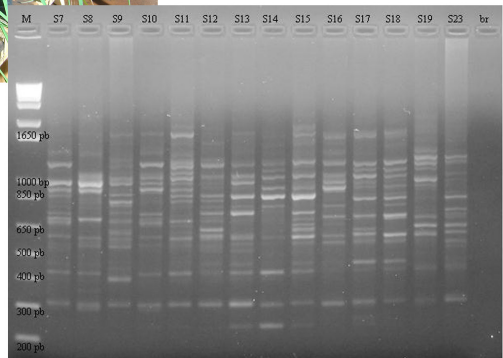


Diversidade genética entre plantas sexuais de *Panicum maximum* Jacq. acessada por marcadores RAPD



ISSN 1983-9715

Setembro, 2012

Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária

Embrapa Gado de Corte

Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento

Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento 30

**Diversidade genética entre
plantas sexuais de *Panicum
maximum* Jacq. acessada por
marcadores RAPD**

Renata Caroline Binoti Pimenta de Mello

Liana Jank

Lucimara Chiari

Cristiane Zorzatto

Juliana Pereira Zago

Anna Carolina Bluma-Marques

Embrapa Gado de Corte

Campo Grande, MS

2012

Exemplares desta publicação podem ser adquiridos na:

Embrapa Gado de Corte

Rodovia BR 262, Km 4, CEP 79002-970 Campo Grande, MS

Caixa Postal 154

Fone: (67) 3368 2083

Fax: (67) 3368 2180

<http://www.cnpqc.embrapa.br>

E-mail: publicacoes@cnpqc.embrapa.br

Comitê de Publicações da Unidade

Presidente: *Pedro Paulo Pires*

Secretário-Executivo: *Wilson Werner Koller*

Membros: *Rodrigo Carvalho Alva, Elane de Souza Salles, Valdemir Antônio Laura, Dalzília Montenário de Aguiar, Davi José Bungenstab, Jaqueline Rosemeire Verzignassi, Roberto Giolo de Almeida, Vanessa Felipe de Souza*

Supervisão editorial: *Rodrigo Carvalho Alva*

Revisão de texto e Editoração Eletrônica: *Rodrigo Carvalho Alva*

Normalização bibliográfica: *Elane de Souza Salles*

Foto da capa: *Lucimara Chiari*

1ª edição

Versão online (2012)

Todos os direitos reservados.

A reprodução não-autorizada desta publicação, no todo ou em parte, constitui violação dos direitos autorais (Lei nº 9.610).

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Embrapa Gado de Corte.

Diversidade genética entre plantas sexuais de *Panicum maximum* Jacq. acessada por marcadores RAPD / Renata Caroline Binoti Pimenta de Mello... [et al.]. — [Dados eletrônicos]. -- Campo Grande, MS: Embrapa Gado de Corte, 2012.

20 p. ; 21 cm. (Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento / Embrapa Gado de Corte, ISSN1983-974X ; 30).

Sistema requerido: Adobe Acrobat Reader.

Modo de acesso: <<http://www.cnpqc.embrapa.br/publicacoes/bp/BP30.pdf>>

Título da página da Web (acesso em 20 de novembro de 2012).

Autores: Liana Jank ; Lucimara Chiari ; Cristiane Zorzatto ; Juliana Pereira Zago; Anna Carolina Bluma-Marques.

1. Pastagem. 2. Melhoramento genético vegetal. 3. *Panicum maximum*. 4. Marcador molecular. I. Mello, Renata Caroline Binoti Pimenta de. II. Jank, Liana. III. Chiari, Lucimara. IV. Zorzatto, Cristiane. V. Zago, Juliana Pereira. VI. Bluma-Marques, Anna Carolina.

Sumário

Resumo	7
Abstract.....	9
Introdução.....	8
Material e métodos.....	9
Resultados e discussão	11
Conclusões.....	15
Agradecimentos	15
Referências bibliográficas	17

Diversidade genética entre plantas sexuais de *Panicum maximum* Jacq. acessada por marcadores RAPD

*Renata Caroline Binoti Pimenta de Mello*¹

*Liana Jank*²

*Lucimara Chiari*³

*Cristiane Zorzatto*⁴

*Juliana Pereira Zago*⁵

*Anna Carolina Bluma-Marques*⁶

Resumo

O objetivo deste trabalho foi avaliar a diversidade genética entre plantas sexuais tetraploides de *Panicum maximum* do banco de germoplasma da Embrapa Gado de Corte, utilizando a técnica de polimorfismos de DNA amplificados ao acaso (RAPD). Quatroze plantas foram avaliadas com 17 primers. A similaridade genética foi calculada usando o coeficiente de Jaccard e o agrupamento foi feito pelo método de médias aritméticas dos pares de grupos não-balanceados (UPGMA) com base nas dissimilaridades. Uma análise de bootstrap foi feita para avaliar a consistência dos grupos formados. Um total de 145 bandas de DNA foi obtido, sendo que 128 (~88,3%) delas foram polimórficas entre as plantas estudadas. Os valores de similaridade variaram de 0,34 a 0,69. Quatro grupos foram formados e as plantas S16 e S13 não foram agrupadas com as plantas restantes, apresentando maior

¹Estudante de graduação em Biologia da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, CxP. 549, 79070-900, Campo Grande, MS. Endereço eletrônico: renatinhapimenta_mello@hotmail.com

²Engenheira-Agrônoma, PhD, Pesquisadora da Embrapa Gado de Corte, CxP. 154, 79002-970, Campo Grande, MS. Bolsista de Produtividade em Desenvolvimento Tecnológico e Extensão Inovadora do CNPq. Endereço eletrônico: liana@cnpqg.embrapa.br

³Bióloga, DSc., Pesquisadora da Embrapa Gado de Corte. Endereço eletrônico: lchiari@cnpqg.embrapa.br

⁴Bióloga, doutoranda em Genética e Melhoramento da Universidade Federal de Viçosa, Campus UFV, CEP 36570-000, Viçosa, MG. Endereço eletrônico: cristiane@uol.com.br

⁵Estudante de graduação em Biologia da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul. Endereço eletrônico: jujujupz@hotmail.com

⁶Estudante de graduação em Biologia da Universidade Católica Dom Bosco – UCDB, Av. Tamandaré, 6000, Jardim Seminário, CEP 79117-900, Campo Grande, MS. Endereço eletrônico: anna.bluma@hotmail.com

divergência genética. Os resultados mostram moderada diversidade genética entre as 14 plantas sexuais tetraploides de *P. maximum* estudadas. Os resultados obtidos podem subsidiar a escolha de progenitores para cruzamentos visando melhoramento genético da espécie.

Termos para indexação: gramíneas forrageiras, marcadores moleculares, polimorfismos de DNA, variabilidade molecular.

Genetic diversity among sexual plants of *Panicum maximum* Jacq. accessed by RAPD markers

Abstract

*The objective of this work was to estimate the genetic diversity among tetraploid sexual plants of *Panicum maximum* from the germplasm bank at Embrapa Gado de Corte, using the random amplified polymorphic DNA (RAPD) technique. Fourteen plants were evaluated with 17 random primers. The genetic similarity was calculated using Jaccard's coefficient and the clustering was done by the unweighted pair-group method with arithmetic average (UPGMA) using the dissimilarity values. A bootstrap analysis was done to evaluate the consistency of the clusters formed. A total of 145 DNA bands was obtained, 128 (~88.3%) of them were polymorphic among the plants studied. The similarity values ranged from 0.34 to 0.69. Four clusters were formed and the plants S16 and S13 did not cluster with the remaining plants, presenting major genetic divergence. The results show moderate genetic diversity among the 14 tetraploid sexual plants of *P. maximum* studied. These results may at subsidizing the choice of progenitors for crosses for the genetic breeding of the species.*

Index terms: forage grasses, molecular markers, molecular variability, polymorphisms of DNA.

Introdução

A pecuária bovina brasileira é basicamente desenvolvida em sistema extensivo de produção, ou seja, no pasto. Entre as espécies forrageiras mais utilizadas está *Panicum maximum* Jacq., que apresenta boa qualidade da forragem, alta produtividade de matéria seca, ampla adaptabilidade e facilidade de estabelecimento (JANK et al, 2008).

A maioria dos ecótipos dessa espécie é tetraplóide e se reproduz por apomixia, que é um tipo de reprodução assexuada caracterizada por originar embriões sem fertilização, portanto, geneticamente idênticos à planta-mãe (NOGLER, 1984). Sendo assim, para o melhoramento genético de *P. maximum* torna-se necessária a utilização de plantas sexuais que possam ser utilizadas como genitores maternos nos cruzamentos com os apomíticos.

Nos anos de 1967 e 1969, a ORSTOM (Instituto francês de pesquisa científica para o desenvolvimento e cooperação) realizou expedições de coleta de *P. maximum* no Quênia e na Tanzânia – África (COMBES; PÉRNES, 1970). Na Tanzânia foram coletados ecótipos sexuais diploides que foram, posteriormente, tetraploidizados pelo uso de colchicina e utilizados em cruzamentos com apomíticos até a obtenção de híbridos sexuais tetraploides, com estabilidade meiótica (SAVIDAN, 1982).

Esses híbridos sexuais tetraploides de *P. maximum* chegaram ao Brasil em 1982 e foram introduzidos no banco de germoplasma da Embrapa Gado de Corte - Campo Grande, MS. Desde então essas plantas são utilizadas no programa de melhoramento da espécie e híbridos têm sido gerados e avaliados (JANK et al., 2001; RESENDE et al., 2004), visando o lançamento como cultivares.

Nenhum estudo sobre a diversidade genética molecular das plantas sexuais tetraploides foi realizado até o presente. Esses estudos poderiam ser úteis aos melhoristas na escolha de plantas sexuais para a realização cruzamento com cultivares e/ou acessos apomíticos superiores.

Nesse sentido, marcadores moleculares têm sido considerados ferramentas poderosas para o estudo da diversidade genética em diversas espécies de plantas nativas ou cultivadas, incluindo gramíneas forrageiras (CHIARI et al., 2007; CHIARI et al., 2008; ZORZATTO et al., 2009; JUNGSMANN et al., 2010; ALMEIDA et al., 2011; SOUSA et al., 2011; VIGNA et al., 2011).

Dentre esses marcadores, destaca-se o RAPD (Random amplified polymorphic DNA - DNA polimórfico amplificado ao acaso), técnica que consiste na amplificação de DNA genômico em PCR (Polymerase chain reaction – Reação em cadeia da polimerase) utilizando primers de sequência arbitrária com 10 nucleotídeos (WILLIAMS et al., 1990). Apesar do surgimento de novas técnicas o RAPD continua bastante difundido, em parte como reflexo da sua fácil aplicação, rapidez, baixo custo e, principalmente, porque não necessita de conhecimento prévio da sequência de DNA alvo. Tendo em vista essas características, essa técnica ainda é recomendada para a caracterização de germoplasma vegetal (MARTINS et al., 2003).

Dentro desse contexto, este trabalho teve como objetivo avaliar a diversidade genética molecular entre 14 plantas sexuais tetraploides de *P. maximum*, disponíveis no banco de germoplasma da Embrapa Gado de Corte, utilizando-se marcadores RAPD.

Material e métodos

Foram preparadas mudas de 14 plantas sexuais tetraploides do banco de germoplasma da Embrapa Gado de Corte, Campo Grande, MS, as quais foram mantidas em casa de vegetação. As plantas utilizadas foram denominadas S7, S8, S9, S10, S11, S12, S13, S14, S15, S16, S17, S18, S19 e S23.

Para a extração de DNA foram colhidas folhas jovens, do segundo nó, que foram maceradas, ainda frescas, utilizando nitrogênio líquido. Foi utilizado o protocolo de BONATO et al. (2002) no qual o tampão de

extração é constituído por CTAB (brometo de cetilmetilamônio) 2%; 1,4 M NaCl; 2-β-mercaptoetanol 0,2%; 20 mM EDTA; 100 mM Tris-HCl pH 8; PVP 40 1%.

As concentrações dos DNA extraídos foram estimadas em gel de agarose 0,8%, pré-corado com brometo de etídio (0,5 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$), comparando-se com padrões do Lambda DNA (Invitrogen) de concentrações conhecidas (100 ng. μL^{-1} , 200 ng. μL^{-1} e 300 ng. μL^{-1}).

As reações de amplificação foram feitas em volume final de 25 μL , contendo em cada reação as seguintes concentrações finais dos reagentes: 0,4 μM de primer; 0,2 mM de cada dNTPs (Invitrogen); 1,0 U de Taq DNA polimerase (Invitrogen); 1x tampão da Taq DNA polimerase (Invitrogen); 1,5 mM MgCl_2 (Invitrogen) e 30 ng de DNA.

Foi utilizado o termociclador PTC 100 (MJ Research), programado para uma desnaturação inicial a 94°C por cinco minutos, seguida por 40 ciclos: 94°C por um minuto (desnaturação), 35°C por um minuto (pareamento dos primers) e 72°C por dois minutos (extensão); e uma extensão final a 72°C por sete minutos.

Foram testados 30 primers em quatro amostras de DNA de *P. maximum* com três repetições para seleção daqueles que apresentassem maior número, nitidez de bandas de DNA amplificadas e reprodutibilidade. Para cada primer randômico analisado foi feita uma reação controle negativo (branco), contendo todos os reagentes exceto o DNA, usada para aumentar a confiabilidade dos resultados.

Os fragmentos amplificados foram submetidos à eletroforese em gel de agarose 1,5%, pré-corado com brometo de etídio (0,5 $\mu\text{g}/\text{mL}$), visualizados sob luz ultravioleta e fotodocumentados em sistema digital L.Pix Image (Loccus Biotecnologia).

Os perfis de RAPD obtidos foram analisados pela presença "1" ou ausência "0" de bandas e uma planilha de dados foi obtida com todos os

primers. Esses dados foram analisados pelo software Genes (CRUZ, 2008).

Para análise de similaridade genética utilizou-se o coeficiente de Jaccard ($S = N/P$), onde, "N" é o número de concordâncias positivas e "P" é o total de variáveis menos as concordâncias negativas. A análise de agrupamento foi feita baseada nas dissimilaridades genéticas ($D = 1 - S$) utilizando-se o método de médias aritméticas dos pares de grupos não-balanceados (UPGMA - Unweighted Pair-group Method with Arithmetical Average) o qual gerou um dendrograma.

Uma análise de bootstrap com 1000 reamostragens também foi feita usando o programa Genes para verificar a consistência dos grupos formados. Valores de bootstrap superiores a 95% foram considerados altamente significantes, valores entre 70-94% foram considerados moderadamente significantes e valores entre 51-69% foram considerados pouco significantes, seguindo a classificação destacada por MAROUELLI et al. (2010).

Resultados e discussão

Dos 30 primers testados em quatro amostras de DNA de *Panicum maximum* 17 geraram bandas nítidas e reprodutíveis. Foram eles: OP2, OP3, OP12, OP21, OP32, OP45, OP52, OP81, OPA3, OPJ16, OPQ6, OPQ20, OPAB1, OPAC17, OPAF2, OPAK19 e OPBA2.

Esses primers foram utilizados para amplificar o DNA das 14 plantas estudadas e forneceram um total de 145 bandas utilizadas para estimar a diversidade genética nessas plantas, resultando em uma média de aproximadamente 8,5 bandas por primer. A Figura 1 apresenta, como exemplo, o perfil eletroforético obtido por meio da amplificação do DNA das 14 plantas sexuais estudadas com o primer OP2. Foram analisadas as bandas entre 300 e 1500pb, nítidas e reprodutíveis.

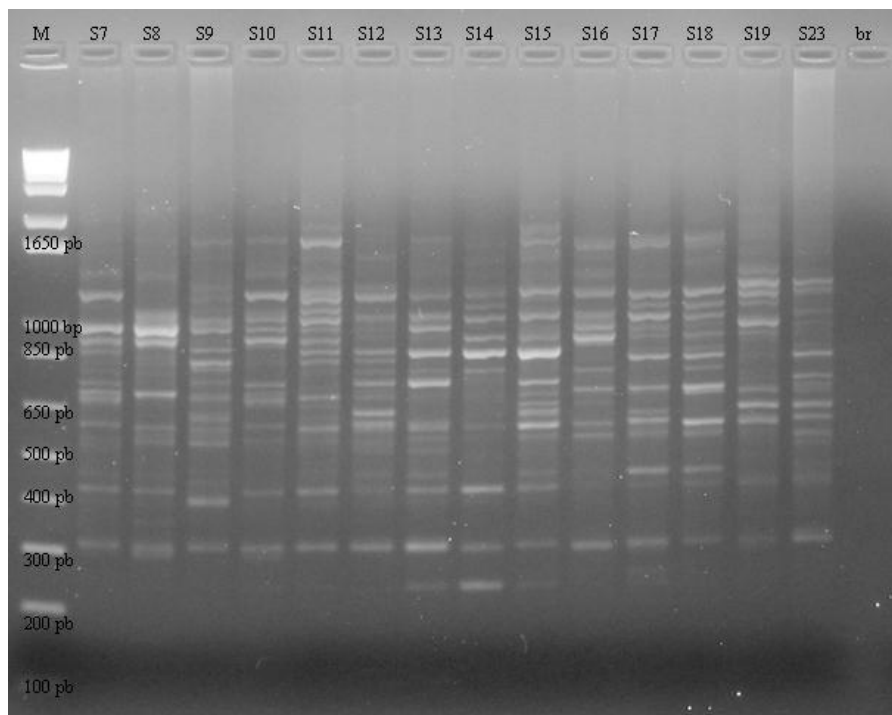


Figura 1. Perfil de RAPD gerado com o primer OP2 para as 14 plantas sexuais de *Panicum maximum*. M é marcador de peso molecular 1Kb plus DNA ladder (Invitrogen) e br é o controle negativo da reação (branco).

Na análise com as 14 plantas, 128 bandas amplificadas foram polimórficas (~88,3%), perfazendo uma média de aproximadamente 7,5 bandas polimórficas por primer. O número de bandas polimórficas amplificadas por primer variou de cinco a dez. Os primers que mais se destacaram com dez bandas polimórficas cada um foram OP2, OP21 e OPAK19 (Tabela 1).

Tabela 1 - Primers randômicos utilizados para a amplificação do DNA de 14 plantas sexuais poliploides de *P. maximum* com suas seqüências de nucleotídeos, número de bandas amplificadas e número de bandas polimórficas observadas

Primer	Seqüência de nucleotídeos	Número de bandas amplificadas	Número de bandas polimórficas
OP2	<i>GGG AAC GTG T</i>	13	10
OP3	<i>CAA ACG TGG G</i>	9	9
OP12	<i>ACA ACT GGG G</i>	10	8
OP21	<i>CCC AGT CAC T</i>	10	10
OP32	<i>GGC ACG CGT T</i>	7	5
OP45	<i>TGG AAG CAC C</i>	5	5
OP52	<i>AAG TGC ACG G</i>	5	5
OP81	<i>GGA GCG TAC T</i>	8	8
OPA3	<i>AGT CAG CCA C</i>	6	6
OPJ16	<i>CTG CTT AGG G</i>	7	6
OPQ6	<i>GAG CGC CTT G</i>	7	6
OPQ20	<i>TCG CCC AGT C</i>	10	7
OPAB1	<i>CCG TCG GTA G</i>	11	9
OPAC17	<i>CCT GGA GCT T</i>	9	9
OPAF2	<i>CAG CCG AGA A</i>	9	7
OPAK19	<i>TCG CAG CGA G</i>	11	10
OPBA2	<i>TGC TCG GCT C</i>	8	8
Total		145	128

Os valores de similaridade genética obtidos variaram de 0,34 a 0,69, com média de 0,50 (50%). Os materiais mais similares foram S17 e S18, ambos derivam dos mesmos progenitores diretos: planta sexual tetraplóide S2.T e acesso apomítico C1. A planta sexual S2.T é uma das plantas resultantes da tetraploidização por colchicina da planta sexual K189 coletada na Tanzânia (SAVIDAN, 1982).

As plantas mais divergentes geneticamente foram S12 e S16, que derivam de progenitores diferentes, mas com certo grau de parentesco. A planta S12 originou-se do cruzamento entre a planta sexual tetraploidizada, denominada K189, e o acesso apomítico K26, enquanto a planta S16 originou-se do cruzamento entre a planta sexual 1S1 e o acesso apomítico C1. A planta sexual 1S1, por sua vez, foi selecionada a partir do cruzamento entre a planta sexual tetraploidizada K189 e o acesso apomítico G23.

Esses resultados mostraram que a similaridade genética observada entre as plantas avaliadas com os marcadores RAPD vai ao encontro das informações sobre o parentesco entre essas plantas.

Em estudo de diversidade genética em 24 acessos apomíticos de *P. maximum* realizado por BONATO et al. (2003) com 79 marcadores RAPD polimórficos, a similaridade genética calculada pelo coeficiente de Jaccard variou de 0,15 a 0,97, com média de 0,39 (39%), inferior a encontrada neste trabalho. Comparando-se esses resultados, as plantas sexuais aqui estudadas apresentam menor diversidade que as plantas apomíticas estudadas por BONATO et al. (2003). Entretanto esses autores utilizaram um maior número de primers e um número maior de indivíduos, o que pode ter contribuído para esse resultado.

Em outros estudos que analisaram a variabilidade genética em acessos apomíticos de *P. maximum*, porém usando marcadores isoenzimáticos, também foi observada alta variabilidade genética (ASSIENAN; NOIROT, 1996; JAIN et al., 2006).

Em outras espécies do gênero *Panicum*, marcadores RAPD também foram utilizados para estudos de variabilidade genética. M'Ribbu e Hilu (1994) estimaram valores de similaridade que variaram de 0,60 a 1,0, utilizando o coeficiente de Dice. Gunter et al. (1996) avaliaram 14 populações de *P. virgatum* e as similaridades entre elas, obtidas pelo coeficiente de Dice, variaram de 0,53 a 0,78.

Pela análise do dendrograma obtido para as 14 plantas sexuais observa-se a formação de quatro grupos principais com base nos valores de bootstrap. Foram considerados como grupos sempre que as ramificações alcançaram valores de bootstrap iguais ou superiores a 70%. As plantas S16 e S13 não foram agrupadas com nenhuma outra planta avaliada, sendo, portanto as que possuem maior distância genética entre as demais (Figura 2).

Esses resultados podem auxiliar o melhorista na escolha das plantas sexuais para uso como progenitoras em cruzamentos com cultivares apomíticas, visando à obtenção de populações mais divergentes no programa de melhoramento genético de *P. maximum*.

Conclusões

Os resultados obtidos por meio de 128 marcadores RAPD polimórficos mostram que as 14 plantas sexuais tetraploides de *P. maximum* do banco de germoplasma da Embrapa Gado de Corte possuem moderada variabilidade genética e que as plantas S16 e S13 são as mais divergentes das demais.

Agradecimentos

Os autores agradecem à Gisele O. C. Leguizamón, assistente de laboratório da Embrapa Gado de Corte, pelo auxílio na realização deste trabalho; e à UNIPASTO (Associação para o Fomento à Pesquisa de Melhoramento de Forrageiras Tropicais) pelo apoio financeiro.

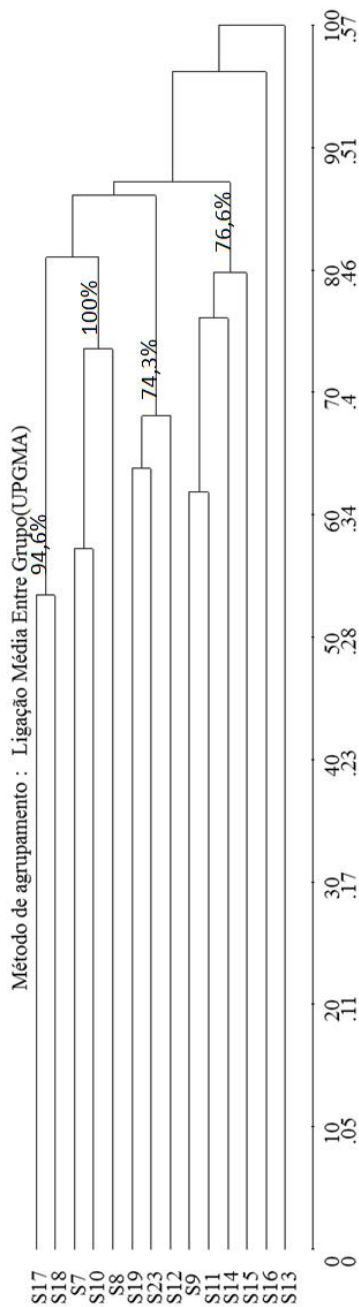


Figura 2. Dendrograma baseado nas dissimilaridades genéticas obtidas com o coeficiente de Jaccard mostrando o agrupamento das 14 plantas sexuais tetraploides de *P. maximum*. Nas ramificações são mostrados os valores de bootstrap que indicam confiabilidade maior que 70%. Dados obtidos com 1.000 reamostragens.

Referências bibliográficas

ALMEIDA, M. C. da C.; CHIARI, L.; JANK, L.; VALLE, C. B. do Diversidade genética molecular entre cultivares e híbridos de *Brachiaria* spp. e *Panicum maximum*. *Ciência Rural*, Santa Maria, v.41, n.11, p.1998-2003, nov. 2011.

ALMEIDA, M. C. da C.; CHIARI, L.; JANK, L.; VALLE, C. B. do Diversidade genética molecular entre cultivares e híbridos de *Brachiaria* spp. e *Panicum maximum*. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.41, n.11, p.1998-2003, nov. 2011.

ASSIENAN, B.; NOIROT, M. Isozyme polymorphism and organization of the agamic complex of the Maximae (*Panicum maximum* Jacq., *P. infestum* Anders and *P. trichocladum* K. Schum.) in Tanzania. **Theoretical and Applied Genetics**, Heidelberg, v.91, n.4, p.672-680, 1996.

BONATO, A. L. V.; JANK, L.; RESENDE, R. M. S.; VALLE, C. B. do; LEGUIZAMON, G. Similaridade genética entre acessos de *Panicum maximum* Jacq. determinada por marcadores RAPD. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MELHORAMENTO DE PLANTAS, 2., 2003, Porto Seguro. **Melhoramento e qualidade de vida: [anais]**. Porto Seguro: SBMP, 2003. 6 p. 1 CD-ROM.

BONATO, A. L. V.; VALLE, C. B. do; JANK, L.; RESENDE, R. M. S.; LEGUIZAMON, G. O. de C. **Extração de DNA genômico de *Brachiaria* e *Panicum maximum***. Campo Grande, MS: Embrapa Gado de Corte, 2002. 4 p. (Embrapa Gado de Corte. Comunicado técnico, 79).

CHIARI, L.; SALGADO, L. R.; VALLE, C. B. do; CANÇADO, L. J.; VALLE, J. V. R. do; LEGUIZAMON, G. O. C. **Estimativa da variabilidade genética em acessos de *Brachiaria humidicola* utilizando marcadores RAPD**. Campo Grande, MS: Embrapa Gado de Corte, 2007. 21 p. (Embrapa Gado de Corte. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, 22).

CHIARI, L.; ROCHA, M. da; SALGADO, L. R.; VALLE, C. B. do. **Variabilidade genética em acessos e cultivares de quatro espécies de *Brachiaria* estimada por marcadores RAPD**. Campo Grande, MS: Embrapa Gado de Corte, 2008. 20 p. (Embrapa Gado de Corte. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, 24).

COMBES, D.; PERNÈS, J. Variations dans le nombres chromosomiques du *Panicum maximum* Jacq. en relation avec le mode de reproduction. **Comptes Rendus de l'Academie des Sciences**, Paris, v.270, p.782-785, 1970.

CRUZ, C. D. **Programa genes: diversidade genética**. Viçosa, MG: UFV, 2008. 278 p.

GUNTER, L. E.; TUSKAN G. A.; WULLSCHLEGER S. D. Diversity among populations of switchgrass based on RAPD markers. **Crop Science**, Madison, v.36, p.1017-1022, 1996. Issue 4.

JAIN, A.; ROY, A. K.; KAUSHAL, P.; MALAVIYA, D. R.; ZADOO, S. N. Isozyme banding pattern and estimation of genetic diversity among guinea grass germplasm. **Genetic Resources and Crop Evolution**, Dordrecht, v.53, n.2, p.339-347, 2006.

JANK, L.; RESENDE, R. M. S.; VALLE, C. B. do; RESENDE, M. D. V. de; CHIARI, L.; CANÇADO, L. J.; SIMIONI, C. Melhoramento genético de *Panicum maximum*. In: RESENDE, R. M. S.; VALLE, C. B. do; JANK, L. (Ed.). **Melhoramento de forrageiras tropicais**. Campo Grande, MS: Embrapa Gado de Corte, 2008. p. 55-87.

JANK, L.; VALLE, C. B. do; CARVALHO, J.; CALIXTO, S. Evaluation of guineagrass (*Panicum maximum* Jacq. hybrids in Brazil). In: INTERNATIONAL GRASSLAND CONGRESS, 19, 2001, São Pedro. **Grassland ecosystems: an outlook into the 21st century: Proceed-ings**. Piracicaba: Sociedade Brasileira de Zootecnia: FEALQ, 2001. p.498-499.

JUNGMANN, L.; VIGNA, B. B. Z.; BOLDRINI, K. R.; SOUSA, A. C. B. de; VALLE, C. B. do; RESENDE, R. M. S.; PAGLIARINI, M. S.; ZUCCHI, M. I.; SOUZA, A. P. de . Genetic diversity and population structure analysis of the tropical pasture grass *Brachiaria humidicola* based on microsatellites, cytogenetics, morphological traits, and geographical originjungman. **Genome**, v. 53, p. 698-709, 2010.

MAROUELLI, L. P.; INGLIS, P. W.; FERREIRA, M. A.; BUSO, G. S. C. Genetic relationships among *Heliconia* (Heliconiaceae) species based on RAPD markers. **Genetics and Molecular Research**, v.9, n.3, p.1377-1387, 2010.

MARTINS, C. M.; XAVIER, G. R.; RUMJANEK, N. G. **Utilização de RAPD como marcador molecular em plantas**. Seropédica: Embrapa Agrobiologia, 2003. 39 p.

M'RIBU, H. K.; HILU, K. W. Detection of interspecific and intraspecific variation in *Panicum* millets through random amplified polymorphic DNA. **Theoretical and Applied Genetics**, Heidelberg, v.88, n.3-4, p.412-416, 1994.

NOGLER, G. A. Gametophytic apomixis. In: JOHRI, B.M. (Ed.). **Embriology of angiosperms**. Berlim: Springer Verlag, 1984. p. 475-518.

RESENDE, R. M. S.; JANK, L.; VALLE, C. B. do; BONATO, A. L. V. Biometrical analysis and selection of tetraploid progenies of *Panicum maximum* using mixed model methods. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v.39, n.4, p.335-341, 2004.

SAVIDAN, Y. Nature et hérédité de l'apomixie chez *Panicum maximum* Jacq. **Travaux et Documents de l'ORSTOM**, Paris, v. 153, p. 1-159, 1982.

SOUSA, A. C. B. ; JANK, L. ; CAMPOS, T. ; SFORÇA, D. A. ; ZUCCHI, M. I. ; SOUZA, A. P. Molecular diversity and genetic structure of Guineagrass (*Panicum maximum* Jacq.), a tropical pasture grass. **Tropical Plant Biology**, v. 4, p. 185-202, 2011.

WILLIAMS, J. G. K.; KUBELIK, A. R.; LIVAK, K. L.; RAFALSKI, J. A.; TINGEY, S. V. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers useful as genetic markers. **Nucleic Acidic Research**, Oxford, v.18, n.22, p.6531-6535, 1990.

VIGNA, B. B. Z.; JUGMANN, L.; FRANCISCO, P. M.; ZUCCHI, M. I.; VALLE, C. B. do; SOUZA, A. P. de. Genetic diversity and population structure of the *Brachiaria brizantha* germplasm. **Tropical Plant Biology**, v.4, n.3-4, p.157-169, 2011.

ZORZATTO, C.; CHIARI, L.; VALLE, C. B. do; LEGUIZAMON, G. O. C. Estudo da variabilidade genética em *Brachiaria dictyoneura* por marcadores RAPD. **Publicatio UEPG Ciências Biológicas e da Saúde**, Ponta Grossa, v.15, n.1, p.59-66, 2009.



Gado de Corte

**Ministério da Agricultura,
Pecuária e Abastecimento**

**Governo
Federal**

CGPE 10006