

Avanços na genética e melhoramento de gramíneas forrageiras do gênero *Urochloa* por meio de ferramentas moleculares

Leão, U.S.^{1,2}; Girão, M.V.D.³; Bueno, L.G.⁴; Silva, G.R.³ and Diniz, F.M.³

¹Universidade Estadual do Piauí, UESPI, São Raimundo Nonato PI 64770-000, Brazil.

²Northeast Biotechnology Network - RENORBIO/Animal Science Program - PPGCA, Universidade Federal do Piauí, Teresina PI 64049-550, Brazil.

³Embrapa Caprinos e Ovinos, Fazenda Três Lagoas, Estrada Sobral/Groaíras, Km 4, Caixa Postal: 71, CEP: 62010-970, Sobral, Ceará, Brazil.

⁴Embrapa Gado de Corte, Avenida Rádio Maia, nº 830, Zona Rural, 79106-550, Campo Grande, MS, Brazil.

PALAVRAS CHAVE

Gramíneas.
Ferramentas moleculares.
Bibliometria.
Mapas conceituais.
Mapas temáticos.
Poaceae.

RESUMO

Gramíneas do gênero *Urochloa* constituem um dos grupos mais empregados na alimentação de animais ruminantes no mundo. O objetivo desta investigação foi realizar uma revisão sistemática reunindo estudos relevantes às temáticas ligadas à genética, melhoramento e marcadores moleculares comumente aplicados nos processos de melhoramento do gênero *Urochloa*. O pacote R de análise bibliométrica, Bibliometrix, processou os dados obtidos nas buscas. O estudo indicou que o Brasil é o país com maior número de publicações relacionadas ao gênero. Os marcadores moleculares mais utilizados são os microssatélites, RAPDs e SNPs, que foram ideais para a construção de mapas de ligação e estudos de diferenciação e diversidade genética. Ficou evidente a necessidade de ampliação dos estudos genéticos em outras espécies de *Urochloa*, de forma a facilitar a seleção de caracteres de interesse e o direcionamento de cruzamentos que garantam a formação de genótipos com maior variabilidade genética para exploração nos programas de melhoramento.

Advances in genetics and breeding of *Urochloa* forage grasses using molecular tools

SUMMARY

The grasses of the genus *Urochloa* (synonym *Brachiaria*) are utilized extensively for animal grazing in the world. The aim of this study was to carry out a systematic review, bringing together studies related to genetics, breeding and use of molecular markers in *Urochloa* grasses. The R-package Bibliometrix was used for bibliometric and co-citation analysis in this research. Brazil stood out as the country with the largest number of publications related to the genus. Most used molecular markers were microsatellites, RAPDs and SNPs, which were ideal for building linkage maps and for studies of differentiation and genetic diversity. The need to expand genetic studies in other species of *Urochloa* became evident; in order to allow the selection of characters of interest and the direction of crosses that guarantee the formation of genotypes with greater genetic variability for exploitation in breeding programs.

ADDITIONAL KEYWORDS

Grasses.
Molecular tools.
Bibliometrics.
Conceptual maps.
Thematic maps.
Poaceae.

INFORMATION

Cronología del artículo.
Recibido/Received: 09.09.2024
Aceptado/Accepted: 11.01.2026
On-line: 15.01.2026
Correspondencia a los autores/Contact e-mail:
fabio.diniz@embrapa.br

INTRODUÇÃO

Pertencente à família Poaceae e subfamília Panicoideae, o gênero *Urochloa* (sinônimo *Brachiaria*) é uma gramínea perene que possui adaptação flexível aos mais diversos climas, com possibilidade de se ajustar aos diferentes tipos de solos. Sua distribuição geográfica se concentra nas regiões tropicais e subtropicais, no continente africano (centro de origem) e nas Américas (Silva et al., 1984; Oliveira, 1999; Bueno et al., 2019; Bueno et al., 2022).

Com hábito de crescimento variável, os caules de *Urochloa* são lisos e de pequeno porte, podendo alcançar até 100 cm de comprimento, com folhas que apresentam pelos em ambas as faces (Oliveira, 1999) (**Figura 1**). Suas flores caracterizam-se basicamente por conterem de um a três estames, com espiga unilateral ou panícula, e colmo herbáceo florescendo todos os anos. Sua reprodução pode ser sexuada ou apomítica do tipo gametofítica apospórica que é caracterizada por ser um tipo de reprodução assexuada pseudogâmica com embriões originados da fecundação, somente da célula central do saco embrionário (Ngendahayo, 1988).

O gênero *Urochloa* tem tido grande importância econômica para a pecuária, principalmente por fazer parte da alimentação de animais domésticos ruminantes, sendo caracterizado em função dos altos níveis de proteína e alta digestibilidade (Oliveira, 1999). Grandes esforços para o melhoramento dessas plantas cultivadas vêm sendo realizados em diversas partes do mundo, principalmente no Brasil que é considerado o maior exportador de carne bovina, o que deve ter contribuído para que o país se destaque como um dos maiores produtores de sementes de forrageiras do

planeta. Porém, a produção é baseada em sistemas de monocultura com uso em larga escala de poucos clones de alto desempenho em extensas faixas territoriais, o que pode desencadear no futuro grandes prejuízos para pecuária brasileira devido à fragilidade genética (Barbosa et al., 2006).

Dessa forma, há a necessidade do uso de tecnologias mais avançadas que venham a contribuir para que se tenha uma melhor caracterização dos genótipos utilizados nas lavouras, de forma a selecionar e direcionar cruzamentos mais eficazes, a fim de se gerar maior diversidade genética, e por consequência, maior flexibilidade adaptativa.

Dentro dessa expectativa, os marcadores moleculares têm se destacado bastante em pesquisas com plantas forrageiras, sendo aplicadas não só, na caracterização e diferenciação de genótipos, como na identificação de QTLs (*Loci* de características quantitativas – *Quantitative Traits Loci*) ligados a caracteres de importância agrônoma (Ferreira et al., 2019; Vigna et al., 2016a).

Assim, para vislumbrar estratégias mais eficientes de melhoramento genético é necessário conhecer as técnicas e os marcadores moleculares que estão sendo mais utilizados nos estudos com forrageiras, verificando inclusive, suas vantagens e desvantagens, principalmente no que diz respeito ao gênero *Urochloa*.

Portanto, o objetivo desta investigação foi realizar uma revisão sistemática da literatura reunindo estudos relevantes às temáticas ligadas à genética, melhoramento e aplicabilidade dos marcadores moleculares, comumente aplicados nessas abordagens, no gênero *Urochloa*.



Figura 1. (A) *Urochloa brizantha*; (B) *Urochloa decumbens*; (C) *Urochloa mosambicensis*; (D) *Urochloa subquadriflora*; (E) *Urochloa humidicola*; (F) *Urochloa ruziziensis*.

MATERIAL E MÉTODOS

Para a realização sistemática da revisão de literatura foram feitas buscas por todas as publicações de todo o mundo que abordassem todos os anos até 2020 e que fossem indexados no portal do SCOPUS.

Devido à alta similaridade e à falta de informações conclusivas em relação à distinção taxonômica entre as espécies do gênero *Urochloa* e *Brachiaria*, ambas foram consideradas como sinônimas, conforme sugerido por Valle & Pagliarini (2009).

A investigação foi realizada acessando a página principal, com a busca usando o item que inclui juntos o resumo, título e palavras-chave. De início inseriu-se o termo, *Urochloa* OR *Brachiaria* AND improvement* / breeding*, de forma a verificar todas as pesquisas relacionadas ao melhoramento. Em seguida, de forma separada, substituiu-se a palavra improvement* por: genetic*, microsatellite* OR SSR, ISSR, SNP*, "internal transcribed spacer", 16S, COI, plastid, RAPD, AFLP, sequencing, Illumina, development and microsatellite* OR SSR, genome e RFLP. A adição do asterisco (*) possibilita que a busca seja também obtida nas suas palavras derivadas, como no singular e plural. As aspas (" ") permitem que se explore o termo por inteiro, quando este possui mais de uma palavra. A vantagem de se trabalhar dessa forma é que todo o resultado referente a cada consulta é registrado em arquivos de diversos tipos de extensão, sendo o formato escolhido para esse estudo o bibtex.

Na revisão, adotou-se a metodologia que prioriza o endereço fornecido pela instituição de pesquisa do primeiro autor usando a função "metaTagExtraction" do pacote estatístico R Bibliometrix. Esse critério leva em consideração a ideia de que o interesse pela execução do estudo seria do primeiro autor.

Para ter uma visão geral dos estudos referentes aos principais marcadores moleculares utilizados em *Urochloa*, os arquivos ligados às buscas de cada tipo de marcador e dos termos: 'development and microsatellite' OR 'SSR', 'genome', 'Illumina' e 'sequencing', foram reunidos, e em seguida removidos todas as duplicatas, para posterior análise.

Toda a análise bibliométrica foi realizada utilizando o pacote estatístico do R, Bibliometrix (Aria & Cuccurullo, 2017), por meio do qual se pôde extrair do arquivo formato bibtex não só diversas informações importantes referentes aos autores, países e instituições afiliadas, como gerar diferentes tipos de gráficos que ajudam a entender as pesquisas nesse assunto no mundo. Além disso, quando pertinente, foram criadas ilustrações referentes a mapas temáticos e de estrutura conceitual.

A metodologia utilizada para gerar os mapas temáticos permite que se ilustre quatro tipologias de temas, definidos de acordo com o quadrante no qual estão posicionados. Esses gráficos foram utilizados para explorar os campos das palavras-chave Plus. Elas são definidas por estarem associadas a especialistas editoriais da Thomson Reuters fornecidos pelo algoritmo semi-automatizado, sendo diferenciado das palavras-chave dos autores devido ao fato de serem normalizadas,

com capacidade de capturar os conteúdos dos artigos com maior profundidade e variedade (Corte et al., 2019; Cobo et al., 2011).

Os temas que ficam no quadrante superior direito do gráfico são denominados de temas motor, caracterizados por terem alta centralidade e alta densidade de documentos relacionados, significando que são importantes para o campo de pesquisa.

Nos temas do quadrante superior esquerdo se localizam aqueles que são mais especializados ou temas-nicho. Eles possuem links internos (muitas co-ocorrências na rede) bem desenvolvidos, mas com externos insignificantes (poucas co-ocorrências), sendo de importância secundária ou limitada para o campo de pesquisa (baixa centralidade).

Os temas do quadrante inferior esquerdo são conhecidos por serem emergentes ou estarem em declínio, com baixa centralidade e densidade de registros, sendo fracamente desenvolvidos e marginais.

Já os temas do quadrante inferior direito referem-se aos básicos ou transversais, caracterizados pela alta centralidade e baixa densidade, sendo importantes para o campo de pesquisa, referindo-se, também a tópicos transversais de conceito geral para diferentes áreas.

Nesse estudo também foram gerados gráficos em rede para mostrar o grau de colaboração entre os países quanto às pesquisas. Além disso, foi construído um mapa de estrutura conceitual em duas dimensões baseado na análise de correspondência múltipla (MCA) e algoritmo de agrupamento k-means da rede de co-ocorrência de palavras-chave, com o grau mínimo igual a 2. Esse tipo de abordagem foi usado para investigar os termos científicos mais significantes, as conexões entre elas, a fim de verificar a tendência das pesquisas emergentes (Zhang et al., 2017, Nita, 2019).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

PESQUISAS VOLTADAS AO MELHORAMENTO DE FORRAGEIRAS DO GÊNERO *UROCHLOA*

Devido à importância das plantas forrageiras do gênero *Urochloa* para a nutrição de animais domésticos ruminantes (e.g.: bovinos, caprinos e ovinos), diversas pesquisas científicas têm sido realizadas, principalmente voltadas ao desenvolvimento de tecnologias que permitam o melhoramento do seu cultivo, com os primeiros registros aparecendo por volta da década de 70, com crescimento notadamente ascendente a partir de 2001 (**Figura 2A**). Ao fazer uma busca pela plataforma SCOPUS, usando a descrição "*Urochloa* OR *Brachiaria* AND improvement/breeding", e ao avaliar a lista de registros utilizando o pacote R Bibliometrix, 142 documentos foram encontrados, dos quais 132 artigos, foram publicados relacionados ao tema melhoramento, com destaque para os estudos com as espécies *Brachiaria brizantha*, *B. decumbens* e *B. ruziziensis*, cujos nomes aparecem com maior frequência nas palavras-chave do autor.

A distribuição anual de publicações entre os termos melhoramento e genética foi significativamente correlacionada ($r = 0,83$, $p < 0,0001$), havendo um maior im-

pulso inicial justamente a partir do ano que se começou a registrar os primeiros trabalhos com marcadores moleculares em *Urochloa* entre os anos de 1987 e meados de 1990 (**Figura 2A**). Adicionalmente, com o objetivo de explorar de forma mais direta o nível de interesse pelas pesquisas voltadas à Genética, foi realizado uma busca por publicações usando o termo “genetic*” em *Brachiaria* ou *Urochloa*. A busca registrou a presença de 269 documentos, sendo 253 artigos no período entre 2004 até o presente ano, com destaque novamente para os autores brasileiros. Provavelmente esse resultado reflete a preocupação maior dos agricultores brasileiros e instituições de pesquisa em obterem variedades melhor caracterizadas para posterior seleção e cruzamento entre aquelas com maior desempenho. A preocupação

pela caracterização morfo-agronômica pode ter restringido a associação das palavras ligadas ao melhoramento com aquelas relacionadas à Genética. Os termos ligados ao melhoramento, talvez não estejam restritos exclusivamente aos genótipos.

Foi possível observar que o Brasil desponta como o país com maior número de publicações relacionadas ao tema melhoramento (**Figura 2B**).

O país destaca-se como um dos maiores exportadores de sementes de forrageiras do mundo, além do fato de serem os maiores exportadores de carne bovina, o que pode justificar o volume de publicações (Marchi et al., 2008, Peixoto et al., 2001).

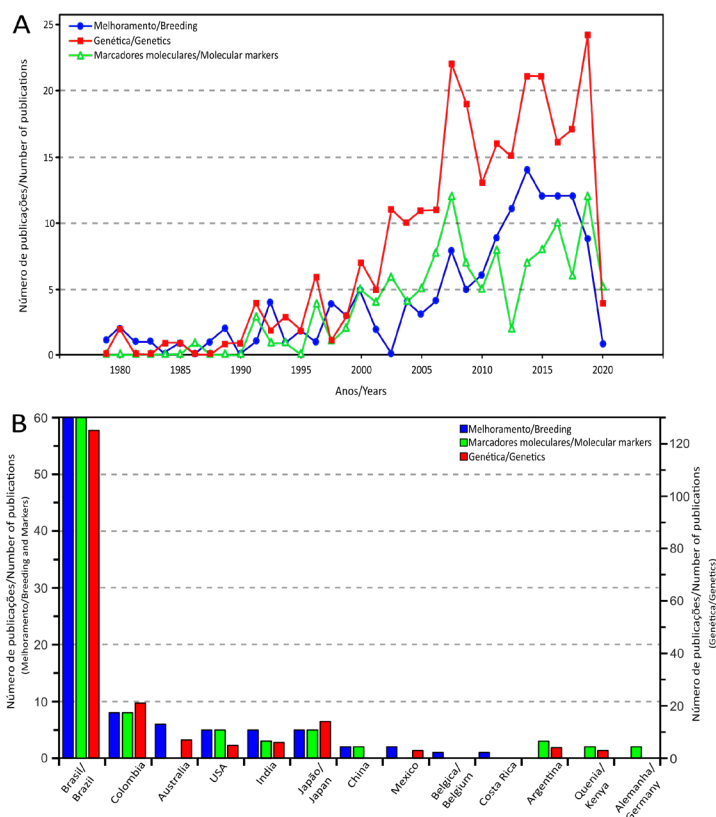


Figura 2A. Produção científica anual referente à busca pelos termos melhoramento, genética e marcadores moleculares em plantas forrageiras *Urochloa* (sinonímia *Brachiaria*); **(B)** países que mais produziram cientificamente referente à busca pelos termos melhoramento, genética e marcadores moleculares (Annual scientific output relating to searches for the terms breeding, genetics and molecular markers in *Urochloa* forage plants (synonym: *Brachiaria*); **(B)** countries with the highest scientific output relating to searches for the terms breeding, genetics and molecular markers).

O mapa de estrutura conceitual demonstrou três grupos de palavras-chave correlacionadas nas publicações (Figura 3). No cluster 1 (azul claro), vê-se a reunião de termos relacionados aos efeitos externos que podem comprometer o desenvolvimento das plantas cultivadas como: solo, conteúdo de água, manejo de pastos e uso de fertilizantes. Essa preocupação pode ser vista em estudos como os realizados por Pereira et al. (2019) que avaliaram o desempenho das cultivares com fertilizantes minerais e a base de fezes suínas e Simon et al. (2019) que observaram as atividades mi-

crobiológicas em alguns tipos de solos. No cluster 2 (vermelho), ocorre o agrupamento de termos diversos associados à caracterização das espécies do gênero *Urochloa*, com destaque para aqueles ligados direta ou indiretamente ao uso de marcadores moleculares, como microssatélites, marcadores genéticos, polimorfismo, DNA e filogenia. No cluster 3 (verde), observa-se a concentração de palavras relacionadas à fisiologia das plantas forrageiras, um dos fatores mais abordados quando se pretende iniciar o melhoramento de uma espécie (Faria et al., 2018; Cardozo-Junior et al., 2018). No

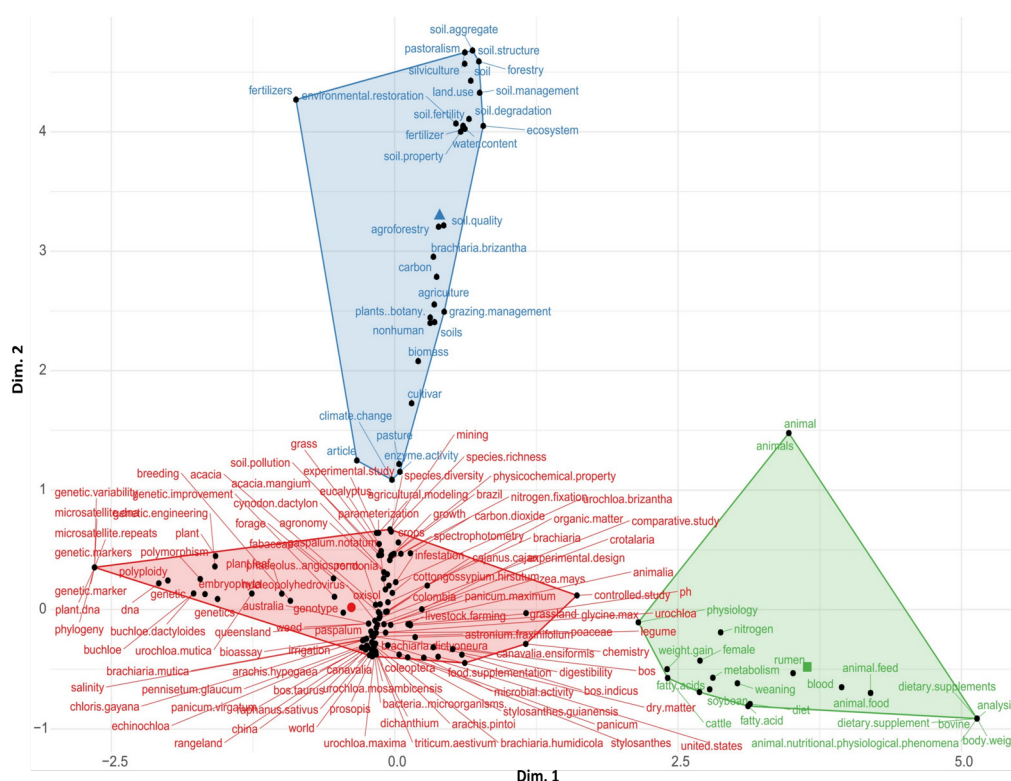


Figura 3. Mapa de estrutura conceitual e clusters de palavras-chave da análise bibliométrica de pesquisas ligadas ao melhoramento de plantas forrageiras do gênero *Urochloa* (grau mínimo do nó = 2), método de análise de correspondência múltipla e agrupamento k-means; cluster 1 – azul claro, cluster 2 – vermelho, cluster 3 – verde (Conceptual structure map and keyword clusters from the bibliometric analysis of research related to the improvement of forage plants of the genus *Urochloa* (minimum node degree = 2), using multiple correspondence analysis and k-means clustering; cluster 1 – light blue, cluster 2 – red, cluster 3 – green).

mapa temático, usado para investigar o grau de importância dos temas identificados nas pesquisas referentes ao 'melhoramento' em *Urochloa* (Figura 4A), pôde-se observar a formação de 12 tipologias de temas, sendo que os círculos de coloração rósea, lilás, laranja e vermelho como temas motores para o campo de pesquisa relacionado ao melhoramento com *Urochloa*. Junto com o tema representado pelo círculo de coloração rósea e lilás, o círculo laranja possui alto grau de densidade e o maior grau de centralidade, demonstrando ser um dos temas de maior importância para o campo de pesquisa

melhoramento, com palavras relacionadas às características fenotípicas e do solo, e sendo as mais recorrentes 'pasture', 'soil', 'biomass' e 'cultivar'. Isso converge com o interesse dos agricultores, principalmente quando se deseja ampliar o cultivo dessas forrageiras nas mais diferentes regiões do planeta.

O tema representado pelo círculo lilás revela muitos artigos que citam a espécie *Cynodon dactylon*, nas palavras-chave, sendo provavelmente referente aos vários estudos comparativos com o gênero *Urochloa*, principalmente no que diz respeito ao desempenho

produtivo sobre diferentes condições experimentais (Pequeno et al., 2018; Stumpf et al., 2018).

Por sua vez, com a posição que o tema Brasil/Brazil e termos associados têm se colocado no mapa temático (círculo de cor rósea), é possível ter uma ideia da importância dada ao melhoramento das forrageiras no país, o que tem contribuído provavelmente para ampliação do setor referente às indústrias de sementeiras das espécies do gênero *Urochloa* (Marchi et al., 2008).

O tema na cor vermelha é representado por termos que se referem mais aos aspectos ligados à fisiologia das cultivares e ao desempenho do consumo pelos animais (e.g.: physiology, animal e metabolism), e localizado em uma posição intermediária entre os temas mais importantes e básicos no campo das pesquisas em melhoramento.

O gráfico aponta que os estudos mais voltados ao aspecto genético, ainda estão no início de um processo de expansão da pesquisa, pois o tema em verde claro, representado pelos termos como 'genetic improvement' e 'genetics', além de outros não ilustrados, como 'microsatellite', 'phylogeny' e 'genetic marker', estão localizados no quadrante relacionado aos temas emergentes com baixa centralidade e densidade.

O mapa temático demonstrou a presença de dez temas ligados ao campo de pesquisa 'genética' em *Urochloa* (Figura 4B). O foco principal está voltado aos temas identificados pelos círculos de cor azul escuro e azul claro. O primeiro está associado às palavras ligadas a microrganismos benéficos que ajudam no desenvolvimento das plantas cultivadas, principalmente nas espécies do gênero. São representados pelas palavras-chave 'metabolism', 'growth', 'classification', '16S', 'microbiology' e 'RNA'. No que foi levantado, observou-se que os principais estudos estão voltados à identificação e caracterização usando o marcador 16S (Ribeiro et al., 2019; Mukhtar et al., 2018; Oliveira et al., 2018; Verma & White, 2018). Já o segundo é composto

de termos relacionados aos animais, maior número de ocorrências, principalmente no que diz respeito ao consumo de forrageiras pelos bovinos, e referentes ao controle de pragas que acometem as cultivares.

Os temas básicos estão mais relacionados a termos associados a técnicas de Biologia Molecular. O tema verde escuro é representado por termos ligados ao sequenciamento de DNA e ao genoma viral como: 'DNA sequence', 'sequence analysis', 'nucleotide sequence', 'viral genome' e 'virus'. Isso leva a crer que muitos estudos estão utilizando a tecnologia de sequenciamento, basicamente para a identificação dos diversos vírus que acometem as braquiárias (Kraberger et al., 2017; Yahaya et al., 2017).

No tema básico de coloração vermelha destaca-se a palavra-chave 'Random Amplified Polymorphic DNA' ou RAPD, bem como outras associadas à forragem e à algumas espécies como a *Urochloa maxima* e *Panicum maximum* (sinônimos), bastante usada na alimentação de rebanhos bovinos, sendo provavelmente usada para comparações de desempenho com *Urochloa*.

E por fim, o tema básico de cor marrom, representado por palavras como: 'microsatellite', 'apomixis', 'genetic markers', 'karyotyping', 'ribosome', 'DNA', 'hybridization' e 'evolution', faz referência aos estudos no gênero *Brachiaria* (sinonímia *Urochloa*) usando marcadores moleculares tais como os microsatélites, principalmente para a caracterização e para o mapeamento genético de loci próximos ao gene apo-lócus (ligado a aposporia) voltados para auxiliar na seleção e cruzamento de acessos para a formação de híbridos de alto desempenho (Vigna et al., 2016a).

Com o avanço das ferramentas moleculares, está sendo cada vez mais comum a obtenção de acessos melhorados por meio da transgenia. Porém, o mapa temático mostra que o tema ainda está em fase especulativa, pelo menos no campo de pesquisas genéticas com o gênero *Urochloa*.

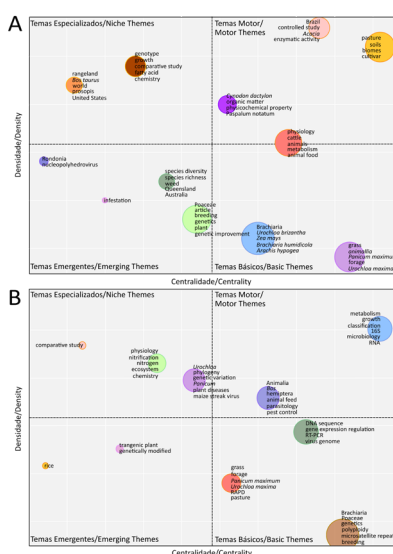


Figura 4. Mapas temáticos referente às palavras-chave da pesquisa usando os termos (A) 'melhoramento' e (B) 'genética' em *Urochloa*. Os círculos representam os temas e o tamanho está ligado ao número de artigos relacionados a cada palavra-chave que os compõem (Thematic maps relating to the search keywords using the terms (A) 'breeding' and (B) 'genetics' in *Urochloa*. The circles represent the themes, and their size corresponds to the number of articles related to each keyword they contain).

MARCADORES MOLECULARES EM PLANTAS CULTIVADAS DO GÊNERO *UROCHLOA*

Sabe-se que para obter maior eficácia nos trabalhos de melhoramento vegetal é necessário fazer uma caracterização inicial do Banco Ativo de Germoplasma (BAG), de forma a direcionar com maior precisão a seleção e os cruzamentos de genótipos de interesse. Para isso, a estratégia mais comum é a mensuração de caracteres morfológicos e bromatológicos. A pesquisa bibliográfica indicou que, para auxiliar esses estudos, alguns têm sido conduzidos com plantas forrageiras desde meados de 1990, usando também, os marcadores moleculares baseados no DNA.

O uso de marcadores moleculares se torna cada vez mais presente nos trabalhos de melhoramento com plantas forrageiras, principalmente por desconsiderar o estágio de desenvolvimento do organismo para ser feito as inferências, o que permite conhecer não só o perfil genético dos acessos, como também, verificar a diferença genética entre os indivíduos/espécies. No entanto, poucas publicações foram identificadas (60), comparando com o tema 'Genética', o qual foi observado a ocorrência de 125 documentos abordando temas relacionados à estudos populacionais, sendo 122 deles, artigos científicos. A taxa anual de crescimento percentual calculado pelo pacote estatístico Bibliometrix foi de 7,25, sendo que houve um crescimento visível a partir de 2004, com média, até o presente momento, de $6,71 \pm 2,76$, sendo os anos de 2010 e 2019 os mais produtivos com 12 publicações cada um (**Figura 2A**).

O Brasil apresentou-se como o país com maior número de publicações, com a cooperação de alguns países, principalmente dos EUA e do Reino Unido, provavelmente por disporem de maior tecnologia nessa área. Isso justifica, portanto, o maior número de estudos genéticos voltados ao melhoramento, já que os marcadores moleculares atualmente são uma das principais ferramentas no melhoramento (**Figura 5A**). No seguinte levantamento, ao avaliar o mapa temático, é possível observar a formação de sete temas. O mais importante para o campo de pesquisa usando marcadores moleculares em *Urochloa* é o destacado em cor avermelhada que é representado por termos referentes à identificação e classificação dos microrganismos benéficos ao desenvolvimento das cultivares, da mesma forma que foi observado no mapa temático referente a pesquisas genéticas no gênero (**Figura 5B**).

A análise cienciométrica também identificou a presença de três temas básicos referentes a marcadores moleculares. Apesar de ter menor centralidade de publicações do que o círculo lilás, o de coloração verde claro é representado por termos que possuem maior densidade de artigos relacionados a este campo de pesquisa. Eles são voltados também às pesquisas com microrganismos benéficos às plantas do gênero, incluindo alguns fungos endofíticos, sendo estes responsáveis por controlar a infestação de fungos patogênicos (Yang et al., 2019; Kelemu et al., 2001). Nesse caso, destacam-se as palavras-chave 'bacterial', 'fungus', 'isolation', 'taxonomy', 'ribosomal spacer' e 'phytoplasm'. Isso leva a supor que há certa preocupação, por parte dos

pesquisadores, em solucionar problemas comuns em contradições nas lavouras referentes ao controle da infestação de pragas, além do interesse constante em melhorar os acessos remanescentes usando artifícios como o uso de bactérias que são responsáveis principalmente pela fixação de nitrogênio (Ferreira et al., 2019; Ribeiro et al., 2019; Kelemu et al., 2001; Yang et al., 2019). Isso também se evidencia pela distribuição das palavras-chave no mapa temático de publicações ligadas à pesquisa genética em *Urochloa*.

O tema de coloração lilás (baixa densidade e alta centralidade) faz menção à caracterização genética voltada ao melhoramento das espécies do gênero *Urochloa* ou a sinonímia *Brachiaria*, com destaque para os termos ligados aos marcadores microsatélites e SNPs, sendo este similar também ao mapa temático relacionado aos estudos genéticos.

O outro tema básico (coloração marrom) possui baixa densidade e centralidade em relação aos demais do quadrante, sendo representado por palavras ligadas diretamente ao melhoramento genético (e.g.: 'breeding', 'hybridization' e 'seed production').

Com relação aos temas especializados podemos destacar os estudos com a espécie *U. decumbens*, que apresenta o maior número de ocorrências dentre os que se apresentam no tema (cor verde escuro). Isso reflete um grande número de estudos com foco nessa espécie no que diz respeito ao uso de marcadores moleculares. Porém, não se pode deixar de ressaltar outras espécies como *U. humidicola*, *U. ruziziensis* e *U. brizantha*, com presença marcante nas palavras-chave das três pesquisas realizadas aqui. A última se destaca pelo grande número de ocorrências no tema básico referente ao círculo de coloração marrom. Também não se pode descartar a taxonomia inconclusa referente ao nome dessa espécie, uma vez, que ora os autores identificam como pertencente ao gênero *Brachiaria*, ora como *Urochloa*.

As espécies *U. decumbens*, *U. humidicola*, *U. ruziziensis* e *U. brizantha* (ou *B. brizantha*) incluem-se como as mais utilizadas na alimentação de rebanhos bovinos no Brasil e em outras partes do mundo, sendo que *B. brizantha* se destaca pelo alto nível de produção nos mais diversos tipos de climas, com extensas áreas plantadas, superior inclusive às plantas cultivadas comuns ao consumo humano, como a soja, milho, arroz e feijão (Barbosa et al., 2006; Peixoto et al., 2001).

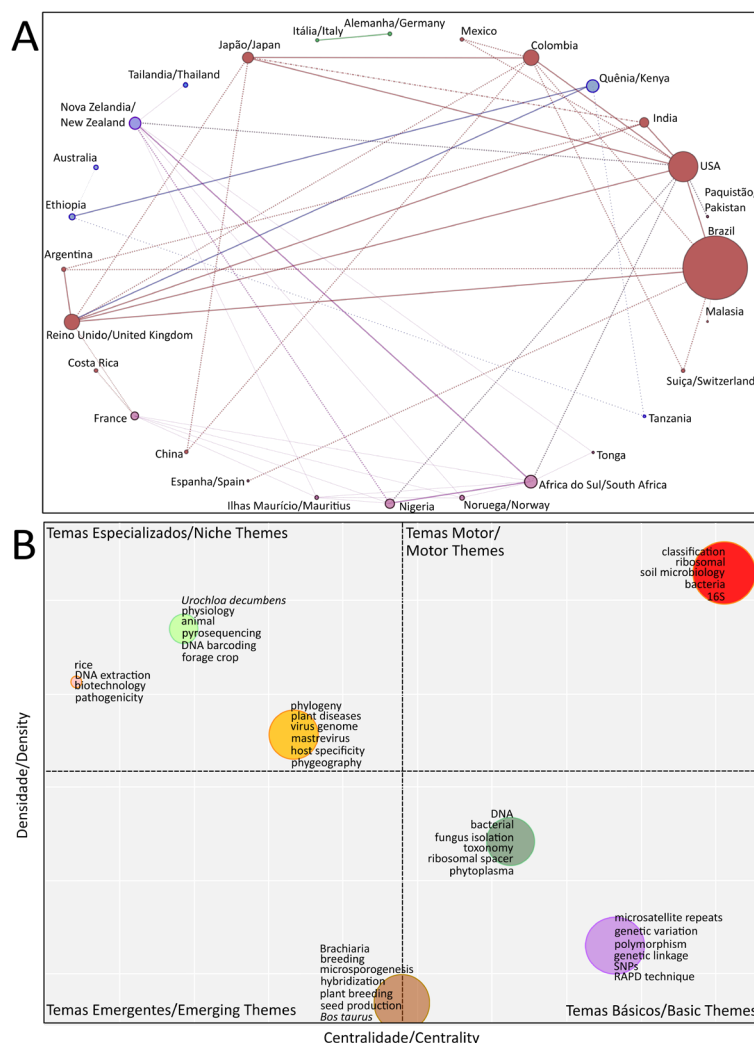


Figura 5. (A) Rede de colaboração entre os países para a publicação de estudos referentes ao uso de marcadores moleculares em *Urochloa*; (B) mapa temático de palavras-chave da análise bibliométrica de pesquisas ligadas ao uso de marcadores moleculares mais populares em estudos populacionais (SSR, SNP, RAPD, AFLP, ISSR, 16S, COI e DNA plastidial) de plantas forrageiras do gênero *Urochloa* (grau mínimo do nó = 3), método de análise de correspondência múltipla e agrupamento k-means ((A) Collaborative network between countries for the publication of studies on the use of molecular markers in *Urochloa*; (B) thematic keyword map from the bibliometric analysis of research related to the most popular molecular markers used in population studies (SSR, SNP, RAPD, AFLP, ISSR, 16S, COI and plastid DNA) of forage plants of the genus *Urochloa* (minimum node degree = 3), using multiple correspondence analysis and k-means clustering).

Os demais temas do primeiro quadrante são focados nos estudos especializados de identificação e de avaliação filogenética de vírus que acometem as cultivares de forrageiras (cor laranja) e o outro está relacionado a patógenos que acometem tanto o arroz como as braquiárias (cinza) (Yahaya et al., 2017; Pereira et al., 2017).

Ao realizar uma busca individual por cada um dos marcadores moleculares mais utilizados em plantas forrageiras do gênero *Urochloa*, observou-se uma maior frequência de publicações relacionadas aos marcadores microssatélites (28), 16S (18) e RAPD (16), com maior parte das pesquisas lideradas por autores brasileiros (Tabela 1 e Figura 2B).

Tabela 1. Lista dos países que publicaram artigos relacionados aos marcadores moleculares aplicados no gênero *Urochloa* (sinonímia *Brachiaria*) (List of countries that have published articles on molecular markers applied to the genus *Urochloa* (synonym *Brachiaria*)).

Países	Marcadores										Total
	SSR	SNP	ISSR	RAPD	AFLP	ITS	Plastid	RFLP	16S	COI	
Quênia	1	0	0	1	1	0	0	0	1	0	4
Alemanha	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	2
Argentina	0	0	0	2	2	0	1	2	0	0	7
Austrália	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1
Brasil	21	6	1	5	0	1	2	1	9	0	46
China	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1
Colômbia	0	0	0	3	0	2	0	0	1	0	6
Etiópia	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
EUA	1	0	0	0	0	2	0	1	3	0	7
França	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
Índia	3	0	0	0	0	0	0	0	0	1	4
Itália	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1
Japão	0	0	1	0	1	0	0	0	1	0	3
Malásia	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1
Paquistão	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	2
UK	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	2
Tailândia	0	0	0	0	1	0	0	1	1	0	3
Tanzânia	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Total	28	6	2	16	5	5	3	8	18	2	93

SSR – Simple sequence repeats (microsatélites); SNP – Single nucleotide polymorphism; ISSR – Inter simple sequence repeat; RAPD – Random Amplified polymorphic DNA; AFLP – Amplified Fragment Lengths Polymorphism; ITS – Internal transcribed spacer; Plastid – DNA cloroplastidial; RFLP – Restriction Fragments length Polymorphic; 16S – gene que codifica a região 16S do RNA ribossomal de bactérias; COI – gene que codifica o Citocromo Oxidase I do DNA mitocondrial.

USO DE MARCADORES DOMINANTES EM *UROCHLOA*

O RAPD, ou DNA polimórfico amplificado aleatoriamente, é o tipo de marcador bastante utilizado na caracterização e distinção de diversas plantas cultivadas, principalmente pela pequena quantidade de material biológico exigido, por não necessitar de conhecimento prévio do genoma e pela praticidade laboratorial (Ambiel et al., 2010). Porém, nesta avaliação cienciométrica apenas 16 publicações foram registradas, nenhuma indexada antes de 2014, sendo Brasil e Colômbia os países com maior quantidade de registros. Esse marcador caracteriza-se por fornecer, em gel de agarose sob campo eletroforético, múltiplos fragmentos de DNA amplificados em uma reação de PCR (reação em cadeia da polimerase) sobre orientação de pequenos oligonucleotídeos (primers). Sua interpretação é realizada a partir de uma matriz binária, no qual a ausência de bandas (mutação na região complementar ao primer) é identificada por “0” e a presença por “1”.

Por não ser possível distinguir os genótipos homozigotos dos heterozigotos, assim como os marcadores AFLP (polimorfismo de comprimento de fragmento amplificado) e ISSR (polimorfismo entre sequências simples repetidas), esses marcadores são classificados

como dominantes, o que faz com que sua precisão seja reduzida nas análises referentes aos estudos de distinção entre populações e de detecção do grau de variabilidade genética. Porém, em algumas ocasiões, eles se tornam bastante úteis, principalmente quando se desconhece o nível de poliploidia dos genótipos, como é o caso do gênero *Urochloa*. Além disso, são essenciais para o monitoramento do genótipo de proles híbridas e para o adensamento dos mapas genéticos de ligação.

Alguns estudos mostraram a aplicabilidade do RAPD, principalmente para a distinção intra e interespecíes. Nesses estudos usando os mesmos dez primers, foram amplificadas 102 (N = 27; Ambiel et al. (2008) e 114 bandas (N = 44; Ambiel et al., 2010) polimórficas, sendo estas usadas para distinguir diferentes espécies de *Urochloa*. Zorzatto et al. (2009) desenvolveram 11 primers para estudar a variabilidade e a distância genética entre acessos de *U. dictyoneura*, sendo geradas 87 bandas, das quais 87% eram polimórficas e com alto poder de discriminação. Por sua vez, Almeida et al. (2011) analisaram a diversidade genética entre plantas cultivadas e híbridos de *Urochloa* spp. e *Panicum maximum* usando 10 primers em 22 genótipos, os quais amplificaram 178 fragmentos polimórficos de DNA.

Estudos realizados por Bittencourt et al. (2008; 2012) demonstraram utilidade do RAPD para o monitoramento de híbridos oriundos dos cruzamentos do acesso sexual e tetraploide natural (H31) de *U. humidicola* com o BRS Tupi, por meio da identificação das bandas amplificadas exclusivamente dos genótipos paternos. Por sua vez, usando 100 híbridos intraespecíficos de *U. humidicola*, Zorzatto et al. (2009) observaram que o marcador RAPD denominado 64650 estava localizado a uma distância de 4,6 cM do gene apo-locus (gene relacionado à apomixia), sendo demonstrado nos ensaios que ambos segregavam juntos, o que torna útil para a seleção assistida de progênes híbridas.

Outros marcadores dominantes como o ISSR e AFLP também demonstraram sua aplicabilidade em *Urochloa*. Teoricamente foram desenvolvidos para superar algumas limitações apresentadas pelo RAPD, principalmente referente à repetibilidade dos ensaios. Pelo fato dos primers de RAPD serem pequenos (entre oito e dez nucleotídeos), aleatórios e exigirem pequenas temperaturas de anelamento nas reações de PCR, alguns fragmentos acabam sendo amplificados de forma inespecíficas, não se repetindo nas mesmas condições os resultados.

Desenvolvido em meados dos anos 90 (Zietkiewicz et al., 1994), da mesma forma que os RAPD, os marcadores ISSR ou entre sequências simples repetidas, também são caracterizados pela produção de múltiplos fragmentos, a partir de primers que têm como base, microssatélites com um a três nucleotídeos aleatórios ancorados na região 3' (e.g. AGAGAGAGAGAGAGN-NN-3'), o que teoricamente os tornam menos randômicos que o marcador RAPD.

O marcador AFLP, desenvolvido por Vos et al. (1995), tem como referência a fragmentação do genoma gerada pela combinação de enzimas de restrição que ligados a adaptadores servem como base para o pareamento de primers que orientam as amplificações, resultando um perfil de bandas que podem ser usados para a montagem de uma matriz binária de forma a se realizar as inferências populacionais. Um dos fatores limitantes que podem comprometer sua reprodutibilidade é a necessidade de um DNA de alta pureza que assegure a completa digestão pelas endonucleases de restrição (Bleas et al., 1998).

No gênero *Urochloa* foram identificados apenas cinco registros usando o marcador AFLP, com a maior produção advinda de autores argentinos (2). Pessino et al. (1998), analisando o híbrido interespecífico LG02 do cruzamento entre *U. brizantha* apomítica e *U. ruziziensis* sexual, mapearam o apo-lócus com esse marcador, identificando dois loci (PAM52-5 e PAM49-13) bem próximos ao gene controlador apospórico localizado no cromossomo 5, que poderiam ser utilizados para rápida identificação de progênes apomíticas. Em outro estudo, Thaikua et al. (2016) utilizaram 64 pares de primers para análise de QTL (Quantitative loci trait) e montagem de mapas genéticos em híbridos Mulato obtidos do cruzamento de *Brachiaria ruziziensis* e *B. brizantha* cv. Marandu. Os mapas formados continham 29 grupos de ligação, com 272 marcadores, dos quais

12 estavam relacionados à aposporia e os outros às características agrônômicas.

Por sua vez, com apenas dois registros, Nitthaisong et al. (2016) e Azevedo et al. (2011), marcadores ISSR foram usados para estudos de diferenciação genética inter- e intra-populacional. No estudo de Nitthaisong et al. (2016), empregando 28 acessos oriundos de 11 espécies de *Urochloa/Brachiaria*, dez primers geraram, via PCR, 441 fragmentos que permitiram avaliar diferenças entre as espécies e mostrar uma correlação com a região geográfica de onde o genótipo foi originado. Já o estudo de Azevedo et al. (2011), com foco na diversidade genética de *B. ruziziensis* proveniente do banco de germoplasma da Embrapa Gado de Leite, 11 primers foram utilizados em 93 genótipos, nos quais 89 bandas polimórficas que demonstraram alta diversidade genética entre os acessos.

USO DE MARCADORES CODOMINANTES EM *UROCHLOA*

Por sua vez, os marcadores moleculares codominantes caracterizam-se pela capacidade de discriminar genótipos homozigotos e heterozigotos. Dos que já foram desenvolvidos, os que mais se destacam são os marcadores microssatélites (Short Sequence Repeats - SSR) que são sequências de repetições curtas em tandem de dois a seis nucleotídeos que estão distribuídas pelo genoma eucarioto, presentes também em menor frequência em organelas como mitocôndrias e cloroplastos (Ginwal et al., 2020; Kumar & Shanker, 2020). As características que o destacam são o multialelismo, o alto polimorfismo, e a possibilidade de amplificação cruzada em espécies próximas taxonomicamente. Com base na frequência dos fragmentos amplificados várias informações populacionais úteis para o melhoramento podem ser extraídas, com capacidade de monitorar não só a frequência de cada alelo, como avaliar com maior precisão as características genético-populacionais (estruturação populacional, diferenciação genética e variabilidade genética), bem como fenômenos como fluxo genético, deriva genética e número populacional efetivo. Além disso, usando ferramentas estatísticas apropriadas, estes marcadores podem ser úteis para estudos associativos e de mapeamento genético.

Os marcadores microssatélites são os mais populares, entre todos até então desenvolvidos para estudos genéticos de plantas cultivadas, sendo os mais frequentes dentre as publicações com o gênero *Urochloa* (28 publicações) com grande parte das pesquisas se concentrando a partir do ano de 2011. Isso se justifica pelo fato de serem mais informativos e precisos que outros marcadores como o RAPD, AFLP e ISSR.

No entanto, é necessário ter certa cautela ao usar os marcadores microssatélites, principalmente em situações, onde se desconhece a ploidia dos acessos, pois é de conhecimento que há variações inclusive na mesma espécie, o que torna mais complexa a genotipagem. Dessa forma alguns autores optaram por fazer a leitura da mesma forma que é feita nos tipos dominantes, ou seja, por meio da montagem de uma matriz binária com a identificação da ausência (0) e presença (1) de fragmentos [Vigna et al., 2011a (*B. brizantha*); Santos et al., 2015 (*U. humidicola*); Vigna et al., 2016b (*U.*

humidicola); Ferreira et al., 2016 (*U. decumbens*) e Tegegn et al., 2019 (*B. brizantha*)].

Como na maioria das pesquisas com esse grupo de forrageiras, o Brasil desponta como o país mais produtivo (75% das publicações), tendo sido identificado a colaboração dos EUA, Colômbia e Suíça.

Ao realizar uma busca rápida pelos gêneros de forrageiras mais estudadas no mundo que empregaram

os marcadores microssatélites, foi possível observar que o *Urochloa* fica na posição número quatro, atrás do *Pennisetum*, *Panicum* e *Cynodon* (**Figura 6**), o que mostra que o gênero ainda tem muito a evoluir quanto ao uso desses marcadores. Isso pode refletir o grau de importância econômica de cada gênero, uma vez que as espécies desses gêneros são bastante utilizadas para a alimentação animal.

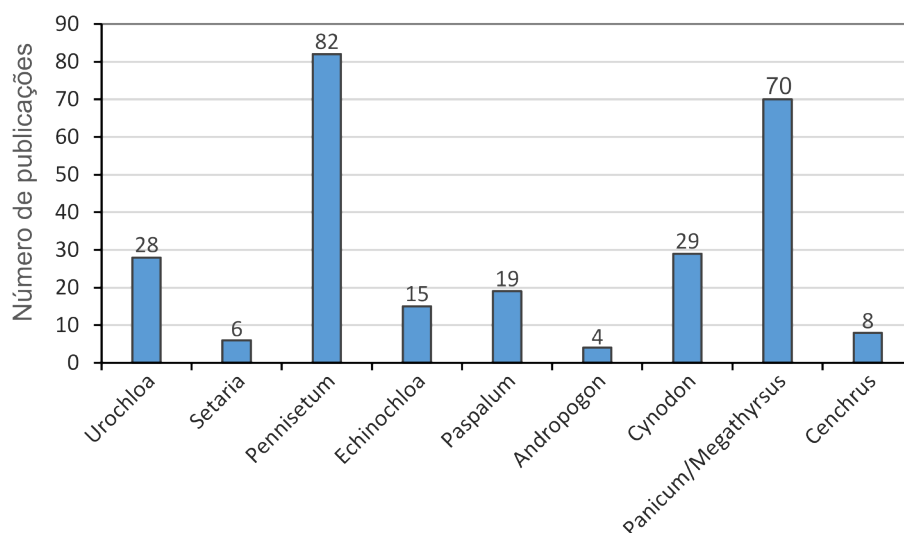


Figura 6. Comparação em número de publicações entre os sete gêneros de plantas forrageiras mais estudadas no mundo que utilizaram microssatélites como marcadores moleculares (Comparison of the number of publications across the seven most studied forage plant genera worldwide that have used microsatellites as molecular markers).

Somente para cinco espécies do gênero *Urochloa* foram desenvolvidos marcadores microssatélites, e publicados até o momento, sendo: *U. brizantha* (Jungmann et al., 2009a; Vigna et al., 2011a; Pessoa-Filho et al., 2017), *U. decumbens* (Ferreira et al., 2016; Pessoa-Filho et al., 2017; Salgado et al., 2017; Souza et al., 2018), *U. humidicola* (Jungmann et al., 2009b; Vigna et al., 2011b; Santos et al., 2015; Vigna et al., 2016a; Vigna et al., 2016b; Pessoa-Filho et al., 2017), *U. ruziziensis* (Silva et

al., 2013; Pessoa-Filho et al., 2017), e *U. mosambicensis* (Leão et al., 2023), assim como para um híbrido *Urochloa* cv Mulato II (Triviño et al. (2017) (**Tabela 2**). Com isso, torna-se crucial o desenvolvimento de marcadores para outras espécies de interesse econômico que se destaquem como alternativa para a alimentação animal pela versatilidade adaptativa, principalmente em regiões de clima quente (Camurça et al., 2002; Bueno et al., 2019; 2022).

Tabela 2. Relação de espécies do gênero *Urochloa* que possuem marcadores moleculares microssatélites específicos com a indicação da referência, método empregado para o desenvolvimento, e espécies transferidas (amplificação cruzada) (List of species of the genus *Urochloa* that possess specific microsatellite molecular markers, indicating the reference, the method used for their development, and the species with which they cross-react (cross-amplification)):

Espécie	Referência	N	L	P _{mf}	PIC	Método	Amplificação cruzada
<i>U. brizantha</i>	Jungmann <i>et al.</i> (2009a)	23	19	81	0,56	Sanger-seq	<i>U. decumbens</i> , <i>U. dictyoneura</i> , <i>U. humidicola</i> e <i>U. ruziziensis</i>
	Vigna <i>et al.</i> (2011a)	178	15	110	0,49	Sanger-seq	-
	Pessoa-Filho <i>et al.</i> (2017)	-	84	-	-	NGS	-
<i>U. decumbens</i>	Ferreira <i>et al.</i> (2016)	34	93	459	0,68	Blast-GenBank	<i>U. brizantha</i> , <i>U. dictyoneura</i> , <i>U. humidicola</i> e <i>U. ruziziensis</i>
	Pessoa-Filho <i>et al.</i> (2017)	-	84	-	-	NGS	-
	Salgado <i>et al.</i> (2017)	-	13.375	-	-	RNA-seq (NGS)	-
	Souza <i>et al.</i> (2018)	15	34	151	0,54	RNA-seq (NGS)	<i>U. brizantha</i> , <i>U. humidicola</i> e <i>U. ruziziensis</i>
<i>U. humidicola</i>	Jungmann <i>et al.</i> (2009b)	58	38	323	0,75	Sanger-seq	<i>U. brizantha</i> , <i>U. decumbens</i> , <i>U. dictyoneura</i> e <i>U. ruziziensis</i>
	Vigna <i>et al.</i> (2011b)	26	40	458	0,71	Sanger-seq	<i>U. brizantha</i> , <i>U. decumbens</i> , <i>U. dictyoneura</i> e <i>U. ruziziensis</i>
	Santos <i>et al.</i> (2015)	34	72	623	0,77	Sanger-seq	<i>U. brizantha</i> , <i>U. decumbens</i> , <i>U. dictyoneura</i> e <i>U. ruziziensis</i>
	Vigna <i>et al.</i> (2016a)	281	66	266	-	Sanger-seq	-
	Vigna <i>et al.</i> (2016b)	-	4.489	-	-	RNA-seq (NGS)	-
	Pessoa-Filho <i>et al.</i> (2017)	-	83	-	-	NGS	-
<i>U. ruziziensis</i>	Silva <i>et al.</i> (2013)	11	269	835	0,51	NGS	<i>U. brizantha</i> , <i>U. decumbens</i> e <i>U. humidicola</i>
	Pessoa-Filho (2017)	-	82	-	-	NGS	-
<i>U. mosambi-censis</i>	Leão <i>et al.</i> (2023)	22	20	83	0,56	NGS	<i>U. advena</i> , <i>U. brachyura</i> , <i>U. oligotricha</i> e <i>U. xantholeuca</i>
Híbrido Mulato II	Triviño <i>et al.</i> (2017)	261	39	701	0,72	NGS	<i>U. brizantha</i> , <i>U. decumbens</i> , <i>U. dictyoneura</i> , <i>U. humidicola</i> , <i>U. ruziziensis</i> e outras

N: número amostral, L: número de loci, P_{mf}: número de bandas polimórficas, PIC: conteúdo de informação polimórfica.

Usando 22 loci microssatélites, Ondabu *et al.* (2017) compararam 79 acessos de *Urochloa* de diferentes partes do Quênia, com variedades comerciais representadas por três espécies e um híbrido (three-way cross-hybrid Mulato II). A partir dos 120 alelos gerados nesse estudo, confirmou-se maior diversidade genética dos genótipos do país do que as variedades comerciais, apesar de ter sido apresentado baixa diferenciação genética entre as populações (FST= 0,021).

Vinte e três loci microssatélites desenvolvidos para *Brachiaria ruziziensis* (Silva *et al.*, 2013) e utilizados por Tegegn *et al.* (2019), demonstraram alto poder de discriminação (PIC = 0,75) em 112 acessos de *B. brizantha* etíope e seis variedades híbridas, com 459 alelos e média de 4,9 por locus. Neste estudo foi possível observar alto grau de variabilidade genética nos acessos da Etiópia. Kuwi *et al.* (2018) também demonstraram alto nível de transferibilidade usando 24 marcadores SSRs desenvolvidos para *U. ruziziensis* (Silva *et al.*, 2013) em outras espécies do gênero *Urochloa*, originárias da Tanzânia (36 acessos) e em seis cultivares melhoradas.

Usando microssatélites específicos em *U. humidicola*, Vigna *et al.* (2016a), por meio de 89 loci polimórficos, conseguiram construir 49 mapas de ligação com comprimento total de 1.702,82 cM e densidade média de 10,6 cM. Nesse caso, foram identificados loci ligados ao gene que controla a aposporia (apo-locus). Ferreira *et al.* (2019) também utilizaram SSRs, e marcadores SNPs, para a construção de mapas gênicos em um tetraploide de *U. decumbens* com foco à seleção de genes candidatos à resistência da cigarrinha das pastagens (*Nototulia entreriana*).

Vale ainda destacar a aplicação dos marcadores codominantes RFLP (Polimorfismo de comprimento de fragmentos restringidos), pois, apesar de algumas limitações técnicas como bialelismo, necessidade de conhecimento prévio do gene e baixo polimorfismo, ainda podem ser úteis para pesquisas com plantas forrageiras como *Urochloa*, podendo auxiliar na montagem do mapeamento genético e no estudo do polimorfismo de genes candidatos que sejam ligados a características agrônomicas. Basicamente, as técnicas utilizam as enzimas de restrição para identificar o po-

limorfismo de determinado gene amplificado por PCR (Fugita et al., 2017).

Pelo levantamento realizado, apenas oito publicações usando RFLPs foram identificadas, na Argentina (Ortiz et al., 2001; Pessino et al., 1998), Austrália (Stanton et al. 1992), Brasil (Fugita et al., 2017), EUA (Aldrich-Wolfe, 2007), Reino Unido (Pessino et al., 1997), Tailândia (Wongkaew et al., 1997) e Alemanha (Marcone et al., 1997). Destes pode-se destacar o estudo realizado por Pessino et al. (1998) que identificaram três marcadores segregando junto ao apo-lócus.

Outros estudos utilizaram RFLPs para a identificação e caracterização dos fitoplasmas em *Urochloa*, por meio do gene 16S do RNA ribossomal. Esses parasitas são responsáveis por acometer o tecido vascular das gramíneas dando aspecto esbranquiçado às folhas (Fugita et al., 2017; Wongkaew et al., 1997; Marcone et al., 1997).

Com apenas seis registros de publicações, SNPs são marcadores codominantes de grande aplicabilidade em trabalhos de seleção e melhoramento na agropecuária, devido ao fato de estarem intimamente associados a genes ligados a características de interesse econômico (Matias et al., 2019a; Ferreira et al., 2019). Considerado um marcador bialélico, ele caracteriza-se por apresentar diferenças em um único par de bases na sequência do DNA, podendo ser silenciosas ou mesmo interferir na regulação e função dos genes (Wang et al., 2005). As modificações ocorrem geralmente uma vez em cada 300 nucleotídeos em média, o que significa que há cerca de 10 milhões de SNPs, no caso do genoma humano (Brookes, 1999). São eficazes na identificação de QTLs, porém, em ocasiões que se desconhece o gene associado, sua precisão só é garantida quando se trabalha com um painel muito grande de marcadores, o que demanda altos custos. Basicamente a genotipagem de milhares de SNPs é feita por meio de microchips que usam sondas para a identificação das variações, ou mesmo pela tecnologia NGS (Sequenciamento de Nova Geração) (Matias et al., 2019a; 2019b).

Em *Urochloa* existem apenas seis publicações registradas na base de dados, sendo todos encabeçados por autores brasileiros, com foco principal na construção de mapas de ligação. Matias et al. (2019b) realizaram um trabalho de associação genômica em larga escala com características morfológicas. Foram avaliados 26.535 SNPs, sendo empregados a genotipagem por sequenciamento (GBS) em 272 genótipos de forrageiras que incluem as espécies *U. brizantha* e *U. ruziziensis*. Já Ferreira et al. (2019) por meio de 4.240 SNPs, construíram mapas de ligação em tetraplóides *U. decumbens*, no qual identificaram QTLs ligados à resistência a spittlebug (*Notozulia entreciana* Berg).

MARCADORES PARA AVALIAÇÕES FILOGENÉTICAS

Adicionalmente, além da aplicabilidade dos marcadores comentados acima no gênero *Urochloa*, destacam-se também os marcadores ITS (5 publicações), 16S (18), COI (2) e plastidiais (2), principalmente pelo seu uso em estudos de filogenia, com o objetivo de esclarecimento das relações genéticas entre as espécies forrageiras estudadas.

Os marcadores ITS (Internal Transcribed Spacer) ou sequências espaçadoras de transcritos internos de DNA ribossômico nuclear, são caracterizados por serem regiões neutras e com rápida evolução, sendo representadas pelo ITS1, que separa as regiões funcionais 18S e 5,8S rDNA e ITS2 que separa 5,8S da 28S, ambos úteis na complementação das informações filogenéticas geradas pelo DNA das organelas. Anteriormente, as técnicas mais usadas para a genotipagem referiam-se ao uso de enzimas de restrição (RFLP) (Aldrich-Wolfe, 2007), no entanto, com o advento do sequenciamento automatizado, essa técnica acabou se tornando muito menos usada. No gênero *Urochloa*, existem somente quatro publicações indexadas. Os temas giram mais em torno do monitoramento e identificação de parasitas que acometem o gênero, como *Rizhoxtonia* spp. (Alvarez et al., 2013) e *Puccinia* spp. (Dixon et al., 2010).

Destaca-se ainda o estudo realizado por Gonzalez & Morton (2005) em que utilizando marcadores das regiões ITS1, ITS2 e oito caracteres morfológicos de inflorescência, revisaram as relações taxonômicas dentro dos gêneros *Brachiaria* e *Urochloa*, concluindo que as espécies destes gêneros, até então considerados separados, pertencem ao mesmo táxon.

A aplicação do gene 16S que codifica a subunidade maior do RNA ribossômico de bactérias benéficas às forrageiras de *Urochloa*, além de empregado para estudos filogenéticos desses microrganismos, foram utilizados também para estudos de caracterização e identificação, sendo registradas 18 publicações, com a maioria liderada por brasileiros (nove publicações). Daqueles avaliados incluem-se o gênero *Azospirillum* e *Nitrospirillum* que contribuem para o desenvolvimento das plantas por meio da fixação de nitrogênio, produção de fitohormônios, e para a biodisponibilidade de nutrientes (Ribeiro et al., 2019; Mukhtar et al., 2018; Oliveira et al., 2018; Verma; White, 2018).

Em relação ao uso do marcador mitocondrial COI, citocromo oxidase I, que codifica a proteína responsável pela passagem de elétrons durante o ciclo de Krebs nas mitocôndrias, possui apenas dois registros de publicações, sendo um oriundo de estudos desenvolvidos na França e outro na Índia. Este marcador, pode ser considerado apropriado para estudos de filogenia, em função de serem regiões de DNA evolutivamente semiconservadas, genes de cópia única com recombinação rara e terem uma taxa de substituição, deleção ou inserção de nucleotídeos informativos que refletem as diferenças entre os taxa. Os estudos são focados nas pragas naturais do gênero *Urochloa*, referente aos insetos da ordem Lepidoptera (Maruthadurai & Ramesh, 2020; Mollet et al., 2014).

Outros marcadores que merecem destaque nos estudos com o gênero *Urochloa* são aqueles referentes ao DNA de origem cloroplastidial, também chamados de DNA plastidial. De origem uniparental, suas vantagens técnicas se assemelham aos marcadores mitocondriais. Apenas três pesquisas foram registradas na plataforma SCOPUS, duas no Brasil (Diamante et al., 2020; Pessoa-Filho et al., 2017) e uma na Argentina (Salariato et al., 2009). As pesquisas se concentram basicamente nas investigações filogenéticas no gênero, em função

da grande diversidade de espécies introduzidas nos dois países, principalmente no Brasil (Diamante et al., 2020). Tais resultados se justificam por serem importantes para os programas de melhoramento, pois para aumentar a diversidade genética e a introgressão de características de importância agrônômica, é necessária a obtenção de acessos formados a partir da hibridação interespecífica.

No estudo realizado por Salariato et al. (2009), por exemplo, com o auxílio dos marcadores plastidiais *rpl16* e *ndhF*, foi descoberto um novo gênero de Paniceae, *Rupichloa*, restrito à Bahia e Minas Gerais, que incluem as espécies *R. acuminata* e *R. decidua*, descritas anteriormente como pertencentes ao gênero *Urochloa*.

Pessoa-Filho et al. (2017) usaram a tecnologia NGS para montar os genomas dos cloroplastos de quatro espécies de *Urochloa*, e investigaram ainda suas relações, os tempos de divergência e identificaram potenciais marcadores de DNA de cloroplasto (microsatélites e SNPs). Os resultados colocaram a origem da divergência entre *U. humidicola* e *U. ruziziensis* no limite do Mioceno-Plioceno, e entre *U. brizantha* e *U. decumbens*, no Pleistoceno. Houve a confirmação da presença de *Urochloa* no clado PACMAD (Panicoideae, Micrairoideae, Aristidoideae e Danthonioideae), e a separação do clado BEP (Bambusoideae, Ehrhartoideae, Pooideae).

CONCLUSÕES

As informações fornecidas nas bases de dados pesquisadas apresentaram uma visão geral de todas as publicações com gramíneas do gênero *Urochloa* (sinônimo *Brachiaria*) relacionadas ao melhoramento, genética, e uso de marcadores moleculares. O Brasil foi o país que mais registrou publicações nos três aspectos da busca. Por meio dos mapas de estruturas conceituais e temáticos foi possível observar o grande interesse dos pesquisadores por temas voltados aos estudos com microrganismos benéficos que proporcionam um melhor desenvolvimento das gramíneas. Foi também constatado a aplicabilidade dos marcadores moleculares na caracterização genética e na construção de mapas de ligação, associados principalmente à apomixia, e secundariamente a outras características de importância agrônômica. Nesse caso, os que se destacaram foram os microsatélites, RAPDs, AFLPs e SNPs. Os marcadores ITS e os localizados no DNA cloroplastídico se mostraram ideais para a avaliação das relações genéticas entre as espécies do gênero *Urochloa*. Vale ressaltar também o gene 16S que se mostrou útil para a identificação e classificação das bactérias benéficas às forrageiras. Com isso, torna-se evidente a importância da utilização dos marcadores moleculares como ferramenta para incrementar as práticas de melhoramento de forrageiras, sendo necessário a ampliação das pesquisas, principalmente direcionadas à caracterização e identificação de mais QTLs de interesse econômico, de forma a facilitar a seleção e os cruzamentos dirigidos que garantam a formação dos acessos com maior variabilidade genética, evitando assim perdas futuras, principalmente diante do sistema vigente de monocultura praticado em países como o Brasil.

AGRADECIMENTOS

A Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa) e a Fundação Cearense de Apoio ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico (FUNCAP) financiaram este estudo por meio dos projetos de concessão nº SEG: 22.16.04.018.00.00 (MEGFOR) e BP5-0197-00214.01.00/22, respectivamente. FMD gostaria de agradecer à FUNCAP pela Bolsa de Produtividade em Pesquisa.

BIBLIOGRAFIA

- Aldrich-Wolfe, L. (2007). Distinct mycorrhizal communities on new and established host in transitional tropical plant community. *Ecology*, 88(3), 559-566.
- 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, 1998-2003.
- Alvarez, E., Latorre, M., Bonilla, X., Sotelo, G. & Miles, J. W. (2013). Diversity of *Rhizoctonia* spp. causing foliar blight on *Brachiaria* in Colombia and evaluation of *Brachiaria* genotypes for foliar blight resistance. *Plant Disease*, 97(6), 772-779.
- Ambiel, A. C., Machado Neto, N. B., Guaberto, L. M., & Vanderlei, T. M. (2008). Agrupamento de acessos e cultivares de três espécies de *Brachiaria* por RAPD. *Acta Scientiarum. Agronomy*, 30, 457-464.
- Ambiel, A. C., Machado Neto, N. B., Guaberto, L. M., & Vanderlei, T. M. (2010). *Brachiaria* germplasm dissimilarity shown by the RAPD markers. *Crop Breeding and Applied Biotechnology*, 10, 55-64.
- Aria, M. & Cuccurullo, C. (2017). Bibliometrix: An R-tool for comprehensive science mapping analysis. *Journal of Informetrics*, 11, 959-975.
- Azevedo, A. L. S., Costa, P. P., Machado, M. A., De Paula, C. M. P., & Sobrinho, F. S. (2011). High degree of genetic diversity among genotypes of the forage grass *Brachiaria ruziziensis* (Poaceae) detected with ISSR markers. *Genetics and Molecular Research*, 10, 3530-3538.
- Barbosa J.D., Oliveira C.M.C., Tokarnia C.H., & Peixoto P.V. (2006). Fotossensibilização hepatogênica em equinos pela ingestão de *Brachiaria humidicola* (Gramineae) no Estado do Pará. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, 26(3), 147-153.
- Bitencourt, G. A., Chiari, L., & Valle, C. B. (2012). Avaliação de híbridos por meio de marcadores RAPD e identificação do modo de reprodução pela anatomia de sacos embrionários em *Brachiaria humidicola*. *Ensaios e Ciência, Ciências Biológicas*, 16(2), 59-70.
- Bitencourt, G. A., Chiari, L., Valle, C. B., Salgado, L. R., & Leguizamón, G. O. C. (2008). Uso de marcadores RAPD na identificação de híbridos de *Brachiaria humidicola*. *Boletim de Pesquisa*, 23. Campo Grande: Embrapa Gado de Corte, 19p.
- Bleas, M. J., De Grandis, S. A., Lee, H., & Trevors, J. T. (1998). Amplified fragment length polymorphism (AFLP): a review of the procedure and its applications. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 21, 99-114.
- Brookes, A. J. (1999). The essence of SNPs. *Gene*, 234(2), 177-186.
- Bueno, L. G., Alves, M. M. A., Rocha, J. E. S., Cavalcante, A. C. R., Galvani, D. B., Diniz, F. M., Valle, C. B., & Candido, M. J. D. (2019). Caracterização morfológica de *Urochloa mosambicensis* para seleção de genótipos elite em programa de melhoramento de forrageiras. *Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento*, 11. Sobral: Embrapa Caprinos e Ovinos, 19p.
- Bueno, L. G., Galvani, D. B., Voltolini, T. V., & Diniz, F. M. (2022). Capim-urocloa, alternativa para região semiárida. In: Santos, M. V. F., Neiva, J. N. M. (Org.). *Culturas Forrageiras no Brasil: uso e perspectivas*. 1ed. Visconde do Rio Branco: Suprema Gráfica, 177-196.
- Camurça, D. A., Neiva, J. M., Pimentel, J. C. M., Vasconcelos, V. R., & Lôbo, R. N. B. (2002). Desempenho produtivo de ovinos alimentados com dietas à base de feno de gramíneas tropicais. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 31(5), 2113-2122.

- Cardozo Junior, F. M., Carneiro, R. F. V., Rocha, S. M. B., Nunes, L. A. P. L., Santos, V. M., Lima Feitoza, L., & Araújo, A. S. F. (2018). The impact of pasture systems on soil microbial and community-level physiological profiles. *Land Degradation and Development*, 29(2), 284-291.
- Cobo, M. J., López-Herrera, A. G., Herrera-Viedma, E., & Herrera, F. (2011). An approach for detecting quantifying, and visualizing the evolution of a research field: A practical application to the Fuzzy sets theory field. *Journal of Informetrics*, 5, 146-166.
- Corte, V. D., Del Gaudio, G., Sepe, F., & Sciarrelli, F. (2019). Sustainable tourism in the Open Innovation Realm: A bibliometrics analysis. *Sustainability*, 11(21), 6114.
- Diamante, N. A., Fabrin, T. M., Silveira, M. J., Oliveira, A. V., Thomaz, S. M., Pinto Prioli, S. M. A., & Prioli, A. J. (2020). Molecular analysis of the invasive populations of *Urochloa* (Poaceae) in large Neotropical reservoir. *Aquatic Botany*, 161, 103183.
- Dixon, L. J., Castlebury, L. A., Aime, M. C., Glynn, N. C., & Comstock, J. C. (2010). Phylogenetic relationships of sugarcane rust fungi. *Mycological Progress*, 9(4), 459-468.
- Faria, A. P. D., Marabesi, M. A., Gaspar, M., & França, M. G. C. (2018). The increase of current atmospheric CO₂ and temperature can benefit leaf gas exchanges, carbohydrate content and growth in C₄ grass invaders of the Cerrado biome. *Plant Physiology and Biochemistry*, 127, 608-616.
- Ferreira, R. C. U., Cançado, L. J., Valle, C. B., Chiari, L., & Souza, A. P. (2016). Microsatellite loci for *Urochloa decumbens* (Stapf) R. D. Webster and cross-amplification in other *Urochloa* species. *BMC Research Notes*, 9, 152.
- Ferreira, R. C. U., Lara, L. A. C., Chiari, L., Barrios, S. C. L., Valle, C. B., Valério, J. R., Torres, F. Z. V., Garcia, A. A. F., & Souza, A. P. (2019). Genetic mapping with allele dosage information in tetraploid *Urochloa decumbens* (Stapf) R. D. Webster reveals insights into spittlebug (*Notulidia enteriana* Berg) resistance. *Frontiers in Plant Science*, 10, 92.
- Fugita, J. M. S., Pereira, T. B. C., Banzato, T. C., Kitajima, E. W., Souto, E. R., & Bedento, I. P. (2017). Occurrence of a subgroup 16 SrII-J phytoplasma in non-symptomatic *Brachiaria decumbens* cultivated in a grazing area. *Tropical Plant Pathology*, 42(6), 500-503.
- Ginwal, H. S., Sharma, R., Chauhan, P., Rai, K. C., & Barthwal, S. (2020). Chloroplast microsatellites reveal genetic diversity and population structure in natural populations of Himalayan Cedar (*Cedrus deodara*) (Roxb.) G. Don in India. *Silvae Genetica*, 69, 86-93.
- Gonzalez, A. M. T. & Morton, C. M. (2005). Molecular and morphological phylogenetic analysis of *Brachiaria* and *Urochloa* (Poaceae). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 37(1), 36-44.
- Jesus, A. A., Bueno, L. G., Vega, W. H. O., & Diniz, F. M. (2020). Molecular tools in genetic breeding of *Megathyrsus maximus* for semiarid region: a review. *Research, Society and Development*, 9(10), e7839108675.
- Jungmann, L., Sousa, A. C. B., Paiva, J., Francisco, P. M., Vigna, B. B. Z., Valle, C. B., Zucchi, M. I., & Sousa, A. C. B. (2009b). Isolation and characterization of microsatellite markers for *Brachiaria brizantha* (Hochst. ex A. Rich.) Stapf. *Conservation Genetics*, 10, 1873.
- Jungmann, L., Vigna, B. B. Z., Paiva, J., Sousa, A. C. B., Valle, C. B., Laborda, P. R., Zucchi, M. I., & Souza, A. P. (2009a). Development of microsatellite markers for *Brachiaria humidicola* (Rendle) Schweick. *Conservation Genetics Resources*, 1, 475-479.
- Kelemu, S., White, J. F., Muñoz, F., & Takayama, Y. (2001). An encophyte of the tropical forage grass *Brachiaria brizantha*: isolating, identifying, characterizing the fungus, and determining its antimycotix properties. *Canadian Journal of Microbiology*, 47(1), 55-62.
- Kraberger, S., Saumtally, S., Pande, D., Khoodoo, M. H. R., Dhayan, S., Dookun-Saumtally, A., Shepherd, D. N., Hartnady, P., Atkinson, R., Lakay, F. M., hanson, B., Redhi, D., Monjane, A. L., Windram, O. P., Walters, M., Oluwafemi, S., Michel-Lett, J. Lefevure, P., Martin, D. P., & Varsani, A. (2017). Molecular diversity, geographic distribution and host range of monocot-infecting mastreviruses in Africa and surrounding islands. *Virus Research*, 238, 171-178.
- Kumar, S. & Shanker, A. (2020). Analysis of microsatellites in mitochondrial genome of *Aneura pinguis* (L.) Dumort. *Contemporary Research on Bryophytes*, 1, 87-94.
- Kuwi, S. O., Kyalo, M., Mutai, C. K., Mwilawa, A., Hanson, J., Djikeng, A., & Ghimire, S. R. (2018). Genetic diversity and population structure of *Urochloa* grass accessions from Tanzania using simple sequence repeat (SSR) markers. *Brazilian Journal of Botany*, 41, 699-709.
- Leão, U.S., Bueno, L.G., Negreiros, A.B., Silva, G. R., Maggioni, R., Britto, F. B., Sarmiento, J. L. R., Galvani, Diego B. ; Diniz, Fábio M. et al. (2023). Unveiling the demographic background and genetic diversity of *Urochloa mosambicensis* (Poaceae) through genome-wide identification of simple sequence repeats and molecular marker development. *Conservation Genetics Resources*, 15, 135-143.
- Marchi, C. E., Fernandes, C. D., Anache, F. C., Jerba, V. F., & Fabris, L. R. (2008). Químico e termoterapia em sementes e aplicação de fungicidas em *Brachiaria brizantha* como estratégias no manejo do carvão. *Summa Phytopathologica*, 34(4), 321-325.
- Marcone, C., Ragozzino, A., & Seemuller, E. (1997). Detection of Bermuda grass white leaf disease in Italy and characterization of the associated phytoplasma RFLP analysis. *Plant Disease*, 81(8), 862-866.
- Maruthadurai, R. & Ramesh, R. (2020). Occurrence, damage pattern and biology of fall armyworm, *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (*Lepidoptera: Noctuidae*) on fodder crops and green amaranth in Goa, India. *Phytoparasitica*, 48(1), 15-23.
- Matias, F. I., Meireles, K. G. X., Nagamatsu, S. T., Barrios, S. C. L., Valle, C. B., Carazzolle, M. F., Fritsche-Neto, R., & Endelman, J. B. (2019b). Expected genotype quality and diploidized marker data from genotyping-by-sequencing of *Urochloa* spp. tetraploids. *Plant Genome*, 12(3), 1-9.
- Matias, F. I., Vidotti, M. S., Meireles, K. G. X., Barrios, S. C. L., Do Valle, C. B., Carley, C. A. S., & Fritsche-Neto, R. (2019a). Association mapping considering allele dosage: An example of forage traits in an interspecific segmental allotetraploid *Urochloa* spp panel. *Crop Science*, 59(5), 2062-2076.
- Mollot, G., Duyck, P. -F., Lefeuvre, P., Lescourret, F., Martin, J. -F., Piry, S., Canard, E., & Tixier, P. (2014). Cover cropping alters the diet of arthropods in a banana plantation: A metabarcoding approach. *PLoS ONE*, 9, 4.
- Mukhtar, S., Mirza, B. S., Mehnaz, S., Mirza, M. S., Mclean, J., & Malik, K. A. (2018). Impact of soil salinity on the microbial structure of halophyte rhizosphere microbiome. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 34(9), 136.
- Ngendahayo, M. (1998). Mécanismes de la reproduction dans le genre *Brachiaria* Gris. et stratégies d'amélioration et de sélection. [Tese de Doutorado em Fitotecnia, Université Catholique de Louvain]. 165p.
- Nita, A. (2019). Empowering impact assessments knowledge and international research collaboration – A bibliometric analysis of Environmental impact assessment review journal. *Environmental Impact Assessment Review*, 78, 1-10.
- Nithaisong, P., Ishigaki, G., Tanaka H., & Akashi, R. (2016). Chromosome number, genomic variation, and molecular markers to assess genetic diversity of species. *Crop Science*, 56, 312- 321.
- Oliveira, J. T. C., Silva, G. T., Diniz, W. P. S., Figueiredo, E. F., Santos, I. B., Lima, D. R. M., Quecine, M. C., Kuklinsky-sobral, J., & Freire, F. J. (2018). Diazotrophic bacteria isolated from *Brachiaria* spp.: Genetic and physiological diversity. *Ciencia Investigacion Agraria*, 45(3), 277-289.
- Oliveira, M. C. (1999). Capim urochloa: produção e manejo no semi-árido do Nordeste do Brasil. *Circular Técnica*, 43. Petrolina: Embrapa Semiárido, 20p.
- Ondabu N, Maina S, Kimani W, Njarui D, Djikeng A., & Ghimire S. (2017). Molecular characterizations of kenyan *Brachiaria* grass ecotypes with microsatellite (SSR) Markers. *Agronomy*. 7(1), 8.
- Ortiz, J. P. A., Pessino, S. C., Bhat, V., Hayward, M. D., & Quarin, C. L. (2001). Cell biology e molecular genetics: A genetic linkage map of diploid *Paspalum notatum*. *Crop Science*, 41(3), 823-830.

- Peixoto, A. M., Pedreira, C. G. S., Moura, J. C., & Faria, V. P. (2001). A Planta Forrageira no Sistema de Produção (Anais do 17º Simpósio sobre Manejo da Pastagem). 2a. ed. Piracicaba: Fundação de Estudos Agrários "Luiz de Queiroz", v. 1. 458 p.
- Pequeno, D. N. L., Pereira, C. G. S., Boote, K. J., Alderman, P. D., & Faria, A. F. G. (2018). Species genotypic parameters of the CROPGRO perennial forage model: Implications for comparison of three tropical pasture grasses. *Grass and Forage Science*, 73(2), 440-455.
- Pereira, V. J., Assis, D. F., Lana, R. M. Q., Silva, A. A., & Pereira, H. S. (2019). Fertilization with liquid swine manure increases productivity and improves the quality of *Urochloa decumbens*. *Bioscience Journal*, 35(6), 1862-1870.
- Pereira, D. A. S., Ceresini, P. C., Castroagudin, V. L., Ramos-Molina, L. M., Chavarro-Mesa, E., Negrisoli, M. M., Campos, S. N., Pegolo, M. E. S., & Takada, H. M. (2017). Population genetic structure of *Rhizoctonia oryzae-sativae* from rice in Latin America and its adaptative potential to emerge as a pathogen on *Urochloa* pastures. *Phytopathology*, 1, 121-131.
- Pessino, S. C., Evans, C., Ortiz, J. P. A., Armstead, I., Valle, C. B., & Hayward, M. D. (1998). A genetic map of the apospory- region in *Brachiaria* hybrids: identification of two markers closely associated with the trait. *Hereditas*, 128, 153-58.
- Pessino, S. C., Ortiz, J. P. A., Leblanc, O., Valle, C. B., & Hayward, M. D. (1997). Identification of a maize linkage group related to apomixis in *Brachiaria*. *Theoretical and Applied Genetics*, 94, 439-44.
- Pessoa-Filho, M., Martins, A. M., & Ferreira, M. E. (2017). Molecular dating of phylogenetic divergence between *Urochloa* species based on complete chloroplast genomes. *BMC Genomics*, 18, 516.
- Ribeiro, N. V. S., Vidal, M. S., Barrios, S. C. L., Baldani, V. L. D., & Baldani, J. I. (2019). Genetics diversity and growth promoting characterization of diazotrophic bacterial isolated from 20 genotypes of *Brachiaria* spp. *Plant and Soil*, 451, 187-205.
- Salariato, D. L., Giussani, L. M., Morrone, O., & Zuloaga, F. O. (2009). *Rupichloa*, a new genus segregated from *Urochloa* (Poaceae) based on morphological and molecular data. *Taxon*, 58(2), 381-91.
- Salgado, L. R., Lima, R., Santos, B. F., Shirakawa, K. T., Vilela, M. A., Almeida, N. F., Pereira, R. M., Nepomuceno, A. L., & Chiari, L. (2017). De Novo RNA Sequencing and Analysis of the Transcriptome of Signalgrass (*Urochloa decumbens*) Roots Exposed to Aluminum. *Plant Growth Regulation*, 83, 157-170.
- Santos, J. C., Barreto, M. A., Oliveira, F. A., Vigna, B. B., & Souza, A. P. (2015). Microsatellite markers for *Urochloa humidicola* (Poaceae) and their transferability to other *Urochloa* species. *BMC Research Notes*, 8, 83.
- Silva, C. M. S., Oliveira, M. C., & Soares, J. G. G. (1984). Avaliação de forrageiras nativas e exóticas para a região semiárida no Nordeste. *Série Documento*, 27. Petrolina: Embrapa Semiárido, 37p.
- Silva, P. I., Martins, A. M., Gouvea, E. G., Pessoa-Filho, M., & Ferreira, M. (2013). Development and validation of microsatellite markers for *Brachiaria ruziziensis* obtained by partial genome assembly of Illumina single-end reads. *BMC Genomics*, 14(17), 1-9.
- Simon, C. A., Lima, S. F., Cordeiro, M. S., Secco, V. A., Nacata, G., Silva, A. M. M., Simon, C. C., & Brasil, M. S. (2019). Cover crops as modifying agents of microbiological soil attribute. *Australian Journal of Crop Science*, 13(10), 1578-1585.
- Souza, J. S., Chiari, L., Simeão, R. M., Vilela, M. M., & Salgado, L. R. (2018). Development, validation and characterization of genic microsatellite markers in *Urochloa* species. *American Journal of Plant Sciences*, 9, 281-295.
- Stanton, J. M., O'Brien, P. C., Schipke, L. G., Hugall, A., & Moritz, C. (1992). Species of root-knot nematodes (*Meloidogyne* spp.) affecting tobacco in north Queensland, including two new host races of *M. arenaria*. *Australasian Plant Pathology*, 21(4), 150-157.
- Stumpf, L., Anjos Leal, O., Pauletto, E. A., Pinto, L. F. S., Reis, D. A., Pinto, M. A. B., & Tuchtenhagen, I. K. (2018). Tensile strenght and organic matter fractions in aggregates of a grass-covered mined soil under early stage recovery. *Soil and Tillage Research*, 176, 69-76.
- Tegegn, A., Kyalo, M., Mutai, C., Hanson, J., Asefa, G., Djikeng, A., & Ghimire, S. (2019). Genetic diversity and population structure of *Brachiaria brizantha* (A. Rich.) Stapf accessions from Ethiopia. *African Journal of Range & Forage Science*, 36(2), 129-133.
- Thaiku, S., Ebina, M., Yamanaka, N., Shimoda, K., Suenaga, K., & Kawamoto, Y. (2016). Tightly clustered markers linked to an apospory-related gene region and quantitative trait loci mapping for agronomic traits in *Brachiaria* hybrids. *Grassland Science*, 62, 69-80.
- Triviño, N. J., Perez, J. G., Recio, M. E., Ebina, M., Yamanaka, N., Tsutsumi, S., Ishitani, M., & Worthington, M. (2017). Genetic diversity and population structure of *Brachiaria* species and breeding populations. *Crop Science*, 57, 2633-2644.
- Valle, C. B. & Pagliarini, M. S. (2009). Biology, cytogenetics, and breeding of *Brachiaria*. In: Singh, R. J. (Ed.). *Genetic resources, chromosome engineering, and crop improvement Series*. Boca Raton: CRC Press, 103-151.
- Verma, S. K. & White, J. F. (2018). Indigenous endophytic seed bacteria promote seedling development and defend against fungal disease in browntop millet (*Urochloa ramosa* L.). *Journal of Applied Microbiology*, 124(3), 764-778.
- Vigna, B. B. Z., Alleoni, G. C., Jungmann, L., Valle, C. B., & Souza, A. P. (2011b). New microsatellite markers developed from *Urochloa humidicola* (Poaceae) and cross amplification in different *Urochloa* species. *BMC Research Notes*, 4, 523.
- Vigna, B. B. Z., Jungmann, L., Francisco, P. M., Zucchi, M. I., Valle, C. B., & Souza, A. P. (2011a). Genetic diversity and population structure of the *Brachiaria brizantha* germplasm. *Tropical Plant Biology*, 4, 157-169.
- Vigna, B. B. Z., Oliveira, F. A. de, Toledo-Silva, G., Silva, C. C., Valle, C. B., & Souza, A. P. (2016b). Leaf transcriptome of two highly divergent genotypes of *Urochloa humidicola* (Poaceae), a tropical polyploid forage grass adapted to acidic soils and temporary flooding areas. *BMC Genomics*, 17, 910.
- Vigna, B. B. Z., Santos, J. C., Jungmann, L., Valle, C. B., Mollinari, M., Pastina, M. M., Pagliarini, M. S., Garcia, A. A. F., & Souza, A. P. (2016a). Evidence of allopolyploidy in *Urochloa humidicola* based on cytological analysis and genetic linkage mapping. *PLoS One*, 11, e0153764.
- Vos, P., Rogers, R., Bleeker, M., Reijans, M., Van de Lee, T., Hornes, M., Fritjers, A., Pot, J., Peleman, J., Kuiper, M., & Zabeau, M. (1995). AFLP: A new technique for DNA fingerprinting. *Nucleic Acids Research*, 23, 4407-4414.
- Wang, J., Chuang, K., Ahluwalia, M., Patel, S., Umblas, N., Mirel, D., Higuchi, R., & Germer, S. (2005). High-throughput SNP genotyping by single-tube PCR with Tm-shift primers. *BioTechniques*, 39(6), 885-892.
- Wongkaew, P., Hanboonsong, Y., Sirithorn, P., Choosai, C., Boonkrong, S., Tinnangwattana, T., Kitchareonpanya, R., & Damak, S. (1997). Differentiation of phytoplasma associated with sugarcane and gramineous weed white leaf disease and sugarcane grassy shoot disease by RFLP and sequencing. *Theoretical and Applied Genetics*, 4(4), 660-663.
- Yahaya, A., Dangora, D. B., Alegbejo, M. D., Kumar, P. L., & Alabi, O. J. (2017). Identification and molecular characterization of a novel sugarcane streak mastrevirus and an isolate of the A-strain of maize streak virus from sugarcane in Nigeria. *Archives of Virology*, 162(2), 597-602.
- Yang, Y., Liu, X., Cai, J., Chen, Y., Li, B., Guo, Z., & Huang, G. (2019). Genomic characteristics and comparative genomics analysis of the endophytic fungus *Sarocladium brachiariae*. *BMC Genomics*, 20, 782.
- Zhang, Y., Huang, K., Yu, Y., & Yang, B. (2017). Mapping of water footprint research: a bibliometric analysis during 2006-2015. *Journal of Cleaner Production*, 149, 70-79.
- Zietkiewicz, E., Rafalski, A., & Labuda, D. (1994). Genome fingerprinting by simple sequence (SSR) - Anchored polymerase chain reaction amplification. *Genomics*, 20, 176-183.
- Zorzatto, C., Chiari, L., Valle, C. B., & Leguizamón, G. O. C. (2009). Estudo da variabilidade genética em *Brachiaria dictyoneura* por marcadores RAPD. *UEPG: Ciências Biológicas e da Saúde*, 15(1), 59-66.