrageiras mais produtivas, de boa qualidade, adaptáveis a ambientes específicos (Pereira, Rezende & Ruiz, 2005). Resultados recentes têm afirmado que as características morfogênicas e estruturais apresentam contrastes nas morfofisiológicas e agronômicas ligadas ao fator adaptabilidade, mesmo com uma boa resposta fisiológica há quedas nos rendimentos de produção de matéria seca (Souza et al., 2020). Com isso, Gomes et al. (2020) enfatiza a necessidade de identificar variedades que apresentem boas características e melhor desempenho agronômico para região ínsito.

A Confederação da Agricultura e Pecuária do Brasil (CNA) relata em seu panorama agro, que o Brasil será o grande fornecedor de alimentos do futuro, devido ao crescimento da produção agropecuária brasileira desde os últimos 40 anos (CNA, 2019).

Alcançou-se essa evolução por meio de uma agricultura adaptada às regiões tropicais e produtores rurais conscientes de suas responsabilidades com o meio ambiente. A boa qualidade de forragem e adaptabilidade ecológica remetem à importância do uso de gramíneas tropicais no agronegócio pecuário brasileiro (Novo et al., 2016).

De acordo com a Organização das Nações Unidas (ONU), a população mundial de 7.5 bilhões de pessoas chegará a 9.7 bilhões, em 2050. No âmbito alimentício, a atual oferta de comida é considerada suficiente para o planeta, porém mal distribuída: mais de 800 milhões

de pessoas passam fome no mundo, segundo dados da Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação (FAO) (ABIA, 2019).

### 3.1 Caracterização de forrageira tropical

A caracterização morfoagronômica é uma avaliação de conhecimento intrínseco a ser realizada após o germoplasma, acesso ou cultivar ser adicionado a uma coleção. Essa avaliação é necessária para se gerar informações sobre as características morfológicas, fisiológicas, agronômicas, bem como sobre a tolerância a estresses e outros atributos importantes (Karia, 2008). Trata-se de um processo longo e promissor para todo material vegetal, a fim de determinar a variabilidade genética de germoplasma incluindo-se dados qualitativos e quantitativos que permitam descrever e diferenciar os acessos de uma mesma espécie ou de espécies diferentes.

A avaliação de caracterização representa a descrição de caracteres que geralmente são visualizados e expressos em ambientes diversos, ou seja, são as características herdadas ou adquiridas ao longo do tempo. Quando se deseja introduzir uma cultivar de determinada área aonde ela ainda não foi implantada, indica-se o teste da performance agronômica (Destro & Montalban, 1999).

Para a caracterização dos acessos, vale ressaltar a importância dos descritores a serem avaliados, pois se trata de uma ferramenta indispensável para um programa de melhoramento genético, podem conter dados morfológicos (anatomia da planta, folhas, flores etc.), agronômicos (ciclo de maturação, produtividade etc.), genéticos (citológicos, DNA etc.) e físico-químicos (aroma, sabor, acidez etc.) (Velga et al., 2012).

No tocante às caracterizações morfoagronômicas, possuem estabilidade e suas descrições devem ser de fácil mensuração, com quantidades relevantes e sem exageros para não tornar laborioso (Valls, 2007). Contudo, apesar de serem de fácil acessibilidade, podem apresentar limitações, sendo necessária a utilização de técnicas mais elaboradas associadas a estas, com potencial para visualizar a variabilidade genética, como por exemplo, para a identificação de genes de qualidade em potencial ou alelos atípicos (Vieira et al., 2013).

Toda via, a caracterização genética está evoluindo e tornando-se viável pela rapidez na obtenção de resultados, devido ao uso de marcadores moleculares. Logo, corresponde a uma ferramenta útil para estudos de diversidade genética e para a conservação de germoplasma, por possuir características de estabilidade e neutralidade, e gerar informações valiosas aos

melhoristas, com vistas à identificação e discriminação de genótipos, podendo acelerar o processo de lançamento de novas cultivares no mercado (Ferreira, 2007).

Dentre as cultivares lançadas no Brasil a partir do gênero *Megathyrsus*, elencam-se: Tanzânia, lançada em 1990; Mombaça, lançada em 1993; Massai, lançada em 2001; BRS Zuri, lançada em 2014; BRS Tamani, lançada em 2015; BRS Quênia, lançada em 2017; Milênio, não lançada - registrada em 1999 (EMBRAPA, 2020).

Ao todo, são 22 cultivares registradas no Brasil e uma internacional, como capim guiné (UPOV, 2020). Registraram-se as primeiras cultivares no ano de 1999, dezessete anos após a concessão dos acessos da espécie (SNPC, 2020).

### **3.2 Forrageira tropical: importância da adaptação para a pecuária no semiárido**

A seleção de forrageiras tropicais para uma determinada região, tem início a partir da variabilidade natural nas coleções de plantas, aliando-se a busca por adaptação com a capacidade de produção de massa verde, valor nutritivo satisfatório e adaptação às diferentes condições de cultivo.

O desenvolvimento de novas cultivares forrageiras que incluam características tais como plantas mais competitivas, com maior resistência a pragas e doenças, adaptação às condições edafoclimáticas específicas de cada região, assume papel indubitável para a pecuária no ambiente semiárido, tendo em vista o aumento da produtividade dos rebanhos, a recuperação e a diversificação das pastagens (Martuscello et al., 2007).

O termo semiárido envolve uma referência climática. Uma característica marcante do ecossistema dessa região é a pluviosidade irregular, cujos períodos de chuva se restringem a três ou quatro meses durante o ano, com alta incidência solar e de temperatura, afetando o solo da região, como resultado da ação do clima. O semiárido compreende uma área que abrange 86,48% dos estados do Nordeste brasileiro, onde predomina a agricultura de sequeiro, designada como aquela que não usa a tecnologia de irrigação (Teixeira, 2016).

O grande desafio para a produção de ruminantes em ambiente semiárido é garantir que a forragem esteja disponível durante o período seco (Cavalcante et al., 2014). A criação de animais nessa região requer a produção de alimentos para o rebanho e observou-se por um longo período que a base sustentáculo da alimentação é a vegetação nativa da caatinga como forma única, a qual já não suporta a demanda.

O lançamento de novas cultivares no mercado tem demonstrado ganhos expressivos de produtividade, no entanto, a maioria das forrageiras lançadas tem como ecossistema principal

o Brasil Central, tanto para avaliação quanto para utilização, ficando o Nordeste com poucas opções para recomendação (Sousa & Mastucello, 2018). Para minimizar esta ocorrência, aumentos significativos da produção animal no Nordeste podem ser obtidos por atuação da pesquisa na avaliação e seleção de plantas forrageiras adaptadas, para uso racional em combinação com a pastagem nativa (Freitas et al., 2012).

Apesar dos avanços, de forma geral, ainda se concebe uma baixa produtividade animal nos sistemas de produção dos estados do Nordeste, talvez por não adotarem tecnologias de alto nível. Isso ocorre devido ao baixo volume de informações geradas para atender às necessidades específicas das diferentes regiões (Ferrazza et al., 2015).

O estabelecimento de forrageira exótica em um ambiente específico relaciona-se à persistência, capacidade de rebrota e interação do potencial genético ao ambiente. O fator genético relacionado à adaptação é de suma importância para o sucesso de utilização de uma forrageira em novo ambiente, no entanto, o adequado manejo inicial pode favorecer a perenidade do pasto, minimizando perdas e elevando a eficiência de uso da forragem produzida (Vilela, 2019).

Para a produção expressiva em longo prazo e maior produção animal com sustentabilidade, os resultados são obtidos por meio do melhoramento genético de plantas forrageiras ou provocadas por meio de uma mudança parcial no ambiente, mediante adubação, irrigação etc. Por implicações técnicas e econômicas, o melhoramento torna-se a melhor opção (Araújo et al., 2008), pois que leva em consideração todo o complexo de interações solo-planta-animal-clima (Valle et al., 2008).

### **3.3 Uso da biotecnologia no melhoramento de forrageiras tropicais**

Biotecnologia é qualquer técnica desenvolvida nas diferentes áreas da biologia que utilize organismos vivos ou parte deles para fazer ou modificar produtos, melhorar plantas ou animais, ou desenvolver microrganismos para uso específico (ONU, 1992).

O melhoramento de forragens no Brasil é uma atividade recente, quando comparada à cultura das graníferas (Pereira et al., 2001; Valle et al., 2009), especialmente no que diz respeito à utilização de sementes certificadas ou cultivares registradas e mais adequadas à área de produção (Valle et al., 2008).

O *Megathyrus maximus* é uma espécie que se propaga por semente, reproduz-se por apomixia, ou seja, a semente produzida é geneticamente idêntica à planta mãe. Segundo, Savidan (1982), a apomixia é uma aposporia (não redução) seguida de partenogênese (não

fecundação). Existem também tipos sexuais encontrados na natureza, cuja variabilidade é resultante do cruzamento entre as formas reprodutivas. A divergência genética é oportuna para o melhoramento, porquanto diminui a vulnerabilidade da cultura à doenças e acelera o progresso genético para determinados caracteres (Cui et al., 2001). Quanto maior a divergência entre os genitores, maior a variabilidade resultante na população segregante, e maior a probabilidade de reagrupar os alelos em novas combinações favoráveis.

Dentre a diversidade de técnicas biotecnológicas úteis ao melhoramento de plantas, quatro têm destaque, a saber: cultura de células; fusão de protoplastos; transgenia; e o melhoramento assistido por marcadores moleculares (Bered et al., 1997).

A cultura de células/tecidos vegetais *in vitro* é uma ferramenta eficaz para a produção em larga escala de biomassa vegetal (Souza et al., 2018). Essa técnica permite que espécies comerciais órfãs sejam incentivadas à pesquisa pelas indústrias, com a finalidade de desenvolver produtos com excelente qualidade genética em curto espaço de tempo, com o intuito de eliminar doenças (Morais et al., 2012), aumentar a produção sustentável de produtos madeireiros e não-madeireiros (Souza et al., 2018), incluindo caracterização genética, manipulação e melhoramento de espécies.

Os protoplastos são caracterizados como células desprovidas de parede celular, situação em que a célula sofre processo mecânico ou enzimático. Resultados positivos mostram que a fusão de protoplastos colabora no melhoramento genético de diversas culturas economicamente importantes (Davey et al., 2005). A hibridação somática via fusão de protoplastos é uma técnica que permite a modificação de células vegetais mediante fusões nucleares ou citoplasmáticas (Carvalho et al., 2007).

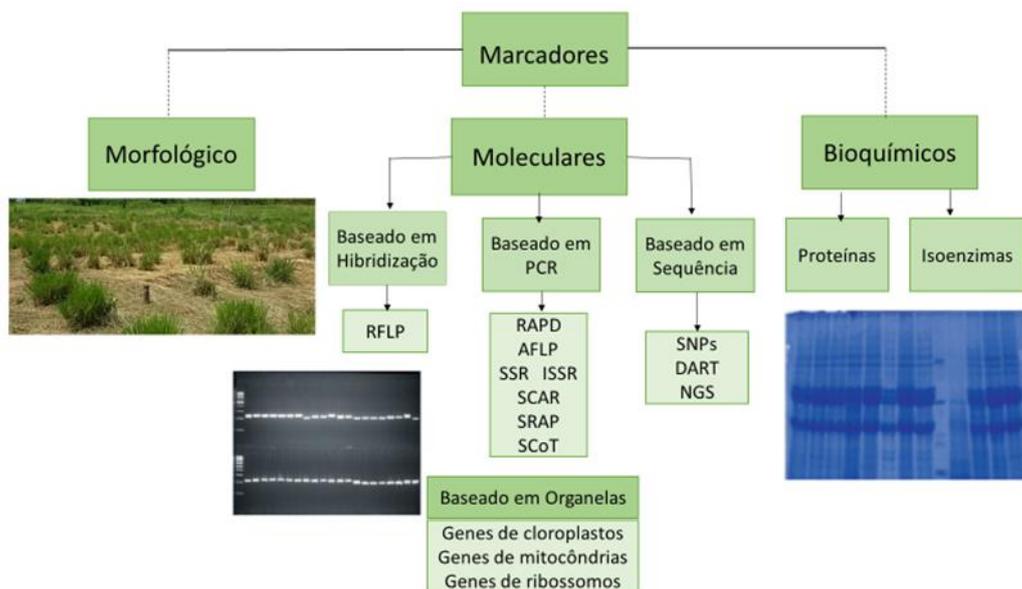
A transformação genética ocorre sem a necessidade de fecundação ou de cruzamento, mas a partir da transferência de um ou vários genes em um organismo. Os organismos transformados geneticamente recebem o nome de *transgênicos*, e os genes inseridos são denominados de *transgenes*. Esses organismos também são chamados de Organismos Geneticamente Modificados (OGMs). Isso posto, atina-se que plantas transgênicas são vegetais transformados geneticamente (Despalhok et al., 1999).

A detecção de medidas mais precisas de variabilidade genética existente entre os acessos e dentro destes, assim como as diferenças entre indivíduos em nível de DNA, é possível por meio de técnicas de Genética Molecular baseadas em marcadores moleculares (Brondani & Brondani, 2004), que conta com um grande potencial de aplicação direta em programas de melhoramento, que vão desde a ação precisa na seleção, avaliação e

gerenciamento da diversidade, até ações que proporcionem a identificação molecular para a proteção da cultivar melhorada e o intercâmbio de germoplasma (Chandra et al., 2010).

De maneira geral, os marcadores genéticos utilizados em plantas podem ser de duas categorias: clássicos, que incluem os morfológicos, citológicos e bioquímicos; e os de DNA (Nadeem et al., 2018), desenvolvidos com base em diferentes técnicas ou métodos de detecção de polimorfismo (*Southern blotting* – hibridação, PCR – reação em cadeia da polimerase e sequenciamento de DNA) (Collard et al., 2005), como por exemplo *Restriction Fragment Length Polymorphism* (RFLP), *Amplified Fragment Length Polymorphism* (AFLPs), *Random Amplified Polymorphic DNA* (RAPD), microssatélites ou *Single Sequence Repeat* (SSR), *Single Nucleotide Polymorphism* (SNP), etc. Embora alguns autores também agrupem os marcadores bioquímicos como marcadores moleculares, estes são mais comumente referidos em um grupo a parte de marcadores (Jiang, 2013), como ilustrado na Figura 1).

Figura 1. Visão geral sistemática dos marcadores genéticos.



Fonte: adaptado de Dar et al. (2019).

A Figura 1 elenca os diversos marcadores existentes indicando as técnicas de uso, organelas com genes específicos de interesse na produção de *primers* para diversos estudos para fins de produção de ferramentas moleculares.

Os marcadores morfológicos tornaram-se obsoletos, uma vez que sofrem variação em relação ao efeito do ambiente e às diferenças genéticas. Marcadores bioquímicos são

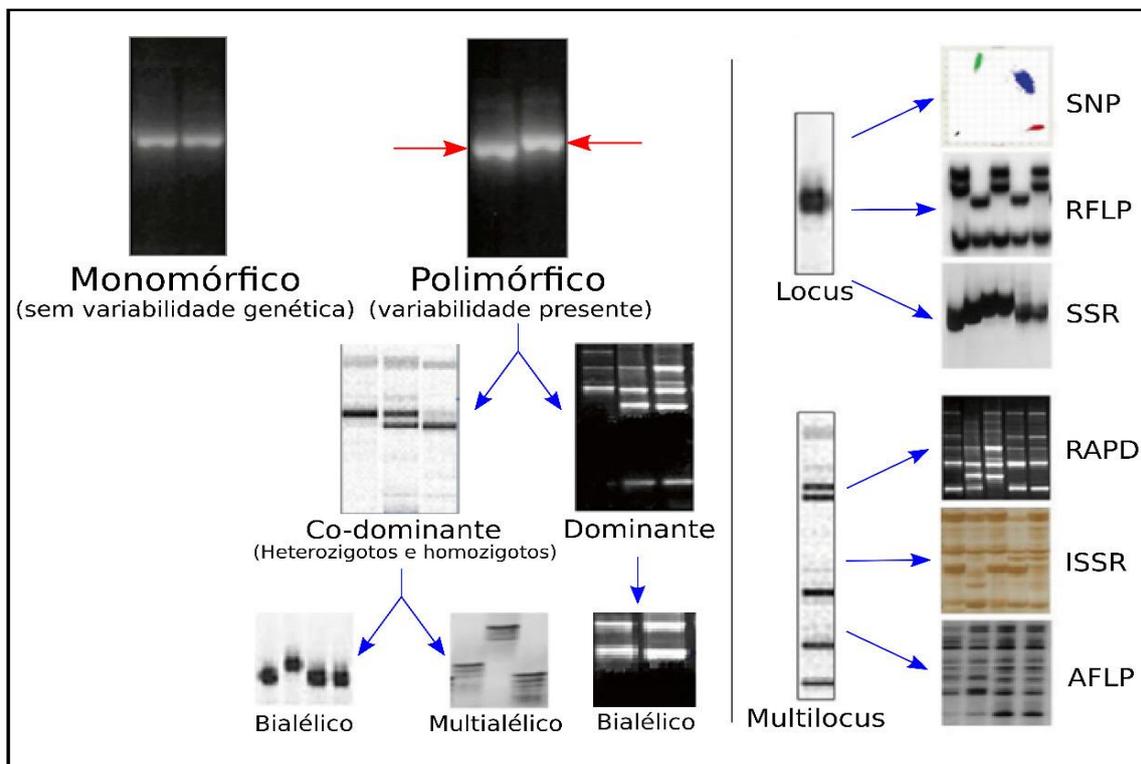
aplicados com sucesso na detecção de diversidade genética, estrutura populacional, fluxo gênico e subdivisão populacional (Mateu-Andres et al., 2005). Porém, são menos numerosos, detectam menos polimorfismo, e são afetados por metodologias de extração do tecido vegetal (Mondini et al., 2009).

Devido aos avanços das técnicas de Genética Molecular, com a descoberta da PCR, por Mullis e Falona (1987), possibilitaram o surgimento de uma nova geração de marcadores moleculares: os baseados em sequências de DNA.

Os marcadores de DNA foram, inicialmente, utilizados no melhoramento de plantas, no início da década de 1980. Eles são aplicados em análises de diversidade genética, construção de mapas genéticos, mapeamento, clonagem de gene, seleção assistida por marcadores, identificando regiões de interesse agrônômico (Li et al., 2013).

Um marcador de DNA ideal deve ser co-dominante, distribuído uniformemente pelo genoma, altamente reprodutível e com potencial para detectar um nível mais alto de polimorfismo (Mondini et al., 2009), como mostra a Figura 2.

Figura 2. Propriedades dos diferentes marcadores de DNA.



Fonte: Adaptado a partir de Hasan (2019).

Os marcadores moleculares são classificados por Semagn et al. (2006) em três grupos básicos, de acordo com: o modo de ação gênica (marcadores co-dominantes ou dominantes);

o método de detecção por hibridização (e.g. RFLP ou AFLPs); o modo de transmissão (herança de organela paterna ou materna, herança nuclear bi-parental ou herança nuclear materna) baseado na variação entre sequências e utilização de chips de DNA (SNP).

Com essas novas tecnologias, pode-se inferir que os marcadores baseados em hibridação são menos confiáveis e menos polimórficos. No entanto, diferentes tipos de marcadores moleculares de DNA são desenvolvidos e aplicados com sucesso em genética e atividades de melhoramento em várias culturas agrícolas.

O primeiro passo para a utilização de ferramentas moleculares é identificar marcadores específicos para a espécie, e se existe em grande quantidade. Por volta do ano de 2007, foi possível ter o primeiro marcador para a espécie *M. maximus* para avaliar a diversidade genética (vide Tabela 1).

Devido à pouca disponibilidade de marcadores moleculares específicos para forrageiras tropicais, os trabalhos realizados para essa espécie foram realizados com marcadores que podem ser aplicados a qualquer espécie, os tipos dominantes Isoenzimas, RAPD, RFLP, AFLP, entre outros.

Tabela 1. Marcadores moleculares específicos para *Megathyrus maximus*,\*marcadores associados à apomixia.

Tipos de marcadores	Número de marcadores	Análise realizadas	Referências
SSR	86	Transferibilidade / diversidade genética	Sousa et al. (2011)
SSR	8	Diversidade genética	Ebina et al. (2007)
EST-SSR	5		
EST-SSR	5035	Transcriptoma foliar via RNA-seq	Toledo Silva et al. (2013)
SNP	346456		
SSR	15	Transferibilidade /diversidade genética	Chandra e Tiwari (2010)
EST-SSR	12	Mapa genético	Toledo Silva (2014)
SSR	122		
SNP	147	Mapa genético	Rabello (2017)
SNP	476904	Seleção genômica	Lara (2017)
AFLP	9	Mapa genético	Ebina et al. (2005)*
<b>RAPDs</b>	<b>2</b>	<b>Bulk e análise de ligação</b>	<b>Bluma-Marques et al. (2014)*</b>

Fonte: adaptado de Azevedo et al. (2019).

Marcadores do tipo RAPD foram utilizados por Almeida et al. (2011) para estimar a diversidade genética de espécie de forrageiras topicais dos gêneros *Megathyrus* e *Urochloa*

(syn. *Brachiaria*). Avaliando-se 22 genótipos de acessos e híbridos, os genótipos estudados apresentaram divergência molecular, enquanto os marcadores usados mostraram que podem auxiliar na identificação de cada genótipo. Ademais, houve diferença no grau de similaridade genética entre e dentro das quatro espécies estudadas. Logo, esses dados podem orientar os melhoristas na busca de informações para o melhoramento das espécies.

As vantagens do uso da técnica de RAPD estão na simplicidade de uso, na rapidez de coleta de dados, e no custo reduzido, entre outros. Por sua vez, marcadores moleculares baseados no DNA permitem que o polimorfismo seja visualizado sem a interferência do ambiente. No entanto, o baixo volume de informações por loco, por detectar apenas um alelo por fragmento amplificado, é uma das desvantagens.

Em estudo realizado por Shahabzadeh et al. (2020), os autores avaliaram a diversidade genética e a estrutura populacional de 90 populações de gramíneas da família Poaceae, Festuca-alta e cultivares, usando marcadores ISSRs (Inter Simple Sequence Repeats) e EST-SSRs (microssatélites desenhados a partir das sequências EST - Expressed Sequence Tags) para programas de melhoramento na construção da coleção de Festuca-alta no Irã. Alcançaram os seguintes resultados: dez pares de iniciadores EST-SSR amplificaram 92 alelos, com variação de 4 a 13 alelos por loco; 90,6% eram polimórficos, com uma média de 8,4 bandas polimórficas por primer (pares de nucleotídeos sintéticos de fita simples, com a função de iniciar a síntese de um segmento de DNA-alvo). Os 39 primers ISSR variaram de 6 a 14 alelo por loco; 86,6% eram polimórficas, com uma média de 8,6 bandas polimórficas por primer, resultando na classificação da população de Festuca em dois grupos: um do tipo turfa e outro do tipo forrageira. Em resumo, identificou-se um germoplasma valioso e novo para uso em programas de melhoramento de variedades de Festuca-alta para aplicações em forragem e tipo relva no Irã.

Dentre as várias classes de marcadores existentes, os microssatélites (SSR) emergem como marcadores de escolha para aplicações de melhoramento de plantas (Grupta et al., 2000). As principais vantagens no uso de SSR dizem respeito ao alto polimorfismo em relação aos demais marcadores disponíveis, além de alta reprodutibilidade e simplicidade técnica (menor quantidade de DNA requerido) (Borém; Caixeta, 2016).

Os EST-SSR possuem vantagens por serem desenvolvidos a partir de regiões transcritas do genoma usadas para obter características específicas. Esses marcadores são utilizados para diferentes estudos da diversidade funcional no germoplasma e mapeamento genético de diversas espécies de interesse agrônômico e, ainda, como primers para PCR.

A obtenção de marcadores via PCR envolve a amplificação dos microssatélites a partir de primers específicos (geralmente de 20 a 25 pb) para as regiões do DNA que flanqueiam os microssatélites (Faleiro, 2008). Nesse sentido, para conseguir marcadores microssatélites, é necessário, primeiramente, o desenvolvimento de primers específicos para a espécie em estudo. Essa é uma das desvantagens desses tipos de marcadores, além do alto custo no desenvolvimento dessas ferramentas moleculares.

Portanto, alguns marcadores moleculares são desenvolvidos com a pretensão de explorar as repetições do tipo microssatélites sem a necessidade de sequenciamento do DNA da espécie-alvo. São os marcadores baseados em microssatélites tipo Inter Simple Sequence Repeat (ISSR) ou Anchored Microsatellite-Primed PCR (AMP-PCR), ou seja, repetições di- ou trinucleotídeos ancorados com dois a quatro nucleotídeos em uma das extremidades (e.g. (AG)<sub>8</sub>GCT, (TCT)<sub>6</sub>CA). São eficazes em análises de diversidade genética, estudos de impressão digital do DNA, seleção assistida por marcadores, filogenia e mapeamento genético, bem como variação genética dentro e entre populações vegetais.

Normalmente, os mRNA, estão presentes em alterações de base única, incluindo SNPs, que são inserção/exclusões (InDel) em uma única base. Os SNPs estão presentes em abundância nas plantas e nos animais (Xu, 2010). Na genômica de plantas, os trabalhos com as novas plataformas são destinados ao sequenciamento de transcritos e ressequenciamento ou sequenciamento de novo de genomas plastidiais (Carvalho et al., 2010).

Com os avanços mais recentes de novas ferramentas tecnológicas, a grande revolução atual tem por base as plataformas de sequenciamento, necessárias para as técnicas do sequenciamento de nova geração (Next Generation Sequencing - NGS) e genotipagem por sequenciamento (Genotyping-By-Sequencing - GBS), que revolucionaram o melhoramento de plantas por meio do desenvolvimento de marcadores com alto polimorfismo (Danvey et al., 2011).

O sequenciamento de DNA de alto rendimento (NGS) tornou-se a base do melhoramento genômico. As espécies com pouca informação molecular têm a oportunidade de aplicação dessa ferramenta, uma vez que esses métodos foram validados para estudo de diversidade (Elshire et al., 2011) e associação ampla do genoma (GWAS) (Morris et al., 2013), prometendo uma mudança de paradigma, aprimorando o estudo de associação entre genótipo e fenótipo (Tester & Langridge, 2010), e programas de melhoramento (Poland et al., 2012), desta forma, representando uma ferramenta útil e eficaz no melhoramento de forrageiras tropicais.

A partir das ferramentas de genotipagem com marcadores microssatélites, Deo et al. (2020) encontraram 24 híbridos falsos em amostras de *M. maximus* que foram excluídos na fase de construção da biblioteca GBS, o que resultou na construção de um mapa de ligação de alta resolução com informações de dosagem de alelos, obtidas a partir de uma progênie de *M. maximus* de irmãos completos com alta variabilidade genética.

Mesmo sem haver um genoma sequenciado para essa espécie, a abordagem adotada para a construção do mapa foi suficiente para detectar muitas regiões QTLs (Locos de características quantitativas) associadas à características agrônômicas e nutricionais importantes para o cultivo da forrageira. Com isso, atesta-se que o mapa genético permite mapear o apo-lócus para um único grupo de ligação e fornece um estudo mais atualizado do modo de reprodução da espécie.

Para caracterizar o transcriptoma foliar completo de *M. maximus*, a tecnologia de alto rendimento mostrou-se eficaz. Toledo-Silva et al. (2013) observaram diferentes tipos de polimorfismos e encontraram dois tipos de marcadores putativos de folhas de *M. maximus*: microssatélites (SSRs) e polimorfismos de nucleotídeo único (SNPs). Ambos os tipos de marcadores precisam de validação futura para uso prático em *M. maximus*.

A genotipagem por sequenciamento (GBS), capaz de identificar e genotipar polimorfismos do tipo SNPs de forma simultânea, tem estudos voltados, em sua maioria, para investigar a associação de alta resolução em gramíneas, com o intuito de atingir bons resultados na caracterização do germoplasma, nos estudos populacionais e no melhoramento de diversas culturas (Poland et al., 2012), e agora é usada para muitas outras espécies com genoma complexo.

Existem dois tipos de técnicas na genotipagem por sequenciamento, a saber: 1) Digestão da enzima de restrição, método usado principalmente em programas de Seleção Assistida por Marcadores (MAS), visando à identificação de novos marcadores – porém, antes de se ligarem aos adaptadores, o DNA é digerido com uma ou duas enzimas de restrição específicas; e 2) PCR de enriquecimento multiplex, técnica na qual primers específicos para PCR são selecionados para a amplificação de pontos de interesse.

A Tecnologia de Matriz de Diversidade (DArT-Seq) é outra técnica que oferece uma grande oportunidade para a genotipagem de loci polimórficos (centenas a milhares) distribuídos no genoma. Trata-se de uma tecnologia de hibridação de microarranjos altamente reproduzível. Não há necessidade de informações de sequências anteriores para a detecção de loci para uma característica de interesse (Jaccoud et al., 2001; Wenzl et al., 2004). O benefício mais relevante dessa técnica é que ela é altamente produtiva e muito econômica.

Portanto, essa revolução tecnológica impulsiona estudos em várias áreas de pesquisa, a exemplo das agrícolas, com desenvolvimento de cultivares adaptadas por meio de melhoramento genético com informações em nível molecular, que utiliza informações de mapas genéticos para identificar regiões do genoma que contêm genes de interesse econômico (Kebriyae et al., 2012).

#### 4. Conclusões e Sugestões

Os diversos tipos de marcadores moleculares empregados em estudos de caracterização de espécies de forrageiras tropicais do gênero *Megathyrsus* para o semiárido, tanto para aplicações filogenéticas e evolutivas, quanto para fins práticos de conservação e melhoramento da genética, fornecem informações relevantes à pesquisa científica.

Para determinada análise genética, basicamente podem ser utilizadas as diferentes técnicas a partir de marcadores baseados em PCR e sequenciamento, que apresentam resultados refinados e específicos. Assim, a escolha de uma ou mais técnicas moleculares dependerá do objetivo da análise e da estrutura física e financeira disponível para a realização do estudo.

Na literatura e nas bases de dados consultadas não foram encontradas restrições quanto ao uso de marcadores para a espécie em estudo e cultivar de forrageiras do gênero *Megathyrsus* recomendado para a região semiárida. Tendo isso em vista, sugerem-se maiores estudos para selecionar genótipos com capacidade de adaptação, persistência e alta produtividade por acessos e cultivares do gênero *Megathyrsus* em relação às condições edafoclimáticas do semiárido.

#### Referências

Almeida, M. C. C., Chiari, L., Jank, L., & Valle, C. B. (2011). Diversidade genética molecular entre cultivares e híbridos de *Brachiaria* spp. e *Panicum maximum*. *Ciência Rural*, 41(11), 1998-2003. <https://doi.org/10.1590/S0103-84782011001100024>

Associação Brasileira das Indústrias da Alimentação (2019). Recuperado de <https://www.abia.org.br/vsn/temp/z2019422RelatorioAnual2018.pdf>

Associação Brasileira de Sementes e Mudanças (2019). Recuperado de [https://www.agrolink.com.br/noticias/europa-reconhece-a-certificacao-para-sementes-de-cereais-e-forrageiras\\_425626.html?utm\\_source=boas-vindas-cadastro&utm\\_medium=email&utm\\_content=link-logi-nautomatico](https://www.agrolink.com.br/noticias/europa-reconhece-a-certificacao-para-sementes-de-cereais-e-forrageiras_425626.html?utm_source=boas-vindas-cadastro&utm_medium=email&utm_content=link-logi-nautomatico)

Amabile, R. F., Vilela M S., & Peixoto, J. R. (2018) Melhoria de plantas: variabilidade genética, ferramentas e mercado. Brasília, DF: Pro impress: Sociedade Brasileira de Melhoria de Plantas, 108. Recuperado de <https://docplayer.com.br/112187932-Melhoria-de-plantas-variabilidade-genetica-ferramentas-e-mercado.html>

Azevedo, A. L. S., Pereira, J. F., & Machado, J. C. (2019) Melhoria de Forrageiras na era genômica. Brasília. DF. Embrapa. 262.

Araújo, S. A. C., Deminici, B. B., & Campos, P. R. S. S. (2008) Melhoria genética de plantas forrageiras tropicais no Brasil. *Archivos de zootecnia*, 57, 61- 76.

Araújo, J. A., Fº., & Silva, N. L. (2000) Impacto do pastoreio de ovinos e caprinos sobre os recursos forrageiros do semiárido. In: IV Seminário Nordestino de Pecuária, Fortaleza, 11-18.

Baranski, M. R. (2015) The wide adaptation of green revolution wheat: international roots and Indian context of new plant breeding ideal, 1960-1970. *Studies in History and Philosophy of Science Part C: Studies in History and Philosophy of Biological and Biomedical Sciences*, 50, 41–50. [doi.org/10.1016/j.shpsc.2015.01.004](https://doi.org/10.1016/j.shpsc.2015.01.004).

Bered, F., Barbosa, J. F., Neto., & Carvalho F. I. F. (1997) Marcadores moleculares e sua aplicação no melhoria genética de plantas. *Ciência Rural*, 27(3), 513-520. Recuperado de <https://www.lume.ufrgs.br/bitstream/handle/10183/22565/000211786.pdf?sequence=1> [doi.org/10.1590/S0103-84781997000300026](https://doi.org/10.1590/S0103-84781997000300026).

Bespalko, F. J. C., Guerra, E. P., & Oliveira, R. (1999) Introdução ao Melhoria de Plantas. In: Bespalko F., J. C., Guerra, E. P., & Oliveira, R. Melhoria de Plantas. Recuperado de [www.bespa.agrarias.ufpr.br](http://www.bespa.agrarias.ufpr.br), 1-9. Recuperado de <http://www.bespa.agrarias.ufpr.br/paginas/livro/capitulo%201.pdf>

Bluma-Marques, A. C., Chiari, L., Agnes, D. C., Jank, L., & Pagliarini, M. S (2014) Molecular markers linked to apomixis in *Panicum maximum*. African Journal of Biotechnology, 13, 2198–2202. doi: 10.5897/AJB2014.13703.

Borém, A., & Caixeta, E. (2016) Marcadores Moleculares. Viçosa, MG: Ed. UFV.

Brondani, C., & Brondani, R. P. V. (2004) Germoplasma: base para a nova agricultura. Ciência Hoje. Belo Horizonte, 35(207), 70-73.

Bueno, L. G., Galvani, D. B., Diniz, F. M., Jank, L., Bezerra, J. W., & Jesus, A. A. (2019) Caracterização e seleção de genótipos de *Megathyrus maximus* de porte baixo com potencial de uso na região semiárida brasileira. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento 10. Embrapa. Recuperado de <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/209511/1/CNPC-2019-BPD-10.pdf>

Carvalho, P. C. F., Kozloski, G.V., Ribeiro, H. M. N. F., Reffatti, M. V., Genro, T. C. M., & Euclides, V. P. B. (2007). Avanços metodológicos na determinação do consumo de ruminantes em pastejo. Revista Brasileira de Zootecnia, 36,51-170. doi.org/10.1590/S1516-35982007001000016

Carvalho, M. C. C. G., & Silva, D. C. G. (2010). Sequenciamento de DNA de nova geração e suas aplicações na genômica de plantas. *Ciência Rural*, 40(3), 735-744. <https://dx.doi.org/10.1590/S0103-84782010000300040>

Cavalcante, A. C. R., Araújo, J. F., Carneiro, M. S; Souza, H. A., Tonucci, R. G. Rogerio, M. C. P., & Vasconcelos, E. C. G (2014). Potential Use of Tropical Grass for Deferment in Semi-Arid Region. American Journal of Plant Sciences, 5,907-914. doi.org/10.4236/ajps.2014.57103.

Confederação da Agricultura e Pecuária do Brasil (2019). Recuperado em <https://www.cnabrazil.org.br/cna/panorama-do-agro>

Chandra, A., Roy, A. K., & Tiwari, Kumar, S. (2010) Molecular techniques for improvement of forage crops. Range Management and Agroforestry, 31,(1),87-96. Recuperado de

[https://www.researchgate.net/publication/267330751\\_Molecular\\_techniques\\_for\\_improvement\\_of\\_forage\\_crops](https://www.researchgate.net/publication/267330751_Molecular_techniques_for_improvement_of_forage_crops)

Chandra, A., & Tiwari, K. K. (2010) Isolation and characterization of microsatellite markers from guinea grass (*Panicum maximum*) for genetic diversity estimate and cross-species amplification. *Plant Breeding*, *129*,120-124. doi.org/10.1111/j.1439-0523.2009.01651.x

Collard, B. C. Y., Jahufer, M. Z., Brouwer, J. B., & Pang, E. C. K. (2005) An introduction to markers, quantitative trait loci (QTL) mapping and marker-assisted selection for crop improvement: the basic concepts. *Euphytica*, *142*, 169–196. doi: 10.1007 /s10681-005-1681-5

Cui, Z., Carter, T. E., Burton, J.W., & Wells, R. (2001) Phenotypic diversity of modern Chinese and North American soybean cultivars. *Crop Science*, *41*, 1954-1967. Phenotypic diversity of modern Chinese and North American soybean cultivars. Recuperado de <https://naldc.nal.usda.gov/download/22016/PDF>

Dar, A. A., Mahajan, R., & Sharma, S. (2019) Molecular markers for characterization and conservation of plant genetic resources. *Indian Journal of Agricultural Sciences*. *89*, 1755–63.

Davey, M. R., Anthony, P., Power, J. B., & Lowe K. C. (2005) Plant protoplasts: status and biotechnological perspectives. *Biotechnology Advances*, *23*,131-171. doi: 10.1016 /j.biotechadv.2004.09.008

Davey, J. W., Hohenlohe, P. A., Etter, P. D., Boone, J. Q., Catchen, J. M., & Blaxter, M. L. (2011) Genome-wide genetic marker discovery and genotyping using next-generation sequencing. *Nature Reviews Genetic*, *12*, 499–510. doi.org/10.1038/nrg3012

Deo, T., Ferreira, R. C.U., Lara, L. A. C., Moraes, A. C. L., Alves-Pereira, A., de Oliveira, F. A.; Garcia, A. A. F., Santos, M. F.; Jank, L., & Souza, A. P. (2020) High-Resolution Linkage Map With Allele Dosage Allows the Identification of Regions Governing Complex Traits and Apospory in Guinea Grass (*Megathyrsus maximus*). *Frontiers in Plant Science*, *11* (15). doi.org/10.3389/fpls.2020.00015

Destro, D., & Montalban, R. (1999) Introdução de plantas autógamas. In: Destro, D., Montalban, R. (eds) Melhoramento genético de plantas. Editora UEL, 181-187.

Ebina, M., Nakagawa, H., Yamamoto, T., Araya, H., Tsuruta, S., Takahara, M., & Nakajima, K. (2005) Co-segregation of AFLP and RAPD markers to apospory in Guineagrass (*Panicum maximum Jacq.*). Grassland Science. 51, 71–78. doi.org/10.1111/ J.1744-697X.2005.00011.X.

Ebina, M., Kouki, K., Tsuruta, S., Akashi, R., Yamamoto, T., Takahara, M., Inafuku, M., Okumura, K., Nakagawa, H., & Nakajima, K. (2007) Genetic relationship estimation in guineagrass (*Panicum maximum Jacq.*) assessed on the basis of simple sequence repeat markers. Grassland Science, 53, 155–164. doi: 10.1111/j.1744-697X.2007.00086.x

Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (2020). Recuperado em <https://www.compre rural.com/embra pa-divulga-custos-de-cada-forrageiras-lancada/>

Elshire, R J., Glaubitz, J. C., Sun Q., Poland, J. A., Kawamoto, K., Buckler, E. S., & Mitchell, S. E. (2011) A robust, simple genotyping-by-sequencing (GBS) approach for high diversity species. Plos One. 6 (5), 19379. doi.org/10.1371/journal.pone.0019379

Euclides, V, P, B., & Euclides, K., Fº. (1997) Avaliação de forrageiras sob pastejo. 85-111. In: Jobim, C. C.; Santos, G. T., Cecato, U. (eds.) Anais do Simpósio sobre Avaliação de Pastagens com Animais. Universidade Estadual de Maringá, Maringá, PR, 13-14.

Faleiro, F. G., Junqueira, N, T. V., Braga, M. F., & Peixoto, J. R. (2008) Caracterização de germoplasma e melhoramento genético do maracujazeiro assistidos por marcadores moleculares: resultados de pesquisa. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, (207) 59.

Ferrazza, R. A., Lopes, M. A., Moraes, F., & Pascoti, F. R .B. (2015) Índices de desempenho zootécnico e econômico de sistemas de produção de leite com diferentes níveis tecnológicos. Semina: Ciências Agrárias, 36, 485-496. doi:10.5433/1679-0359.2015v36 n1p485

Freitas, F. P., Fonseca, D. M., Santos, Braz. T. G., Martuscello, J. A., & Santos, M. E.R .(2012) Forage yield and nutritive value of Tanzania grass under nitrogen supplies and plant

densities. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 41, 864-872. [doi.org/10.1590/S1516-359820\\_1200000006](https://doi.org/10.1590/S1516-359820_1200000006)

Ferreira, M. E., Moretzsohn, M. C., & Buso, G. S. C. (2007) Fundamentos da caracterização molecular de germoplasma vegetal. In: Nass, L. L. (Ed.) Recursos genéticos vegetais. Brasília, DF: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 377-420

Gomes, S. B. de S., Ferreira, J. B., Macedo, P. E. F. de, Nascimento, L. de O., Nascimento, G. O., & Pessoa, E., Neto. (2020, Junho). Agronomic characterization of cowpea bean varieties in the Municipality of Senador Guimard, Acre, Brazil. *Research, Society and Development*, 9(8), e841986243. <https://doi.org/10.33448/rsd-v9i8.6243>

Gonzalez-Herandez, J. L., Sarath, G., Stein, J. M., Owens, V., Gedye, K., & Boe, A. (2009) A multiple species approach to biomass production from native herbaceous perennial feedstocks. *In Vitro Cell Dev Biol Plant*, (45), 267–281. [doi.org/10.1007/s11627-009-9215-9](https://doi.org/10.1007/s11627-009-9215-9)

Gupta, P. K., & Varshney, R. K. (2000) The development and use of microsatellite markers for genetic analysis and plant breeding with emphasis on bread wheat. *Euphytica*, 113, 163-185. [doi.org/10.1023/A:1003910819967](https://doi.org/10.1023/A:1003910819967)

Hasan, N. Molecular Markers (2019). 10.13140/RG.2.2.12738.32965. Recuperado em <https://www.researchgate.net/publication/336829789>

Jiang, G. L. (2013) Molecular markers and marker-assisted breeding in plants. (ed. Andersen S.B). In *Plant breeding from laboratories to fields*. Rijeka: InTechOpen; Copenhagen.

Jaccoud D., Peng, K., Feinsein, D., & Kilian, A. (2001) Diversity arrays: a solid state technology for sequence information independent genotyping. *Nucleic Acids Research*, 29, 25. Recuperado em <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC29632/>

Jank, L., Resende, R. M. S., do Valle, C. B., Resende, M. D. V., Chiari L., Cançado, L. J., & Simione, C. (2008) Melhoramento Genético de *Panicum maximum* Jacq. In: Resende, R. M. S., Valle, C. B., Jank, L. (Ed.). *Melhoramento de forrageiras tropicais*. 1.ed. Campo Grande, MS: Embrapa Gado de Corte, 55-87.

Jank, L. Melhoria e seleção de variedades de *Panicum maximum* (1995). In: Simpósio sobre Manejo da Pastagem, 12., Piracicaba. Anais... Piracicaba: Fealq, 21-58

Kebriyae, D., Kordrostami M., Rezadoost M. H., & Lahiji H. S. (2012) QTL Analysis of Agronomic Traits in Rice Using SSR and AFLP Markers. *Notulae Scientia Biologicae*, 4, 116-123. doi: 10.13140 / RG.2.1.1820.7207

Karia, C. T. (2008) Caracterização genética e morfoagronômica de germoplasma de *Stylosanthes guianenses* (Aubl.) SW. Tese (Doutorado). Escola de Agronomia e Engenharia de Alimentos, UFG, Goiânia, Goiás. Brasil. Recuperado de <https://repositorio.bc.ufg.br/tede/bitstream/tede/436/1/claudio%20takao%20karia.pdf>

Laboratório de Processamento de Imagem e Geoprocessamento (2019). Recuperado de <https://pastagem.org/atlas/map>

Lara, L. A. C. (2017) Statistical models for genomic selection in *Panicum maximum* considering allelic dosage. Tese (Doutorado). Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz. Piracicaba, USP. Brasil. Recuperado de <https://teses.usp.br/teses/disponiveis/11/11137/tde-15032018-101505/pt-br.php>

Li, G. McVetty, P. B. E., & Quiros. C. F. (2013) SRAP molecular marker technology in plant science. In *Plant breeding from laboratories to fields*. (ed. S. B. Andersen). Rijeka: InTechOpen, Copenhagen. doi: 10.5772 / 54511.

Lopes, M. N., Cândido, M. J. D., Pompeu, R. C. F. F., Silva, R. G., Lopes, J. W. B., Fernandes, F. R. B., Lacerda, C. F., & Bezerra, F. M. L. (2013) Fluxo de biomassa em capim-massai durante o estabelecimento e rebrotação com e sem adubação nitrogenada. *Revista Ceres*, 60, 363-371. Recuperado em <http://www.ceres.ufv.br/ojs/index.php/ceres/article/view/3990/1824>

Lopes, M. S., Reynolds, M. P., Manes, Y., Singh, R. P., Crossa, J. J., & Braun, H. J. (2012) Genetic yield gains and changes in associated traits of CIMMYT Spring bread wheat in a

“historic” set representing 30 Years of breeding. *Crop Science*, 52(3), 1123–1131. doi.org/10.2135/cropsci2011.09.0467

Martuscello, J. A., Jank, L., Fonseca, D. M. D., Cruz, C. D., & Cunha, N. F. V de. (2007) Repetibilidade de caracteres agronômicos em *Panicum maximum* Jacq. *Revista Brasileira de Zootecnia*, (36), 1975-1981. doi.org/10.1590/S1516-35982007000900005.

Mateu-Andres, I., & Paco, L (2005). Allozymic differentiation of the *Antirrhinum majus* and *A. siculum* species groups. *Annals Botany*, 95 (3) 465–473. doi.org/10.1093/aob/mci055

Masuka, B., Atlin, G. N., Olsen, M., Magorokosho, C., Labuschagne, M., Crossa, J., Bänziger, M., Pixley, K. V., Vivek, B. S., Von, B. A., Macrobert, J., Alvarado, G., Prasanna, B. M., Makumbi, D., Tarekegne, A., Das B., Zaman-Allah, M., & Cairns, J. E. (2017) Gains in maize genetic improvement in eastern and southern Africa: i CIMMYT hybrid breeding pipeline. *Crop Science*, 57, 168–179. doi.org/10.2135/cropsci2016.05.0343

Mondini. L., Noorani, A., & Pagnotta, M. A. (2009) Assessing plant genetic diversity by molecular tools. *Diversity*, 1 (1), 19–35. doi: 10.3390 / d1010019

Morais, T. P., Luz, J. M .Q., Silva, S .M., Resende, R. F., & Silva, A. S. (2012) Aplicações da cultura de tecidos em plantas medicinais. *Revista Brasileira de Plantas Medicinai*s, 14 (1) 110-121.

Morris, G. P., Ramu, P., Deshpande, S. P.; Hash, C. T.; Shah, T., Upadhyaya, H. D., Riera-Lizarazu, O., Brown, P. J., Acharya, C .B., Mitchell, S. E., Harrima, J., Glaubitz, J. C., Buckler, E. S., & Kresovich, S. (2013) Population genomic and genome-wide association studies of agroclimatic traits in sorghum. *PNAS*, 110, 453–458. doi.org/ 10. 10 73/ pnas.1215 985110

Mullis, K. B., & Falona, F. A. (1987) Specific synthesis of DNA in-vitro via a polimerase catalyzed chain reaction. *Methods Enzymol*, 155, 335-350. doi.org/10.1016/0076-6879\_(87)\_55 023-6

Nadeem, M. A., Nawaz, M. A., Shahid, M. Q., Doğan, Y., Comertpay, G., Yildiz, M., Hatipoğlu, R., Ahmad, F., Alsaleh, A., Labhane, N., Özkan, H., Chung, G., & Baloch, F. S.

(2018) DNA molecular markers in plant breeding: current status and recent advancements in genomic selection and genome editing, *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, 32, 261-285. doi.org/10.1080/13102818.2017.1400401

Nascimento, M. do P. S. C. B., Nascimento, H. T. S. do, Araújo, R. B., Neto., & Leal, J. A. (2002) O Capim-massai no Meio-Norte. Comunicado Técnico 142. 3p. Recuperado em <https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/65458/o-capim-massai-no-meio-norte>

Nazarul, H. (2019) Recuperado em [https://www.researchgate.net/publication/336829789\\_Molecular\\_Markers](https://www.researchgate.net/publication/336829789_Molecular_Markers)

Novo, P. E., Valls, J. F. M., Galdeano, F., Honfi, A. I., Espinoza, F., & Quarín, C. L. (2016) Interspecific hybrids between *Paspalum plicatulum* and *Poteroi*: a key tool for forage breeding. *Scientia Agricola*, 73 (4), 356-362.

Organizações das Nações Unidas (1992). Recuperado em <https://biotechtown.com/blog-post/o-que-e-biotecnologia/#:~:text=Segundo%20a%20ONU%2C%20%E2%80%9Cbiotecnologia%20significa,Conven%C3%A7%C3%A3o%20de%20Biodiversidade%201992%2C%20Art.>

Pandolfi, A. D. F<sup>o</sup>., Valle, C. B., Barrios, S. C. L., & Alves, G. F., Deminicis, B. B. (2016) Avaliação de genitoras sexuais de *Brachiaria* spp. na época de seca. *Archivos de zootecnia*, 65 (250), 214.

Pereira, J. M., Rezende, C. P., & Ruiz, M. A. M. (2005) Pastagem no ecossistema mata atlântica: atualidades e perspectivas. In: Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia, 39., Recife. Anais... SBZ. Recife: Sociedade Brasileira de Zootecnia, 36-51.

Pereira, A. V., do Valle, C. B., Ferreira, R. P., & Miles, J. W. (2001) Melhoramento de forrageiras tropicais. In: Nass L., Valois, A. C. C., de Melo, I. S., Valadares-Inglis M C (Eds.). Recursos genéticos & melhoramento de plantas. Rondonópolis: Fundação MT, 549-602.

Pereira, A. S., Shitsuka, M. D., & Shitsuka, F. J. P. R. (2018) Metodologia da pesquisa científica. Santa Maria. Ed. UAB/NTE/UFSM. Recuperado em [https://repositorio.ufsm.br/bitstream/handle/1/15824/Lic\\_Computacao\\_Metodologia-Pesquisa-Cientifica.pdf?sequence=1](https://repositorio.ufsm.br/bitstream/handle/1/15824/Lic_Computacao_Metodologia-Pesquisa-Cientifica.pdf?sequence=1)

Poland, J. A., Brown, P. J., Sorrells, M. E., & Jannink, J. L. (2012) Development of High-Density Genetic Maps for Barley and Wheat Using a Novel Two-Enzyme Genotyping-by-Sequencing Approach. *Plos One*, 7. 32253. doi.org/10.1371/journal.pone.0032253

Rabello, F. C. (2017). Caracterização genético molecular em *Panicum maximum*: identificação de marcadores moleculares SNP se mapeamento genético. Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Biologia. SP. Brasil.

Ramalho, M. A. P., Santos, J. B., Pinto, C. A. B., Souza, E. A., Gonçalves, F. M. A., & Souza, J. C. (2012) Genética na Agropecuária. 5ª ed. Editora UFLA.

Savidan, Y. H. (1982) Nature et hérédité de l'apomixie chez *Panicum maximum* Jacq. Paris: ORSTOM, 159. Recuperado em [https://horizon.documentation.ird.fr/exl-doc/pleins\\_textes/pleins\\_textes\\_5/pt5/travaux\\_d/02897.pdf](https://horizon.documentation.ird.fr/exl-doc/pleins_textes/pleins_textes_5/pt5/travaux_d/02897.pdf)

Semagn, K., Bjørnstad, A., & Ndjiondjop, M. N. (2006) An overview of molecular marker methods for plants. *African Journal Biotechnology*, 2540, 25–68.

Shahabzadeh, Z., Mohammadi, R., Darvishzadeh, R., & Jaffari, M. (2020) Genetic structure and diversity analysis of tall fescue populations by EST-SSR and ISSR markers. *Molecular Biology Report*, 47, 655–669. doi.org/10.1007/s11033-019-05173-z

Silva, T. L., & Gameiro, A. H (2005) O comércio exterior brasileiro de sementes forrageiras. In: II Congresso Brasileiro de Assistência Técnica e Extensão Rural, Piracicaba, FEALQ, 356-359.

Sistema Global de Informação sobre Biodiversidade (2019). Recuperado em <https://www.gbif.org/species/2705868>

Sistema de Informação sobre a Biodiversidade Brasileira (2020). Recuperado em [https://ferramentas.sibbr.gov.br/ficha/bin/view/especie/megathyrusus\\_maximus](https://ferramentas.sibbr.gov.br/ficha/bin/view/especie/megathyrusus_maximus)>

Sistema Nacional de Proteção de Cultivar (2020). Recuperado em [http://sistemas.agricultura.gov.br/snpc/cultivarweb/cultivares\\_registradas.php](http://sistemas.agricultura.gov.br/snpc/cultivarweb/cultivares_registradas.php)

Sousa, A. C. B., Jank, L., Campos, T., Sforça, D. A., Zucchi, M. I., & de Souza, A. P. (2011) Diversidade molecular e estrutura genética de capim-guiné ( *Panicum maximum* Jacq.), Uma pastagem tropical Grass . Tropical Plant Biology, 4,185–202. doi:10.1007/s12042-011-9081-6

Sousa, M. T. C., & Martuscello, J. A. (2018) Produtividade de cultivares forrageiros no nordeste brasileiro. Pubvet.12 (4a70),1-9. doi:10.22256/pubvet.v12n4a70.1-9

Souza, J .C., Rescarolli, C. L.S., & Nunez, C .V. (2018). Produção de metabólitos secundários por meio da cultura de tecidos vegetais. Revista Fitos. 12 (3), 269-280.

Souza, J. P. de, Townsend, C. R., Araújo, S. R. do C., & Oliveira, G. A. de. (2020, Agosto). Morphogenic, structural and agronomic characteristics of tropical grasses: a review. *Research, Society and Development*, 9(8), e942986588. <https://doi.org/10.33448/rsd-v9i8.6588>

Teixeira, M. N. (2016) O sertão semiárido. Uma relação de sociedade e natureza numa dinâmica de organização social do espaço. Revista Sociedade e Estado, 31(3). doi.org/10.1590/s0102-69922016.00030010

Tester, M., Langridge, Peter. (2010) Breeding Technologies to Increase Crop Production in a Changing World. Science, 12 (327), 818-22. doi:10.1126 / science.1183700

The International Union for the Protection of New Varieties of Plants (2020). Recuperado em <https://www.upov.int/genie/details.xhtml?cropId=4030>

Toledo-Silva, G., Cardoso-Silva, C. B., Jank, L & Souza, A.P.(2013) De Novo Transcriptome Assembly for the Tropical Grass *Panicum maximum* Jacq. Plos One, 8(7), 70781. doi.org/10.1371/journal.pone.0070781

Toledo-Silva, G.(2014) Estudos genético-moleculares em *Panicum maximum*: mapeamento genético molecular e análise de transcriptoma via RNA-seq. Tese (Doutorado). Universidade Estadual de Campinas. Campinas SP.

Valls, S. J. F. M. (2007) Caracterização de recursos genéticos vegetais. In: NASS, L. L. (Ed.) Recursos genéticos vegetais. Brasília: Embrapa, Recursos Genéticos e Biotecnologia, 281-342.

Valle, C. B., Simioni, C., Resende, R. M. S., Jank, L., & Chiari. L. (2008) Melhoramento genético de Braquiária. In Resende, R. M. S.; Valle, C. B. do; Jank, L. (Ed.). Melhoramento de forrageiras tropicais. Campo Grande, MS: Embrapa Gado de Corte. 13-53.

Valle, C. B., Jank, L., & Resende, R. M. S. (2009) O melhoramento de forrageiras tropicais no Brasil. Revista Ceres, 56, 460-472. Recuperado em <http://www.ceres.ufv.br/ojs/index.php/ceres/article/view/3454/1352>

Velga, R .F. A., Barbosa W., Tombolat, A .F. C., & Valls. J. F. M. (2012) Bancos de germoplasma: importância e organização. In: Costa, A. M.; Spehar, C. R.; Sereno, J. R. B. Conservação de recursos genéticos no Brasil. Brasília: Embrapa, 104-125.

Vieira, V. C., Martin, T. N., Menezes, L. F. G., Assmann T., Ortiz, S., Bertoncetti, P., Piran, F. A., Fº, & Schimitz, T. H. (2013) Caracterização bromatológica e agrônômica de genótipos de milho para produção de silagem. Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootenia, 65(3), 847-856. doi.org/10.1590/S0102-09352013000300034.

Vilela, D. (2019) Forrageiras tropicais: a importância do melhoramento genético nos futuros sistemas leiteiros. Recuperado em <https://www.milkpoint.com.br/artigos/producao/forrageiras-tropicais-a-importancia-do-melhoramento-genetico-nos-futuros-sistemas-de-producao-de-le-215199/>

Wenzl, P., Carling, J., Kudrna, D., Jaccoud, D., Huttner E., Kleinhofs, A., & Kilian A (2004). Diversity Arrays Technology (DArT) for whole-genome profiling of barley. Proceedings of the National Academy of Sciences , 101,9915–9920. doi.org/10.1371/journal.pone.0070781

Xu, Y. (2010). Molecular plant breeding. Wallingford: CABI.

**Porcentagem de contribuição de cada autor no manuscrito**

Antonieta Alexandrina de Jesus – 40%

Luice Gomes Bueno – 20%

Wilder Hernando Ortiz Vega – 20%

Fábio Mendonça Diniz – 20%