

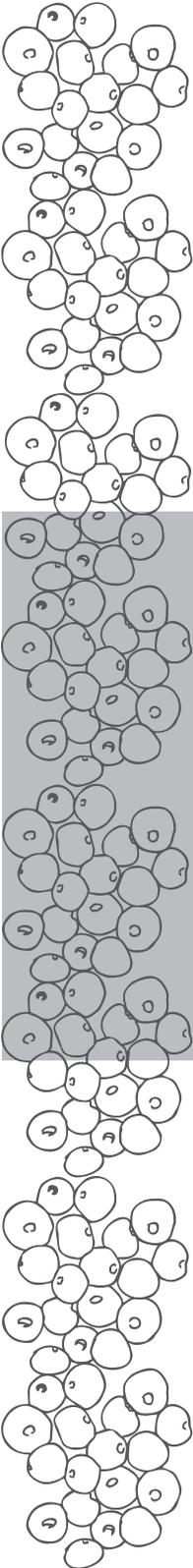
O MURUCIZEIRO

[*Byrsonima crassifolia* (L.) H.B.K.]:

avanços no conhecimento e ações
de pré-melhoramento

Fábio de Lima Gurgel
Editor técnico





**Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Embrapa Amazônia Oriental
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento**

O MURUCIZEIRO

[*Byrsonima crassifolia* (L.) H.B.K.]:

avanços no conhecimento e ações
de pré-melhoramento

Fábio de Lima Gurgel
Editor técnico

Embrapa
Brasília, DF
2016

Embrapa Amazônia Oriental

Tv. Dr. Enéas Pinheiro, s/n.
CEP 66095-903 – Belém, PA.
Fone: (91) 3204-1000
Fax: (91) 3276-9845
www.embrapa.br
www.embrapa.br/fale-conosco/sac

Unidade responsável pelo conteúdo e pela edição

Embrapa Amazônia Oriental

Comitê Local de Publicação

Presidente: *Silvio Brienza Júnior*

Secretário-Executivo: *Moacyr Bernardino Dias-Filho*

Membros: *Orlando dos Santos Watrin*

Eniel David Cruz

Sheila de Souza Correa de Melo

Regina Alves Rodrigues

Luciane Chedid Melo Borges

Supervisão editorial e revisão de texto
Narjara de Fátima Galiza da Silva Pastana

Normalização bibliográfica
Andrea Liliane Pereira da Silva

Projeto gráfico, capa, tratamento de imagens e editoração eletrônica
Vitor Trindade Lôbo

1ª edição

Publicação digitalizada (2016)

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 Amazônia Oriental

O murucizeiro [*Byrsonima crassifolia* (L.) H.B.K.] : avanços no conhecimento e ações de pré-melhoramento / Fábio de Lima Gurgel, editor técnico. – Brasília, DF : Embrapa, 2016.
PDF (50 p.) : il. color

Disponível em: <www.embrapa.br/amazonia-oriental/publicacoes>

ISBN 978-85-7035-633-8

1. Muruci. 2. Fruta tropical. 3. Melhoramento genético. I. Gurgel, Fábio de Lima. II. Embrapa Amazônia Oriental.

CDD (21. ed.) 634.6

© Embrapa 2016

Aplicações de marcadores moleculares em *Byrsonima crassifolia*

Simone de Miranda Rodrigues
Elisa Ferreira Moura Cunha
Maria do Socorro Padilha de Oliveira



O uso de marcadores moleculares em espécies vegetais pode auxiliar no estudo da diversidade genética ao verificar a forma de distribuição da variação genética entre e dentro de populações naturais e os locais de maior ocorrência de variação. Também pode contribuir para inferir acerca da forma de reprodução das espécies. Os marcadores podem indicar locais no quais está ocorrendo maior incidência de cruzamentos entre aparentados, taxas de fluxo gênico entre as populações e relações entre os componentes da população. Além disso, auxiliam no melhoramento genético ao determinar a variação existente nas coleções/bancos de germoplasma, no direcionamento de cruzamentos, em testes de paternidade, verificação de métodos que geram variabilidade, seleção assistida por marcadores e obtenção de marcas que possam descrever clones/variedades/cultivares recomendadas. Dessa forma, o uso de marcadores moleculares em *Byrsonima crassifolia* pode contribuir em diversos aspectos.

Pesquisas em relação ao sistema reprodutivo indicam que espécies do gênero *Byrsonima* apresentam autogamia, alogamia e sistema misto (BENEZAR; PESSONI, 2006). No caso de *B. crassifolia*, o sistema misto garante alto nível de adaptabilidade às condições ambientais e permite a colonização de novas áreas, mantendo elevado potencial evolutivo (SCARIOT et al., 1991). Para determinar a variabilidade genética de espécies, descritores morfológicos têm sido usados com muito sucesso, porém apresentam limitações quanto à quantidade e influência do ambiente. Por apresentarem alto potencial para discriminação de indivíduos, melhoristas têm utilizado marcadores moleculares focados em sequências de DNA para análises de divergência genética dentro e entre populações, sendo

estes universais e não afetados pelo ambiente. Esses tipos de marcadores permitem ampla amostragem do genoma de um indivíduo. Assim, mutações que ocorrem em regiões não codificadoras de genes podem ser identificadas por meio da análise de DNA com base em técnicas de *Polymerase Chain Reaction* (PCR) (TOPPA; JADOSKI, 2013).

O termo *fingerprinting* ou impressão digital tem sido utilizado para descrever o padrão molecular de um genótipo. O fato de os marcadores moleculares disponibilizarem um número quase ilimitado de descritores de DNA disponíveis e possibilitarem o amplo acesso da variabilidade genética em diversas espécies vegetais torna esses descritores de elevada importância para a caracterização de cultivares. Entre as várias aplicações dos marcadores de DNA, estão os estudos de divergência genética em populações, confecção de mapas genéticos de ligação e o uso em QTLs (FERREIRA; GRATTAPAGLIA, 1988; PEREIRA; LEE, 1995), além de ser uma ferramenta importante em trabalhos de seleção assistida por marcadores e ser o primeiro passo para proteger legalmente uma nova cultivar (DAROS et al., 2002). Também podem ser utilizados na identificação de híbridos, determinação da estrutura populacional e variabilidade genética entre indivíduos de populações selvagens e cultivados.

Apesar da importância econômica de *Byrsonima*, ainda são poucos os estudos utilizando marcador molecular para a espécie. O primeiro artigo publicado contendo avaliações moleculares para murucizeiro foi com o marcador molecular *Amplified Fragment Length Polymorphism* (AFLP), que utiliza enzimas de restrição para fragmentar o DNA genômico e não exige conhecimento prévio do genoma a ser avaliado. No trabalho apresentado por Raya-Pérez et al. (2010), ao avaliarem árvores silvestres e cultivadas de *B. crassifolia* na região de Uruapan, no México, o marcador AFLP gerou 172 bandas, revelando elevado grau de similaridade entre 25 das 27 árvores amostradas, com tendência de subagrupamento dos indivíduos de acordo com o local de amostragem. O mais relevante a ser observado é que não houve diferença genética significativa entre os tipos de árvores silvestres e cultivadas que se esperava estarem fortemente separados. Os autores afirmam que apesar das diferenças morfológicas encontradas entre as formas silvestres e cultivadas, o estudo indicou informações genéticas semelhantes entre os grupos e que o processo de domesticação é recente, não havendo forte divergência genética entre os indivíduos avaliados com o uso desse marcador.

Benezar (2006) analisou a diversidade genética entre e dentro de três populações naturais de murucizeiros nas savanas de Roraima, utilizando marcador *Random Amplified Polymorphic DNA* (RAPD). Esses marcadores amplificam aleatoriamente segmentos de DNA de uma grande variedade de espécies e, apesar de suas limitações, têm se mostrado importantes na avaliação da constituição genética de diferentes espécies vegetais. Oito *primers* foram testados em um total de 97 indivíduos (37 área I, 30 área II e 30 área III), mas apenas três foram eficientes para discriminar as três populações estudadas, com 29, 43 e 9 locos polimórficos, respectivamente. Essa mesma população foi avaliada para caracteres morfológicos por Benezar (2004) e, naquele momento, classificou diferentes genótipos como pertencentes a um mesmo grupo, sendo os dados de RAPD avaliados por análise de Tocher, e o marcador sendo capaz de diferir, separar e reagrupar genótipos.

Para a espécie *Byrsonima cydoniifolia*, pertencente ao mesmo gênero de muruci, Bizão et al. (2010) verificaram a diversidade genética utilizando AFLP. Foi avaliada a diversidade genética de uma amostra de 120 plantas provenientes de quatro populações nativas dessa espécie, provenientes da região do Médio Araguaia, Município de Barra do Garças, MT. Foram utilizadas 24 combinações de *primers*, os quais produziram 140 bandas. Pela técnica de agrupamento do vizinho mais próximo, houve a formação de oito grupos distintos, em que no grupo I se enquadraram 113 indivíduos provenientes de todas as quatro populações e os outros sete grupos foram constituídos por um único indivíduo cada. Esses resultados permitiram que os autores concluíssem que as populações nativas de *B. cydoniifolia* possuem grande variabilidade entre e dentro de populações, de forma que qualquer uma das populações pode ser utilizada visando fins de seleção, domesticação e melhoramento genético.

A primeira publicação científica utilizando marcadores RAPD ocorreu em 2013 e enfocou a caracterização molecular de árvores de *B. crassifolia* encontradas em dois municípios no Estado de Tabasco, no México (MARTÍNEZ et al., 2013). Foram avaliados seis *primers*, dos quais quatro amplificaram e destes, três apresentaram polimorfismo. A diversidade genética foi maior dentro (85,20%) do que entre as populações (14,80%), sendo a técnica considerada útil para identificar a variação genética dessa espécie. Os resultados apresentados apresentaram certa coincidência com os relatados por Martínez-Moreno et al. (2006), que caracterizaram morfometricamente frutos de muruci e descobriram que os materiais avaliados formaram grupos bem definidos, com base na cor da fruta,

enquanto a pesquisa usando RAPD mostrou que apenas um dos grupos genéticos foi constituído de árvores que possuíam a mesma cor dos frutos. Segundo Martínez et al. (2013), o baixo polimorfismo encontrado indicou que a variabilidade genética foi pequena para o material avaliado e que os *primers* RAPD usados no estudo apresentaram baixa eficiência para reconhecer regiões homólogas no DNA das plantas avaliadas.

Considerando a importância da espécie, Croft e Schaal (2012) desenvolveram marcadores microssatélites (SSRs) para *B. crassifolia*. *Simple Sequence Repeats* (SSRs) compreendem uma classe de DNA repetitivo composto de pequenas sequências de 1 a 4 nucleotídeos repetidos adjacentes que se encontram dispersos no genoma (SCHLÖTTERER; PEMBERTON, 1998), e constitui um locus genético altamente variável, multialélico e de grande conteúdo informativo (SUNNUCKS, 2000). Neste estudo, foi relatado o desenvolvimento e a caracterização de dez loci microssatélites, sendo dois monofórmicos para a população testada. Também foram avaliados para um indivíduo de quatro espécies pertencentes ao gênero *Byrsonima*, *B. basiloba* A. Juss, *B. bucidaefolia* Standl, *B. variabilis* A. Juss e *B. verbascifolia* (L.) DC. A amplificação foi bem sucedida para todos loci em *B. basiloba* e *B. variabilis*, para quatro loci em *B. bucidaefolia*, e por sete loci em *B. verbascifolia*. A observação de heterozigose em *B. bucidaefolia*, *B. variabilis* e *B. verbascifolia* pode indicar substancial polimorfismo nesses loci nessas espécies, embora todos os loci em *B. basiloba* tenham sido homozigotos. Esses loci irão fornecer novas ferramentas para comparação de diversidade genética entre populações cultivadas e não cultivadas de *B. crassifolia*, além de revelar-se útil para espécies relacionadas.

O desenvolvimento de marcadores SSRs requer infraestrutura moderna e pessoal treinado, encarecendo o desenvolvimento dessas marcas moleculares. Portanto, a transferibilidade de *primers* entre espécies aparentadas (mesmo gênero ou mesma família) pode ser uma alternativa para redução dos custos dessa técnica. Avaliando esse aspecto, Bernardes et al. (2013, 2014) desenvolveram e caracterizaram 17 marcadores SSRs para *B. cydoniifolia*, permitindo investigações mais aprofundadas da variação genética em populações naturais para essa espécie. Entre as marcas avaliadas, 14 foram polimórficas, sendo 11 consideradas adequadas e com bom padrão de amplificação para sequenciamento e 3 monomórficas para os indivíduos avaliados. Entre os polimórficos, foram obtidos de 3 a 17 alelos por locus. Analisando a possibilidade de transferibilidade de marcas moleculares entre espécies relacionadas, esses autores selecionaram

nove SSRs com potencial para serem utilizados em estudo populacionais de *B. crassifolia*. Todos os loci foram polimórficos, sem alelos nulos e sem desvio de Equilíbrio de Hardy-Weinberg, indicando a possibilidade de transferibilidade de marcas moleculares SSRs entre espécies desse gênero (BERNARDES et al., 2013).

Também, em razão da importância de *B. crassifolia*, a Embrapa Amazônia Oriental iniciou pesquisas utilizando marcadores moleculares *Inter Single Sequence Repeats* (ISSR) para caracterizar sua coleção de germoplasma. É um método baseado em microssatélite, que utiliza *primers* complementares a sequências de microssatélites. Os fragmentos amplificados correspondem à sequência de DNA delimitada por dois microssatélites invertidos, sendo empregados para a diferenciação rápida entre indivíduos próximos, por causa do elevado grau de polimorfismo, reprodutibilidade e baixo custo (GODWIN et al., 1997).

Na primeira etapa, objetivou-se selecionar *primers* que forneçam os melhores fragmentos polimórficos para os clones de muruci da Embrapa, totalizando pelo menos 100 bandas polimórficas. Nessa etapa, foram usados 5 clones para serem testados com 100 *primers* ISSRs (801 a 900). Foram selecionados 24 *primers* de acordo com a presença de polimorfismos (Tabela 1). Os demais foram monofórficos ou não apresentaram produtos de boa qualidade, sendo descartados dessa etapa de seleção (RAMOS et al., 2013a).

Tabela 1. *Primers* ISSR selecionados para cinco clones de murucizeiro.

<i>Primer</i>	Número de bandas polimórficas	<i>Primer</i>	Número de bandas polimórficas
808	5	844	3
809	4	845	5
811	5	846	6
812	5	848	6
813	4	850	4
814	5	855	4
815	2	856	4
825	5	857	6
826	4	858	3
835	6	888	5
836	4	889	4
843	4	890	4
Média 4,5			

Na segunda etapa, objetivou-se otimizar as PCR-ISSR usando reações em gradiente para identificar a melhor temperatura de anelamento para cada primer pré-selecionado (RAMOS et al., 2013b). Alguns trabalhos verificaram a necessidade de estudo para determinação de temperatura para adequar amplificação de DNA usando ISSR (MORAGA-SUAZO et al., 2012; SOUZA et al., 2008). Foram utilizados dois clones de murucizeiro, Açú e Maracanã-2, sendo testadas 18 temperaturas de anelamento nas PCR-ISSR (47 °C a 64 °C). As temperaturas de anelamento selecionadas para cada *primer* resultaram em melhor nitidez, intensidade e capacidade de discriminação das bandas em gel (Figura 1). A maior temperatura de anelamento selecionada foi 60 °C para os *primers* ISSR-888, ISSR-889 e ISSR-890; a menor temperatura usada selecionada foi de 47 °C para os *primers* ISSR-847 e ISSR-848; a temperatura de anelamento de 53 °C apresentou melhor qualidade de amplificação para o maior número de *primers* (Tabela 2).

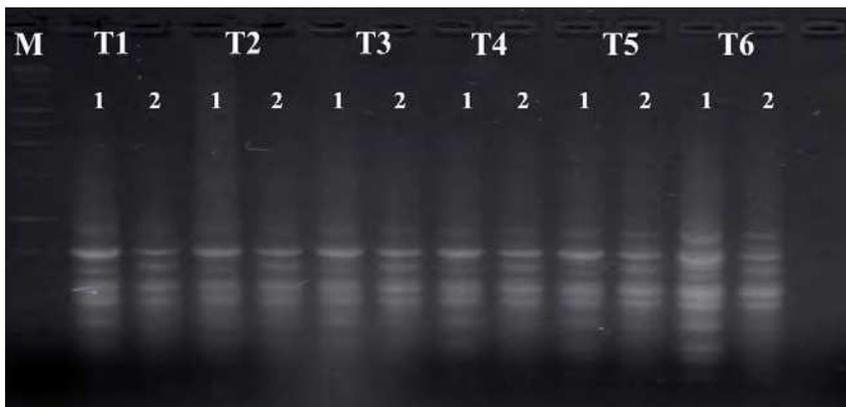


Figura 1. Gradiente de temperatura apresentado para o ISSR 826 usando DNA de 2 clones de muruci (1: Açú e 2: Maracanã-2) (T1= 47 °C, T2=48 °C, T3=49 °C, T4=50 °C, T5=51 °C, T6=52 °C). M é marcador de peso molecular.

Tabela 2. Temperatura ideal de anelamento para *primers* ISSRs selecionados para murucizeiro.

<i>Primer</i>	Temperatura escolhida	<i>Primer</i>	Temperatura escolhida
808	50 °C	844	56 °C
809	57 °C	845	48 °C
811	53 °C	846	52 °C
812	49 °C	848	47 °C

continua...

Tabela 2. Continuação.

<i>Primer</i>	Temperatura escolhida	<i>Primer</i>	Temperatura escolhida
813	53 °C	850	47 °C
814	49 °C	855	53 °C
815	49 °C	856	52 °C
825	52 °C	857	53 °C
826	52 °C	858	53 °C
835	52 °C	888	60 °C
836	56 °C	889	60 °C
843	53 °C	890	60 °C
Média 52,75 °C			

Os *primers* ISSRs 808 (50 °C), 809 (57 °C), 811 (53 °C), 835 (52 °C) e 836 (56 °C) apresentaram temperaturas semelhantes às encontradas em estudos apresentados por Preczenhak (2013), cuja temperatura foi de 50 °C, 55 °C, 53 °C, 54 °C, 53 °C, respectivamente. Gomes et al. (2012) encontrou a mesma temperatura de anelamento para o ISSR 845 (48 °C). Entretanto, para os ISSR 850 (47 °C), 888 (60 °C), 888 (60 °C), 889 (60 °C) e 890 (60 °C) foram relatadas temperaturas diferentes na literatura consultada. Nesse sentido, os *primers* selecionados possuem potencial para análise de divergência genética entre os genótipos de murucizeiro pertencentes à coleção da Embrapa Amazônia Oriental e deverão ser utilizados para tal fim, assim como também em estudos populacionais envolvendo populações cultivadas e não cultivadas dessa espécie.

Referências

BENEZAR, R. M. C. **Diversidade genética dentro e entre populações de murucizeiros (*Byrsonima crassifolia* L.-Kunth)**. 2004. 36 f. Monografia (Especialização em Recursos Naturais) – Programa de Pesquisa e Pós-graduação em Recursos Naturais, Universidade Federal de Roraima, Boa Vista, RR.

BENEZAR, R. M. C. **Sistema reprodutivo e diversidade genética de populações naturais de murucizeiros (*Byrsonima crassifolia* L.-Kunth.) nas savanas de Roraima**. 2006. 67 f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Roraima, Boa Vista, RR.

BENEZAR, R. M. C.; PESSONI, L. A. Biologia floral e sistema de *Byrsonima coccolobifolia* (Kunth.) em uma savana Amazônica. **Acta Amazônica**, v. 36, n. 2, p. 159-168, 2006.

BERNARDES, V.; ANJOS, D. E.; GONDIM, S. G. C. A.; BIZÃO, N.; MURAKAMI, D. M.; TELLES, M. P. C. Isolation and characterization of microsatellite markers for *Byrsonima cydoniifolia* (Malpighiaceae). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE GENÉTICA, 59., 2013, Águas de Lindóia. **Resumos...** Ribeirão Preto: SBG, 2013.

BERNARDES, V.; ANJOS, D. E.; GONDIM, S. G. C. A.; MURAKAMI, D. M.; BIZÃO, N.; TELLES, M. P. C. Isolation and characterization of microsatellite loci in *Byrsonima cydoniifolia* (Malpighiaceae) and cross-amplification in *B. crassifolia*. **Applications in Plant Sciences**, v. 2, n. 5, 1400016, 2014.

BIZÃO, N.; MURAKAMI, D. M.; LEMOS, E. G. de M.; PEREIRA JR, H. A. Estudo da diversidade genética de *Byrsonima cydoniifolia* (Malpighiaceae) através da faFLP. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE GENÉTICA, 56., 2010, Guarujá. **Resumos...** Ribeirão Preto: Sociedade Brasileira de Genética, 2010. p. 73.

CROFT, G. K.; SCHAAL, B. A. Development of microsatellite markers in *Byrsonima crassifolia* (Malpighiaceae). **American Journal of Botany**, v. 99, p. e1111-e1113, 2012.

DAROS, M.; AMARAL JÚNIOR, A. T.; PEREIRA, T. N. S.; LEAL, N. R.; FREITAS, S. P.; SEDIYAMA, T. Caracterização morfológica de acessos de batata-doce. **Horticultura Brasileira**, v. 20, n. 1, p. 43-47, 2002.

FERREIRA, M. E.; GRATTAPAGLIA, D. **Introdução ao uso de marcadores moleculares em análise genética**. 3. ed. Brasília, DF: EMBRAPA-CENARGEN, 1998. 220 p. (EMBRAPA CENARGEN. Documentos, 20).

GODWIN, I. D.; AITKEN, E. A. B.; SMITH, L. W. Application of inter simple sequence repeat (ISSR) markers to plant genetics. **Electrophoresis**, v. 18, n. 9, p. 1524-1528, 1997.

GOMES, S. O.; MENDES, R. F. de M.; LIMAS, P. S. da C. Determinação da temperatura de anelamento com marcadores ISSR em acesso de Pinhão-manso. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE RECURSOS GENÉTICOS, 2., 2012, Belém, PA. **Anais...** Brasília, DF: Sociedade Brasileira de Recursos Genéticos, 2012. 1 CD-ROM. v. 2, p. 1-4.

MARTÍNEZ, M. E.; LESHER G., J. M.; CASTAÑÓN N, G.; CRUZ L., E. de la; ZAPATA H., C. Genetic variability of nanche in Tabasco, Mexico, determined with RAPDs. **Phyton: International Journal of Experimental Botany**, v. 82, p. 209-214, 2013.

MARTÍNEZ-MORENO, E. T.; CORONA-TORRES, E.; AVITIA-GARCÍA, A. M.; CASTILLO-GONZÁLEZ, T.; TERRAZAS-SALGADO; COLINAS-LEÓN, M. T. Caracterización morfológica de frutos y semillas de nanche (*Byrsonima crassifolia* (L.) H. B. K.). **Revista Chapingo serie Horticultura**, v. 12, n. 1, p. 11-17, 2006.

MORAGA-SUAZO, P.; HASBÚN, R.; BALOCCHI, C.; VALENZUELA, S. Establishment and optimization of ISSR and SAMPL molecular markers as a tool for breeding programs of *Pinus radiata*. **Bosque**, v. 33, n. 1, p. 93-98, 2012.

PEREIRA, M. G.; LEE, M. Identification of genomic regions affecting plant height in sorghum and maize. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 90, n. 3/4, p. 380-388, 1995.

PRECZENHAK, A. P. **Diversidade genética estimada por meio de marcadores moleculares e morfoagronômicos em acessos de mini-tomate**. 2013. 67 f. Dissertação (Programa de Pós-Graduação em Agronomia) – Universidade Estadual do Centro-Oeste, Guarapuava.

RAMOS, G. K. L.; RODRIGUES, S. M.; CUNHA, E. F. M.; CARVALHO, J. E. U. Seleção de *primers* ISSR para genotipagem de murici. In: SEMINÁRIO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA EMBRAPA AMAZÔNIA ORIENTAL, 17.; SEMINÁRIO DE PÓS-GRADUAÇÃO DA EMBRAPA AMAZÔNIA ORIENTAL, 1., 2013, Belém, PA. **Anais...** Belém, PA: Embrapa Amazônia Oriental, 2013a.

RAMOS, G. K. L.; RODRIGUES, S. M.; OLIVEIRA, M. S. P.; NASCIMENTO, W. M. O. Otimização de PCR-ISSR para amplificação de DNA genômico de *Byrsonima crassifolia*. In: SEMINÁRIO ANUAL DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFRA, 11., 2013, Belém, PA. **Anais...** Belém, PA: Universidade Federal Rural da Amazônia, 2013b.

RAYA-PÉREZ, J. C.; AGUIRRE-MANCILLA, C. L.; GIL-VEJA, K.; SIMPSON, J. La domesticación de plantas en México: Comparación de la forma cultivada y silvestre de *Byrsonima crassifolia* (Malpighiaceae). **Polibotánica**, n. 30, p. 239-256, 2010.

SCARIOT, A. O.; LLERAS, E.; HAY, J. D. Reproductive biology of the palm *Acrocomia aculeata* in Central Brazil. **Biotropica**, v. 23, n. 1, p. 12-22, 1991.

SCHLÖTTERER, C.; PEMBERTON, J. The use of microsatellites for genetic analysis of natural populations – a critical review. In: DeSALE, R.; SCHIERWATER, B. (Ed.). **Molecular approaches to ecology and evolution**. [S.l.]: Birkhäuser Basel, 1998. p. 71-86.

SOUZA, G. A.; CARVALHO, M. R. O.; MARTINS, E. R.; GUEDES, R. N. C.; OLIVEIRA, L. O. Diversidade genética estimada com marcadores ISSR em populações brasileiras de *Zabrotes subfasciatus*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 43, n. 7, p. 843-849, 2008.



O murucizeiro [*Byrsonima crassifolia* (L.) H.B.K.]: avanços no conhecimento e ações de pré-melhoramento

SUNNUCKS, P. Efficient genetic markers for population biology. **Trends Ecology Evolution**, v. 15, n. 5, p. 199-203, 2000.

TOPPA, E. V. B.; JADOSKI, C. J. O uso dos marcadores moleculares no melhoramento genético de plantas. **Scientia Agraria Paranaensis**, v. 12, n. 1, p.1-5, 2013.