

Capítulo 13

Recursos genético-moleculares para auxiliar o melhoramento do sorgo

*Claudia Teixeira Guimarães
Jurandir Vieira de Magalhães*

Introdução

O sorgo, além da grande importância agronômica entre as gramíneas, destaca-se pelo seu genoma relativamente pequeno, constituído de aproximadamente 730 mega-pares-de-bases (Mpb), em comparação com o genoma do milho (2.500 Mpb) (Paterson et al., 2009). Adicionalmente, há colinearidade entre os genomas de gramíneas como o sorgo, o arroz, o milho e a cana-de-açúcar, o que possibilita estudos comparativos entre essas espécies. Os marcadores moleculares surgiram na década de 1980, e foram utilizados em sorgo a partir da década de 1990, com a disponibilidade de marcadores, de mapas genéticos e de estratégias para mapeamento de regiões genômicas que controlam características quantitativas (QTLs, *Quantitative Trait Loci*, Locos de Características Quantitativas). A disponibilização da sequência completa do genoma do sorgo em 2009 (Paterson et al., 2009) ampliou as possibilidades para a identificação de genes de interesse agronômico e para aplicações no melhoramento genético. Assim, o presente capítulo apresenta um histórico dos marcadores moleculares em sorgo, destacando-se a construção dos principais mapas genéticos, e a identificação de genes e QTLs utilizando mapeamento biparental e associativo. Serão apresentadas também algumas estratégias de seleção assistida e as suas aplicações em programas de melhoramento de sorgo.

Marcadores Moleculares e Mapas Genéticos

O primeiro marcador de DNA em plantas foi o RFLP (*Restriction Fragment Length Polymorphisms*, Polimorfismo no Comprimento de Fragmentos de Restrição), ou seja, um marcador baseado na diferença do tamanho dos fragmentos de DNA gerados pela clivagem do DNA genômico

com enzimas de restrição (Botstein et al., 1980). Os polimorfismos são revelados pela hibridização do DNA genômico com fragmentos de DNA de cópia única, denominados de sondas, que são marcados com radioatividade ou quimioluminescência. O processo de hibridização permite o uso de sondas derivadas de espécies filogeneticamente próximas, possibilitando o mapeamento comparativo. Os primeiros grupos de ligação de sorgo foram obtidos com marcadores RFLPs derivados de sondas de milho (Whitkus et al., 1992), que foram posteriormente complementados com 146 sondas de sorgo e 55 de milho, gerando 10 grupos de ligação, representando os cromossomos de sorgo (Pereira et al., 1994). Outros dois mapas genéticos de sorgo contendo 190 e 276 marcadores RFLP foram publicados em 1994 (Xu et al., 1994; Chittenden et al., 1994).

A facilidade, a rapidez e a versatilidade da técnica de PCR (*Polymerase Chain Reaction*, Reação em Cadeia da Polimerase) possibilitaram o surgimento de uma nova geração de marcadores moleculares baseados em *primers* ou oligonucleotídeos mais curtos, isto é, com menor número de pares de base (pb) e com sequência arbitrária, sem a necessidade do conhecimento da sequência-alvo, que foram denominados RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*, Polimorfismo de DNA Amplificado ao Acaso) (Williams et al., 1990) ou AP-PCR (*Arbitrarily Primed-PCR*, Polimorfismo Arbitrário Amplificado por PCR) (Welsh; McClelland, 1990). Os polimorfismos RAPD são revelados quando existe uma substituição de bases (SNPs, *Single Nucleotide Polymorphisms*, Polimorfismo de Nucleotídeo Único) ou pequenas inserções/deleções (Indels), no sítio de pareamento do primer, gerando presença ou ausência de fragmentos amplificados. Assim, os RAPDs são marcadores dominantes e, em função da sua simplicidade técnica, esse tipo de marcador foi amplamente utilizado em análises genéticas de plantas, incluindo o sorgo. No entanto, a técnica apresenta ocasionalmente baixa repetibilidade, tendo sido substituída por técnicas mais robustas, o que foi possível graças ao avanço no conhecimento sobre as sequências genômicas.

Os microssatélites ou SSR (*Simple Sequence Repeats*), Sequências Simples Repetidas, são sequências repetidas em tandem, de 1 a 4 nucleotídeos, distribuídas em genomas de eucariotos, incluindo as plantas (Litt; Luty, 1989). Os pares de primers SSR são complementares às regiões conservadas que flanqueiam os microssatélites, e os polimorfismos são obtidos em função da diferença no número dos elementos simples repetidos. Os microssatélites são marcadores codominantes, permitindo identificar

homozigotos e heterozigotos, e multialélicos, possuindo um elevado conteúdo de informação genética por loco. Como a metodologia é baseada em PCR, o marcador SSR é tecnicamente simples, mas requer o desenho de pares de primers específicos para as regiões flanqueando os microssatélites.

O AFLP (*Amplified Fragment Length Polymorphisms*, Polimorfismo de Comprimento de Fragmento Amplificado) é um tipo de marcador que alia a especificidade dos sítios de restrição com a praticidade da técnica do PCR, sendo muito utilizado no mapeamento genético (Vos et al., 1995). A técnica baseia-se na clivagem simultânea do DNA genômico com duas enzimas de restrição e ligação de adaptadores específicos, com um dos terminais com sequência complementar às extremidades coesivas dos sítios de restrição e outro aos sítios de ligação dos primers, que serão utilizados nas etapas de PCR. Assim, a combinação de enzimas de restrições com sequências aleatórias de primers oferece uma infinidade de possibilidades para a geração de polimorfismos em diversas espécies.

Em sorgo, todos esses marcadores baseados em PCR foram utilizados para gerar mapas genéticos saturados (Hausmann et al., 2002; Menz et al., 2002; Bowers et al., 2003; Feltus et al., 2006), que são valiosas ferramentas para a busca por genes de interesse. Mace et al. (2009) construíram um mapa de ligação consenso utilizando marcadores DArTs (*Diversity Arrays Technology*), enquanto um dos mapas mais saturados de sorgo é composto por 2.246 fragmentos amplificados loco-específicos em todos os 10 cromossomos (Ji et al., 2017).

Outras Ferramentas Biotecnológicas

Mapas Físicos

A distância genética não está diretamente associada com a distância física, sendo altamente variável entre espécies e ao longo do cromossomo. Mapas físicos são obtidos por meio do alinhamento de grandes fragmentos cromossômicos, que variam de 150 a 300 Kb, e são mantidos em bibliotecas de cromossomos artificiais de bactérias (BAC, *Bacterial Artificial Chromosome*), de fagos (*P1 Artificial Chromosome*) e leveduras (YAC, *Yeast Artificial Chromosome*). As bibliotecas de BACs são genotipadas com marcadores moleculares para viabilizar o alinhamento dos contigs e integração aos mapas genéticos. Mapas físicos de sorgo estão disponíveis (Klein et al., 2000; Bowers et al., 2005) e são ferramentas potentes na

clonagem de genes baseada em mapa, como foi o caso da clonagem do gene que confere tolerância ao alumínio em sorgo, o *SbMATE* (Magalhães et al., 2007).

Estudos de Expressão Gênica em Escala Genômica

Estudos de expressão gênica foram iniciados com bancos de etiquetas de sequências expressas (ESTs, *Expressed Sequenced Tags*). Um exemplo foi a obtenção de mais de 16.000 ESTs de sorgo submetidos a estresses por seca e por patógenos (Pratt et al., 2005). Bancos de dados públicos reúnem informações sobre ESTs de várias espécies como o NCBI (www.ncbi.nlm.nih.gov), bem como outras plataformas que agregam informações sobre genes expressos como o Gene Expression Omnibus (www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/info/overview.html).

Os microarranjos de cDNA (DNA complementar) foram as primeiras tecnologias para a análise global de expressão de genes, onde oligonucleotídeos representando genes únicos eram impressos em lâminas de vidro e hibridizados com amostras de RNA tratados sob diferentes condições e marcados com fluorescências distintas. Microarranjos contendo em torno de 13.000 genes únicos foram utilizados para avaliar o padrão de expressão gênica de sorgo quanto às respostas aos estresses salino, osmótico e de ácido abscísico (Buchanan et al., 2005). O primeiro chip de genes comercial para o sorgo foi delineado pela Affymetrix, contendo mais de 1 milhão de sondas representando éxons, genes nucleares, cloroplastídicos e mitocondriais, além de pequenos RNAs, microRNAs e RNAs não codificadores (GeneChip® SorghWTa520972F, www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/query/acc.cgi?acc=GPL17576). Shakoor et al. (2014) utilizaram esse chip para avaliar o perfil de expressão gênica em quatro tecidos vegetativos de seis genótipos diversos de sorgo granífero, sacarino e para bioenergia. A empresa Agilent Technologies UK Ltd. desenvolveu o chip incluindo 28.585 sondas, que são fragmentos de 60 nucleotídeos, em um formato de eArray 4X44K (earray.chem.agilent.com/earray/). Esse chip de genes foi utilizado para investigar a resposta transcricional de sorgo submetido a estresses de calor e de seca impostos individualmente e em combinação (Johnson et al., 2014). Outro chip, também desenvolvido pela Agilent e representando 35.577 regiões codificadoras anotadas no genoma do sorgo, foi utilizado para avaliar a expressão diferencial de genes entre as linhagens de sorgo granífero BTx623 e sacarino Keller (Jiang et al., 2013).

Com a redução significativa dos custos do sequenciamento em larga escala, os estudos de expressão gênica em escala genômica foram viabilizados pelo sequenciamento direto do RNA (RNA-seq), permitindo quantificar as moléculas de RNA presentes em um determinado tecido, sob uma determinada condição. Plataformas de bioinformática e programas específicos processam esses dados e geram informações sobre genes diferencialmente expressos, além de ser uma ferramenta para identificar polimorfismos nesses genes entre genótipos contrastantes. A técnica de RNA-seq foi utilizada para elucidar a base molecular da resposta de genótipos de sorgo contrastantes quanto à tolerância ao frio, permitindo identificar genes diferencialmente expressos sob diferentes temperaturas e polimorfismos do tipo SNP entre esses genótipos (Chopra et al., 2015). Análises transcriptômicas têm sido realizadas por meio de RNA-seq em vários genótipos de sorgo e sob diferentes condições.

Populações Segregantes e Painéis de Diversidade

As populações segregantes utilizadas para o mapeamento de QTLs em sorgo são, em geral, biparentais, isto é, derivadas do cruzamento entre duas linhagens, preferencialmente contrastantes para a característica de interesse. As populações de mapeamento mais comumente empregadas são compostas por progênies F_2 , linhagens endogâmicas recombinantes (RILs, *Recombinant Inbred Lines*) ou de retrocruzamentos. Algumas populações de mapeamento de sorgo foram construídas a partir de cruzamentos entre diferentes espécies de sorgo para aumentar a detecção de locos polimórficos, como *Sorghum bicolor* x *S. propinquum* (Kong et al., 2013).

Várias populações de mapeamento de sorgo foram utilizadas para a confecção de mapas genéticos e para o mapeamento de características quantitativas e qualitativas. Por exemplo, um mapa genético contendo aproximadamente 3.000 marcadores AFLPs, RFLPs e SSRs foi construído por Menz et al. (2002) utilizando uma população de linhagens endogâmicas recombinantes (RILs) derivadas do cruzamento entre as linhagens BTx623 x IS3620C. Utilizando marcadores AFLP, Klein et al. (2000) integraram os mapas físicos e genéticos de sorgo, localizando *contigs* de BACs no mapa genético. Antecedendo o sequenciamento completo do genoma do sorgo (Paterson et al., 2009), esse recurso foi utilizado para o mapeamento genético do loco Alt_{SB} , que controla a tolerância ao alumínio tóxico em sorgo (Magalhães et al., 2004), e para a posterior clonagem do gene subjacente, *SbMATE* (Magalhães et al., 2007). Mace et al. (2009) construíram um mapa

consenso de referência de sorgo contendo marcadores DArTs, AFLPs e SSRs, a partir de seis mapas individuais, permitindo a integração com outros recursos genômicos.

Vários recursos genéticos úteis para as mais diversas aplicações foram gerados pela comunidade interessada na cultura do sorgo. Boyles et al. (2019) sumarizaram recursos genéticos e genômicos, incluindo painéis associativos altamente diversos adequados para estratégias de mapeamento associativo, populações para mapeamento associativo aninhado (NAM, *Nested Association Mapping*, Yu et al., 2008), painéis gerados por retrocruzamento (*backcrossed*-NAM, BC-NAM), populações biparentais, e populações mutagenizadas (TILLING populations). Populações multiparentais menos convencionais como *Multi-Parent Advanced Generation Intercross* (MAGIC) (Ongon; Ejeta, 2018), bem como populações de recombinação ao acaso parcialmente endogâmicas (Bernardino et al., 2020), foram também geradas e são úteis para a identificação de QTLs e de genes relacionados com várias características importantes para a cultura do sorgo.

Métodos de Mapeamento de QTLs

O termo *Quantitative Trait Loci* (QTLs) é utilizado para denominar locos que controlam características quantitativas, que apresentam um padrão contínuo de variação fenotípica. Os métodos estatísticos disponíveis para o mapeamento de QTLs fornecem informações sobre a arquitetura genética de uma da característica, como o número de locos subjacentes, suas localizações cromossômicas e o modo de ação gênica (aditividade, dominância e epistasia). Outros modelos, ainda mais complexos, podem ser definidos para fins específicos, como o estudo simultâneo de múltiplas características em múltiplos ambientes.

Os métodos de mapeamento de QTLs podem ser apresentados seguindo uma ordem cronológica: mapeamento por intervalo simples, por intervalo composto e por múltiplos intervalos. No método de mapeamento por intervalo simples (Lander; Botstein, 1989), cada posição no genoma, definida por um marcador, é testada individualmente por um modelo de regressão simples. No mapeamento por intervalo composto (Zeng, 1994), são incluídos cofatores no modelo de regressão múltipla. Nesse caso, os cofatores são marcadores com efeitos significativos na característica de interesse e selecionados por meio de métodos estatísticos de regressão linear. No mapeamento por múltiplos intervalos (Kao et al., 1999), a busca

por múltiplos QTLs também é realizada a partir de um modelo de regressão múltipla com cofatores em cada posição no genoma a ser testada, porém, nesse método, os cofatores são QTLs mapeados em etapas anteriores do procedimento de busca por QTLs.

Um compêndio de QTLs identificados em sorgo desde 1995, incluindo também arroz e milho, foi publicado por Mace et al. (2019) com o intuito de facilitar a identificação de genes candidatos conservados entre as três espécies de gramíneas dentro da perspectiva de genômica comparativa (aussorgm.org.au/sorghum-qlt-atlas/). Por sua vez, a localização de genes de efeito maior em sorgo obtida ao longo de vários anos por diferentes grupos de pesquisa foi integrada ao mapa genético de sorgo por Mace e Jordan (2010). Dois importantes recursos para o melhoramento de sorgo em um contexto genômico é a base de dados de SNPs, SorgGSD (sorgsd.big.ac.cn/), bem como a sequência completa do genoma do sorgo (phytozome.jgi.doe.gov/pz/portal.html#!info?alias=Org_Sbicolor), também disponível na base de dados PlantGDB (www.plantgdb.org/SbGDB/cgi-bin/search.pl). Várias ferramentas úteis incluindo recursos para análises filogenéticas e de similaridade entre sequências, além de mapas comparativos, podem ser acessadas em www.gramene.org.

Melhoramento Assistido por Marcadores

A identificação de regiões genômicas associadas a diferentes características de interesse é um passo importante para o melhoramento assistido visando ao desenvolvimento de cultivares superiores. Marcadores moleculares flanqueando a região do QTL podem ser utilizados para a introgressão dos alelos favoráveis em genótipos-elites, via sucessivos retrocruzamentos assistidos por marcadores. No entanto, esses marcadores estão limitados à existência de polimorfismos entre o genótipo doador e os parentais recorrentes. Por outro lado, a identificação dos genes controlando tais características possibilitará o desenvolvimento de marcadores funcionais, associados aos polimorfismos presentes dentro dos genes e relacionados aos alelos de interesse. Porém, antes da aplicação direta na seleção de materiais superiores, esses marcadores funcionais devem ser validados em diferentes *backgrounds* genéticos. Vale ressaltar que os avanços nas técnicas de sequenciamento e de genotipagem irão contribuir cada vez mais para a identificação de genes e de marcadores funcionais com grande potencial de utilização na seleção assistida.

Apesar dos relatos de sucesso na aplicação da seleção assistida por marcadores moleculares (MAS, *Marker-Assisted Selection*) para características monogênicas ou controladas por poucos genes ou QTLs de grande efeito, poucos exemplos estão disponíveis para características de herança quantitativa. Em geral, essas características são controladas por vários genes ou QTLs de efeitos pequenos, o que reduz a eficiência da estratégia de retrocruzamento assistido por marcadores (MABC, *Marker-Assisted Backcrosses*), uma vez que a piramidação de alelos favoráveis para um grande número de QTLs requer populações de retrocruzamento com um elevado número de indivíduos (Xu et al., 2012). No entanto, a redução dos custos para a obtenção de grande densidade de marcadores moleculares distribuídos ao longo do genoma, associada ao desenvolvimento de métodos estatísticos e recursos computacionais para o processamento de grande volume de dados, tem estimulado a aplicação da seleção genômica ampla (GWAS, *Genome Wide Selection*) (Meuwissen et al., 2001) em programas de melhoramento assistido para características quantitativas.

A partir de um modelo genético-estatístico que incorpora simultaneamente as informações de um grande número de marcadores moleculares, a seleção genômica permite determinar os valores genéticos (*Breeding Values*) dos indivíduos candidatos à seleção, levando em conta dados fenotípicos e genotípicos disponíveis para uma população de treinamento (Lorenz, 2013). Por utilizar um maior número de marcadores distribuídos ao longo do genoma, esta abordagem permite considerar, simultaneamente, os efeitos de um grande número de genes, ou regiões cromossômicas, garantindo que grande parte da variância genética seja contabilizada e utilizada para aumentar a acurácia na predição dos valores genéticos de indivíduos presentes nas populações de seleção.

Referências

BERNARDINO, K. C.; MENEZES, C. B.; SOUSA, S. M.; GUIMARÃES, C. T.; CARNEIRO, P. C. S.; SCHAFFERT, R. E.; KOCHIAN, L. V.; HUFNAGEL, B.; PASTINA, M. M.; MAGALHÃES, J. V. Association mapping and genomic selection for sorghum adaptation to tropical soils of Brazil in a sorghum multiparental random mating population. **Theoretical and Applied Genetics**, 2020.

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**, v. 32, p. 314-331, 1980.

BOWERS, J. E.; ABBEY, C.; ANDERSON, S.; CHANG, C.; DRAYE, X.; HOPPE, A. H.; JESSUP, R.; LEMKE, C.; LENNINGTON, J.; LI, Z.; LIN, Y.-R.; LIU, S.-C.; LUO, L.; MARLER, B. S.; MING, R.; MITCHELL, S. E.; QUIANG, D.; REISCHMANN, K.; SCHULZE, S. R.; SKINNER, D. N.; WANG, Y.-W.; KRESOVICH, S.; SCHERTZ, K. F.; PATERSON, A. H. A high-density genetic recombination map of sequence-tagged sites for sorghum, as a framework for comparative structural and evolutionary genomics of tropical grains and grasses. **Genetics**, v. 165, p. 367-386, 2003.

BOWERS, J. E.; ARIAS, M. A.; ASHER, R.; AVISE, J. A.; BALL, R. T.; BREWER, G. A.; BUSS, R. W.; CHEN, A. H.; EDWARDS, T. M.; ESTILL, J. C.; EXUM, H. E.; GOFF, V. H.; HERRICK, K. L.; STEELE, C. L. J.; KARUNAKARAN, S.; LAFAYETTE, G. K.; LEMKE, C.; MARLER, B. S.; MASTERS, S. L.; MCMILAN, J. M.; NELSON, L. K.; NEWSOME, G. A.; NWAKANMA, C. C.; ODEH, R. N.; PHELPS, C. A.; RARICK, E. A.; ROGERS, C. J.; RYAN, S. P.; SLAUGHTER, K. A.; SODERLUND, C. A.; TANG, H.; WING, R. A.; PATERSON, A. H. Comparative physical mapping links conservation of microsynteny to chromosome structure and recombination in grasses. **Proceedings of the National Academy of Science United States of America**, v. 102, n. 37, p. 13206-13211, 2005.

BOYLES, R. E.; BRENTON, Z. W.; KRESOVICH, S. Genetic and genomic resources of sorghum to connect genotype with phenotype in contrasting environments. **The Plant Journal**, v. 97, n. 1, p. 19-39, 2019.

BUCHANAN, C. D.; LIM, S.; SALZMAN, R. A.; KAGIAMPAKIS, I.; MORISHIGE, D. T.; WEERS, B. D.; KLEIN, R. R.; PRATT, L. H.; CORDONNIER-PRATT, M. M.; KLEIN, P. E.; MULLET, J. E. *Sorghum bicolor*'s transcriptome response to dehydration, high salinity and ABA. **Plant Molecular Biology**, v. 58, n. 5, p. 699-720, 2005.

CHITTENDEN, L. M.; SCHERTZ, K. F.; LIN, Y. R.; WING, R. A.; PATERSON, A. H. A detailed RFLP map of *Sorghum bicolor* x *S. propinquum*, suitable for high-density mapping, suggests ancestral duplication of Sorghum chromosomes or chromosomal segments. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 87, n. 8, p. 925-933, 1994.

CHOPRA, R.; BUROW, G.; HAYES, C.; EMENDACK, Y.; XIN, Z.; BURKE, J. Transcriptome profiling and validation of gene based single nucleotide polymorphisms (SNPs) in sorghum genotypes with contrasting responses to cold stress. **BMC Genomics**, v. 16, n. 1040, 2015.

FELTUS, F. A.; HART, G. E.; SCHERTZ, K. F.; CASA, A. M.; KRESOVICH, S.; ABRAHAM, S.; KLEIN, P. E.; BROWN, P. J.; PATERSON, A. H. Alignment of genetic maps and QTLs between inter- and intra-specific sorghum populations. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 112, n. 7, p. 1295-1305, 2006.

HAUSSMANN, B.; HESS, D.; SEETHARAMA, N.; WELZ, H.; GEIGER, H. Construction of a combined sorghum linkage map from two recombinant inbred populations using AFLP, SSR, RFLP, and RAPD markers, and comparison with other sorghum maps. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 105, p. 629-637, 2002.

JI, G.; ZHANG, Q.; DU, R.; LV, P.; MA, X.; FAN, S.; LI, S.; HOU, S.; HAN, Y.; LIU, G. Construction of a high-density genetic map using specific-locus amplified fragments in sorghum. **BMC Genomics**, v. 18, article 51, 2017.

JIANG, S. Y.; MA, Z.; VANITHA, J.; RAMACHANDRAN, S. Genetic variation and expression diversity between grain and sweet sorghum lines. **BMC Genomics**, v. 14, article 18, 2013.

JOHNSON, S. M.; LIM, F.-L.; FINKLER, A.; FROMM, H.; SLABAS, A. R.; KNIGHT, M. R. Transcriptomic analysis of *Sorghum bicolor* responding to combined heat and drought stress. **BMC Genomics**, v. 15, article 456, 2014.

KAO, C.-H.; ZENG, Z.-B.; TEASDALE, R. D. Multiple interval mapping for quantitative trait loci. **Genetics**, v. 152, n. 3, p. 1203-1216, 1999.

KLEIN, P. E.; KLEIN, R. R.; CARTINHOOR, S. W.; ULANCH, P. E.; DONG, J.; OBERT, J. A.; MORISHIGE, D. T.; SCHLUETER, S. D.; CHILDS, K. L.; ALE, M.; MULLET, J. E. A high-throughput AFLP-based method for constructing integrated genetic and physical maps: progress toward a sorghum genome map. **Genome Research**, v. 10, n. 6, p. 789-807, 2000.

KONG, W.; JIN, H.; FRANKS, C. D.; KIM, C.; BANDOPADHYAY, R.; RANA, M. K.; AUCKLAND, S. A.; GOFF, V. H.; RAINVILLE, L. K.; BUROW, G. B.; WOODFIN, C.; BURKE, J. J.; PATERSON, A. H. Genetic analysis of recombinant inbred lines for *Sorghum bicolor* x *Sorghum propinquum*. **G3 - Genes, Genomes, Genetics**, v. 3, n. 1, p. 101-108, 2013.

LANDER, E. S.; BOTSTEIN, D. Mapping mendelian factors underlying quantitative traits using RFLP linkage maps. **Genetics**, v. 121, n. 1, p. 185-199, 1989.

LITT, M.; LUTY, J. A. A hypervariable microsatellite revealed by in vitro amplification of a dinucleotide repeat within the cardiac muscle actin gene. **American Journal of Human Genetics**, v. 44, n. 3, p. 398-401, 1989.

LORENZ, A. J. Resource allocation for maximizing prediction accuracy and genetic gain of genomic selection in plant breeding: a simulation experiment. **G3 - Genes, Genomes, Genetics**, v. 3, n. 3, p. 481-491, 2013.

MACE, E. S.; RAMI, J. F.; BOUCHET, S.; KLEIN, P. E.; KLEIN, R. R.; KILIAN, A.; WENZL, P.; XIA, L.; HALLORAN, K.; JORDAN, D. R. A consensus genetic map of sorghum that integrates multiple component maps and high-throughput Diversity Array Technology (DArT) markers. **BMC Plant Biology**, v. 9, article 13, 2009.

MACE, E. S.; JORDAN, D. R. Location of major effect genes in sorghum (*Sorghum bicolor* (L.) Moench). **Theoretical and Applied Genetics**, v. 121, n. 7, p. 1339-1356, 2010.

MACE, E. S.; INNES, D.; HUNT, C.; WANG, X.; TAO, Y.; BAXTER, J.; HASSALL, M.; HATHORN A.; JORDAN, D. R. The Sorghum QTL Atlas: a powerful tool for trait dissection, comparative genomics and crop improvement. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 132, p. 751-766, 2019.

MAGALHÃES, J. V.; GARVIN, D. F.; WANG, Y.; SORRELLS, M. E.; KLEIN, P. E.; SCHAFFERT, R. E.; LI, L.; KOCHIAN, L. V. Comparative mapping of a major aluminum tolerance gene in sorghum and other species in the Poaceae. **Genetics**, v. 167, n. 4, p. 1905-1914, 2004.

MAGALHÃES, J. V.; LIU, J.; GUIMARÃES, C. T.; LANA, U. G. P.; ALVES, V. M. C.; WANG, Y-H.; SCHAFFERT, R. E.; HOEKENGA, O. A.; PIÑEROS, M. A.; SHAFF, J. E.; KLEIN, P. E.; CARNEIRO, N. P.; COELHO, C. M.; TRICK, H. N.; KOCHIAN, L. V. A gene in the multidrug and toxic compound extrusion (MATE) family confers aluminum tolerance in sorghum. **Nature Genetics**, v. 39, p. 1156-1161, 2007.

MENZ, M. A.; KLEIN, R. R.; MULLET, J. E.; OBERT, J. A.; UNRUH, N. C.; KLEIN, P. E. A high-density genetic map of *Sorghum bicolor* (L.) Moench based on 2926 AFLP, RFLP and SSR markers. **Plant Molecular Biology**, v. 48, p. 483-499, 2002.

MEUWISSEN, T. H. E.; HAYES, B. J.; GODDARD, M. E. Prediction of total genetic value using genome-wide dense marker maps. **Genetics**, v. 157, n. 4, p. 1819-1829, 2001.

ONGON, P. O.; EJETA, G. Mating design and genetic structure of a multi-parent advanced generation intercross (MAGIC) population of sorghum (*Sorghum bicolor* (L.) Moench). **G3: Genes, Genomes, Genetics**, v. 8, n. 1, p. 331-341, 2018.

PATERSON, A. H.; BOWERS, J. E.; BRUGGMANN, R. M.; 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.-U.; WARE, D.; WESTHOFF, P.; MAYER, K. F. X.; MESSING, J.; ROKHSAR, D. The *Sorghum bicolor* genome and the diversification of grasses. **Nature**, v. 457, p. 551-556, 2009.

PEREIRA, M. G.; LEE, M.; BRAMEL-COX, P.; WOODMAN, W.; DOEBLEY, J.; WHITKUS, R. Construction of an RFLP map in sorghum and comparative mapping in maize. **Genome**, v. 37, n. 2, p. 236-243, 1994.

PRATT, L. H.; LIANG, C.; SHAH, M.; SUN, F.; WANG, H.; REID, S. P.; GINGLE, A. R.; PATERSON, A. H.; WING, R.; DEAN, R.; KLEIN, R.; NGUYEN, H. T.; MA, H.-M.; ZHAO, X.; MORISHIGE, D. T.; MULLET, J. E.; CORDONNIER-PRATT, M. M. Sorghum expressed sequence tags identify signature genes for drought, pathogenesis, and skotomorphogenesis from a milestone set of 16,801 unique transcripts. **Plant Physiology**, v. 139, n. 2, p. 869-884, 2005.

SHAKOOR, N.; NAIR, R.; CRASTA, O.; MORRIS, G.; FELTUS, A.; KRESOVICH, S. A *Sorghum bicolor* expression atlas reveals dynamic genotype-specific expression profiles for vegetative tissues of grain, sweet and bioenergy sorghums. **BMC Plant Biology**, v. 14, article 35, 2014.

VOS, P.; HOGERS, R.; BLEEKER, M.; REIJANS, M.; LEE, T.; HORNES, M.; FRIJTERS, A.; POT, J.; PELEMAN, J.; KUIPER, M.; ZABEAU, M. AFLP: a new technique for DNA fingerprinting. **Nucleic Acids Research**, v. 23, n. 21, p. 4407-4414, 1995.

WELSH, J.; McCLELLAND, M. Fingerprinting genomes using PCR with arbitrary primers. **Nucleic Acids Research**, v. 18, n. 24, p. 7213-7218, 1990.

WHITKUS, R.; DOEBLEY, J.; LEE, M. Comparative genome mapping of sorghum and maize. **Genetics**, v. 132, n. 4, p. 1119-1130, 1992.

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

XU, G.-W.; MAGILL, C. W.; SCHERTZ, K. F.; HART, G. E. A RFLP linkage map of *Sorghum bicolor* (L.) Moench. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 89, p. 139-145, 1994.

XU, Y.; LU, Y.; XIE, C.; GAO, S.; WAN, J.; PRASANNA, B. M. Whole-genome strategies for marker-assisted plant breeding. **Molecular Breeding**, v. 29, p. 833-854, 2012.

YU, J.; HOLLAND, J. B.; MCMULLEN, M. D.; BUCKLER, E. S. Genetic design and statistical power of nested association mapping in maize. **Genetics**, v. 178, n. 1, p. 539-551, 2008.

ZENG, Z.-B. Precision mapping of quantitative trait loci. **Genetics**, v. 136, n. 4, p. 1457-1468, 1994.