

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

**Desenvolvimento de um modelo para construção de mapas genéticos em  
autopoliploides, com aplicações em cana-de-açúcar**

**Marcelo Mollinari**

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

**Piracicaba  
2012**

Marcelo Mollinari  
Engenheiro Agrônomo

**Desenvolvimento de um modelo para construção de mapas genéticos em  
autopoliploides, com aplicações em cana-de-açúcar**

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  
2012**

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação  
DIVISÃO DE BIBLIOTECA - ESALQ/USP**

Mollinari, Marcelo

Desenvolvimento de um modelo para construção de mapas genéticos em autoploidos, com aplicações em cana-de-açúcar / Marcelo Mollinari.- - Piracicaba, 2012.

98 p: il.

Tese (Doutorado) - - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", 2012.

1. Cana-de-açúcar 2. Mapeamento genético 3. Marcador molecular  
4. Nucleotídeos 5. Polimorfismo 6. Poliploides I. Título

CDD 633.61  
M726d

**“Permitida a cópia total ou parcial deste documento, desde que citada a fonte – O autor”**

Aos meus pais, **Fani** e **Norberto**, dedico com todo meu amor.



## Agradecimentos

Ao Professor Antonio Augusto Franco Garcia, que sabe qual é a verdadeira essência da palavra “orientar”. Augusto, é muito difícil descrever o quão grato sou por todos esses anos de ensinamentos e amizade. Muito Obrigado!

Ao Departamento de Genética da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” da Universidade de São Paulo, pela estrutura e pela oportunidade de realização deste doutorado.

À Professora Anete Pereira de Souza, pela confiança depositada no Laboratório de Genética Estatística da ESALQ/USP. Esse trabalho seria impossível de ser realizado sem essa valiosa colaboração.

Ao Professor Roland Vencovsky, por seus ensinamentos durante minha vida acadêmica.

Ao Dr. Thiago Marconi, que foi até a Austrália para aprender e trazer até nós essa impressionante ferramenta que são os marcadores SNPs usando espectrometria de massa.

À Dr<sup>a</sup>. Luciana Rosini e à Melina Mancini, por terem conduzido a população experimental e obtido os dados moleculares de microssatélites e AFLPs usados nesse trabalho.

Ao Dr. Oliver Serang, pela oportunidade de trabalharmos juntos no modelo para o “SNP call” em poliploides.

À FAPESP, pela concessão da bolsa e demais recursos ao longo desse trabalho (processo número: 2008/54402-4).

Aos amigos do Laboratório de Genética Estatística: Rodrigo, Maria Marta, Gabriel, Graciela, Renato, Edjane, João Ricardo, Carina, Luciano, Guilherme, Adriana, Rodrigo e Rafael, pelo companheirismo e discussões científicas ao longo de todos esses anos que ficamos juntos.

Aos professores do Departamento de Genética da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”.

Aos amigos e colegas do curso, pela convivência e aprendizado.

À minha irmã Flávia e ao meu cunhado Luis, pelo apoio incondicional.

À minha amada sobrinha Ana Clara, por existir na minha vida.

Aos funcionários do Departamento de Genética da ESALQ/USP: Seu Zé, Seu Antônio,

Valdir, Berdan, Léia, Macedônio e Fernandinho, pela convivência durante todos esses anos.

Ao Guilherme e ao João Ricardo, pela cuidadosa leitura dos originais e excelentes críticas e sugestões.

A todos amigos e familiares que direta ou indiretamente contribuíram para que esse trabalho fosse realizado. Muito Obrigado!

## SUMÁRIO

RESUMO . . . . .	9
ABSTRACT . . . . .	11
1 INTRODUÇÃO . . . . .	13
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA . . . . .	19
2.1 Construção de Mapas Genéticos . . . . .	19
2.1.1 Fundamentos . . . . .	19
2.1.2 Cadeias de Markov . . . . .	20
2.1.3 Verossimilhança Usando Cadeias de Markov Ocultas no Contexto do Mapeamento Genético . . . . .	23
2.1.4 Mapeamento Genético em Irmãos Completos . . . . .	26
2.1.4.1 Algoritmo para Cálculo da Verossimilhança e Reconstrução do Mapa Integrado Usando a Cadeia de Markov Oculta . . . . .	27
2.1.4.2 Fases de Ligação . . . . .	33
2.1.4.3 Estratégia de Mapeamento . . . . .	34
2.2 Mapeamento Genético em Autopoliploides . . . . .	35
2.2.1 Incorporação de Marcadores com Outras Doses nos Mapas Genéticos . . . . .	36
2.2.2 Mapeamento Genético em Autotetraploides . . . . .	39
3 MATERIAL E MÉTODOS . . . . .	43
3.1 Material . . . . .	43
3.2 Métodos . . . . .	43
3.2.1 Leitura e Classificação dos Dados de SNPs . . . . .	43
3.2.1.1 Modelo Gráfico Bayesiano para Classificação dos SNPs . . . . .	44
3.2.2 Classificação dos marcadores microssatélites e AFLPs . . . . .	47
3.3 Desenvolvimento do modelo estatístico . . . . .	47
3.3.1 Notação . . . . .	48
3.3.2 Formação dos Bivalentes . . . . .	49
3.3.3 Frequências Gaméticas Esperadas para uma Dada Configuração de Bivalentes . . . . .	49
3.3.4 Frequências Gaméticas para Todas Configurações . . . . .	51
3.3.5 Probabilidades de Transição . . . . .	51
3.3.6 Redução da Dimensão da Matriz de Transição . . . . .	53
4 RESULTADOS . . . . .	57
4.1 Classificação dos Locos SNPs . . . . .	57

4.2 Mapas . . . . .	61
5 DISCUSSÃO . . . . .	71
6 CONCLUSÃO . . . . .	81
REFERÊNCIAS . . . . .	83
APÊNDICE . . . . .	95

## RESUMO

### **Desenvolvimento de um modelo para construção de mapas genéticos em autoploiploides, com aplicações em cana-de-açúcar**

Espécies autoploiploides são extremamente importantes na agricultura. No entanto, a estrutura complexa de seus genomas não é bem compreendida. Apesar de todos os avanços no mapeamento genético de autotetraploides, a grande maioria dos modelos utilizados para a construção de mapas em espécies autoploiploides com elevado nível de ploidia, tais como a cana-de-açúcar, são aproximações daqueles usados para organismos diplóides. Assim, este trabalho teve como objetivo o desenvolvimento de um novo modelo para construção de mapas genéticos em espécies autoploiploides com qualquer nível de ploidia e incluindo marcadores com todas as dosagens possíveis. Para tanto foi utilizada a tecnologia dos modelos de Markov ocultos. O modelo aqui apresentado pode ser aplicado a dados de marcadores dominantes e codominantes, com comportamento bialélico ou multialélico. O método baseia-se no cálculo das probabilidades condicionais que compõem a matriz de transição seguido da redução de sua dimensão usando uma abordagem computacional. O uso do método foi ilustrado em uma população de mapeamento de cana-de-açúcar proveniente do cruzamento entre duas variedades pré-comerciais (IACSP 95-3018 × IACSP 93-3046) e genotipadas com três tipos de marcadores: SNPs, microsatélites e AFLPs. Os resultados indicam que o novo método é muito eficiente na obtenção de mapas genéticos, mesmo em situações com níveis de ploidia altos e marcadores com altas doses, particularmente quando estes marcadores têm comportamento codominante. Também foi possível estimar a verossimilhança, as frações de recombinação e as fases de ligação usando a abordagem multiponto, a qual leva em consideração todos os marcadores do grupo de ligação analisado simultaneamente. O novo modelo aqui proposto representa um importante passo para realizar futuramente a localização de regiões genômicas associadas à variação das características quantitativas, no entendimento da arquitetura genética de tais características e na montagem de genomas de espécies autoploiploides.

Palavras-chave: Poliploides; SNP; Análise de ligação; Polimorfismo de nucleotídeo único



## ABSTRACT

**Development of a model to build genetic maps in autopolyploides, with applications in sugarcane**

Autopolyploid species are extremely important in agriculture. However, the complex structure of their genomes is not well understood. Despite all advances in genetic mapping of autotetraploids, the vast majority of the models used for autopolyploid species with high ploidy level, such as sugarcane, are approximations of those used in diploid organisms. Thus, the aim of this work was to develop a new model to build genetic linkage maps in autopolyploid species with any ploidy level, including markers with all possible dosages. For doing so, hidden Markov model technology was used. The new model presented herein can be applied to dominant and codominant markers data, with biallelic or multiallelic behavior. The method is based on the calculation of conditional probabilities that comprise the transition matrix followed by a reduction of its dimension using a computer-based approach. An application of the method was illustrated with a sugarcane mapping population derived from a cross between two pre-commercial varieties (IACSP 95-3018  $\times$  IACSP 93-3046), scored with three types of markers: SNPs, microsatellite and AFLPs. The results indicate that the new method is very efficient in obtaining genetic maps, even for high ploidy levels and for markers with high dosages, particularly when these markers have codominant behavior. It was also possible to estimate the likelihood, the recombination fractions and the linkage phases between all markers using the multipoint approach, which takes into account all markers of the linkage group simultaneously. The new model proposed in this work represents a major step towards the location of genomic regions associated with variation in quantitative traits and its genetic architecture, and assembling autopolyploid genome sequences.

Keywords: Polyploids; SNP; Linkage analysis; Single nucleotide polymorphism



## 1 INTRODUÇÃO

O desenvolvimento de técnicas para obtenção de marcadores moleculares, combinado com eficientes métodos de análise dos dados, permitiu um melhor entendimento de vários fenômenos importantes para a genética e o melhoramento. Isto ocorre porque os marcadores fornecem informações a respeito da arquitetura genética dos caracteres quantitativos ao nível do DNA, tendo diversas aplicações tanto em estudos básicos como em pesquisas aplicadas (SOUZA, 2001). Inicialmente, os marcadores genéticos empregados baseavam-se em produtos da expressão gênica, sendo denominados marcadores morfológicos ou isoenzimáticos. Por serem de ocorrência rara e não estarem distribuídos de forma abundante ao longo do genoma, possuem uso limitado. Os marcadores moleculares, por sua vez, permitiram contornar esses problemas, sendo amplamente empregados. Dentre os marcadores moleculares mais usados atualmente, podem ser citados: RFLP (*Restriction Fragment Length Polymorphisms* - BOTSTEIN et al., 1980), AFLP (*Amplified Fragment Length Polymorphism* - VOS et al., 1995) e SSR (*Simple Sequence Repeat* - TAUTZ, 1989). Mais recentemente, surgiram os marcadores denominados SNP (*Single Nucleotide Polymorphism*), que têm grande potencial de aplicação em estudos de genética (SYVÄNEN, 2001). No caso particular das espécies poliploides, objeto de estudo da presente tese, o uso de SNPs é crucial para que avanços possam ser obtidos. Isto decorre não somente da grande abundância dos SNPs nos genomas, mas também da sua natureza codominante em espécies poliploides, tornando-os mais informativos e permitindo sensíveis avanços nos estudos genéticos.

A informação fornecida pelos marcadores moleculares pode ser útil de várias formas para o melhoramento genético, permitindo, por exemplo, a realização de estudos de divergência genética visando a predição de cruzamentos (LABORDA et al., 2005), a classificação dos indivíduos em grupos heteróticos (OLIVEIRA et al., 2004), a construção de mapas genéticos (MOLLINARI et al., 2009), o mapeamento de locos que controlam os caracteres quantitativos, ou QTLs (KAO; ZENG; TEASDALE, 1999; PASTINA et al., 2012) e até mesmo eventualmente a realização da chamada seleção assistida por marcadores (ZENG; KAO; BASTEN, 1999; MEUWISSEN; HAYES; GODDARD, 2001). Dentre essas aplicações, destaca-se o mapeamento de QTLs (*Quantitative Trait Loci*), por buscar um melhor entendimento da arquitetura genética justamente dos locos que controlam os caracteres quantitativos que são de difícil manuseio e, em geral, de maior importância para o melhoramento. A compreensão desses caracteres

é muito importante para que a seleção assistida seja implementada de forma efetiva, eventualmente com o desenvolvimento de novos métodos de melhoramento que incorporem as informações fornecidas pelos marcadores. Para que o mapeamento de QTLs seja realizado, contudo, é necessária a construção de mapas genéticos saturados, o que até o momento não foi feito de forma satisfatória para espécies poliploides, com exceção dos autotetraploides (LEACH et al., 2010). Os mapas também são importantes para realização de estudos evolutivos, de sintenia entre espécies, mapeamento associativo e até mesmo para montagem de genomas (LEWIN et al., 2009).

Hieter e Griffiths (1999) estimam que cerca de 50% das espécies vegetais são poliploides. Dentre as plantas de importância agrônômica, podem ser citadas como exemplos de poliploides as culturas da cana-de-açúcar, algodão, banana, alfafa, batata, café e trigo, além de várias espécies forrageiras, como as do gênero *Brachiaria*. Os poliploides caracterizam-se pela presença de vários cromossomos por grupo de hom(e)ologia (GRIFFITHS et al., 2004), o que implica em mecanismos diferentes de pareamento na meiose, que pode ser preferencial ou aleatória (DOERGE; CRAIG, 2000). Como vantagens da poliploidia, podem ser citados a presença de mais de uma cópia de vários genes (redundância), o que eventualmente confere vantagens adaptativas (COMAI, 2005). Há na literatura vários relatos da presença de heterose como consequência do aumento do número de cópias do genoma (BIRCHLER; AUGER; RIDDLE, 2003; GRIFFITHS et al., 2004; COMAI, 2005; AUGER et al., 2005), sem contudo nenhuma explicação convincente sobre a base genética deste fenômeno. Como desvantagens, podem ser citadas as alterações na arquitetura celular e nos processos regulatórios, bem como dificuldades na meiose (COMAI, 2005).

Estudos sobre expressão gênica em *Saccharomyces cerevisiae* mostraram que diferentes níveis de ploidia foram responsáveis por diferentes níveis de expressão gênica (GALITSKI et al., 1999); em outras palavras, parece haver associação entre a dose dos alelos e sua expressão. O entendimento de tais processos permitiria definir estratégias de seleção assistida específicas para poliploides, uma vez que tal mecanismo não é perfeitamente entendido nem usado de forma consciente nos processos de seleção. Há também relatos de que a regulação gênica também dependa do nível de ploidia (HIETER; GRIFFITHS, 1999; GUO; DAVIS; BIRCHLER, 1996; OSBORN et al., 2003). Soltis e Soltis (1999) mencionam que várias questões relevantes poderiam ser respondidas se houvesse mais estudos genéticos sobre poliploides.

Apesar dos avanços obtidos nos estudos de mapeamento genético em espécies com disponibilidade de linhagens endogâmicas (como os retrocruzamentos e as populações  $F_2$ ), a aplicação

de tais técnicas e métodos de análise genético-estatística em espécies poliploides ainda é bastante restrita (DOERGE; CRAIG, 2000; GAZAFFI, 2009; PASTINA et al., 2010; GAZAFFI et al., 2010). Isto ocorre porque várias dificuldades são encontradas para se realizar mapeamento genético nesta situação, incluindo aumento considerável no número de genótipos presentes nas populações, dificuldades em determinar o número de cópias (dose) de cada loco do marcador e dos QTLs, dificuldades em observar os eventos de recombinação em função da presença de cópias adicionais, e alterações no pareamento cromossômico na meiose (COMAI, 2005; DOERGE; CRAIG, 2000). Quando são incluídos SNPs, novos desafios também surgem para a análise dos dados. Em primeiro lugar, os programas computacionais que são fornecidos com os equipamentos de genotipagem comumente usados (como o software BeadStudio, distribuído juntamente com a plataforma Illumina GoldenGate<sup>TM</sup> e o software TYPER, distribuído juntamente com a plataforma Sequenom iPLEX MassARRAY<sup>®</sup>) não podem ser utilizados diretamente para classificar os dados nestas espécies (dito “*SNP genotype call*”). A utilização desses resultados para construção de mapas genéticos também não é possível até o presente momento, com exceção das espécies autotetraploides, para as quais já existem métodos adequados de análise à disposição (LEACH et al., 2010).

A cana-de-açúcar pode ser usada como modelo para o desenvolvimento de métodos de análise genético-estatística que permitiriam a realização de estudos avançados em autopoliploides. Isto ocorre em função da complexa organização genômica desta espécie. As variedades modernas surgiram de cruzamentos entre genótipos resultantes de cruzamentos interespecíficos principalmente entre *Saccharum officinarum* (variedades domesticadas, geralmente com  $2n = 8x = 80$ ) e *S. spontaneum*, que é uma espécie selvagem (com  $2n = 64, 80, 96, 112$  ou  $128$ , e  $x = 8$ ) (PIPERIDIS; PIPERIDIS; D’HONT, 2010). É ainda comum a presença de aneuploidia, ou seja, número de cromossomos variável em cada grupo de hom(e)ologia (GRIVET; ARRUDA, 2001). Novos métodos para construção de mapas genéticos que venham a ser desenvolvidos precisam incorporar tais características. Dado que tal complexidade dificilmente será encontrada em outras espécies, possivelmente os novos modelos poderão ser usados para vários outros poliploides ainda pouco estudados.

A principal abordagem usada para construção de mapas genéticos em cana-de-açúcar baseia-se no método desenvolvido por Wu et al. (1992), posteriormente expandido por Da Silva e Sorrells (1996) e Ripol et al. (1999). Percebendo que, independente do nível de ploidia da espécie, marcadores em dose única sempre segregam na proporção 1:1 num população segregante resultante do cruzamento de dois genitores não endogâmicos, estes autores propuseram o uso de mar-

cadores com essa dose para construção de mapas de cana-de-açúcar, o que foi também seguido em outros poliploides. Sua vantagem é possibilitar o uso de programas de computador, como por exemplo o MAPMAKER/EXP, (LANDER et al., 1987), já disponíveis para outras espécies, uma vez que tal padrão de segregação é o mesmo observado em retrocruzamentos. O fato da fase de ligação entre os marcadores ser desconhecida foi resolvido com emprego da abordagem conhecida como *duplo pseudo-testcross* (GRATTAPAGLIA; SEDEROFF, 1994), que resulta na construção de um mapa genético para cada um dos genitores.

Há várias limitações nessas abordagens que precisam ser resolvidas para que avanços sejam possíveis no estudo genético dos poliploides. Em primeiro lugar, usar apenas locos que possuam um determinado tipo de segregação (1:1, dose única) para construir os mapas genéticos pode resultar em mapas baseados em apenas uma pequena parte do genoma, já que não há nenhuma razão biológica para assumir que locos em dose única sejam maioria no genoma. Em partes posteriores desta tese será demonstrado que as estimativas dos locos em dose única no genoma são fortemente enviesadas e não devem representar o que de fato ocorre. Sobre os *duplo pseudo-testcross*, vale mencionar que essa estratégia fornece dois mapas de ligação, sendo que em cada um deles há marcadores segregando exclusivamente para um determinado genitor, uma vez que o outro genitor apresenta alelos fixados para os mesmos locos (GRATTAPAGLIA; SEDEROFF, 1994). A integração das informações contidas nesses mapas individuais em um único mapa somente pode ser feita com a presença de marcadores em heterozigose em ambos os parentais, os quais são utilizados para estabelecer relações de ligação entre os marcadores segregando individualmente em cada genitor (WU et al., 2002b; GARCIA et al., 2006; OLIVEIRA et al., 2007, 2008). Não é correto assumir que a maioria dos locos do genoma segrega em apenas um dos genitores, especialmente em poliploides, e dados experimentais que serão apresentados nesta tese corroboram tal afirmativa. A construção de um mapa genético integrado, utilizando-se marcadores com diferentes tipos de segregação simultaneamente, além de mais realista do ponto de vista biológico, apresenta inúmeras vantagens, pois permite aumentar a saturação do mapa de ligação e estender a caracterização da variação polimórfica em todo o genoma.

Neste contexto, a presente tese teve como objetivo o desenvolvimento de um novo método genético-estatístico para construção de mapas genéticos multiponto em espécies autoploiploides, incorporando todas as doses possíveis e diferentes combinações de polimorfismo nos genitores, resultando em mapas integrados. Foi dada ênfase em dados de marcadores do tipo SNP, que possuem características únicas e muito vantajosas para esse tipo de análise. Porém, é importante mencionar que locos obtidos com outros tipos de marcadores (como por exemplo os AFLPs e

microsatélites) também podem ser incorporados aos mapas genéticos que forem construídos com o método aqui proposto.



## **6 CONCLUSÃO**

O método aqui apresentado mostrou-se adequado para a construção de mapas genéticos em autopoliploides. Além disso, os desenvolvimentos teóricos apresentados neste trabalho abrem caminhos para o adequado estudo da genética de espécies poliploides de maneira geral.



## REFERÊNCIAS

- AITKEN, K.S.; JACKSON, P.A.; MCINTYRE, C.L. A combination of AFLP and SSR markers provides extensive map coverage and identification of homo(eo)logous linkage groups in a sugarcane cultivar. **Theoretical and Applied Genetics**, New York, v. 110, p. 789–801, 2005.
- AITKEN, K.S.; JACKSON, P.A.; MCINTYRE, C.L. Construction of a genetic linkage map for *Saccharum officinarum* incorporating both simplex and duplex markers to increase genome coverage. **Genome**, Ottawa, v. 50, p. 742–756, 2007.
- ALWALA, S.; KIMBENG, C.A.; VEREMIS, J.C.; GRAVOIS, K.A. Linkage mapping and genome analysis in a *Saccharum* interspecific cross using AFLP, SRAP and TRAP markers. **Euphytica**, Wageningen, v. 164, p. 37–51, 2008.
- 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**, New York, v. 123, p. 77–93, 2011.
- APPELS, R.; MORRIS, R.; GILL, B.S.; MAY, C.E. **Chromosome Biology**. Boston: Kluwer Academic, 1998. 424 p.
- AUGER, D.L.; GRAY, A.D.; REAM, T.S.; KATO, A.; COE, E.H.; BIRCHLER, J.A. Nonadditive gene expression in diploid and triploid hybrids of maize. **Genetics**, Bethesda, v. 169, p. 389–397, 2005.
- BAKER, P.; JACKSON, P.; AITKEN, K. Bayesian estimation of marker dosage in sugarcane and other autopolyploids. **Theoretical and Applied Genetics**, New York, v. 120, p. 1653–72, 2010.
- BAUM, E.; PETRIE, T.; G., S.; N., W. A maximization technique occurring in the statistical analysis of probabilistic functions of markov chains. **The Annals of Mathematical Statistics**, Ann Harbor, v. 41, p. 164–171, 1970.
- BIELIG, L.M.; MARIANI, A.; BERDING, N. Cytological studies of 2n male gamete formation in sugarcane. **Euphytica**, Wageningen, v. 133, p. 117–124, 2003.
- BIRCHLER, J.A.; AUGER, D.L.; RIDDLE, N.C. In search of the molecular basis of heterosis. **The Plant Cell**, Baltimore, v. 15, p. 2236–2239, 2003.

BOTSTEIN, D.; WHITE, R.L.; SKOLNICK, M.; DAVIS, R.W. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. **American Journal of Human Genetics**, Chicago, v. 32, p. 314–331, 1980.

BROMAN, K. W.; SEN, S. **A Guide to QTL Mapping with R/qtl**. New York: Springer, 2009. 400 p.

BROMAN, K.W. **Genetic map construction with R/qtl**. Disponível em: <[www.rqtl.org/tutorials/geneticmaps.pdf](http://www.rqtl.org/tutorials/geneticmaps.pdf)>. Acesso em: 20 fev. 2010.

BURNHAM, C. R. **Discussions in Cytogenetics**. Mineapolis: Burgess Pub. Co, 1962. 375 p.

CAO, D.; CRAIG, B.A.; DOERGE, R.W. A Model Selection-Based Interval-Mapping Method for Autopolyploids. **Genetics**, Bethesda, v. 169, p. 2371–2382, 2005.

CAO, D.; OSBORN, T.C.; DOERGE, R.W. Correct estimation of preferential chromosome pairing in autotetraploids. **Genome research**, Woodbury, v. 14, p. 459–62, 2004.

COMAI, L. The advantages and disadvantages of being polyploid. **Nature Reviews Genetics**, New York, v. 6, p. 836–846, 2005.

CUADRADO, A.; ACEVEDO, R.; ESPINA, M.D.S.; JOUVE, N.; TORRE, C. Genome remodelling in three modern *S. officinarum* x *S. spontaneum* sugarcane cultivars. **Journal of Experimental Botany**, London, v. 55, p. 847–854, 2004.

DA SILVA, J.G.A. **A method for genome mapping of autopolyploids and its application to sugarcane *Saccharum spp.*** 1993. 384 p. Tese (Doutorado) – Cornell University, New York, Ithaca, 1993

DA SILVA, J.A.G.; SORRELLS, M.E. Linkage analysis in polyploids using molecular markers. In: JAUHAR, p. (Ed.) **Methods of Genome Analysis in Plants**. Boca Raton: CRC Press, 1996. cap. 13, p. 211–228.

DEMPSTER, A.P.; LAID, N.M.; RUBIN, D.B. Maximum Likelihood from Incomplete Data via the EM Algorithm. **Journal of the Royal Statistical Society, Series B**, London, v. 39, p. 1–38, 1977.

D'HONT, A.; GRIVET, L.; FELDMANN, P.; RAO, S.; BERDING, N.; GLASZMANN, J.C. Characterisation of the double genome structure of modern sugarcane cultivars (*Saccharum* spp.) by molecular cytogenetics. **Molecular And General Genetics**, Berlin, v. 250, p. 405–413, 1996.

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.

D'HONT, A. Unraveling the genome structure of polyploids using FISH and GISH; examples of sugarcane and banana. **Cytogenetic and genome research**, Basel, v. 109, p. 27–33, 2005.

DOERGE, R.W. Constructing Genetic Maps By Rapid Chain Delineation. **Journal of Quantitative Trait Loci**, Washington, v. 2, p. 1–14, 1996.

DOERGE, R.W.; CRAIG, B.A. Model selection for quantitative trait locus analysis in polyploids. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, Washington, v. 97, p. 7951-7956, 2000.

EDME, S.J.; GLYNN, N.G.; COMSTOCK, J.C. Genetic segregation of microsatellite markers in *Saccharum officinarum* and *S. spontaneum*. **Heredity**, London, v. 97, p. 366–375, 2006.

FALK, C.T. A simple scheme for preliminary ordering of multiple loci: application to 45 CF families. In: ELSTON, R.C.; SPENCE, M.A.; HODGE, S.E.; MACCLUER, J.W. (Eds.). **Multipoint Mapping and Linkage based upon Affected Pedigree Members.**, New York: Alan R Liss, 1989. cap. 6, p. 17-22.

FISCHER, R.A. The theory of linkage in polysomic inheritance. **Philosophical Transactions of the Royal Society of London: Series B**, London, v. 23, p. 55–87, 1947.

GALITSKI, T.; SALDANHA, A.J.; STYLES, C.A.; LANDER, E.S.; FINK, G.R. Ploidy Regulation of Gene Expression. **Science**, Washington, v. 285, p. 251–254, 1999.

GALLAIS, A. **Quantitative genetics and breeding methods in autopolyploids plants**. 1.ed. Paris: INRA, 2003. 522 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.D.; ULIAN, E.C.; FIGUEIRA, A.V.; SOUZA, A.P.; 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**, New York, v. 112, p. 298–314, 2006.

GAZAFFI, R. **Desenvolvimento de modelo genético-estatístico para mapeamento de QTLs em progênie de irmãos completos, com aplicação em cana-de-açúcar**. 2011. 104 p. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2011.

GAZAFFI, R.; OLIVEIRA, K.M.; SOUZA, A.P.; GARCIA, A.A.F. Sugarcane: Breeding Methods and Genetic Mapping. In: CORTEZ, L.A.B. (Ed.) **Sugarcane Bioethanol: R&D for Productivity and Sustainability**. São Paulo: Blucher, 2010. p. 333–344

GRATTAPAGLIA, D.; SEDEROFF, R. Genetic Linkage Maps of *Eucalyptus grandis* and *Eucalyptus urophylla* Using a Pseudo-Testcross: Mapping Strategy and RAPD Markers. **Genetics**, Bethesda, v. 1137, p. 1121–1137, 1994.

GRIFFITHS, A.J.F.; GELBART, W.M.; LEWONTIN, R.C.; WESSLER, S.R.; SUZUKI, D.T.; MILLER, J.H. **An Introduction to Genetic Analysis**. 8.ed. New York: W.H. Freeman & Company, 2004. 800 p.

GRIVET, L.; ARRUDA, p. Sugarcane genomics: depicting the complex genome of an important tropical crop. **Current Opinion in Plant Biology**, London, v. 5, p. 122–127, 2001.

GUIMARÃES, C.T. G.; 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.

GUO, M.; DAVIS, D.; BIRCHLER, J.A. Dosage effects on gene expression in a maize ploidy series. **Genetics**, Bethesda, v. 142, p. 1349–1355, 1996.

HACKETT, C.A. A comment on Xie and Xu : “Mapping quantitative trait loci in tetraploid species”. **Genetical Research**, London, v. 78, p. 187–189, 2001.

- HACKETT, C.A.; BRADSHAW, J.E.; MCNICOL, J.W. Interval mapping of quantitative trait loci in autotetraploid species. **Genetics**, Bethesda, v. 159, p. 1819–1832, 2001.
- HALDANE, J. The combination of linkage values, and the calculation of distance between linked factors. **Journal of Genetics**, London, v. 8, p. 299–309, 1919.
- HALDANE, J. B. S. Theoretical genetics of autopolyploids. **Journal of Genetics**, London, v. 22, p. 359–372, 1930.
- HELLER-USZYNSKA, K.; USZYNSKI, G.; HUTTNER, E.; EVERS, M.; CARLIG, J.; CAIG, V.; AITKEN, K.; JACKSON, P.; PIPERIDIS, G.; COX, M.; GILMOUR, R.; D'HONT, A.; BUTTERFIELD, M.; GLASZMANN, J.-C.; KILIAN, A. Diversity Arrays Technology effectively reveals DNA polymorphism in a large and complex genome of sugarcane. **Molecular Breeding**, Berlin, v. 28, p. 37–55, 2010.
- HIETER, P.; GRIFFITHS, T. Polyploidy—More Is More or Less. **Science**, Washington, v. 285, p. 210–211, 1999.
- HOARAU, J.-Y.; OFFMANN, B.; D'HONT, A.; ROQUES, D.; RISTERUCCI A.M.; GLASZMANN, J.-C.; GRIVET, L. Genetic dissection of a modern sugarcane cultivar (*Saccharum* spp.). I. Genome mapping with AFLP markers. **Theoretical and Applied Genetics**, New York, v. 103, p. 84–97, 2001.
- JANNOO, N.; GRIVET, L.; DAVID, J.; D'HONT, A.; GLASZMANN, J.-C. Differential chromosome pairing affinities at meiosis in polyploid sugarcane revealed by molecular markers. **Heredity**, London, v. 93, p. 460–467, 2004.
- JIANG, C.; ZENG, Z-B. Mapping quantitative trait loci with dominant and missing markers in various crosses from two inbred lines. **Genetica**, London, v. 101, p. 47–58, 1997.
- KAO, C.; ZENG, Z-B.; TEASDALE, R.D. Multiple Interval Mapping for Quantitative Trait Loci. **Genetics**, Bethesda, v. 125, p. 1203–1216, 1999.
- KOSAMBI, D. The estimation of map distance from recombination values. **Annals of Eugenics**, London, v. 12, p. 172–175, 1944.
- LABORDA, P.R.; OLIVEIRA, K.M.; GARCIA, A.A.F.; PATERNIANI, M.E.A.G.Z.; SOUZA, A.p. Tropical maize germplasm: what can we say about its genetic diversity in the light of molecular markers? **Theoretical and Applied Genetics**, New York, v. 111, p. 1288–1299, 2005.

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.

LANDER, E.S.; GREEN, P.; ABRAHAMSON, J.; BARLOW, A.; DALY, M.J.; LINCOLN, S.E.; NEWBERG, L.A. MAPMAKER: an interactive computer package for constructing primary genetic linkage maps of experimental and natural populations. **Genomics**, Orlando, v. 1, p. 174–181, 1987.

LEACH, L.J.; WANG, L.; KEARSEY, M.J.; LUO, Z. Multilocus tetrasomic linkage analysis using hidden Markov chain model. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, Washington, v. 107, p. 4270–4274, 2010.

LEWIN, H.A.; LARKIN, D.M.; PONTIUS, J.; O'BRIEN, S.J.; BRIEN, S.J.O. Every genome sequence needs a good map. **Genome Research**, Woodbury, v. 19, p. 1925–1928, 2009.

LIU, B. **Statistical Genomics: Linkage, Mapping, and QTL Analysis**. Boca Raton: CRC Press, 1998.

LUO, Z.W.; TAO, S.H.; ZENG, Z-B. Inferring Linkage Disequilibrium Between a Polymorphic Marker Locus and a Trait Locus in Natural Populations. **Genetics**, v. 156, p. 457-467, 2000.

LUO, Z.W.; HACKETT, C.A.; BRADSHAW, J.E.; MCNICOL, J.W.; MILBOURNE, D. Predicting parental genotypes and gene segregation for tetrasomic inheritance. **Theoretical and Applied Genetics**, New York, v. 100, p. 1067–1073, 2000.

LUO, Z.W.; HACKETT, C.A.; BRADSHAW, J.E.; MCNICOL, J.W.; MILBOURNE, D. Construction of a genetic linkage map in tetraploid species using molecular markers. **Genetics**, Bethesda, v. 157, p. 1369–1385, 2001.

LUO, Z.W.; ZHANG, R.M.; KEARSEY, M.J. Theoretical basis for genetic linkage analysis in autotetraploid species. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, Washington, v. 101, p. 7040–7045, 2004.

LUO, Z.W.; ZHANG, Z.; LEACH, L.; ZHANG, R.M.; BRADSHAW, J.E.; KEARSEY, M.J. Constructing genetic linkage maps under a tetrasomic model. **Genetics**, Bethesda, v. 172, p. 2635–2645, 2006.

MA, C-X.; CASELLA, G.; SHEN, Z-J.; OSBORN, T.C.; WU, R. A Unified Framework for Mapping Quantitative Trait Loci in Bivalent Tetraploids Using Single-dose Restriction Fragments: A Case Study from Alfalfa. **Genome research**, Woodbury, v. 12, p. 1974–1981, 2002.

MARGARIDO, G.R.A.; SOUZA, A.P.; GARCIA, A.A.F. OneMap: software for genetic mapping in outcrossing species. **Hereditas**, Lund, v. 144, p. 78–79, 2007.

MARGARIDO, G.R.A.; MOLLINARI, M.; GARCIA, A.A.F. **OneMap Tutorial**. Disponível em: <<http://cran.r-project.org/web/packages/onemap/vignettes/>>. Acesso em: 20 fev. 2010.

MATHER, K. Segregation and linkage in autotetraploids. **Journal Genetics**, London, v. 30, p. 287–314, 1936.

MESTER, D.; RONIN, Y.; MINKOV, D.; NEVO, E.; KOROL, A. Constructing large-scale genetic maps using an evolutionary strategy algorithm. **Genetics**, Bethesda, v. 165, p. 2269–2282, 2003.

MEUWISSEN, T.H.E.; HAYES, B.J.; GODDARD, M.E. Prediction of Total Genetic Value Using Genome-Wide Dense Marker Maps. **Genetics**, Bethesda, v. 157, p. 1819–1829, 2001.

MOLLINARI, M. **Comparação de algoritmos usados na construção de mapas genéticos**. 2009. 73 p. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2009.

MOLLINARI, M.; MARGARIDO, G.R.A.; VENCOVSKY, R.; GARCIA, A.A.F. Evaluation of algorithms used to order markers on genetic maps. **Heredity**, London, v. 103, p. 494–502, 2009.

MORGAN, T.H. **The Theory of Genes**. New Haven: Yale University Press, 1928.

MORTON, N.E. Sequential tests for the detection of linkage. **American Journal of Human Genetics**, Baltimore, v. 7, p. 277–318, 1955.

OETH, P.; BEAULIEU, M.; PARK, C.; KOSMAN, D.; MISTRO, G. del; van Den Boom, D.; JURINKE, C. **iPLEX™ Assay**: Increased Plexing Efficiency and Flexibility for MassARRAY® System Through Single Base Primer Extension with Mass-Modified Terminators. San Diego: Sequenom, 2007. 12 p.

OLIVEIRA, K.M.; LABORDA, P.R.; GARCIA, A.A.F.; PATERNIANI, M.E.A.G.Z.; SOUZA, A.p. Evaluating genetic relationships between tropical maize inbred lines by means of AFLP profiling. **Hereditas**, Lund, v. 140, p. 24–33, 2004.

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, p. 189–208, 2007.

OLIVEIRA, E.J.; VIEIRA, M.L.C.; GARCIA, A.A.F.; MUNHOZ, C.F.; MARGARIDO, G.R.A.; CONSOLI, L.; MATTA, F.P.; MORAES, M.C.; ZUCCHI, M.I.; FUNGARO, M.H.p. An Integrated Molecular Map of Yellow Passion Fruit Based on Simultaneous Maximum-Likelihood Estimation of Linkage and Linkage Phases. **Journal of the American Society for Horticultural Sciences**, Wageningen, v. 133, p. 35–41, 2008.

OSBORN, T.C.; PIRES, J.C.; BIRCHLER, J.A.; AUGER, D.L.; CHEN, Z.J.; LEE, H-S.; COMAI, L.; MADLUNG, A.; DOERGE, R.W.; COLOT, V.; MARTIENSSEN, R.A. Understanding mechanisms of novel gene expression in polyploids. **Trends in Genetics**, Kidlington, v. 19, n. 3, p. 141–147, 2003.

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. (Eds.) **Genetics, Genomics and Breeding of Sugarcane**. 1.ed. New Hampshire: Science Publishers, 2010. p. 117-148.

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

PIPERIDIS, G.; PIPERIDIS, N.; D'HONT, A. Molecular cytogenetic investigation of chromosome composition and transmission in sugarcane. **Molecular Genetics and Genomics**, Berlin, v. 284, p. 65–73, 2010.

PIPERIDIS, N.; PIPERIDIS, G.; D'HONT, A. Molecular Cytogenetics In: HENRY, R.J.; KOLE, C. (Eds.) **Genetics, Genomics and Breeding of Sugarcane**. 1.ed. New Hampshire: Science Publishers, 2010. p. 9-18.

R DEVELOPMENT CORE TEAM (2011). **R**: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing. Vienna, Austria, 2011. Disponível em: <<http://www.r-project.org/>>. Acesso em: 10 set. 2011.

RABINER, L. R. A Tutorial on Hidden Markov Models and Selected Applications in Speech Recognition. **Proceedings of the Institute of Electrical and Electronics Engineers**, London, v. 77, p. 257-286, 1989.

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

SEQUENOM. **Typer 4.0 Manual**. San Diego: Sequenom, 2007. 179 p.

SERANG, O.; MOLLINARI, M.; GARCIA, A.A.F. Efficient Exact Maximum a Posteriori Computation for Bayesian SNP Genotyping in Polyploids. **PloS One**, v. 7, p. 1–12, 2012.

SINGH, R. J. **Plant Cytogenetics**. 2.ed. Boca Raton: CRC Press, 2003. 463 p.

SOLTIS, D.E.; SOLTIS, P.S. Polyploidy: recurrent formation and genome evolution. **Trends Ecology Evolution**, Cambridge, v. 14, p. 348–352, 1999.

SOUZA, A.p. Biologia Molecular Aplicada ao Melhoramento. In: NASS, L.L.; VALOIS, A.C.C.; MELO, I.S.; VALADARES-INGLIS, M.C. (Eds.) **Recursos Genéticos e Melhoramento – Plantas**. Rondonópolis: Fundação MT, 2001. p. 939–965

SVED, J.A. The Relationship between diploid and tetraploid recombination frequencies. **Heredity**, London, v. 14, p. 348–352, 1962.

SYBENGA, J. **General cytogenetics**. New York: American Elsevier, 1972. 359 p.

SYVÄNEN, A.C. Accessing genetic variation: genotyping single nucleotide polymorphisms. **Nature Reviews Genetics**, London, v. 2, p. 930–42, 2001.

TAN, Y.; FU, Y. A novel method for estimating linkage maps. **Genetics**, Bethesda, v. 173, p. 2383–2390, 2006.

TAUTZ, D. Hypervariability of simple sequences as a general source for polymorphic DNA markers. **Nucleic Acids Research**, London, v. 17, p. 6463–6471, 1989.

VOORRIPS, R.E.; GORT, G.; VOSMAN, B. Genotype calling in tetraploid species from bi-allelic marker data using mixture models. **BMC Bioinformatics**, London, v. 12, p. 172, 2011.

WANG, J.; TIAN, L.; LEE, H.-S.; WEI, N.E.; JIANG, H.; WATSON, B.; MADLUNG, A.; OSBORN, T.C.; DOERGE, R.W.; COMAI, L.; CHEN, Z.J. Genomewide nonadditive gene regulation in Arabidopsis allotetraploids. **Genetics**, Bethesda, v. 172, p. 507–517, 2006.

WANG, J.; ROE, B.; MACMIL, S.; YU, Q.; MURRAY, J.E.; TANG, H.; CHEN, C.; NAJAR, F.; WILEY, G.; BOWERS, J.; VAN SLUYS, M.; ROKHSAR, D.S.; HUDSON, M.E.; MOOSE, S.P.; PATERSON, A.H.; MING, R. Microcollinearity between autopolyploid sugarcane and diploid sorghum genomes. **BMC Genomics**, London, v. 11, p. 261–288, 2010.

WEEKS, D.E.; LANGE, K. Preliminary Ranking Procedures for Multilocus Ordering. **Genomics**, Orlando, v. 1, p. 236–242, 1987.

WILLIAMS, J.G.K.; KUBELIK, A.R.; LIVAK, K.J.; RAFALSKI, J.A.; SCOTT, V. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. **Nucleic Acids Research**, London, v. 18, p. 6531–6535, 1990.

WILSON, S. A major simplification in the preliminary ordering of linked loci. **Genetic Epidemiology**, New York, v. 5, p. 75–80, 1988.

WOLFE, K. H. Yesterday's polyploids and the mystery of diploidization. **Nature Review Genetics**, London, v. 2, p. 333–341, 2001.

WU, K.K.; BURNQUIST, W.; SORRELLS, M.E.; TEW, T.L.; MOORE, P.H.; TANKSLEY, S. D. The detection and estimation of linkage in polyploids using single-dose restriction fragments. **Theoretical and Applied Genetics**, New York, v. 83, p. 294–300, 1992.

WU, R.; GALLO-MEAGHER, M.; LITTELL, R.C.; ZENG, Z. A General Polyploid Model for Analyzing Gene Segregation in Outcrossing Tetraploid Species. **Genetics**, Bethesda, v. 159, p. 869–882, 2001.

WU, R.; MA, C.; PAINTER, I.; ZENG, Z. Simultaneous Maximum Likelihood Estimation of Linkage and Linkage Phases in Outcrossing Species. **Theoretical Population Biology**, New York, v. 61, p. 349–363, 2002.

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

VOS, P.; HOGERS, R.; BLEEKER, M.; REIJANS, M.; VANDELEE, T.; HORNES, M.; FRIJTERS, A.; POT, J.; PELEMAN, J.; KUIPER, M.; ZABEAU, M. AFLP: a new technique for DNA fingerprinting. **Nucleic Acids Research**, Oxford, v. 23, p. 4407-4414, 1995.

ZENG, Z.; KAO, C.; BASTEN, C.J. Estimating the genetic architecture of quantitative traits. **Genetical Research**, Oxford, v. 74, p. 279–289, 1999.