

**Universidade de São Paulo
Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”**

**Mapeamento comparativo de QTLs entre sorgo sacarino e cana-de-açúcar
para caracteres bioenergéticos**

Guilherme da Silva Pereira

Tese apresentada para obtenção do título de Doutor em
Ciências. Área de concentração: Genética e
Melhoramento de Plantas

**Piracicaba
2015**

Guilherme da Silva Pereira
Licenciado e Bacharel em Ciências Biológicas

**Mapeamento comparativo de QTLs entre sorgo sacarino e cana-de-açúcar para
caracteres bioenergéticos**

Orientador:
Prof. Dr. **ANTONIO AUGUSTO FRANCO GARCIA**

Tese apresentada para obtenção do título de Doutor em
Ciências. Área de concentração: Genética e
Melhoramento de Plantas

**Piracicaba
2015**

*A Deus,
pelos dons que, por certo, são dEle:
ofereço.*

*Aos meus pais, **Geraldo e Maristela**,
por todo empenho na educação e amor na criação dos filhos:
dedico.*

AGRADECIMENTOS

Nesses quatro anos, inúmeras instituições e pessoas fizeram-se indispensáveis para o desenvolvimento deste trabalho em particular e para o meu próprio crescimento pessoal e profissional. Na tentativa de citar a todos, concedendo-lhes os devidos méritos, talvez eu me faça enfadonho. No entanto, considerando os agradecimentos não apenas uma obrigação, mas, verdadeiramente, um modesto reconhecimento por toda contribuição recebida, penso que é válido fazê-los apropriadamente.

Inicialmente, gostaria de expressar minha gratidão pela oportunidade de cursar o doutorado à Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” (ESALQ) e ao Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento de Plantas da ESALQ, assim como pelas bolsas concedidas pela Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e, finalmente, pela Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP – processo nº 12/25236-4).

A percepção de que este trabalho não é de uma pessoa só, mas, sim, de toda uma equipe, consolida-se rapidamente no decorrer do texto. Por isso, faltam palavras para agradecer devidamente ao Prof. Dr. Antonio Augusto Franco Garcia, que, por ter aceitado me orientar, propiciou tudo isto. Tendo me confiado este trabalho e me entusiasmado com sua maneira de ver a ciência e de fazer pesquisa, o Augusto me ensinou mais do que conteúdos de genética e estatística. É mérito dele, portanto, não só eu ter me capacitado a atuar sobre tópicos diversos da área, como também ter percebido que com esforço sempre podemos ir além. Sua capacidade de atrair pessoal competente e altruísta faz do Laboratório o ambiente ideal para nosso desenvolvimento acadêmico, profissional e pessoal.

Alguns colegas e ex-colegas do Laboratório contribuíram diretamente com este trabalho; foram eles: Luciano Da Costa E Silva e Maria Marta Pastina nas etapas de mapeamento de QTLs que envolveram o uso do ONEQTL, e Gabriel Margarido e Marcelo Mollinari nos respectivos trabalhos envolvendo o TASSEL-GBS e o SUPERMASSA e nas enriquecedoras discussões ao longo deste trabalho. Os demais, indiretamente e cada um ao seu modo, também tiveram suas contribuições. É o caso das trocas de ideias sobre diversos assuntos em genética e estatística com Rodrigo Gazaffi, Renato Rodrigues, Edjane Freitas, Adriana Cheavegatti, João Ricardo Bacheга e Carina Anoni, marcadamente, e do sempre animado e estimulante convívio com Graciela Sobierajski, Rodrigo Amadeu, Maria Izabel Cavassim, Rafael Tassinari, Luís Felipe Ferrão, Marianella Quezada, Letícia Lara, Amanda Avelar, Danilo Cursi e Fernando Correr.

Conhecê-los e ter a amizade de vocês, pessoal, já faria este doutorado valer a pena! Ter convivido com a Adriana, em especial, durante esses quatro anos, me trouxe inúmeros benefícios pessoais e profissionais, por ser sempre tão centrada e acolhedora.

Este trabalho reuniu dados e informações de dois grupos de pesquisa distintos e, obviamente, sem a existência de tais parcerias, seria impossível realizá-lo. Assim, pela parceria envolvendo a população de mapeamento de sorgo sacarino, gostaria de agradecer ao Dr. Jurandir Vieira de Magalhães, da Embrapa Milho e Sorgo, Sete Lagoas-MG, e aos seus alunos e demais pesquisadores e técnicos envolvidos. O Jurandir não só me co-orientou, contribuindo com o inteiro desenvolvimento da pesquisa, como também propiciou diversos avanços. E, pela parceria envolvendo a população de mapeamento de cana-de-açúcar, meus agradecimentos à Profa. Dra. Monalisa Sampaio Carneiro, da Universidade Federal de São Carlos (UFSCar), Araras-SP, e à Profa. Dra. Anete Pereira de Souza, da Universidade Estadual de Campinas (Unicamp), Campinas-SP, e aos seus respectivos alunos e equipe técnica.

Sendo também parte dos trabalhos de doutorado de Vander Fillipe de Souza, da Universidade Federal de São João del-Rei (UFSJ), Sete Lagoas-MG, e de Thiago Willian Balsalobre, da Unicamp, gostaria de agradecê-los imensamente por trabalharem na obtenção e disponibilização dos dados e na discussão dos resultados das respectivas populações de mapeamento de sorgo sacarino e de cana-de-açúcar. Muito obrigado também pela amizade de vocês e por compartilharem seus conhecimentos sobre as culturas comigo. Este trabalho, claramente, também é de vocês.

Também registro minha eterna gratidão aos professores dos programas de pós-graduação da ESALQ em Genética e Melhoramento de Plantas e em Estatística e Experimentação Agrônômica pelos conhecimentos compartilhados durante disciplinas e cursos e pela imensa contribuição na minha formação acadêmica. Meu muito obrigado se estende a todos os funcionários da ESALQ, e, em especial, a Léia, Rogério, Wilma, Fernando, Macedônio, Natálio, Carlinhos, Valdir, Berdan, do Departamento de Genética; a S. Antonio e Marcos, da portaria do prédio; a Lucas, do Serviço de Pós-Graduação; a Glória, da Biblioteca; e a Patrícia, do Ponto de Apoio da FAPESP.

Obrigado aos atuais e antigos moradores da República, Mateus Figueiredo, Endson Nunes, Diego Velasquez, Sanzio Barrios, Rodrigo Marques, Rubén Díaz, Thiago Aragão, Mateus Vicente, Hugo Rosa, Otávio Carneiro, Rafael Tassinari, Yuri Caires, Lucas Santos, Stevan Bordignon, Gustavo Martins, Luís Felipe Ferrão e Tomaz Andrade pela parceria e amizade,

e à D. Elza e à D. Mônica, por cuidarem de nós. E a todos os amigos que fiz em Piracicaba-SP, por terem tornado minha permanência na cidade ainda mais agradável; desculpem-me por não me arriscar a citá-los aqui, sob o prejuízo de esquecer alguém...

Finalmente, agradeço imensamente ao Dr. Paulo Augusto Vianna Barroso e à Dra. Lucia Vieira Hoffmann, ambos da Embrapa Algodão, Goiânia-GO, e à Profa. Dra. Maria Lucia Carneiro Vieira, da ESALQ, pela amizade, conselhos e estímulos à carreira científica. Obrigado aos meus pais, Geraldo e Maristela, e aos meus irmãos, Gustavo e Júnior, e demais familiares e amigos de Campina Grande-PB ou espalhados pelo Brasil, pelo apoio e incentivo aos estudos e pela compreensão devida às ausências.

SUMÁRIO

RESUMO	11
ABSTRACT	13
1 INTRODUÇÃO	15
2 MATERIAL E MÉTODOS	23
2.1 Materiais Vegetais	23
2.1.1 Sorgo sacarino	23
2.1.2 Cana-de-açúcar	23
2.2 Análise Fenotípica	23
2.2.1 Sorgo sacarino	24
2.2.2 Cana-de-açúcar	26
2.2.3 Correlações genotípicas e herdabilidades	27
2.3 Análise Genotípica	29
2.3.1 Sorgo sacarino	29
2.3.2 Cana-de-açúcar	29
2.3.2.1 Marcadores baseados em GBS	30
2.3.2.2 Marcadores baseados em géis	32
2.3.2.3 Construção de mapa genético	32
2.4 Mapeamento de QTLs	34
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	39
3.1 Sorgo Sacarino	39
3.1.1 Análise fenotípica	39
3.1.2 Análise genotípica	42
3.1.3 Mapeamento de QTLs	43
3.2 Cana-de-Açúcar	45
3.2.1 Análise fenotípica	45
3.2.2 Análise genotípica	48
3.2.2.1 Estratégias de descoberta de polimorfismos utilizando GBS	48
3.2.2.2 Estimação de ploidia e dosagem alélica	49
3.2.2.3 Marcadores baseados em géis	53
3.2.2.4 Mapa genético	55
3.2.3 Mapeamento de QTLs	60

3.3 Mapeamento Comparativo de QTLs	62
4 CONSIDERAÇÕES FINAIS	67
REFERÊNCIAS	69
APÊNDICES	79

RESUMO

Mapeamento comparativo de QTLs entre sorgo sacarino e cana-de-açúcar para caracteres bioenergéticos

Sorgo sacarino e cana-de-açúcar são duas importantes gramíneas com fins potencialmente bioenergéticos. No entanto, apesar do conhecido relacionamento evolutivo, os genomas dessas espécies diferem em complexidade e tamanho. O sorgo, *Sorghum bicolor*, é diploide, com número básico de cromossomos igual a dez, os quais totalizam ~726 Mb já sequenciadas. Já a cana cultivada, *Saccharum × officinarum*, é um autoploiploide com frequente aneuploidia, e apresenta genoma monoploide estimado em ~1 Gb. Provavelmente, decorre deste fato, e dos cruzamentos interespecíficos que originaram as variedades atuais, a relativa dificuldade em se realizar estudos genéticos em cana, e, como consequência, em se incrementar os trabalhos de melhoramento na espécie. Nesse contexto, a possibilidade de integrar estudos de mapeamento entre sorgo e cana torna-se viável dado o emprego de metodologias apropriadas. O presente trabalho objetivou mapear e comparar QTLs para caracteres agro-industriais nos genomas de ambas as espécies, baseando-se no relacionamento evolutivo existente entre elas. Para tanto, foram utilizadas duas populações de mapeamento. A população de sorgo sacarino foi constituída por 223 RILs genotipadas por mais de cem mil marcadores baseados em GBS fisicamente mapeados contra o genoma da espécie. A população de cana-de-açúcar constituiu-se de uma progênie F₁ segregante com 153 indivíduos genotipados por 500 marcadores baseados em géis (SSR e TRAP) e 7.049 marcadores baseados em GBS, segregando em dose única. Esses marcadores possibilitaram a construção de um mapa genético informativo e saturado, com 993 marcadores distribuídos ao longo de 223 grupos de ligação, totalizando 3.682,05 cM. Ambas as populações foram avaliadas para quatro caracteres de interesse bioenergético: altura de colmos, toneladas de colmos ou de massa verde por hectare, e porcentagens de pol de caldo e de fibra. Modelos mistos foram utilizados para a análise dos dados fenotípicos, evidenciando a existência de interação genótipo-ambiente a partir da estruturação de matrizes de variâncias-covariâncias genéticas. As médias ajustadas conjunta e marginalmente foram utilizadas na descoberta de QTLs. Para este fim, modelos de mapeamento de múltiplos intervalos uni- e multivariados foram utilizados e determinaram a descoberta de 53 e 36 regiões contendo QTLs para as populações de sorgo e cana, respectivamente, para o conjunto dos quatro caracteres. Os genomas foram comparados utilizando os marcadores baseados em GBS de cana com informação posicional em relação ao genoma do sorgo. Um total de 16 regiões sintênicas identificadas entre as espécies possibilitaram inferências a respeito do controle evolutivamente conservado dos caracteres relacionados. Mais oito regiões foram adicionadas a estas após análise de marcadores individualmente para a população de cana. A descoberta dessas regiões subjacente à variação de caracteres bioenergéticos sugere aplicações na clonagem de genes e na seleção assistida por marcadores, beneficiando os programas de melhoramento de ambas as espécies.

Palavras-chave: *Sorghum bicolor*; *Saccharum × officinarum*; Mapeamento de múltiplos QTLs; Análise de ligação; Sintenia

ABSTRACT

Comparative QTL mapping between sweet sorghum and sugarcane for bioenergy traits

Sweet sorghum and sugarcane are two important grasses for bioenergy purposes. However, despite their known evolutionary relationship, the genomes of these species differ in complexity and size. *Sorghum bicolor* is a diploid species, with basic chromosome number of ten and ~726 Mb completely sequenced, whereas *Saccharum × officinarum* has a autopolyploid genome with frequent aneuploidy and monoploid size estimated at ~1 Gb. Therefore, genetic studies and breeding in sugarcane is challenging. In this context, the possibility of integrating mapping studies between sorghum and sugarcane becomes feasible given the recent development of appropriate methodologies. In this work, we aimed to map and compare QTLs for bioenergy traits in both species. To do this, two mapping populations were used. The population of sorghum consisted of 223 RILs genotyped by more than one hundred thousand GBS-based markers, which were physically mapped against the species genome. The population of sugarcane is an F₁ segregating progeny with 153 individuals genotyped by 500 gel-based (SSR and TRAP) and 7,049 GBS-based single-dose markers. These markers allowed the construction of an informative and dense genetic map with 993 markers belonging to 223 linkage groups and spanning 3,682.05 cM. Both populations were evaluated for four bioenergy traits: stalk height, production in tons per hectare, and percentages of pol and fiber. Mixed models were used to analyze phenotypic data and showed genotype-by-environment interaction on their genetic variance-covariance structures. Joint and marginal adjusted means were used for QTL discovery. Toward this end, univariate and multivariate multiple interval mapping models were used, and a total of 53 and 36 QTLs were found for sorghum and sugarcane, respectively. Comparison of the genomes were based on GBS markers in sugarcane with relative sorghum chromosome information. A total of 16 syntenic regions were identified between the species, allowing inferences in relation to evolutionary conserved control of the related traits. In addition, eight regions were also identified by considering single marker analyses. The discovery of QTLs underlying such bioenergy traits may suggest further applications in gene cloning and marker assisted selection for both sweet sorghum and sugarcane species.

Keywords: *Sorghum bicolor*; *Saccharum × officinarum*; Multiple QTL mapping; Linkage analysis; Synteny

1 INTRODUÇÃO

Sorgo sacarino e cana-de-açúcar são duas importantes matérias-primas de bioetanol, energia verde do século XXI. O desenvolvimento de veículos *flex* (os quais podem utilizar tanto etanol quanto gasolina como combustível) e as mudanças climáticas causadas pelo efeito estufa, por exemplo, garantem a expansão da demanda mundial pelo álcool (AMORIM et al., 2011). Considerando essa crescente demanda, há exigência de aumento na produção por unidade de área e no teor de sacarose do caldo da cana-de-açúcar, cultura mais bem estabelecida nesse cenário. Alternativamente, tem-se buscado implementar a expansão de outras culturas bioenergéticas, como o sorgo sacarino. Ainda, quantidades superiores de fibra nas duas espécies podem ser potencialmente destinadas à geração de etanol de segunda geração. Nesse contexto, o melhoramento de plantas tem um importante papel no sentido de aumentar a produção e permitir a expansão dessas culturas, por realizar seleção de genótipos que apresentem as características agronômicas e industriais requeridas. O entendimento da genética dos caracteres de herança poligênica, como são a maioria dos caracteres agro-industriais, é parte fundamental do processo de melhoramento.

Dentre os cereais mais cultivados no mundo, o sorgo fica atrás apenas de trigo, arroz, milho e cevada. De acordo com a *Food and Agricultural Organization of the United States* (FAO), 42 milhões de hectares foram destinados para a produção de sorgo em todo o mundo, tendo-se produzido mais de 61 milhões de toneladas em 2013; nesse ano, o Brasil produziu cerca de dois milhões de toneladas em mais de 770 mil hectares plantados (FAO, 2014). A cana-de-açúcar, por sua vez, está entre as mais importantes espécies tropicais cultivadas, sendo fonte de sacarose e de vários subprodutos oriundos do processamento de seu caldo e bagaço, como etanol e celulose. Em todo o mundo, foram destinados 24 milhões de hectares para o plantio de cana, tendo-se colhido mais de 1,7 bilhão de toneladas em 2013; o Brasil é o maior produtor mundial, tendo produzido 739 milhões de toneladas em 9,8 milhões de hectares plantados na safra 2012/2013 (FAO, 2014).

O sorgo, *Sorghum bicolor* (L.) Moench, é uma gramínea autógama de genoma pequeno (~726 mega bases – Mb) e diploide ($x = 10$, $2n = 2x = 20$). Essa espécie é caracterizada pela elevada resistência a estresses abióticos (como o hídrico e o salino), e por possuir o metabolismo C_4 de fixação de carbono, sendo bastante eficiente no acúmulo de biomassa. Dentre os sorgos cultivados, variedades foram selecionadas não apenas para produção de grãos (sorgo granífero), mas também para produção de fibra (sorgo biomassa), forragem (sorgo forrageiro)

e açúcar (sorgo sacarino). O último tipo é caracterizado por genótipos que produzem colmos de estatura elevada que acumulam açúcares (principalmente sacarose). No Brasil, o cultivo de sorgo sacarino tem sido considerado como interessante complemento à cultura da cana-de-açúcar no período de renovação do canavial. Em diversos aspectos, sorgo sacarino demonstra-se vantajoso em termos operacionais quando comparado à cana-de-açúcar. Por exemplo, o cultivo é realizado a partir de sementes, o ciclo vegetativo é relativamente curto (~4 meses), há geração de grãos para alimentação animal, é eficiente no uso do nitrogênio, e apresenta boa resistência hídrica e boa adaptabilidade a solos com salinidade acima do normal (ZEGADA-LIZARAZU; MONTI, 2012). Além disso, o processo de obtenção do etanol de primeira e segunda gerações a partir sorgo sacarino é semelhante ao da cana, e o bagaço também pode ser aproveitado como fonte de energia para as caldeiras no processo de produção.

Saccharum × *officinarum* designa cientificamente a cana-de-açúcar autoploidioide cultivada (CHEAVEGATTI-GIANOTTO et al., 2011), com tamanho de genoma monoploide estimado em ~1 Gb (SOUZA et al., 2011). Basicamente, duas espécies do gênero *Saccharum* constituem os genomas das cultivares atuais: a “cana-nobre” *S. officinarum* L. ($x = 10$, $2n = 8x = 80$) de colmos grossos e suculentos, com alto conteúdo de sacarose e boas características gerais para industrialização, e a cana selvagem *S. spontaneum* L. ($x = 8$, $2n = 5-16x = 40-128$), com elevada adaptabilidade a diversas condições ambientais (GRIVET; ARRUDA, 2002). Por serem alógamas e sexualmente compatíveis, os primeiros trabalhos de melhoramento da cana envolveram cruzamentos entre essas duas espécies, seguidos de retrocruzamentos com *S. officinarum*, caracterizando a nobilização (MATSUOKA; GARCIA; ARIZONO, 2005). Em decorrência desse processo, os materiais atuais apresentam um significativo acréscimo de complexidade genômica em relação às espécies originais, resultando em um genoma caracterizado pelo elevado grau de ploidia com frequente aneuploidia (D’HONT et al., 1998; GRIVET; ARRUDA, 2002). Essa peculiaridade tem sido apontada como desafiadora, pois dificulta os estudos genéticos e a aplicação de metodologias mais modernas no melhoramento da espécie.

Sorgo sacarino tem sido geneticamente estudado a partir do uso de marcadores moleculares que visaram, por exemplo, acessar diversidade (ALI et al., 2007; RITTER et al., 2007), a qual tem se mostrado razoavelmente útil do ponto de vista do melhoramento. Além disso, marcadores possibilitaram a construção de mapas genéticos e o mapeamento de locos de caracteres quantitativos (do inglês, *quantitative trait loci* – QTLs) (RITTER et al., 2008;

SHIRINGANI; FRISCH; FRIEDT, 2010; SHIRINGANI; FRIEDT, 2011; GUAN et al., 2011), assim como a realização de mapeamento associativo (MURRAY et al., 2009). Estudos genéticos para a cana também têm sido desenvolvidos visando, sobretudo, reduzir o tempo de seleção de cultivares. Corroborados pelo histórico do melhoramento, estudos citogenéticos revelaram que a composição do genoma das cultivares comerciais de cana modernas é 70-80% de *S. officinarum*, 10-20% de *S. spontaneum* e 5-17% de cromossomos recombinantes (D'HONT et al., 1998; GRIVET; ARRUDA, 2002). Ferramentas moleculares e modelos genético-estatísticos capazes de acessar tamanha complexidade têm sido buscados. Aqui, pode ser citado o uso de marcadores moleculares em estudos de diversidade (LIMA et al., 2002), construção de mapas genéticos (GARCIA et al., 2006), mapeamento de QTLs baseado em mapas de ligação (PINTO et al., 2009; PASTINA et al., 2012), e mapeamento associativo (RABOIN et al., 2006).

De fato, uma das grandes aplicações dos marcadores moleculares é na construção de mapas genéticos. Isto porque populações segregantes podem ser genotipadas para inúmeros locos e ter o genoma mapeado com base no desequilíbrio de ligação exibido entre esses marcadores. De modo geral, a natureza da espécie a ser investigada é que determina os tipos de população e de marcadores a serem utilizados no estudo. Plantas que formam linhagens por sucessivas autofecundações, fixando um alelo para cada loco podem constituir populações convencionais de mapeamento, quais sejam: retrocruzamentos, populações F₂ e linhagens endogâmicas recombinantes (do inglês, *recombinant inbred lines* – RILs); este é o caso do sorgo. No entanto, para muitas espécies é difícil ou impossível a obtenção de linhagens homozigóticas, e as análises de mapeamento são realizadas em populações F₁ segregantes, derivadas do cruzamento de genitores não-endogâmicos; isto se observa para cana-de-açúcar, por exemplo. Evidentemente, espécies muito conhecidas do ponto de vista genético, como o sorgo, dispõem de diversas metodologias para acessar o polimorfismo a nível de DNA e podem, inclusive, possuir o genoma sequenciado, possibilitando o mapeamento físico dos marcadores. Por outro lado, a dificuldade na obtenção e na análise dos dados moleculares de espécies de genomas maiores e mais complexos, como é o caso da cana-de-açúcar, pode caracterizar desafios em estudos dessa natureza, nos quais a densidade de marcadores é fundamental.

O genoma do sorgo encontra-se completamente sequenciado (PATERSON et al., 2009), fazendo da espécie um modelo atrativo para genômica funcional de gramíneas C₄. Por isso, inclusive, o sorgo tem se beneficiado amplamente de plataformas de sequenciamento da próxima geração (do inglês, *next generation sequencing* – NGS) visando a descoberta e genotipagem

de polimorfismos de base única (do inglês, *single nucleotide polymorphisms* – SNPs) e de polimorfismos baseados em inserção-deleção (indels). A metodologia de genotipagem por sequenciamento (do inglês, *genotyping-by-sequencing* – GBS) tem colaborado com estudos na espécie (MURRAY et al., 2009; MORRIS et al., 2013). Já para cana, iniciativas recentes estão buscando sequenciar o genoma (SOUZA et al., 2011), o qual já dispõe de grande número de etiquetas de sequências expressas (do inglês, *expressed sequence tags* – ESTs) do projeto SUCEST (VETTORE et al., 2003), a partir das quais se derivaram importantes marcadores para os trabalhos de mapeamento da espécie. Recentemente, a genotipagem de SNPs em espécies de genoma complexo, como a cana, tem possibilitado estudos genéticos ainda mais avançados (MOLLINARI, 2012). Porém, em detrimento da genotipagem de SNPs utilizando NGS, o uso dessa tecnologia tem-se limitado a alguns importantes projetos adicionais de sequenciamento em cana, como o do seu transcriptoma (CARDOSO-SILVA et al., 2014) e do seu genoma metil-filtrado (GRATIVOL et al., 2014).

Mapas genéticos prestam-se a diversos tipos de aplicações, com destaques para o emprego em estudos evolutivos e de sintenia, no mapeamento de QTLs, dando suporte para clonagem posicional de genes e seleção assistida por marcadores, como foi observado em exemplos anteriores. Ainda, mesmo no contexto dos inúmeros projetos existentes para sequenciamento de genomas, os mapas têm sido frequentemente requeridos, pois servem como arcabouço para ancoragem de mapas físicos e montagem e revisão de genomas (HAHN; ZHANG; MOYLE, 2014; BARTHOLOME et al., 2014; DEOKAR et al., 2014). Mapear QTLs, especificamente, significa caracterizá-los quanto a número, posição e efeitos a partir da inferência em todo o genoma sobre as relações entre o genótipo e o fenótipo de caracteres quantitativos. No contexto do melhoramento de plantas, além de possibilitar conhecimento sobre interação entre QTLs e dos QTLs com o ambiente, o mapeamento de QTLs constitui um importante passo para a caracterização da arquitetura genética de locos responsáveis por caracteres com padrão contínuo de variação fenotípica, como são a maioria dos caracteres de importância agrônômica.

Para tanto, além de marcadores moleculares, as adequadas experimentação em campo e análise dos dados fenotípicos são mandatórias. Modelos mistos, que utilizam metodologia de estimação baseada em máxima verossimilhança restrita (do inglês, *restricted maximum likelihood* – REML), têm sido empregados nesse cenário por proporcionar apropriada representação das complexas estruturas de variância-covariâncias (VCOV) originadas dos padrões de correlação entre ambientes. Importante no cenário do melhoramento de plantas, essa abordagem

proporciona, em última análise, um melhor entendimento do fenômeno da interação genótipo-ambiente (MALOSETTI; RIBAUT; VAN EEUWIJK, 2013), por exemplo.

Em sorgo sacarino, diversos estudos têm buscado locos responsáveis por caracteres bioenergéticos, como aqueles relacionados a teor de açúcar (RITTER et al., 2008; SHIRINGANI; FRISCH; FRIEDT, 2010; GUAN et al., 2011) e a qualidade de fibra (SHIRINGANI; FRIEDT, 2011). Nesses trabalhos, foram utilizadas populações experimentais derivadas de cruzamentos entre sorgo granífero e sorgo sacarino. Marcadores baseados em microssatélites ou sequências simples repetidas (do inglês, *simple sequence repeats* – SSRs), e na identificação de polimorfismos de tamanho de fragmentos amplificados (do inglês, *amplified fragment length polymorphisms* – AFLPs) e de SNPs foram tipicamente utilizados na construção dos mapas. Essas populações estabeleceram importantes passos para a descoberta de QTLs, dado o emprego de diversas metodologias genético-estatísticas, como análise de marcas individualmente (do inglês, *single marker analysis* – SMA), mapeamento por intervalo (do inglês, *interval mapping* – IM), e mapeamento por intervalo composto (do inglês, *composite interval mapping* – CIM). Mapeamento associativo para brix e altura também já foi realizado para painel de 125 indivíduos (maioria sacarino) (MURRAY et al., 2009). Desafortunadamente, modelos de mapeamento de múltiplos intervalos (do inglês, *multiple interval mapping* – MIM) ainda não foram relatados para sorgo sacarino, desprezando o potencial aumento na precisão e no poder de detecção dos QTLs (SILVA; ZENG, 2010).

Para cana-de-açúcar, apesar dos problemas mencionados anteriormente em relação à sua genética, tem-se obtido conspícuo progresso em termos de obtenção de marcadores, construção de mapas genéticos e análise de QTLs. Brevemente, os marcadores comumente utilizados baseavam-se na identificação de polimorfismos de tamanho de fragmento de restrição (do inglês, *restriction fragment length polymorphisms* – RFLPs), AFLPs e SSRs. Os primeiros mapas de cana foram elaborados segundo metodologia conhecida como duplo pseudocruzamento-teste (GRATTAPAGLIA; SEDEROFF, 1994), e modelos de SMA e IM também foram empregados para o mapeamento de caracteres agrônômicos e de resistência a doenças nos mapas resultantes para cada um dos genitores, separadamente, como em diversos exemplos revisados por Pastina et al. (2010). Atualmente, metodologias para construção de mapas integrados (WU et al., 2002a, 2002b) e modelos de CIM e de MIM estão disponíveis para populações F₁ segregantes com exemplos de aplicação em cana (GARCIA et al., 2006; PASTINA et al., 2012; GAZAFFI et al., 2014). Além disso, técnica de genotipagem quantitativa de SNPs para poliploides comple-

xos foi estabelecida com ênfase em cana (GARCIA et al., 2013), e mostram-se promissoras na construção de mapas genéticos integrados (MOLLINARI, 2012), agora, considerando dosagem alélica dos marcadores (SERANG; MOLLINARI; GARCIA, 2012).

Para este fim, Garcia et al. (2013) analisaram SNPs obtidos utilizando moderna tecnologia baseada em espectrometria de massa (Sequenom iPLEXTM MassARRAY[®]) (OETH et al., 2006), capaz de informar sobre as proporções relativas entre os alelos. Na ausência de artefatos técnicos criando vieses para um ou ambos os alelos, a razão entre as quantificações de cada alelo informa sobre a ploidia do loco e a dose de cada alelo em um indivíduo. A análise consistiu na estimação da ploidia e classificação dos indivíduos nos *clusters* esperados dada a ploidia utilizando um modelo gráfico Bayesiano implementado em um *software* livre denominado SUPERMASSA (SERANG; MOLLINARI; GARCIA, 2012; MOLLINARI; SERANG, 2015). Esta metodologia leva em conta as frequências esperadas de classes genotípicas considerando modelo de Equilíbrio de Hardy-Weinberg para painéis de diversidade ou, alternativamente, modelo de segregação para progênes de irmãos-completos. Uma avaliação de 987 e 249 marcadores SNP para um painel de diversidade e para uma população de mapeamento de cana-de-açúcar, respectivamente, revelou que os níveis de ploidia variavam de loco para loco, mais provavelmente, entre 6 e 14. Adicionalmente, para os marcadores da população biparental, apenas cerca de 30% do total de marcadores estariam segregando em dose única (GARCIA et al., 2013).

Estudos genômicos comparativos, por sua vez, só são possíveis devido à existência de regiões genômicas (eventualmente genes) que se mantiveram relativamente estáveis em conteúdo de nucleotídeos ao longo dos tempos evolutivos, proporcionando uma base útil para inferir a correspondência inclusive entre genomas distantemente relacionados, assim como entre genes que divergiram bastante ou foram realocados (TANG et al., 2008). Por isso, sucesso tem sido obtido nos estudos de genomas de plantas pertencentes à mesma família. No entanto, o nível em que os genes nos cromossomos correspondem em conteúdo (sintenia) e em ordem (colinearidade) difere marcadamente entre os táxons, devido à retenção diferencial de genes ou famílias gênicas, às duplicações de sequências repetitivas e à mobilidade causada pelos elementos transponíveis (TANG et al., 2008). Sabidamente, a determinação dos graus de sintenia e colinearidade entre as espécies relacionadas de plantas modelos e cultivadas é valiosa na aplicação da informação genômica no melhoramento de culturas (RAHMAN; PATERSON, 2010).

A genômica comparativa tornou-se um campo promissor de pesquisa dados os projetos

genomas finalizados ou em desenvolvimento no sentido de proporcionar respostas requeridas sobre organização e evolução dos genomas de espécies de interesse. Além disso, há grandes chances de se transferir e integrar informações sobre localização e ação de genes interespecificamente (SORRELS, 2006). Antes da era genômica, essas comparações também eram possíveis graças a existência de marcadores compartilhados entre os mapas de ligação das espécies estudadas. Hoje em dia, a disponibilidade de ambos (mapas e sequências) torna possível estudos mais detalhados. A partir daí, inúmeros estudos ajudaram a elucidar o elevado grau de sintenia entre genomas de gramíneas, por exemplo, e forneceram *insights* sobre as contribuições de transposons, duplicação de genes, e de sequências não codificadoras conservadas ao longo da evolução do genoma de plantas (BENNETZEN; FREELING, 1997).

No caso do sorgo e da cana-de-açúcar, comparação entre mapas genéticos baseados em RFLPs revelaram um elevado nível de sintenia (GRIVET et al., 1994; DUFOUR et al., 1997; GUIMARÃES; SILLS; SOBRAL, 1997; MING et al., 1998). Além disso, com base no nível de sintenia existente entre as gramíneas, já foi possível identificar genes evolutivamente conservados associados ao controle de conteúdo de açúcar (SINGH et al., 2011) e de resistência à ferrugem (LE CUNFF et al., 2008) em cana-de-açúcar, por exemplo. Adicionalmente, Ming et al. (2002) alinhou grupos de ligação de duas diferentes populações de cana com mapa de sorgo para auxiliar na avaliação de QTLs afetando caracteres relacionados a açúcar mapeados na espécie. Usando essa abordagem, 62 QTLs de cana para esses caracteres puderam ser inferidos em nove cromossomos de sorgo.

Como foi visto, o sorgo tornou-se uma espécie modelo para análises genômicas funcionais e estruturais em gramíneas (CALVIÑO; MESSING, 2012), por ser uma espécie diploide de genoma relativamente pequeno e de elevada endogamia, e por ser geneticamente mais próximo da cana-de-açúcar e do milho, espécies das quais divergiu recentemente, a cerca de 8–9 milhões de anos (JANNOO et al., 2007). Por outro lado, as cultivares modernas de cana-de-açúcar são derivadas de cruzamentos entre duas espécies de *Saccharum*, seguidos de alguns ciclos de retrocruzamentos e seleção, e caracterizam-se por serem alógamas com genoma autoploide frequentemente aneuploide (D'HONT et al., 1998). No entanto, apesar da relativa dificuldade em se trabalhar com a genética da espécie, esforços têm se acumulado no sentido de mapear seu genoma por meio de marcadores, e utilizar esses mapas na descoberta de locos que controlem caracteres quantitativos.

O mapeamento comparativo entre sorgo sacarino e cana-de-açúcar tornou-se uma ferra-

menta atrativa pois as espécies pertencem à mesma família botânica (Andropogoneae), possuem similaridade de caracteres fenotípicos avaliados, e dispõem de recursos genômicos suficientes (genoma ou marcadores moleculares baseados em sequências). Caracteres agrônômicos, tais como altura e produção de biomassa, e industriais, como os caracteres relacionados ao conteúdo de açúcar e fibra, são de grande interesse dos melhoristas de ambas as espécies. Para tanto, mapeamento de QTLs nessas espécies com base em marcadores que forneçam ampla cobertura dos genomas e em metodologias genético-estatísticas adequadas torna-se requerimento indispensável em estudos dessa natureza.

Nesse sentido, o presente trabalho objetivou mapear QTLs em duas populações – uma de sorgo sacarino e outra de cana-de-açúcar – e compará-los com base nas correlações entre os genomas dessas espécies. Para tanto, fenótipos de interesse bioenergético foram avaliados em campo e marcadores moleculares baseados em GBS, principalmente, foram genotipados em ambas as populações. Aqui, buscou-se também estabelecer estratégias de análise dos dados fenotípicos e moleculares para as duas espécies a partir da utilização de adequadas ferramentas e metodologias de genética-estatística e bioinformática da atualidade. Até onde é conhecido, este é o único estudo desta natureza envolvendo sorgo sacarino. Além disso, procurou-se utilizar germoplasma adaptado às condições do Brasil, para as duas espécies.

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Neste trabalho, populações de mapeamento de sorgo sacarino e de cana-de-açúcar foram caracterizadas fenotípica e genotipicamente. Os fenótipos referiram-se aos caracteres agroindustriais altura de colmos, toneladas de colmos ou de massa verde por hectare, e porcentagens de pol de caldo e de fibra, importantes em culturas bioenergéticas. Em adição, as populações também foram caracterizadas por meio de marcadores moleculares, com ênfase em SNPs e indels, originados a partir de técnica de genotipagem por sequenciamento. Obviamente, ambos os tipos de dados exigiram ferramentas apropriadas no sentido de explorar ao máximo suas informações.

A abordagem de modelos mistos via REML foi utilizada para tratar os dados fenotípicos por combinar formulação adequada aos complexos experimentos genéticos, método de estimação de parâmetros apropriado e estruturação das matrizes de variâncias-covariâncias dos efeitos aleatórios. Assim sendo, foi possível atribuir aos efeitos genéticos e residuais diferentes estruturas, cada qual mais plausível aos caracteres analisados sob determinado contexto de delineamento e de população estudada. Matrizes exibindo variâncias genéticas heterogêneas, por exemplo, foram selecionadas de um modo geral, exemplificando claramente a violação de pressupostos dos modelos de análise de variância comumente utilizados no melhoramento e, adicionalmente, enfatizando a existência não negligenciável da interação genótipo-ambiente.

Ainda, dados de sequenciamento da próxima geração de bibliotecas de GBS para cada população foram avaliados quanto à performance na etapa simultânea de descoberta e genotipagem de polimorfismos derivados de substituições de bases e de inserções-deleções. Basicamente, a técnica constituiu-se como uma importante estratégia na tentativa de refinar estudos genéticos em ambas as espécies. Primeiro, porque GBS apareceu ineditamente dentre trabalhos relacionados ao mapeamento de QTLs em populações de sorgo sacarino e em cana-de-açúcar, conferindo saturação e informatividade genética aos genomas. Segundo, porque forneceu, para cana, a possibilidade de investigar, com uma maior abrangência genômica, a questão relacionada à dosagem alélica de locos em uma população biparental utilizando o *software* SUPERMASSA e a elaboração de denso e saturado mapa genético com auxílio do pacote do R ONEMAP, para o qual metodologia para incorporação de marcadores em doses superiores é prevista. E, finalmente, porque subsidiou a comparação entre os genomas das duas espécies, sob o pressuposto de considerável conservação entre suas sequências genômicas.

De fato, detectar QTLs para caracteres relacionados a produção e açúcar em popu-

lações de mapeamento de espécies com fins bioenergéticos constitui uma valiosa etapa para compreensão do controle genético subjacente à variação fenotípica útil ao melhoramento. Nos casos das populações de sorgo sacarino e cana-de-açúcar aqui utilizadas, ambas se beneficiaram das estratégias de mapeamento de múltiplos intervalos uni- e multivariadas para a descoberta de QTLs implementadas no pacote do R ONEQTL. Além disso, a tradicional metodologia de análise de marcas individualmente acrescentou novas descobertas para a população de cana-de-açúcar. Este trabalho destaca-se, sobretudo, pela utilização de fenótipos comparáveis entre as espécies, o que é raramente encontrado na literatura. Nesse sentido, cana-de-açúcar beneficiou-se importantemente do relacionamento evolutivo próximo com sorgo, uma vez que não possui espécie diploide relativa, como em batata. Ainda, pode-se atribuir a esse relacionamento a possibilidade de verificar a consistência em mapas de populações diferentes de cana-de-açúcar.

Uma vez que ambas as populações estão ligadas a instituições brasileiras mantenedoras de importantes programas de melhoramento para as espécies, há plena possibilidade de incorporação dessas descobertas convenientemente em seus trabalhos de pesquisa e de desenvolvimento de tecnologias e de cultivares ou variedades. Ou seja, com base na comparação dos genomas, o reconhecimento de várias regiões de potencial controle evolutivamente conservado demonstrou evidências de plausível utilização de estratégias visando a clonagem de genes ou de seleção assistida por marcadores.

REFERÊNCIAS

- AITKEN, K. S.; HERMANN, S.; KARNO, K.; BONNETT, G. D.; MCINTYRE, L. C.; JACKSON, P. A. Genetic control of yield related stalk traits in sugarcane. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 117, n. 7, p. 1191–1203, 2008.
- AITKEN, K. S.; MCNEIL, M. D.; HERMANN, S.; BUNDOCK, P. C.; KILIAN, A.; HELLER-USZYNSKA, K.; HENRY, R. J.; LI, J. A comprehensive genetic map of sugarcane that provides enhanced map coverage and integrates high-throughput Diversity Array Technology (DArT) markers. **BMC Genomics**, London, v. 15, p. 152, 2014.
- AKAIKE, H. A new look at the statistical model identification. **Transactions on Automatic Control**, Notre Dame, v. 19, n. 6, p. 716–723, 1974.
- ALI, M. L.; RAJEWSKI, J. F.; BAENZIGER, P. S.; GILL, K. S.; ESKRIDGE, K. M.; DWEIKAT, I. Assessment of genetic diversity and relationship among a collection of US sweet sorghum germplasm by SSR markers. **Molecular Breeding**, Berlin, v. 21, n. 4, p. 497–509, 2007.
- ALWALA, S.; KIMBENG, C. A.; GRAVOIS, K. A.; BISCHOFF, K. P. TRAP, a new tool for sugarcane breeding: comparison with AFLP and coefficient of parentage. **Journal American Society Sugar Cane Technologists**, Belle Glade, v. 26, p. 62–86, 2006.
- AMORIM, H. V.; LOPES, M. L.; OLIVEIRA, J. V. C.; BUCKERIDGE, M. S.; GOLDMAN, G. H. Scientific challenges of bioethanol production in Brazil. **Applied Microbiology and Biotechnology**, Berlin, v. 91, n. 5, p. 1267–1275, 2011.
- ANDRU, S.; PAN, Y.-B.; THONGTHAWEE, S.; BURNER, D. M.; KIMBENG, C. A. Genetic analysis of the sugarcane (*Saccharum* spp.) cultivar ‘LCP 85-384’. I. Linkage mapping using AFLP, SSR, and TRAP markers. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 123, n. 1, p. 77–93, 2011.
- BARTHOLOME, J.; MANDROU, E.; MABIALA, A.; JENKINS, J.; NABIHOUDINE, I.; KLOPP, C.; SCHMUTZ, J.; PLOMION, C.; GION, J.-M. High-resolution genetic maps of *Eucalyptus* improve *Eucalyptus grandis* genome assembly. **The New Phytologist**, Cambridge, Early View, p. 1–14, 2014.
- BENJAMINI, Y.; YEKUTIELI, D. The control of the false discovery rate in multiple testing under dependency. **The Annals of Statistics**, Hayward, v. 29, n. 4, p. 1165–1188, 2001.
- BENNETZEN, J. L.; FREELING, M. The unified grass genome: synergy in synteny. **Genome Research**, Cold Spring Harbor, v. 7, p. 301–306, 1997.
- BROWN, S. M.; HOPKINS, M. S.; MITCHELL, S. E.; SENIOR, M. L.; WANG, T. Y.; DUNCAN, R. R.; GONZALEZ-CANDELAS, F.; KRESOVICH, S. Multiple methods for the identification of polymorphic simple sequence repeats (SSRs) in sorghum [*Sorghum bicolor* (L.) Moench]. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 93, p. 190–198, 1996.
- CALVIÑO, M.; MESSING, J. Sweet sorghum as a model system for bioenergy crops. **Current Opinion in Biotechnology**, London, v. 23, n. 3, p. 323–329, 2012.

CARDOSO-SILVA, C. B.; COSTA, E. A.; MANCINI, M. C.; BALSALOBRE, T. W. A.; CANESIN, L. E. C.; PINTO, L. R.; CARNEIRO, M. S.; GARCIA, A. A. F.; SOUZA, A. P.; VICENTINI, R. *De novo* assembly and transcriptome analysis of contrasting sugarcane varieties. **PLoS ONE**, San Francisco, v. 9, n. 2, p. 1–10, 2014.

CHEAVEGATTI-GIANOTTO, A.; ABREU, H. M. C.; ARRUDA, P.; BESPALHOK-FILHO, J. C.; BURNQUIST, W. L.; CRESTE, S.; DI-CIERO, L.; FERRO, J. A.; FIGUEIRA, A. V. O.; FILGUEIRAS, T. S.; GROSSI-DE-SA, M. F.; GUZZO, E. C.; HOFFMANN, H. P.; LANDELL, M. G. A.; MACEDO, N.; MATSUOKA, S.; REINACH, F. C.; ROMANO, E.; SILVA, W. J.; SILVA-FILHO, M. C.; ULIAN, E. C. Sugarcane (*Saccharum* × *officinarum*): a reference study for the regulation of genetically modified cultivars in Brazil. **Tropical Plant Biology**, Berlin, v. 4, n. 1, p. 62–89, 2011.

CONSELHO DOS PRODUTORES DE CANA-DE-AÇÚCAR, AÇÚCAR E ÁLCOOL DO ESTADO DE SÃO PAULO – CONSECANA-SP. **Manual de Instruções**. 5. ed. Piracicaba: CONSECANA-SP, 2006. 112 p.

CORDEIRO, G. M.; TAYLOR, G. O.; HENRY, R. J. Characterisation of microsatellite markers from sugarcane (*Saccharum* sp.), a highly polyploid species. **Plant Science**, Shannon, v. 155, n. 2, p. 161–168, 2000.

CRESTE, S.; ACCORONI, K. A. G.; PINTO, L. R.; VENCOVSKY, R.; GIMENES, M. A.; XAVIER, M. A.; LANDELL, M. G. A. Genetic variability among sugarcane genotypes based on polymorphisms in sucrose metabolism and drought tolerance genes. **Euphytica**, Wageningen, v. 172, n. 3, p. 435–446, 2010.

DEOKAR, A. A.; RAMSAY, L.; SHARPE, A. G.; DIAPARI, M.; SINDHU, A.; BETT, K.; WARKENTIN, T. D.; TAR'AN, B. Genome wide SNP identification in chickpea for use in development of a high density genetic map and improvement of chickpea reference genome assembly. **BMC Genomics**, London, v. 15, n. 1, p. 708, 2014.

D'HONT, A.; ISON, D.; ALIX, K.; ROUX, C.; GLASZMANN, J. C. Determination of basic chromosome numbers in the genus *Saccharum* by physical mapping of ribosomal RNA genes. **Genome**, Ottawa, v. 41, p. 221–225, 1998.

DUFOUR, P.; DEU, M.; GRIVET, L.; D'HONT, A.; PAULET, F.; BOUET, A.; LANAUD, C.; GLASZMANN, J. C.; HAMON, P. Construction of a composite sorghum genome map and comparison with sugarcane, a related complex polyploid. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 94, n. 3–4, p. 409–418, 1997.

ELSHIRE, R. J.; GLAUBITZ, J. C.; SUN, Q.; POLAND, J. A.; KAWAMOTO, K.; BUCKLER, E. S.; MITCHELL, S. E. A robust, simple genotyping-by-sequencing (GBS) approach for high diversity species. **PLoS ONE**, San Francisco, v. 6, n. 5, p. 1–9, 2011.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS – FAO. **FAOSTAT Analysis**. 2014. Disponível em: <<http://faostat3.fao.org/home/index.html>>. Acesso em: 14 nov. 2014.

FEDERER, W. T.; RAGHAVARAO, D. On augmented designs. **Biometrics**, Washington, v. 31, n. 1, p. 29–35, 1975.

- GALECKI, A.; BURZYKOWSKI, T. **Linear Mixed-Effects Models Using R: a step-by-step approach**. New York: Springer, 2013. 556 p.
- GARCIA, A. A. F.; KIDO, E. A.; MEZA, A. N.; SOUZA, H. M. B.; PINTO, L. R.; PASTINA, M. M.; LEITE, C. S.; SILVA, J. A. G.; ULIAN, E. C.; FIGUEIRA, A. V.; SOUZA, A. P. Development of an integrated genetic map of a sugarcane (*Saccharum* spp.) commercial cross, based on a maximum-likelihood approach for estimation of linkage and linkage phases. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 112, n. 2, p. 298–314, 2006.
- GARCIA, A. A. F.; MOLLINARI, M.; MARCONI, T. G.; SERANG, O. R.; SILVA, R. R.; VIEIRA, M. L. C.; VICENTINI, R.; COSTA, E. A.; MANCINI, M. C.; GARCIA, M. O. S.; PASTINA, M. M.; GAZAFFI, R.; MARTINS, E. R. F.; DAHMER, N.; SFORCA, D. A.; SILVA, C. B. C.; BUNDOCK, P.; HENRY, R. J.; SOUZA, G. M.; VAN SLUYS, M.-A.; LANDELL, M. G. A.; CARNEIRO, M. S.; VINCENTZ, M. A. G.; PINTO, L. R.; VENCOVSKY, R.; SOUZA, A. P. SNP genotyping allows an in-depth characterisation of the genome of sugarcane and other complex autopolyploids. **Scientific Reports**, London, v. 3, n. 3399, p. 1–10, 2013.
- GAZAFFI, R.; MARGARIDO, G. R. A.; PASTINA, M. M.; MOLLINARI, M.; GARCIA, A. A. F. A model for quantitative trait loci mapping, linkage phase, and segregation pattern estimation for a full-sib progeny. **Tree Genetics & Genomes**, Berlin, v. 10, n. 4, p. 791–801, 2014.
- GLAUBITZ, J. C.; CASSTEVENS, T. M.; LU, F.; HARRIMAN, J.; ELSHIRE, R. J.; SUN, Q.; BUCKLER, E. S. TASSEL-GBS: a high capacity genotyping by sequencing analysis pipeline. **PLoS ONE**, San Francisco, v. 9, n. 2, p. 1–11, 2014.
- GRATIVOL, C.; REGULSKI, M.; BERTALAN, M.; MCCOMBIE, W. R.; SILVA, F. R.; ZERLOTINI-NETO, A.; VICENTINI, R.; FARINELLI, L.; HEMERLY, A. S.; MARTIENSSEN, R. A.; FERREIRA, P. C. G. Sugarcane genome sequencing by methylation filtration provides tools for genomic research in the genus *Saccharum*. **The Plant Journal**, Oxford, v. 79, p. 162–172, 2014.
- GRATTAPAGLIA, D.; SEDEROFF, R. Genetic linkage maps of *Eucalyptus grandis* and *Eucalyptus urophylla* using a pseudo-testcross: mapping strategy and RAPD markers. **Genetics**, Austin, v. 1137, p. 1121–1137, 1994.
- GRIVET, L.; ARRUDA, P. Sugarcane genomics: depicting the complex genome of an important tropical crop. **Current Opinion in Plant Biology**, London, v. 5, n. 2, p. 122–127, 2002.
- GRIVET, L.; D'HONT, A.; DUFOUR, P.; HAMON, P.; ROQUEST, D. Comparative genome mapping of sugar cane with other species within the Andropogoneae tribe. **Heredity**, London, v. 73, p. 500–508, 1994.
- GU, Z.; GU, L.; EILS, R.; SCHLESNER, M.; BRORS, B. CIRCLIZE implements and enhances circular visualization in R. **Bioinformatics**, Oxford, v. 30, n. 19, p. 2811–2812, 2014.
- GUAN, Y.-A.; WANG, H.-L.; QIN, L.; ZHANG, H.-W.; YANG, Y.-B.; GAO, F.-J.; LI, R.-Y.; WANG, H.-G. QTL mapping of bio-energy related traits in *Sorghum*. **Euphytica**, Wageningen, v. 182, n. 3, p. 431–440, 2011.

- GUIMARÃES, C. T.; SILLS, G. R.; SOBRAL, B. W. S. Comparative mapping of Andropogoneae: *Saccharum* L. (sugarcane) and its relation to sorghum and maize. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, Washington, v. 94, p. 14261–14266, 1997.
- HAHN, M. W.; ZHANG, S. V.; MOYLE, L. C. Sequencing, assembling, and correcting draft genomes using recombinant populations. **G3**, Bethesda, v. 4, n. 4, p. 669–679, 2014.
- HALEY, C. S.; KNOTT, S. A. A simple regression method for mapping quantitative trait loci in line crosses using flanking markers. **Heredity**, London, v. 69, p. 315–324, 1992.
- HOARAU, J.-Y.; GRIVET, L.; OFFMANN, B.; RABOIN, L.-M.; DIORFLAR, J.-P.; PAYET, J.; HELLMANN, M.; D'HONT, A.; GLASZMANN, J.-C. Genetic dissection of a modern sugarcane cultivar (*Saccharum* spp.). II. Detection of QTLs for yield components. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 105, n. 6-7, p. 1027–1037, 2002.
- HOLLAND, J. B.; NYQUIST, W. E.; CERVANTES-MARTÍNEZ, C. T. Estimating and interpreting heritability for plant breeding: an update. In: JANICK, J. (Ed.). **Plant Breeding Reviews**. New Jersey: John Wiley & Sons, 2003. v. 22, cap. 2, p. 9–112.
- JANNOO, N.; GRIVET, L.; CHANTRET, N.; GARSMEUR, O.; GLASZMANN, J. C.; ARRUDA, P.; D'HONT, A. Orthologous comparison in a gene-rich region among grasses reveals stability in the sugarcane polyploid genome. **The Plant Journal**, Oxford, v. 50, n. 4, p. 574–585, 2007.
- KAO, C.-H.; ZENG, Z.-B.; TEASDALE, R. D. Multiple interval mapping for quantitative trait loci. **Genetics**, Austin, v. 152, n. 3, p. 1203–1216, 1999.
- KELLER, I.; BENSASSON, D.; NICHOLS, R. A. Transition-transversion bias is not universal: a counter example from grasshopper pseudogenes. **PLoS Genetics**, San Francisco, v. 3, n. 2, p. 185–191, 2007.
- KONG, L.; DONG, J.; HART, G. E. Characteristics, linkage-map positions, and allelic differentiation of *Sorghum bicolor* (L.) Moench DNA simple-sequence repeats (SSRs). **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 101, p. 438–448, 2000.
- LANDER, E. S.; GREEN, P. Construction of multilocus genetic linkage maps in humans. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, Washington, v. 84, p. 2363–2367, 1987.
- LANGMEAD, B.; SALZBERG, S. L. Fast gapped-read alignment with BowTIE 2. **Nature Methods**, New York, v. 9, n. 4, p. 357–359, 2013.
- LE CUNFF, L.; GARSMEUR, O.; RABOIN, L. M.; PAUQUET, J.; TELISMART, H.; SELVI, A.; GRIVET, L.; PHILIPPE, R.; BEGUM, D.; DEU, M.; COSTET, L.; WING, R.; GLASZMANN, J. C.; D'HONT, A. Diploid/polyploid syntenic shuttle mapping and haplotype-specific chromosome walking toward a rust resistance gene (*Bru1*) in highly polyploid sugarcane ($2n \approx 12x \approx 115$). **Genetics**, Austin, v. 180, n. 1, p. 649–660, 2008.
- LI, G.; QUIROS, C. F. Sequence-related amplified polymorphism (SRAP), a new marker system based on a simple PCR reaction: its application to mapping and gene tagging in *Brassica*. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 103, p. 455–461, 2001.

- LIMA, M. L. A.; GARCIA, A. A. F.; OLIVEIRA, K. M.; MATSUOKA, S.; ARIZONO, H.; SOUZA JR, C. L.; SOUZA, A. P. Analysis of genetic similarity detected by AFLP and coefficient of parentage among genotypes of sugar cane (*Saccharum* spp.). **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 104, n. 1, p. 30–38, 2002.
- MALOSETTI, M.; RIBAUT, J.-M.; VAN EEUWIJK, F. A. The statistical analysis of multi-environment data: modeling genotype-by-environment interaction and its genetic basis. **Frontiers in Physiology**, Lausanne, v. 4, p. 1–17, 2013.
- MARCONI, T. G. **Mapa funcional em cana-de-açúcar utilizando marcadores moleculares baseados em SSR e SNP**. 2011. 160 p. Tese (Doutorado em Genética e Biologia Molecular) — Universidade de Campinas, 2011.
- MARCONI, T. G.; COSTA, E. A.; MIRANDA, H. R. C. A. N.; MANCINI, M. C.; CARDOSO-SILVA, C. B.; OLIVEIRA, K. M.; PINTO, L. R.; MOLLINARI, M.; GARCIA, A. A. F.; SOUZA, A. P. Functional markers for gene mapping and genetic diversity studies in sugarcane. **BMC Research Notes**, London, v. 4, n. 1, p. 264, 2011.
- MARGARIDO, G. R. A. **Mapeamento de QTLs em múltiplos caracteres e ambientes em um cruzamento comercial de cana-de-açúcar usando modelos mistos**. 2011. 107 p. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas) — Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2011.
- MARGARIDO, G. R. A.; SOUZA, A. P.; GARCIA, A. A. F. ONEMAP: software for genetic mapping in outcrossing species. **Hereditas**, Lund, v. 144, n. 3, p. 78–79, 2007.
- MATSUOKA, S.; GARCIA, A. A. F.; ARIZONO, H. Melhoramento da cana-de-açúcar. In: BORÉM, A. (Ed.). **Melhoramento de Espécies Cultivadas**. 2. ed. Viçosa: UFV, 2005. p. 205–251.
- MING, R.; LIU, S.; LIN, Y.; SILVA, J.; WILSON, W.; BRAGA, D.; DEYNZE, A. V.; WENSLAFF, T. F.; WU, K. K.; MOORE, P. H.; BURNQUIST, W.; SORRELLS, M. E.; IRVINE, J. E.; PATERSON, A. H. Detailed alignment of *Saccharum* and sorghum chromosomes: comparative organization of closely related diploid and polyploid genomes. **Genetics**, Austin, v. 150, p. 1663–1682, 1998.
- MING, R.; WANG, Y.-W.; DRAYE, X.; MOORE, P. H.; IRVINE, J. E.; PATERSON, A. H. Molecular dissection of complex traits in autopolyploids: mapping QTLs affecting sugar yield and related traits in sugarcane. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 105, n. 2-3, p. 332–345, 2002.
- MOLLINARI, M. **Desenvolvimento de um modelo para construção de mapas genéticos em autopoliploides, com aplicações em cana-de-açúcar**. 2012. 98 p. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas) — Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2012.
- MOLLINARI, M.; MARGARIDO, G. R. A.; VENCOVSKY, R.; GARCIA, A. A. F. Evaluation of algorithms used to order markers on genetic maps. **Heredity**, v. 103, n. 6, p. 494–502, 2009.
- MOLLINARI, M.; SERANG, O. Quantitative SNP genotyping of polyploids with MassARRAY and other platforms. In: BATLEY, J. (Ed.). **Plant Genotyping: methods in molecular biology**. New York: Springer, 2015. v. 1245, cap. 17, p. 215–241.

MORRIS, G. P.; RAMU, P.; DESHPANDE, S. P.; HASH, C. T.; SHAH, T.; UPADHYAYA, H. D.; RIERA-LIZARAZU, O.; BROWN, P. J.; ACHARYA, C. B.; MITCHELL, S. E.; HARRIMAN, J.; GLAUBITZ, J. C.; BUCKLER, E. S.; KRESOVICH, S. Population genomic and genome-wide association studies of agroclimatic traits in sorghum. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, Washington, v. 110, n. 2, p. 453–458, 2013.

MURRAY, S. C.; ROONEY, W. L.; HAMBLIN, M. T.; MITCHELL, S. E.; KRESOVICH, S. Sweet sorghum genetic diversity and association mapping for brix and height. **The Plant Genome**, Madison, v. 2, n. 1, p. 48, 2009.

OETH, P.; BEAULIEU, M.; PARK, C.; KOSMAN, D.; DEL MISTRO, G.; VAN DEN BOOM, D.; JURINKE, C. iPLEXTM Assay: increased pllexing efficiency and flexibility for MassARRAY[®] system through single base primer extension with mass-modified terminators. **Sequenom Application Note**, San Diego, v. 8876, n. 006, p. 1–12, 2006. Disponível em: <www.sequenom.com>. Acesso em: 12 dez. 2014.

OLIVEIRA, K. M.; PINTO, L. R.; MARCONI, T. G.; MARGARIDO, G. R. A.; PASTINA, M. M.; TEIXEIRA, L. H. M.; FIGUEIRA, A. V.; ULIAN, E. C.; GARCIA, A. A. F.; SOUZA, A. P. Functional integrated genetic linkage map based on EST-markers for a sugarcane (*Saccharum* spp.) commercial cross. **Molecular Breeding**, Berlin, v. 20, n. 3, p. 189–208, 2007.

OLIVEIRA, K. M.; PINTO, L. R.; MARCONI, T. G.; MOLLINARI, M.; ULIAN, E. C.; CHABREGAS, S. M.; FALCO, M. C.; BURNQUIST, W.; GARCIA, A. A. F.; SOUZA, A. P. Characterization of new polymorphic functional markers for sugarcane. **Genome**, Ottawa, v. 52, p. 191–209, 2009.

PASTINA, M. M.; MALOSETTI, M.; GAZAFFI, R.; MOLLINARI, M.; MARGARIDO, G. R. A.; OLIVEIRA, K. M.; PINTO, L. R.; SOUZA, A. P.; VAN-EEUWIJK, F. A.; GARCIA, A. A. F. A mixed model QTL analysis for sugarcane multiple-harvest-location trial data. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 124, n. 5, p. 835–849, 2012.

PASTINA, M. M.; PINTO, L. R.; OLIVEIRA, K. M.; SOUZA, A. P.; GARCIA, A. A. F. Molecular mapping of complex traits. In: HENRY, R. J.; KOLE, C. (Ed.). **Genetics, Genomics and Breeding of Sugarcane**. Enfield: Science Publishers, 2010. cap. 7, p. 117–148.

PATERSON, A. H.; BOWERS, J. E.; BRUGGMANN, R.; DUBCHAK, I.; GRIMWOOD, J.; GUNDLACH, H.; HABERER, G.; HELLSTEN, U.; MITROS, T.; POLIAKOV, A.; SCHMUTZ, J.; SPANNAGL, M.; TANG, H.; WANG, X.; WICKER, T.; BHARTI, A. K.; CHAPMAN, J.; FELTUS, F. A.; GOWIK, U.; GRIGORIEV, I. V.; LYONS, E.; MAHER, C. A.; MARTIS, M.; NARECHANIA, A.; OTILLAR, R. P.; PENNING, B. W.; SALAMOV, A. A.; WANG, Y.; ZHANG, L.; CARPITA, N. C.; FREELING, M.; GINGLE, A. R.; HASH, C. T.; KELLER, B.; KLEIN, P.; KRESOVICH, S.; MCCANN, M. C.; MING, R.; PETERSON, D. G.; RAHMAN, M.; WARE, D.; WESTHOFF, P.; MAYER, K. F. X.; MESSING, J.; ROKHSAR, D. S. The *Sorghum bicolor* genome and the diversification of grasses. **Nature**, London, v. 457, n. 7229, p. 551–556, 2009.

PINTO, L. R.; GARCIA, A. A. F.; PASTINA, M. M.; TEIXEIRA, L. H. M.; BRESSIANI, J. A.; ULIAN, E. C.; BIDOIA, M. A. P.; SOUZA, A. P. Analysis of genomic and functional RFLP derived markers associated with sucrose content, fiber and yield QTLs in a sugarcane (*Saccharum* spp.) commercial cross. **Euphytica**, Wageningen, v. 172, n. 3, p. 313–327, 2009.

PINTO, L. R.; OLIVEIRA, K. M.; MARCONI, T.; GARCIA, A. A. F.; ULIAN, E. C.; SOUZA, A. P. Characterization of novel sugarcane expressed sequence tag microsatellites and their comparison with genomic SSRs. **Plant Breeding**, Berlin, v. 125, p. 378–384, 2006.

PINTO, L. R.; OLIVEIRA, K. M.; ULIAN, E. C.; GARCIA, A. A. F.; SOUZA, A. P. Survey in the sugarcane expressed sequence tag database (SUCEST) for simple sequence repeats. **Genome**, Ottawa, v. 47, p. 795–804, 2004.

R CORE TEAM. **R**: a language and environment for statistical computing. Vienna: R Foundation for Statistical Computing, 2014. Disponível em: <<http://www.r-project.org>>. Acesso em: 14 jan. 2014.

RABOIN, L.-M.; OLIVEIRA, K. M.; LE CUNFF, L.; TELISMART, H.; ROQUES, D.; BUTTERFIELD, M.; HOARAU, J.-Y.; D'HONT, A. Genetic mapping in sugarcane, a high polyploid, using bi-parental progeny: identification of a gene controlling stalk colour and a new rust resistance gene. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 112, n. 7, p. 1382–1391, 2006.

RAHMAN, M.-U.; PATERSON, A. H. Comparative genomics in crop plants. In: JAIN, S. M.; BRAR, D. S. (Ed.). **Molecular Techniques in Crop Improvement**. 2. ed. Dordrecht: Springer Netherlands, 2010. cap. 2, p. 23–61.

REVELLE, W. **psych**: procedures for psychological, psychometric, and personality research. Evanston, 2014. Disponível em: <<http://cran.r-project.org/package=psych>>. Acesso em: 12 nov. 2013.

RIPOL, M.; CHURCHILL, G. A.; SILVA, J. A. G.; SORRELLS, M. Statistical aspects of genetic mapping in autopolyploids. **Gene**, Amsterdam, v. 235, n. 1–2, p. 31–41, 1999.

RITTER, K. B.; JORDAN, D. R.; CHAPMAN, S. C.; GODWIN, I. D.; MACE, E. S.; MCINTYRE, C. L. Identification of QTL for sugar-related traits in a sweet \times grain sorghum (*Sorghum bicolor* L. Moench) recombinant inbred population. **Molecular Breeding**, Berlin, v. 22, n. 3, p. 367–384, 2008.

RITTER, K. B.; MCINTYRE, C. L.; GODWIN, I. D.; JORDAN, D. R.; CHAPMAN, S. C. An assessment of the genetic relationship between sweet and grain sorghums, within *Sorghum bicolor* ssp. *bicolor* (L.) Moench, using AFLP markers. **Euphytica**, Wageningen, v. 157, n. 1-2, p. 161–176, 2007.

ROBERTS, A.; MCMILLAN, L.; WANG, W.; PARKER, J.; RUSYN, I.; THREADGILL, D. Inferring missing genotypes in large SNP panels using fast nearest-neighbor searches over sliding windows. **Bioinformatics**, Oxford, v. 23, n. 13, p. i401–i407, 2007.

SCHWARZ, G. Estimating the dimension of a model. **The Annals of Statistics**, Hayward, v. 6, n. 2, p. 461–464, 1978.

SERANG, O.; MOLLINARI, M.; GARCIA, A. A. F. Efficient exact maximum a posteriori computation for bayesian SNP genotyping in polyploids. **PLoS ONE**, San Francisco, v. 7, n. 2, p. 1–13, 2012.

SHIRINGANI, A. L.; FRIEDT, W. QTL for fibre-related traits in grain \times sweet sorghum as a tool for the enhancement of sorghum as a biomass crop. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 123, n. 6, p. 999–1011, 2011.

SHIRINGANI, A. L.; FRISCH, M.; FRIEDT, W. Genetic mapping of QTLs for sugar-related traits in a RIL population of *Sorghum bicolor* L. Moench. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 121, n. 2, p. 323–336, 2010.

SILVA, L. D. C. E.; WANG, S.; ZENG, Z.-B. Multiple trait multiple interval mapping of quantitative trait loci from inbred line crosses. **BMC Genetics**, London, v. 13, n. 67, p. 1–24, 2012.

SILVA, L. D. C. E.; ZENG, Z.-B. Current progress on statistical methods for mapping quantitative trait loci from inbred line crosses. **Journal of Biopharmaceutical Statistics**, Abingdon, v. 20, n. 2, p. 454–481, 2010.

SINGH, R. K.; JENA, S. N.; KHAN, S.; YADAV, S.; BANARJEE, N.; RAGHUVANSHI, S.; BHARDWAJ, V.; DATTAMAJUMDER, S. K.; KAPUR, R.; SOLOMON, S.; SWAPNA, M.; SRIVASTAVA, S.; TYAGI, A. K. Development, cross-species/genera transferability of novel EST-SSR markers and their utility in revealing population structure and genetic diversity in sugarcane. **Gene**, Amsterdam, v. 524, n. 2, p. 309–329, 2013.

SINGH, R. K.; SINGH, R. B.; SINGH, S. P.; SHARMA, M. L. Identification of sugarcane microsatellites associated to sugar content in sugarcane and transferability to other cereal genomes. **Euphytica**, Wageningen, v. 182, n. 3, p. 335–354, 2011.

SORRELS, M. E. Applications of comparative genomics to crop improvement. In: LAMKEY, K. R.; LEE, M. (Ed.). **Plant Breeding: the Arnel R. Hallauer International Symposium**. Iowa: Blackwell, 2006. cap. 12, p. 171–181.

SOUZA, G. M.; BERGES, H.; BOCS, S.; CASU, R.; D'HONT, A.; FERREIRA, J. E.; HENRY, R.; MING, R.; POTIER, B.; VAN SLUYS, M.-A.; VINCENTZ, M.; PATERSON, A. H. The sugarcane genome challenge: strategies for sequencing a highly complex genome. **Tropical Plant Biology**, Berlin, v. 4, p. 145–156, 2011.

TANG, H.; BOWERS, J. E.; WANG, X.; MING, R.; ALAM, M.; PATERSON, A. H. Synteny and collinearity in plant genomes. **Science**, New York, v. 320, n. 5875, p. 486–8, 2008.

VETTORE, A. L.; SILVA, F. R.; KEMPER, E. L.; SOUZA, G. M.; SILVA, A. M.; FERRO, M. I. T.; HENRIQUE-SILVA, F.; GIGLIOTI, E. A.; LEMOS, M. V. F.; COUTINHO, L. L.; NOBREGA, M. P.; CARRER, H.; FRANCA, S. C.; BACCI-JUNIOR, M.; GOLDMAN, M. H. S.; GOMES, S. L.; NUNES, L. R.; CAMARGO, L. E. A.; SIQUEIRA, W. J.; VAN SLUYS, M.-A.; THIEMANN, O. H.; KURAMAE, E. E.; SANTELLI, R. V.; MARINO, C. L.; TARGON, M. L. P. N.; FERRO, J. A.; SILVEIRA, H. C. S.; MARINI, D. C.; LEMOS, E. G. M.; MONTEIRO-VITORELLO, C. B.; TAMBOR, J. H. M.; CARRARO, D. M.; ROBERTO, P. G.; MARTINS, V. G.; GOLDMAN, G. H.; OLIVEIRA, R. C.; TRUFFI, D.; COLOMBO, C. A.; ROSSI, M.; ARAUJO, P. G.; SCULACCIO, S. A.; ANGELLA, A.; LIMA, M. M. A.; ROSA-JUNIOR, V. E.; SIVIERO, F.; COSCRATO, V. E.; MACHADO, M. A.; GRIVET, L.; DI-MAURO, S. M. Z.; NOBREGA, F. G.; MENCK, C. F. M.; BRAGA, M. D. V.; TELLES, G. P.; CARA, F. A. A.; PEDROSA, G.; MEIDANIS, J.; ARRUDA, P. Analysis and functional annotation of an expressed sequence tag collection for tropical crop sugarcane. **Genome Research**, Cold Spring Harbor, v. 13, n. 12, p. 2725–2735, 2003.

VICENTINI, R.; DEL BEM, L. E. V.; VAN SLUYS, M. A.; NOGUEIRA, F. T. S.; VINCENZ, M. Gene content analysis of sugarcane public ESTs reveals thousands of missing coding-genes and an unexpected pool of grasses conserved ncRNAs. **Tropical Plant Biology**, Berlin, v. 5, n. 2, p. 199–205, 2012.

VOORRIPS, R. E. MAPCHART: software for the graphical presentation of linkage maps and QTLs. **The Journal of Heredity**, Washington, v. 93, n. 1, p. 77–78, 2002.

VSN INTERNATIONAL. **GENSTAT for Windows 16th Edition**. Hemel Hempstead: VSN International, 2014. Disponível em: <genstat.co.uk>. Acesso em: 12 nov. 2014.

WANG, M. L.; BARKLEY, N. A.; YU, J.-K.; DEAN, R. E.; NEWMAN, M. L.; SORRELLS, M. E.; PEDERSON, G. A. Transfer of simple sequence repeat (SSR) markers from major cereal crops to minor grass species for germplasm characterization and evaluation. **Plant Genetic Resources**, Cambridge, v. 3, n. 1, p. 45–57, 2005.

WU, R.; MA, C.-X.; PAINTER, I.; ZENG, Z.-B. Simultaneous maximum likelihood estimation of linkage and linkage phases in outcrossing species. **Theoretical Population Biology**, Berlin, v. 61, n. 3, p. 349–363, 2002.

WU, R.; MA, C.-X.; WU, S. S.; ZENG, Z.-B. Linkage mapping of sex-specific differences. **Genetic Research**, Oxford, v. 79, p. 85–96, 2002.

ZEGADA-LIZARAZU, W.; MONTI, A. Are we ready to cultivate sweet sorghum as a bioenergy feedstock? A review on field management practices. **Biomass and Bioenergy**, Oxford, v. 40, p. 1–12, 2012.

ZELLNER, A. An efficient method of estimating seemingly unrelated regressions and tests for aggregation bias. **Journal of the American Statistical Association**, New York, v. 57, n. 298, p. 348–368, 1962.

ZOU, W.; ZENG, Z.-B. Statistical methods for mapping multiple QTL. **International Journal of Plant Genomics**, Nasr City, v. 2008, p. 1–8, 2008.