

**Variabilidade Genética em
Acessos e Cultivares de Quatro
Espécies de *Brachiaria* Estimada
por Marcadores RAPD**



ISSN 1983-9715

Setembro, 2008

*Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Embrapa Gado de Corte
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento*

Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento 24

Variabilidade Genética em Acessos e Cultivares de Quatro Espécies de *Brachiaria* Estimada por Marcadores RAPD

*Lucimara Chiari
Maíra da Rocha
Cacilda Borges do Valle
Leonardo Rippel Salgado*

Embrapa Gado de Corte
Campo Grande, MS
2008

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: *Cleber Oliveira Soares*

Secretário-Executivo: *Grácia Maria Soares Rosinha*

Membros: *Antonio do Nascimento Rosa, Ecila Carolina Nunes Zampieri Lima, Geraldo Augusto de Melo Filho, Grácia Maria Soares Rosinha, Lúcia Gatto, Manuel Antônio Chagas Jacinto, Elane de Souza Salles, Tênisson Waldow de Souza, Wilson Werner Koller*

Supervisão editorial: *Ecila Carolina Nunes Zampieri Lima*

Revisão de texto: *Lúcia Helena Paula do Canto*

Normalização bibliográfica: *Elane de Souza Salles*

Editoração eletrônica e Tratamento de ilustrações: *Ecila Carolina N. Z. Lima*

Foto da capa: *Arquivo Embrapa Gado de Corte*

1ª edição

1ª impressão (2008): 500 exemplares

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.

Variabilidade genética em acessos e cultivares de quatro espécies de *Brachiaria* estimada por marcadores RAPD / Lucimara Chiari... [et al.]. — Campo Grande, MS : Embrapa Gado de Corte, 2008.

20 p. ; 21 cm. — (Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento / Embrapa Gado de Corte, ISSN 1983-9715 ; 24).

Autores: Lucimara Chiari; Maíra da Rocha; Cacilda Borges do Valle; Leonardo Rippel Salgado.

1. Pastagem. 2. Melhoramento genético vegetal. 3. *Brachiaria brizantha*. 4. *Brachiaria decumbens*. 5. *Brachiaria ruziziensis*. 6. *Brachiaria humidicola*. 7. Poliploidia. 8. Marcador molecular. I. Chiari, Lucimara. II. Rocha, Maíra da. III. Valle, Cacilda Borges do. IV. Salgado, Leonardo Rippel. V. Embrapa Gado de Corte (Campo Grande, MS). VI. Série.

CDD 636.2 (21.ed.)

© Embrapa Gado de Corte 2007

Sumário

Resumo	5
Abstract	7
Introdução	8
Material e Métodos	10
Material Vegetal: coleta, extração e quantificação de DNA	10
Reações de RAPD	10
Identificação dos híbridos	11
Resultados e Discussão	11
Conclusões	13
Agradecimentos	14
Referências	14

Variabilidade Genética em Acessos e Cultivares de Quatro Espécies de *Brachiaria* Estimada por Marcadores RAPD

*Lucimara Chiari*¹

*Maíra da Rocha*²

*Cacilda Borges do Valle*³

*Leonardo Rippel Salgado*⁴

Resumo

A importância do gênero *Brachiaria* para o desenvolvimento da pecuária nas regiões tropicais e subtropicais é notória. *Brachiaria brizantha*, *Brachiaria decumbens*, *Brachiaria ruziziensis* e *Brachiaria humidicola* estão entre as principais espécies utilizadas como forrageiras e fazem parte do programa de melhoramento da Embrapa Gado de Corte. Neste trabalho, a técnica de Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD) foi utilizada para estimar a variabilidade genética em 14 genótipos dessas quatro espécies, incluindo cultivares e acessos utilizados como genitores em cruzamentos inter e intra-específicos. Foram utilizados 47 *primers* que amplificaram 396 bandas, escoradas como "1" para presença e "0" para ausência, e uma matriz de similaridade genética foi construída usando o coeficiente de Jaccard. Os valores de similaridade genética variaram de 0,49 a 0,87, dos quais os acessos mais similares (C48 e B105) pertencem à mesma

¹ Bióloga, D.Sc. em Genética e Melhoramento Vegetal, pesquisadora da Embrapa Gado de Corte, Campo Grande, MS, lchiari@cnpqg.embrapa.br

² Estudante de Graduação em Ciências Biológicas, Bolsista Unipasto, Embrapa Gado de Corte, Campo Grande, MS, maira_bio2006@yahoo.com.br

³ Engenheira Agrônoma, Ph.D. em Genética e Melhoramento Vegetal, pesquisadora da Embrapa Gado de Corte, Campo Grande, MS, cacilda@cnpqg.embrapa.br

⁴ Biólogo, Mestrando em Biotecnologia na Universidade Estadual de Londrina (UEM), leorippel@cnpqg.embrapa.br

espécie, *B. brizantha*. As cultivares *B. brizantha* cv. Marandu e *B. humidicola* cv. BRS Tupi foram as mais divergentes. As análises de agrupamento obtidas pelos métodos Unweighted Pair-group Method with Arithmetical Average (UPGMA) e de Tocher foram similares, dividindo os acessos em quatro grupos que correspondem às espécies estudadas. O dendrograma obtido com o método UPGMA mostrou que *B. brizantha*, *B. decumbens* e *B. ruziziensis* são geneticamente mais próximas entre si do que *B. humidicola*. Além disso, este trabalho possibilitou a identificação de *primers* que podem ser utilizados com a finalidade de identificação precoce de híbridos quando esses genótipos forem utilizados como genitores.

Termos para indexação: *Brachiaria brizantha*, *Brachiaria decumbens*, *Brachiaria ruziziensis*, *Brachiaria humidicola*, forrageiras tropicais, polimorfismos de DNA.

Genetic Variability in Accessions and Cultivars of Four Species of *Brachiaria* Estimated by RAPD Markers

Abstract

The importance of the genus Brachiaria for the development of livestock farming in the tropical and subtropical regions is unquestionable. Brachiaria brizantha, B. decumbens, B. ruziziensis and B. humidicola are among the main species used as forage and those are being bred at the Embrapa Beef Cattle. In this research, the Random Amplified Polymorphic DNA - RAPD technique was utilized to estimate the genetic variability in 14 genotypes of those four species, including cultivars and accessions utilized as genitors in inter and intra-specific crosses. A total of 396 bands were amplified with 47 primers and a matrix of genetic similarity was obtained using the Jaccard's coefficient. The similarity genetic values ranged from 0.49 to 0.87, and the two most similar accessions (B105 and C48) are respectively, a diploid accession and its artificially tetraploidized genotype of B. brizantha. The cultivars B. brizantha cv. Marandu and B. humidicola cv. BRS Tupi were the most divergent genotypes. The clustering analyses obtained by Unweighted Pair-group Method with Arithmetical Average - UPGMA and Tocher methods were similar, separating the accessions into four groups that correspond to the four studied species. The dendrogram obtained by the UPGMA method showed that B. brizantha, B. decumbens and B. ruziziensis are genetically closer than B. humidicola. The RAPD markers were capable of discriminating all the accessions and cultivars.

Moreover, this research identified primers that can be utilized for early identification of hybrids when those genotypes are utilized as genitors.

Index terms: *Brachiaria brizantha*, *Brachiaria decumbens*, *Brachiaria ruziziensis*, *Brachiaria humidicola*, *tropical forages*, *polymorphisms of DNA*.

Introdução

A produção de bovinos no Brasil é baseada no uso de pastagens com predominância de gramíneas do gênero *Brachiaria*. Aproximadamente 85% das áreas de pastagem cultivadas no país são ocupadas por espécies desse gênero (MACEDO, 2005). Dentre elas, destacam-se as espécies *B. decumbens* por causa da boa adaptação a solos ácidos e de baixa fertilidade; *B. brizantha* com resistência à cigarrinha-das-pastagens; *B. ruziziensis* com alto valor nutritivo e *B. humidicola* com boa adaptação a solos ácidos, de baixa fertilidade e maldrenados (VALLE; MILES, 1994).

Apesar da notória importância das pastagens de braquiária como base da produção de gado bovino de corte nos trópicos, são poucas as cultivares disponíveis comercialmente. No Brasil, *Brachiaria brizantha* cv. Marandu e *Brachiaria decumbens* cv. Basilisk ocupam extensas áreas, o que pode colocar em risco todo o sistema de produção, por eventual ataque de pragas ou doenças (PEREIRA et al., 2001). Tal fato demanda o desenvolvimento de novas cultivares de braquiária, visando à diversificação local, regional e nacional de pastagens.

O programa de melhoramento desse gênero realizado pela Embrapa teve início em 1985, com a importação de parte da coleção de germoplasma de *Brachiaria* do Centro Internacional de Agricultura Tropical (Ciat), Colômbia. Atualmente, 435 acessos de 13 espécies estão locados no banco ativo de germoplasma (BAG) da Embrapa Gado de Corte, Campo Grande, MS. Existe uma ampla diversidade morfológica e agronômica nesse BAG, o que possibilitou a seleção e o lançamento de importantes cultivares que hoje respondem por 65% do mercado de sementes forrageiras comercializadas no Brasil. São elas: *B. brizantha* cv. Marandu (1984), *B. brizantha* cv. Xaraés (2003), *B. brizantha* cv. Piatã (2007).

A maioria dos acessos desse BAG é poliplóide e apomítica. A apomixia é um tipo de reprodução assexuada por meio de sementes, com embriões geneticamente idênticos à planta-mãe (NOGLER, 1982). Esse fato dificulta o melhoramento do gênero, pois fontes de sexualidade compatíveis são necessárias para a realização de cruzamentos e, freqüentemente, os indivíduos sexuais são diplóides, tornando-se necessária a duplicação cromossômica por colchicina, antes ou após os cruzamentos (DALL'AGNOL; SCHIFINO-WITTMANN, 2005).

Desde 1988, o programa de melhoramento da Embrapa Gado de Corte vem realizando cruzamentos interespecíficos, usando acessos sexuais de *B. ruziziensis*, duplicados por colchicina, e, como doadores de pólen, acessos e cultivares apomíticos e tetraplóides naturais das espécies *B. brizantha* e *B. decumbens*, entre eles, o capim-marandu e o capim-basilisk, visando a reunir características agrônômicas importantes e explorar a variabilidade genética "aprisionada" pelo modo de reprodução apomítico (VALLE et al., 1993; VALLE, 1999; PEREIRA et al., 2001). Mais recentemente, identificou-se um acesso sexual e tetraplóide natural no BAG de *B. humidicola* (BOLDRINI et al., 2006), e cruzamentos intra-específicos vêm sendo realizados no melhoramento dessa espécie.

No processo de hibridização, tanto inter quanto intra-específica, a distância genética pode ser utilizada como um dos parâmetros para escolha dos genitores. Nesse sentido, os marcadores moleculares representam uma forma rápida e eficiente de análise dessa variabilidade (FERREIRA; GRATTAPAGLIA, 1996).

Dentre os marcadores moleculares mais utilizados para estimar a variabilidade genética destaca-se o Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD) (WILLIAMS et al., 1990), por se tratar de uma metodologia menos laboriosa, com custos comparativamente menores aos das outras técnicas e que podem ser aplicados em genomas desconhecidos (FERREIRA; GRATTAPAGLIA, 1996), como é o caso das espécies de *Brachiaria* e de várias outras gramíneas forrageiras (DAHER et al., 2002; DONG et al., 2003; CHANDRA et al., 2004).

Nesse contexto, a técnica de RAPD foi utilizada neste trabalho com o objetivo de analisar a variabilidade genética de 14 genótipos, acessos e cultivares, pertencentes as quatro principais espécies de *Brachiaria* (*B. brizantha*, *B. decumbens*, *B. ruziensis* e *B. humidicola*), que são utilizados como genitores no programa de melhoramento genético desse gênero desenvolvido pela Embrapa Gado de Corte.

Material e Métodos

Material Vegetal

Foram analisados 14 genótipos, entre cultivares e acessos, das quatro principais espécies de *Brachiaria* utilizadas como forrageiras no Brasil. Todos com o modo de reprodução e nível de ploidia determinados (Tabela 1).

Tabela 1. Acessos e cultivares de *Brachiaria* analisados com seus respectivos números de identificação na Embrapa Gado de Corte e informações sobre o nível de ploidia e modo de reprodução.

Espécie	Nº de identificação na Embrapa Gado de Corte	Nível de ploidia	Modo de reprodução
<i>B. brizantha</i>	B30 (cv. Marandu)	tetraplóide	Apomítica
	C48	tetraplóide	Sexual
	B105	diplóide	Sexual
	B112 (cv. Piatã)	tetraplóide	Apomítica
	B140	tetraplóide	Apomítica
<i>B. decumbens</i>	D05	diplóide	Sexual
	D06	diplóide	Sexual
	D62 (cv. Basilisk)	tetraplóide	Apomítica
<i>B. humidicola</i>	H16 (cv. BRS Tupi)	tetraplóide	Apomítica
	H31	tetraplóide	Sexual
<i>B. ruziensis</i>	R30	tetraplóide	Sexual
	R44	tetraplóide	Sexual
	R46	tetraplóide	Sexual
	R50	tetraplóide	Sexual

Extração e Quantificação de DNA

O DNA genômico foi extraído a partir de folhas jovens (do segundo nó) coletadas de plantas individuais seguindo o protocolo de Bonato et al. (2002a), partindo de aproximadamente 300 mg de folhas frescas.

A quantificação foi realizada em gel de agarose 0,8%, pré-corado com brometo de etídio (0,5 µg/mL), por comparação da intensidade e tamanho das bandas dos DNAs extraídos com as bandas dos padrões de lambda DNA com concentrações conhecidas (100 e 300 ng/µL).

O TBE 1X (0,89 M Tris; 0,89 M borato e 0,08 M EDTA) foi o tampão utilizado para o preparo do gel e para a eletroforese. Os géis foram visualizados em luz ultravioleta (UV) e fotodocumentados em sistema digital.

Reações de RAPD

Cada reação de amplificação foi preparada em um volume final de 25 µL, contendo 1x tampão da Taq DNA polimerase (Invitrogen), 2 mM MgCl₂ (Invitrogen), 0,1 mM dNTPs (Invitrogen), 4% DMSO (Sigma), 1 U Taq DNA polimerase (Invitrogen), 0,4 µM de *primer* e 30 ng de DNA genômico. O termociclador PTC 100 (MJ Research) foi programado para 40 ciclos: desnaturação a 94°C por 40 segundos, anelamento dos *primers* a 40°C por 1,5 minuto e extensão das fitas de DNA a 72°C por 2 minutos; precedidos por uma etapa de desnaturação a 94°C por 5 minutos e encerrado com uma etapa de extensão a 72°C por 7 minutos.

Foram utilizados 47 *primers* (Tabela 2) e para cada um foi feita uma reação controle (branco), com todos os reagentes exceto DNA, para verificar uma possível contaminação dos reagentes e dar maior confiabilidade aos resultados.

Os produtos amplificados foram submetidos à eletroforese em gel de agarose 1,5%, pré-corados com brometo de etídio (5 µg/mL) e visualizados em luz UV. Depois disso, os géis foram fotodocumentados e analisados.

Tabela 2. Seqüência de nucleotídeos dos *primers* utilizados nas análises de RAPD.

<i>Primer</i>	Seqüência de nucleotídeos	<i>Primer</i>	Seqüência de nucleotídeos	<i>Primer</i>	Seqüência de nucleotídeos
A-20	GTT GCG ATC C	B-03	CAT CCC CCT G	M-05	GGG AAC GTG T
AB-01	CCG TCG GTA G	B-14	TGC CGA GTC G	N-01	CTC ACG TTG G
AB-02	GGA AAC CCC T	BA-01	TTC CCC ACC C	N-02	ACC AGG GGC A
AB-03	TGG CGC ACA C	BA-02	TGC TCG GCT C	P-02	TCG GCA CGC A
AC-17	CCT GGA GCT T	BA-03	GTG CGA GAA C	P-14	CCA GCC GAA C
AD-01	CAA AGG CCG G	BB-01	ACA CTG GCT G	Q-06	GAG CGC CTT G
AD-02	CTG AAC CGC T	C-02	GTG AGG CGT C	Q-20	TCG CCC AGT C
AJ-06	GTC GGA GTG G	C-03	GGG GGT CTT T	Z-14	TCG GAG GTT C
AK-04	AGG GTC GGT C	C-09	CTC ACC GTC C	12	ACA ACT GGG G
AK-09	AGG TCG GCG T	D-18	GAG AGC CAA C	21	CCC AGT CAC T
AK-19	TCG CAG CGA G	E-01	CCC AAG GTC C	28	AAG GCT CGA C
AL-01	TGT GAC GAG G	E-03	CCA GAT GCA C	32	GGC ACG CGT T
AL-02	ACC CTG TGG G	F-12	ACG GTA CCA G	52	AAG TGC ACG G
AL-03	CCC ACC CTT G	I-14	TGA CGG CGG T	81	GGA GCG TAC T
AN-10	CTG TGT GCT C	J-16	CTG CTT AGG G	95	GTG ACC AGA G
AN-11	GTC CAT GCA G	L-07	AGG CGG GAA C		

Análise de Dados

As bandas de DNA amplificadas foram analisadas como dados binários, ou seja, "1" para presença e "0" para ausência para construção de uma planilha. Esses dados foram analisados no programa GENES para Windows, versão 2005 (CRUZ, 2004). Uma matriz de similaridade genética foi gerada utilizando o coeficiente de Jaccard (J), que é calculado de acordo com a fórmula $J = N / P$, onde, N é o número de concordâncias positivas e P é o total de variáveis subtraindo as concordâncias negativas.

Os valores de similaridade genética obtidos foram convertidos em dissimilaridade genética (1 - J) e utilizados nas análises de agrupamento realizadas pelos métodos Unweighted Pair-group Method with Arithmetical Average (UPGMA) e de Tocher.

Resultados e Discussão

Os 47 *primers* amplificaram 396 bandas, considerando-se todas as espécies estudadas, perfazendo uma média de 8,4 bandas/*primer*. Porém, essa média variou entre essas espécies, sendo a menor média de 7 bandas/*primer* para *B. decumbens*; e a maior de 12 bandas/*primer* em *B. humidicola*. A média de bandas amplificadas por *primer* encontrada em *B. humidicola* foi próxima à encontrada por Chiari et al. (2006), que analisaram 58 genótipos dessa espécie, incluindo a cultivar BRS Tupi e o acesso H31. Os autores utilizaram 10 *primers* de RAPD e observaram uma média de 10 bandas/*primer*. A Fig. 1 apresenta o perfil de RAPD gerado com o *primer* C-09 para os 14 genótipos de *Brachiaria* estudados, na qual se pode notar a diferença no número de bandas amplificadas entre as espécies.

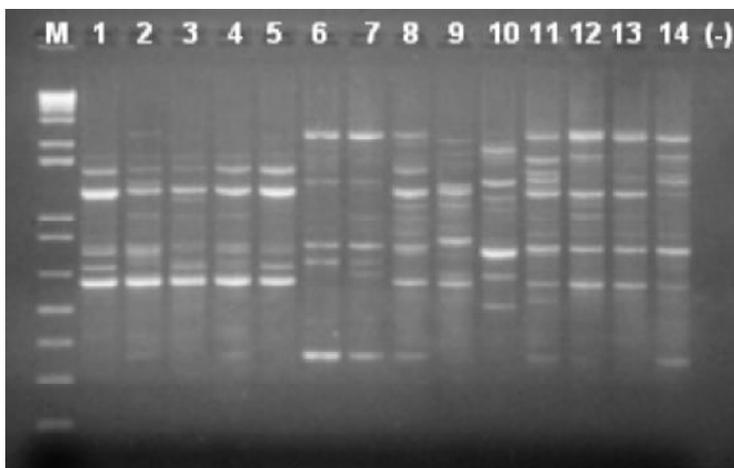


Fig. 1. Perfil de RAPD gerado com o *primer* C-09 para os genótipos de *B. brizantha*: 1) B30 (cv. Marandu), 2) C48, 3) B105, 4) B112 (cv. Piatã) e 5) B140; *B. decumbens*: 6) D05, 7) D06 e 8) D62 (cv. Basilisk); *B. humidicola*: 9) H16 (cv. BRS Tupi) e 10) H31; *B. ruziziensis*: 11) R30, 12) R44, 13) R46 e 14) R50. M: marcador de peso molecular 1kb *plus* DNA *ladder* (Invitrogen); (-): controle-negativo.

A similaridade genética entre todos os genótipos variou de 0,49 a 0,87. A menor similaridade foi entre *B. brizantha* cv. Marandu e *B. humidicola* cv. BRS Tupi, e a maior foi entre os acessos sexuais de *B. brizantha* B105 e C48, sendo o C48 resultante da duplicação cromossômica do acesso B105 (PINHEIRO et al., 2000). O resultado obtido sugere que pode ter ocorrido alguma mutação cromossômica (por exemplo, translocações) no genoma de C48 durante o processo de duplicação *in vitro* usando colchicina.

Bonato et al. (2002b) estudaram a variabilidade genética entre essas espécies, exceto *B. ruziziensis*, por marcadores RAPD e obtiveram resultados similares, pois o maior valor de similaridade genética (0,83) também foi entre os acessos de *B. brizantha* (B70 e B187) e o menor valor (0,09) foi entre um acesso de *B. brizantha* (B132) e um de *B. humidicola* (H13).

Quanto à similaridade genética intra-específica, esta variou de variou de 0,70 a 0,87 em *B. brizantha*, denotando baixa variabilidade entre os acessos e cultivares analisados dessa espécie. O menor coeficiente de similaridade observado foi entre a cv. Marandu e o acesso sexual tetraploidizado artificialmente C48. Esse resultado indica que, entre os genótipos apomíticos estudados, a cv. Marandu é o genitor que propiciará o cruzamento mais divergente quando a planta sexual C48 for utilizada como mãe.

Uma baixa variabilidade genética também foi observada entre os acessos de *B. decumbens* (0,71 a 0,86), dos quais os acessos sexuais diplóides D05 e D06 foram os mais similares. Esses dois acessos são candidatos a ter seus genomas duplicados por colchicina. Diante dos resultados, excluiu-se a necessidade de duplicar ambos os acessos, por causa da alta similaridade genética observada entre eles, diminuindo o volume de trabalho necessário para obtenção de genótipos duplicados, já que possivelmente eles teriam alta similaridade e, portanto, baixa variabilidade genética.

No caso de *B. ruziziensis* também se observou alta similaridade genética, que variou de 0,73 a 0,83, sendo o maior valor encontrado para os acessos R44 e R46 e o menor valor entre R46 e R50.

Entre *B. humidicola* cv. BRS Tupi e a planta sexual H31, o valor de similaridade foi de 0,60. Resultado similar foi relatado por Chiari et al. (2006), que analisaram a variabilidade genética do BAG de *B. humidicola* da Embrapa Gado de Corte por marcadores RAPD e encontraram uma similaridade genética de 0,53 para esses mesmos genótipos. Esses autores utilizaram o coeficiente de Dice. Essa variabilidade genética é importante para *B. humidicola*, para a qual a estratégia de melhoramento é o cruzamento intra-específico.

As análises de agrupamento realizadas pelos métodos de Tocher e UPGMA apontaram resultados similares (Tabela 3 e Fig. 2), separando os acessos em quatro grupos, que equivalem às espécies estudadas.

Pela análise de Tocher, o grupo I corresponde aos acessos de *B. brizantha*, o grupo II aos acessos de *B. decumbens*, o grupo III aos de *B. ruziziensis* e o grupo IV aos acessos de *B. humidicola*. Esses mesmos grupos podem ser facilmente distinguidos no dendrograma gerado pelo método UPGMA, no qual também se observa que os acessos de *B. brizantha*, *B. decumbens* e *B. ruziziensis* são geneticamente mais próximos entre si do que dos acessos de *B. humidicola*. Isso também foi observado por Bonato et al. (2002b) estudando acessos dessas mesmas espécies. Ambos os resultados reforçam as informações taxonômicas do gênero *Brachiaria* apresentadas por Renvoize et al. (1996), em que *B. brizantha*, *B. decumbens* e *B. ruziziensis* são taxonomicamente relacionadas, enquanto *B. humidicola* pertence a um grupo taxonômico à parte dessas espécies. Valle e Miles (2001) também reportaram que *B. brizantha*, *B. decumbens* e *B. ruziziensis* pertencem ao mesmo complexo agâmico, ou seja, podem ser cruzadas entre si, o que não acontece com *B. humidicola*.

Os dados apresentados podem ser úteis na escolha de genitores para futuros cruzamentos utilizando esses acessos e cultivares dessas quatro espécies de *Brachiaria*. Além disso, é importante destacar que utilizando esses 47 *primers* foi possível distinguir todos os indivíduos, incluindo as cultivares. Portanto, esses marcadores juntos podem ser úteis na discriminação dessas e de híbridos gerados a partir delas.

Tabela 3. Agrupamento dos 14 acessos de *Brachiaria* obtido pelo método de Tocher com base nas distâncias genéticas.

Grupos	Acessos
I	B30 C48 B140 B112 B105
II	D62 D06 D05
III	R46 R44 R30 R50
IV	H16 H31

B: *Brachiaria brizantha*; D: *Brachiaria decumbens*; R: *Brachiaria ruziziensis*; H: *Brachiaria humidicola*.

Conclusões

A técnica de RAPD foi capaz de discriminar os genótipos avaliados das diferentes espécies e comprovou que existe variabilidade genética inter e intra-específica que pode ser explorada no programa de melhoramento genético do gênero *Brachiaria*.

Os resultados de similaridade genética podem ser úteis ao melhorista na escolha dos genótipos que serão utilizados em futuros cruzamentos.

Existem diferenças nos perfis eletroforéticos entre as cultivares que podem ser úteis na discriminação destas e de híbridos gerados a partir delas.

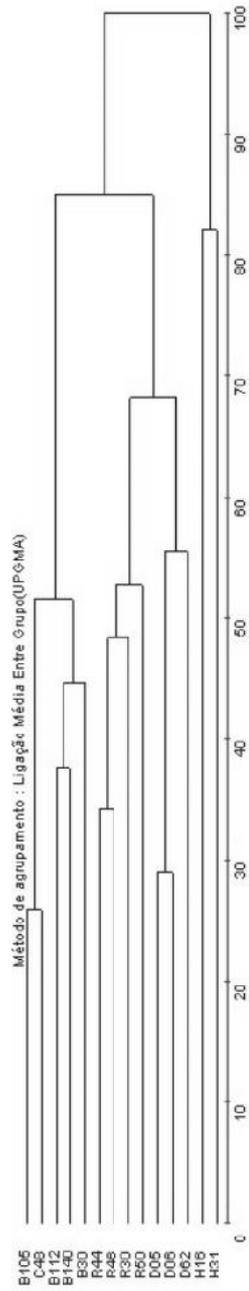


Fig. 2. Dendrograma obtido pelo método UPGMA com base nas dissimilaridades genéticas entre os 14 genótipos de *Bracharia*. B: *Bracharia brizantha*; D: *Bracharia decumbens*; R: *Bracharia ruziziensis*; H: *Bracharia humidicola*.

Referências

- BOLDRINI, K. R. ; PAGLIARINI, M. S. ; VALLE, C. B. do. Abnormal timing of cytokinesis in microsporogenesis of *Brachiaria humidicola* (Poaceae: Paniceae). **Journal of Genetics**, Bangalore, v. 85, n. 3, p. 225-228, Dec. 2006.
- 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: Embrapa Gado de Corte-CNPGC, 2002a. 4 p. (Embrapa Gado de Corte-CNPGC. Comunicado Técnico, 79).
- BONATO, A. L. V.; VALLE, C. B. do; PENTEADO, M. I.; JANK, L.; LEGUIZAMON, G. Determinação da diversidade genética por meio de marcadores moleculares em acessos de *Brachiaria* spp. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 39., 2002, Recife. **A produção animal e a sociedade brasileira: anais**. Recife: UFRPE: SBZ, 2002b. 5 p. 1 CD-ROM.
- CHANDRA, A.; SAXENA, R.; ROY, A. K.; PATHAK, P. S. Estimation of genetic variation in *Dichanthium annulatum* genotypes by the RAPD technique. **Tropical Grasslands**, Brisbane, v. 38, n. 4, p. 245-258, Dec. 2004.
- CHIARI, L.; SALGADO, L. R.; VALLE, C. B.; JUNGSMANN, L.; VALLE, J. V. R.; LEGUIZAMON, G. O. C. Estimativa da variabilidade genética em acessos de *Brachiaria humidicola* utilizando marcadores RAPD. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 43., 2006, João Pessoa. **Produção animal em biomas tropicais: anais**. João Pessoa: Sociedade Brasileira de Zootecnia: UFPB, 2006. 4 p. 1 CD-ROM.
- CRUZ, C. D. **Programa Genes: aplicativos computacional em genética e estatística**. Viçosa, MG: UFV, 2004, 435 p.
- DAHER, R. F.; PEREIRA, M. G.; PEREIRA, A. V.; AMARAL JÚNIOR., A. T. Genetic divergence among elephantgrass cultivars assessed by RAPD markers in composit samples. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 59, n. 4, p. 623-627, Oct./Dec. 2002.
- DONG, Z.; XIE, X.; LU, X.; GUO, H.; SUN, X. Study on the genetic diversity of vetiver grass (*Vetiveria zizanioides*). In: XU, L. Y. (Ed.) **Vetiver and water - an eco-technology for water quality improvement, land stabilization, and environmental enhancement**. Guangzhou: Chinese Academy of Sciences, 2003. p. 524-531.

DALL'AGNOL, M.; SCHIFINO-WITTMANN, M. T. Apomixia, genética e melhoramento de plantas. **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, v. 11, n. 2, p. 127-133, abr-jun. 2005.

FERREIRA, M. E.; GRATTAPAGLIA, D. **Introdução ao uso de marcadores moleculares em análise genética**. 2.ed. Brasília, DF: EMBRAPA-CENARGEN, 1996. 220 p. (EMBRAPA-CENARGEN. Documentos, 20).

MACEDO, M. C. M. Pastagens no ecossistema Cerrados: evolução das pesquisas para o desenvolvimento sustentável. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 42., 2005, Goiânia. **A produção animal e o foco no agronegócio: anais**. Goiânia: Sociedade Brasileira de Zootecnia: Universidade Federal de Goiás, 2005. p. 56-84.

NOGLER, G. A. How to obtain diploid apomictic *Ranunculus auricomus* plants not found in the wild state. **Botanica Helvetica**, Basel, v. 92, p. 13-22, 1982.

PEREIRA, A. V.; VALLE, C. B. do; FERREIRA, R. de P.; MILES, J. W. Melhoramento de forrageiras tropicais. In: NASS, L. L.; VALOIS, A. C. C.; MELO, I. S de; INGLIS-VALADARES, M. C. (Ed.). **Recursos genéticos e melhoramento - plantas**. Rondonópolis: Fundação MT, 2001. p. 549-601.

PINHEIRO, A. A.; POZZOBON, M. T.; VALLE, C. B. do; PENTEADO, M. I. O.; CARNEIRO, V. T. C. Duplication of the chromosome number of diploid *Brachiaria* Brizantha plants, using colchicine. **Plant Cell Reports**, Heidelberg, v. 19, n. 13, p. 274-278, Jan. 2000.

RENVOIZE, S. A., CLAYTON, W. D.; KABUYE, C. H. S. Morphology, taxonomy, and natural distribution of *Brachiaria* (Trin.) Griseb. In: MILES, J. W.; MAASS, B. L.; VALLE, C. B. do (Ed.) **Brachiaria: biology, agronomy, and improvement**. Cali: CIAT; Brasília, DF: EMBRAPA-CNPQC, 1996. p. 1-15.

VALLE, C. B. Selection of interespecific hybrids of *Brachiaria* - a tropical forage grass. In: INTERNATIONAL GRASSLAND CONGRESS, 18, 1997, Winnipeg. **Proceedings...** [S.l.]: Canadian Forage Council, 1999. v. 1. p. 4/103-4/104. section 4. ID n. 1232. 1 CD-ROM.

VALLE, C. B.; GLIENKE, C.; LEGUIZAMON, G. O. C. Breeding of apomictic *Brachiaria* through interspecific hybridisation. In: INTERNATIONAL GRASSLAND CONGRESS, 17., 1993, **Proceedings...** New Zealand: New Zealand Society of Animal Production; Australia: Tropical Grassland Society of Australia: Australian Society of Animal Production – Queensland Branch, 1993. p. 427-428.

VALLE, C. B. do; MILES, J. W. Melhoramento de gramíneas do gênero *Brachiaria*. In: SIMPOSIO SOBRE MANEJO DA PASTAGEM, 11., 1994, Piracicaba. **Anais...** Piracicaba: FEALQ, 1994. p. 1-23.

VALLE, C. B.; MILES, J. W. Breeding of apomictic species. In: SAVIDAN, Y.; CARMAN, J. G.; DRESSELHAUS, T. (Ed.) **The flowering of apomixes: from mechanisms to genetic engineering**. Harare: International Maize and Wheat Improvement Center, 2001. p. 137–152.

WILLIAMS, J. G. K.; KUBELIK, A. R.; LIVAK, K. L.; RAFALSKI, J. A.; TINGEY, S. V. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. **Nucleic Acids Research**, Oxford, v. 18, n. 22, p. 6531-6535, Nov. 25 1990.

Embrapa

Gado de Corte

**Ministério da Agricultura,
Pecuária e Abastecimento**

**Governo
Federal**

CGPE 7730