

## RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo desta dissertação será disponibilizado somente a partir de 20/06/2018.

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – UNESP  
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**ANÁLISE DA ESTRUTURA GENÉTICA DO BANCO DE  
GERMOPLASMA DO PROGRAMA CANA - IAC POR MEIO  
DE MARCADORES MOLECULARES**

**João Ricardo Vieira Manechini**

Biólogo

2017

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – UNESP  
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**ANÁLISE DA ESTRUTURA GENÉTICA DO BANCO DE  
GERMOPLASMA DO PROGRAMA CANA - IAC POR MEIO  
DE MARCADORES MOLECULARES**

**João Ricardo Vieira Manechini  
Orientadora: Profa. Dra. Luciana Rossini Pinto  
Coorientador: Dr. Marcos Guimarães de Andrade Landell**

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp, Campus de Jaboticabal, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Agronomia (Genética e Melhoramento de Plantas).

**2017**

M274a      Manechini, João Ricardo Vieira  
Análise da estrutura genética do banco de germoplasma do  
Programa Cana - IAC por meio de marcadores moleculares /  
Manechini, João Ricardo Vieira. -- Jaboticabal, 2017  
x, 98 p. : il. ; 29 cm

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista,  
Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2017  
Orientadora: Luciana Rossini Pinto  
Banca examinadora: Dilermando Percin, Ana Lília Alzate Marin  
Bibliografia

1. *Saccharum* spp. 2. Banco de germoplasma. 3. Diversidade  
genética. 4. Microsatélites. 5. Coleção nuclear. I. Título. II.  
Jaboticabal-Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias.

CDU 631.52:633.61

Ficha catalográfica elaborada pela Seção Técnica de Aquisição e Tratamento da Informação –  
Diretoria Técnica de Biblioteca e Documentação - UNESP, Campus de Jaboticabal.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: ANÁLISE DA ESTRUTURA GENÉTICA DO BANCO DE GERMOPLASMA DO PROGRAMA CANA - IAC POR MEIO DE MARCADORES MOLECULARES

**AUTOR: JOÃO RICARDO VIEIRA MANECHINI**

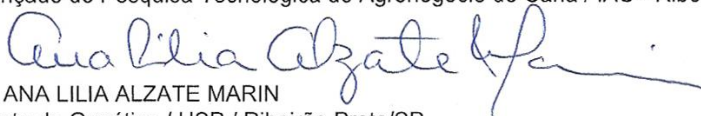
**ORIENTADORA: LUCIANA ROSSINI PINTO**

**COORIENTADOR: MARCOS GUIMARÃES DE ANDRADE LANDELL**

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de Mestre em AGRONOMIA (GENÉTICA E MELHORAMENTO DE PLANTAS), pela Comissão Examinadora:



Pesquisadora Dra. LUCIANA ROSSINI PINTO  
Centro Avançado de Pesquisa Tecnológica do Agronegócio de Cana / IAC - Ribeirão Preto/SP



Profa. Dra. ANA LILIA ALZATE MARIN  
Departamento de Genética / USP / Ribeirão Preto/SP



Prof. Dr. DILERMANDO PERECIN  
Departamento de Ciências Exatas / FCAV / UNESP - Jaboticabal

Jaboticabal, 20 de junho de 2017

## **DADOS CURRICULARES DO AUTOR**

**João Ricardo Vieira Manechini**, nascido em 25 de fevereiro de 1987 em Ribeirão Preto, SP, Brasil. Em 2011, ingressou no curso de Ciências Biológicas do Centro Universitário “Barão de Mauá”, em Ribeirão Preto. Em maio deste mesmo ano, iniciou estágio no Laboratório de Biologia Molecular do Centro de Cana do IAC, participando de projetos realizados pela Profa. Dra. Luciana Rossini Pinto (orientadora) e pelo Dr. Mauro Alexandre Xavier (coorientador), entre 2011 e 2012, sendo bolsista da Fundação de Apoio à Pesquisa Agrícola (FUNDAG), envolvido especialmente com a geração, organização e análise de dados biológicos de marcadores moleculares. Auxiliou vários projetos de alunos de mestrado e doutorado até 2014, quando recebeu o título de Bacharel em Ciências Biológicas. Neste mesmo ano, ingressou no curso de Mestrado do programa de Genética e Melhoramento de Plantas, do Departamento de Agronomia da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal, também sob orientação da Profa. Dra. Luciana Rossini Pinto e coorientação do Dr. Marcos Guimarães de Andrade Landell, como bolsista CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior).

“Um livro é feito de uma árvore. É um conjunto de partes planas e flexíveis (ainda chamadas de "folhas") impressas com rabiscos escuros pigmentados. Um olhar para ele e você ouve a voz de outra pessoa, talvez alguém morto há milhares de anos. Através dos milênios, o autor está falando, clara e silenciosamente, dentro de sua cabeça, diretamente a você. Escrever é talvez a maior das invenções humanas, unindo pessoas, cidadãos de épocas distantes, que nunca se conheceram. Livros quebram os grilhões do tempo - prova de que os seres humanos podem fazer magia.”

*Carl Sagan*

**Dedico** aos meus pais Celio e Ana Maria e ao meu irmão João Paulo por serem meus exemplos máximos de amor, honestidade, respeito e bondade.

**Ofereço** à minha namorada Fernanda por todo amor, compreensão e disposição em me ajudar nas decisões e nos momentos difíceis.



## AGRADECIMENTOS

Agradeço a **Deus** por todas as coisas.

Aos meus pais **Celio** e **Ana Maria** por tudo aquilo que fizeram (e ainda fazem) por mim, especialmente pela compreensão e entusiasmo a cada nova etapa da minha vida, me incentivando a perseguir meus sonhos ainda que estes pareçam intangíveis.

Ao meu irmão **João Paulo** pelo companheirismo, paciência e compreensão.

A toda a minha família e amigos próximos, em especial **Marco, Jane, Beto, Vera, Paulo, Roberto, Neide, Fernando, Marcelo, Mauri** e **Maria José** por serem pessoas tão amáveis e solícitas, estando sempre comigo, e a **Kita** e **Mauro** pelo bom humor e pela grande amizade sempre.

À minha namorada **Fernanda** por ser uma das melhores pessoas que conheço, e a toda a sua família, **Tida**, avó **Dirce, Guilherme, Brenda** e **Fernando** pela amizade e carinho.

Aos meus queridos professores do Centro Universitário “Barão de Mauá” por toda a base e conhecimento compartilhados conosco durante o curso, em especial para os professores **Marcelo Zini, Ana Rosa, Marcelo Mestriner, Patrícia, Monica, Lucila, Maria Helena, Liliane, Luiz Henrique, Odete, Lucimara, Luis Augusto “Pê”, Abbud, Daniel, Márcia** e **Gláucya**, e também aos meus queridos colegas da XXXVII turma de Ciências Biológicas, em especial **Cauê, Mario, Iuri, Lorena, Beatriz, Jéssica**, e tantos outros, por tornarem a jornada alegre e prazerosa.

Ao **Departamento de Genética e Melhoramento de Plantas** da **UNESP de Jaboticabal** pela oportunidade de cursar o mestrado.

Ao **Instituto Agrônomo de Campinas** pelas oportunidades de realizar meus estágios e minha pesquisa na pós-graduação.

À **Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior** pela concessão da bolsa de estudo.

À **Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo** (Projeto FAPESP 2013/22500-5) modalidade Auxílio Regular, pelo recurso financeiro para a realização da presente pesquisa.

À Profa. Dra. **Luciana Rossini Pinto** pela oportunidade de ser seu orientado, por toda a confiança, empenho, ensinamentos e conhecimentos compartilhados.

Ao Dr. **Mauro Alexandre Xavier** pelos conselhos, pela grande ajuda e por toda a confiança em mim depositada.

Ao Dr. **Marcos Guimarães de Andrade Landell** pela oportunidade de ser seu coorientado, por me proporcionar a oportunidade de integrar o quadro de estudantes do Centro de Cana do IAC, e por todo aprendizado e auxílio prestado.

À Dra. **Luciana Aparecida Carlini-Garcia** por toda a ajuda nas análises estatísticas do projeto.

A todos os amigos e colegas do Laboratório de Biologia Molecular do Centro de Cana do IAC pela amizade, auxílio e suporte, em especial **Thais, Maicon, Cibeli, Juliana, Maria Letícia, Maria Natália, Izadora, Marcel, Bruna, Fernanda, Alexandre, Larissa, Dr. Michael, Dra. Paula, Dra. Silvana, Roberto, Natália e Luis.**

Aos muitos profissionais do Centro de Cana do IAC que de alguma forma me auxiliaram neste trabalho, em especial ao **Daniel Nunes e Márcio Bidoia** pelo auxílio com a definição dos clones e cultivares deste estudo e ao **Jeremias Mendonça** pelo conhecimento compartilhado.

Aos meus irmãos musicais **Rômulo, André, Rodrigo, Raphael Guzzardi** (*in memoriam*), **Vitor, Júlio, Carol, Lucas, Gabriel, Eduardo e Leo** pelo auxílio na manutenção da minha saúde mental e emocional através da música.

E a todos aqueles que participaram de alguma forma na realização deste estudo.

Muito obrigado!

## SUMÁRIO

	Página
RESUMO .....	iii
ABSTRACT .....	iv
CAPÍTULO 1 – Considerações gerais .....	1
Introdução .....	1
Revisão de Literatura .....	3
Canavicultura .....	3
Classificação botânica da Cana-de-açúcar .....	4
Histórico do início do melhoramento genético da cana-de-açúcar .....	5
Recursos Genéticos e Bancos de Germoplasma de Cana-de-açúcar .....	8
Marcadores moleculares e avaliação da variabilidade genética em cana-de-açúcar .....	11
Avaliação da variabilidade genética em cana-de-açúcar por SSR .....	14
Referências Bibliográficas .....	16
CAPÍTULO 2 – Análise da estrutura genética do banco de germoplasma do Programa Cana - IAC por meio de marcadores moleculares .....	21
Introdução .....	21
Materiais e Métodos .....	23
Material Vegetal .....	23
Extração de DNA e amplificação por PCR .....	23
Compilação da Matriz de Genotipagem .....	25
Análise da eficiência dos SSR .....	25
Análise de Estrutura Genética .....	27
Análise filogenética e de dissimilaridade .....	27
Obtenção da coleção nuclear .....	27
Resultados .....	28
Eficiência do conjunto de iniciadores SSR .....	28
Alelos exclusivos e distribuição da frequência alélica .....	29
Estrutura genética .....	30
Dissimilaridade e análise filogenética .....	34
Coleção nuclear .....	35
Discussão .....	43
Eficiência dos marcadores microssatélites .....	43
Distribuição da frequência alélica e alelos exclusivos entre grupos .....	43
Estruturação, dissimilaridades e análise filogenética .....	44
Construção da Coleção Nuclear .....	45
Referências Bibliográficas .....	46
CAPÍTULO 3 – Investigando a Estrutura Genética das Cultivares Comerciais Brasileiras de Cana-de-Açúcar Através de Marcadores Microssatélites .....	52
Resumo .....	52

Introdução .....	53
Materiais e Métodos .....	57
Material vegetal .....	57
Extração de DNA e reações de PCR .....	57
Análises de dados .....	58
Análises de eficiência dos iniciadores SSR .....	59
Análise de diversidade e estrutura genética .....	60
Análise filogenética e de dissimilaridade .....	60
Resultados .....	61
Análise da eficiência dos iniciadores SSR .....	61
Distribuição da frequência alélica e alelos exclusivos .....	62
Análise de estrutura e diferenciação genética .....	63
Tabela 3: Análise de variância molecular (AMOVA) para grupos predefinidos .....	64
Análise filogenética e de dissimilaridade .....	65
Tabela 4: Dissimilaridades entre grupos predefinidos de acordo com a função “Extreme Values” do software DARwin. ....	65
Discussão .....	66
Eficiência do conjunto de iniciadores SSR para gerenciamento de germoplasma de cana-de-açúcar e identificação de cultivares .....	66
Estrutura genética das cultivares comerciais brasileiras .....	67
Análise de agrupamento e de dissimilaridade genética .....	68
Referências Bibliográficas .....	71
Figuras e Material suplementar .....	78
APÊNDICE .....	88

## ANÁLISE DA ESTRUTURA GENÉTICA DO BANCO DE GERMOPLASMA DO PROGRAMA CANA - IAC POR MEIO DE MARCADORES MOLECULARES

**RESUMO** – A cana-de-açúcar figura mundialmente como uma importante cultura econômica, com grande participação no suprimento da demanda global por energia e açúcar. Bancos ativos de germoplasma são repositórios *in vivo* de variabilidade genética para os programas de melhoramento, estando diretamente relacionados ao sucesso do programa. Para uma gestão adequada e eficiente do banco é necessário conhecer a magnitude e distribuição da variabilidade genética dentro e entre os grupos de acessos das respectivas espécies que o compõe bem como identificar os acessos duplicados ou erroneamente identificados. Marcadores moleculares microssatélites são adequados para tal finalidade. O presente trabalho teve como objetivo principal avaliar a estrutura genética de um grupo de 593 genótipos, constituído por germoplasma básico e melhorado, disponíveis no banco de germoplasma do Programa Cana – IAC. Além disso, a magnitude da diferenciação genética entre as principais cultivares brasileiras e o germoplasma básico de cana-de-açúcar também foi investigada. Para tanto, 12 pares de primers SSR de alto poder discriminatório foram utilizados. A análise da estrutura genética separou os genótipos em dois grupos principais, um constituído por germoplasma básico e o outro por genótipos melhorados. A partição da variabilidade genética mostrou que 14,44% ( $P < 0,001$ ) da variabilidade total detectada pelos marcadores encontra-se entre estes dois grupos. Resultados semelhantes foram observados entre as principais cultivares brasileiras e o germoplasma básico, sendo que 17,91% ( $P < 0,001$ ) da variabilidade presente encontra-se entre esses dois grupos. A análise filogenética agrupou os genótipos conforme suas genealogias, mantendo os materiais melhorados próximos aos acessos de *Saccharum officinarum*, confirmando relacionamento genético mais estreito. Os acessos de *S. spontaneum* apresentaram maior dissimilaridade com os materiais melhorados do que a espécie anterior. O estudo também permitiu estabelecer uma coleção nuclear com 156 genótipos (aproximadamente 30% do total) que apresentam diversidade genética equivalente a presente no grupo original. As informações obtidas poderão ser aplicadas tanto na gestão do banco, direcionando a importação de novos acessos, como também em futuros programas de hibridação para cana convencional ou cana bioenergia.

**Palavras-chave:** *Saccharum* spp., banco de germoplasma, diversidade genética, microssatélites, SSR, coleção nuclear.

## GENETIC STRUCTURE ANALYSIS OF IAC SUGARCANE GERMPLASM BANK BY MOLECULAR MARKERS

**ABSTRACT** – Sugarcane is a crop with worldwide economic importance due to its large participation in supplying the global demand for energy and sugar. Active germplasm banks are *in vivo* repositories of genetic variability for breeding programs, being directly related to their success. For its adequate management, a constant routine of surveillance and control over the accessions is required. Microsatellite (SSRs) molecular markers are suitable for this purpose. The present work aims to evaluate the genetic structure of a group of 593 individuals, composed by basic germplasm accessions and breeding genotypes, available within the germplasm bank of the Campinas Agronomic Institute (IAC) Sugarcane Genetic Breeding Program, based on these markers, with a focus on the comparison between the genetic diversity of Brazilian clones and cultivars (IAC, CTC, SP and RB) with accessions of diverse species, genera and exotic hybrids. In addition, the magnitude of the genetic differentiation between the main Brazilian cultivars and the basic sugarcane germplasm was also investigated. For this purpose, 12 pairs of SSR primers with high discriminatory power were used. The genetic variability present in the group is structured in a way where breeding materials differ from wild accessions, constituting two groups of individuals. Genetic variability among them is 14.44%, while 85.56% is present within them ( $P < 0.001$ ). Similar results were observed between the main Brazilian cultivars and the basic germplasm, with 17.91% ( $P < 0.001$ ) of the present variability being found between these two groups. Phylogenetic analysis also grouped the individuals according to their genealogies, keeping the bred materials closer to the accessions of *Saccharum officinarum*, confirming a close genetic relationship. The accessions of *S. spontaneum* presented greater dissimilarity from bred materials than the previous species. The analysis of this molecular profile bank allowed the establishment of a core collection within the 593 individuals, comprising 153 genotypes (approximately 30% of the total) with equivalent representativeness of the genetic patrimony of the original group. The information obtained can be applied both in the management of the bank, directing the importation of new accessions, and in future hybridization programs for conventional or bioenergy cane.

**Keywords:** *Saccharum* spp., germplasm banks, genetic diversity, microsatellites, SSR, core collection.

# ANÁLISE DA ESTRUTURA GENÉTICA DO BANCO DE GERMOPLASMA DO PROGRAMA CANA - IAC POR MEIO DE MARCADORES MOLECULARES

## CAPÍTULO 1 – Considerações gerais

### Introdução

A cana-de-açúcar é atualmente uma importante fonte de energia renovável, responsável por suprir uma crescente demanda por combustível, obtido através do processamento da sacarose pela indústria sucroalcooleira (etanol), e também por energia elétrica, obtida pela cogeração com a queima de biomassa. Assim, a cultura figura como uma sólida alternativa ao uso de combustíveis fósseis. Também possui grande relevância na produção de alimentos, como açúcar, xaropes, e de fármacos, como o ácido glicólico.

O desenvolvimento de cultivares pelos programas de melhoramento genético tem impactado positivamente o setor sucroenergético pela liberação de cultivares mais produtivas, resistentes às principais doenças e pragas, tolerantes aos estresses abióticos e adaptadas às diferentes condições edafoclimáticas do país. Os bancos de germoplasma dos programas de melhoramento genético são fundamentais para o desenvolvimento de novos materiais. Cultivares de cana-de-açúcar com perfil bioenergético tem sido obtidas, principalmente, pelo cruzamento de acessos de *Saccharum spontaneum* (os quais se caracterizam por apresentarem elevados teores de fibra e biomassa) com cultivares comerciais. A quantificação da magnitude da variabilidade genética e sua distribuição entre e dentro dos grupos de acessos constituintes dos bancos de germoplasma são fundamentais para sua gestão adequada. Dentre os países que detém programas de melhoramento genético de cana-de-açúcar, o Brasil é o que lança o maior número de novas cultivares anualmente.

Muito se questiona a respeito do estreitamento da base genética da cana-de-açúcar, decorrente da seleção pelo melhoramento genético. O grau deste estreitamento denota um problema importante para o futuro da cultura, já há muito estudado. Entretanto, a real magnitude deste estreitamento para os materiais

melhorados ainda não é totalmente conhecida. Essa informação pode auxiliar o direcionamento de futuros programas de melhoramento, no sentido de incorporar recursos genéticos ainda não explorados e que poderiam se mostrar valiosos para a continuidade da cultura e do setor sucroalcooleiro. Gêneros e espécies selvagens ainda não são completamente explorados nesse sentido, e possuem grande potencial para a ampliação da base genética. Determinar novas fontes de variabilidade e de recursos genéticos de interesse agrônomo, e estabelecer coleções nucleares dentro dos bancos de germoplasma permite aperfeiçoar e maximizar a exploração de seus recursos genéticos pelos programas de melhoramento.

O Instituto Agrônomo, através do Programa de Melhoramento de Cana, tem concentrado esforços na organização de uma Coleção Pública de Germoplasma representativa do Complexo *Saccharum*. Para atingir tal finalidade, diversas ações já foram iniciadas, como a importação de acessos selvagens de *Saccharum* e outros gêneros de importância (como *Erianthus* e *Miscanthus*) das coleções de Miami (Canal Point, FL, EUA) e Meringa (Austrália). Esses acessos têm grande potencial se utilizados em programas de introgressão genética para o desenvolvimento de cultivares de cana para bioenergia.

Neste sentido, o trabalho aqui apresentado teve como objetivos: i. avaliar a estrutura genética de 593 genótipos (entre acessos das principais espécies de *Saccharum* e gêneros correlatos, cultivares e clones elite do Programa Cana-IAC) disponíveis no Banco de Germoplasma do Programa CANA do Instituto Agrônomo de Campinas (IAC), por meio de marcadores moleculares do tipo microssatélites; e ii. avaliar a variabilidade genética das cultivares comerciais mais plantadas no Brasil e contrastá-la com um grupo de acessos do germoplasma básico de cana-de-açúcar de ampla variabilidade genética.



## Referências Bibliográficas

- AITKEN, K. et al. Characterization of intergeneric hybrids of *Erianthus rockii* and *Saccharum* using molecular markers. **Genetic Resources and Crop Evolution**, v. 54, n. 7, p. 1395–1405, 2007.
- 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. **TAG. Theoretical and applied genetics. Theoretische und angewandte Genetik**, v. 110, n. 5, p. 789–801, mar. 2005.
- ANEEL. Fontes renováveis: Biomassa. In: **Atlas de energia elétrica do Brasil: Biomassa**. 1. ed. Brasil: ANEEL, 2011. p. 63–74.
- ARCENEUX, G. Cultivated Sugarcane of the World and their Botanical Derivation. **Proceedings ISSCT**, v. 12, p. 844–854, 1967.
- BERDING, N.; HOGARTH, M.; COX, M. Plant Improvement of Sugarcane. In: JAMES, G. (Ed.). **World Agriculture Series: Sugarcane**. 2. ed. Oxford, UK: Blackwell Publishing, 2004. p. 20–53.
- BERDING, N.; ROACH, B. T. Germplasm collection, maintenance and use. In: HEINZ, D. J. (Ed.). **Sugarcane Improvement through Breeding**. 1. ed. Amsterdam: Elsevier, 1998. v. 11p. 143–210.
- BREMER, G. On the somatic chromosome numbers of sugarcane forms of endogenous cane. **Proceedings ISSCT**, v. 4, n. 20, p. 1–3, 1932.
- BROWN, J. S. et al. Analysis of clonal germplasm from five *Saccharum* species: *S. barberi*, *S. robustum*, *S. officinarum*, *S. sinense* and *S. spontaneum*. A study of inter and intra species relationships using microsatellite markers. **Genetic Resources and Crop Evolution**, v. 54, n. 3, p. 627–648, 2007.
- BURNER, D. M.; PAN, Y.; WEBSTER, R. D. Genetic diversity of North American and Old World *Saccharum* assessed by RAPD analysis. **Genetic Resources and Crop Evolution**, v. 44, p. 235–240, 1997.
- CAI, Q. et al. Verification of the introgression of *Erianthus arundinaceus* germplasm into sugarcane.pdf. **Plant Breeding**, v. 124, p. 322–28, 2005.
- CHEN, P. et al. SSR marker-based analysis of genetic relatedness among sugarcane cultivars (*Saccharum* spp. hybrids) from breeding programs in China and other countries. **Sugar Tech**, v. 11, n. 4, p. 347–354, 2009.
- CONAB. Acompanhamento da Safra Brasileira - Cana-de-açúcar– Safra 2015/16, terceiro levantamento. p. 65, 2015.
- CORDEIRO, G. M.; PAN, Y. B.; HENRY, R. J. Sugarcane microsatellites for the assessment of genetic diversity in sugarcane germplasm. **Plant Science**, v. 165, n. 1, p. 181–189, 2003.

- COSTA, M. L. M. DA et al. Assessment of Genetic Diversity in Contrasting Sugarcane Varieties Using Inter-Simple Sequence Repeat (ISSR) Markers. **American Journal of Plant Sciences**, v. 2, p. 425–432, 2011.
- CROFT, B. J. et al. **Sugarcane Germplasm Conservation and Exchange**. 1. ed. Canberra, Australia: Australian Centre for International Agricultural Research, 1996.
- CROFT, B.; THOMPSON, N.; MAGAREY, R. Introduction to Sugarcane Quarantine: Instructions for staff of research organizations involved in sugarcane research. **BSES Limited Publication**, p. 35, out. 2011.
- D'HONT, A. et al. Determination of basic chromosome numbers in the genus *Saccharum* by physical mapping of ribosomal RNA genes. **Genome**, v. 41, n. 2, p. 221–225, 1998.
- DANIELS, J.; ROACH, B. T. Taxonomy and Evolution. In: HEINZ, D. J. (Ed.). **Sugarcane Improvement through Breeding**. 1. ed. Amsterdam: Elsevier, 1998. v. 11p. 7–84.
- DOS SANTOS, J. M. et al. Genetic diversity of the main progenitors of sugarcane from the RIDESA germplasm bank using SSR markers. **Industrial Crops and Products**, v. 40, n. 1, p. 145–150, 2012.
- FERREIRA, M. E.; GRATTAPAGLIA, D. **Introdução ao uso de marcadores moleculares em análise genética**. 3. ed. Brasília: EMBRAPA, 1998.
- FRISON, E. A.; PUTTER, C. A. J. (Eds.) FAO/IBPGR Technical Guidelines for the Safe Movement of Sugarcane Germplasm, Food and Agriculture Organization of the United Nations. Roma, 1993.
- FRANKHAM, R.; BALLOU, J. D.; BRISCOE, D. A. **Introduction to Conservation Genetics**. 1. ed. Cambridge, UK: Cambridge University Press, 2002.
- GASHAW, E. T.; MEKBIB, F.; AYANA, A. Genetic Diversity among Sugarcane Genotypes Based on Qualitative Traits. **Advances in Agriculture**, v. 2016, Article ID 8909506, p. 8, 2016.
- GRIVET, L. et al. A review of recent molecular genetics evidence for sugarcane evolution and domestication. **Ethnobotany Research & Applications**, v. 2, p. 9–17, 2004.
- HAMEED, U. et al. Use of simple sequence repeat markers for DNA fingerprinting and diversity analysis of sugarcane (*Saccharum* spp) cultivars resistant and susceptible to red rot. **Genetics and molecular research : GMR**, v. 11, n. 2, p. 1195–204, jan. 2012.
- HOANG, N. V. et al. Potential for Genetic Improvement of Sugarcane as a Source of Biomass for Biofuels. **Frontiers in Bioengineering and Biotechnology**, v. 3, November, p. 1–15, 2015.
- JAMES, G. **World Agriculture Series: Sugarcane**. 2. ed. Oxford, UK: Blackwell Publishing, 2004.

JANNOO, N. et al. Molecular investigation of the genetic base of sugarcane cultivars. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 99, n. 1–2, p. 171–184, 1999.

JARNE, P.; LAGODA, P. J. Microsatellites, from molecules to populations and back. **Trends in ecology & evolution**, v. 11, n. 10, p. 424–9, out. 1996.

JESWIET, J. Immunity and cross-fertilisation in the genus *Saccharum*. **Recueil des Travaux Botaniques Neerlandais**, v. 25A, p. 185–202, 1928.

JORDAN, D. R. et al. Loss of genetic diversity associated with selection for resistance to sorghum midge in Australian sorghum. **Euphytica**, v. 102, n. 1, p. 1–7, 1998.

KALIA, R. K. et al. Microsatellite markers: an overview of the recent progress in plants. **Euphytica**, v. 177, n. 3, p. 309–334, 9 nov. 2010.

LANDELL, M. G. A.; SILVA, M. A. As estratégias de seleção da cana em desenvolvimento no Brasil. **Visão Agrícola**, v. 1, p. 18–23, 2004.

LIU, X. et al. Phylogenetic Analysis of Different Ploidy *Saccharum spontaneum* Based on rDNA-ITS Sequences. **Plos One**, v. 11, n. 3. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0151524>, 2016.

MACCHERONI, W. et al. Development of a dependable microsatellite-based fingerprinting system for sugarcane. **Sugar Cane Intl**, v. 27, p. 8–13, 2009.

MACHADO, F. B. P. **Brasil, a doce terra - História do Setor**. Disponível em: <[https://www.agencia.cnptia.embrapa.br/Repositorio/historia\\_da\\_cana\\_000fhc62u4b02wyiv80efhb2attuk4ec.pdf](https://www.agencia.cnptia.embrapa.br/Repositorio/historia_da_cana_000fhc62u4b02wyiv80efhb2attuk4ec.pdf)>. Acesso em: 31 jan. 2017.

MAPA. **Descritores Mínimos de Cana de Açúcar**. 1. ed. Brasília, DF, Brasil: Diário Oficial da União, 1998.

MAPA. **Proteção de Cultivares no Brasil**. 1. ed. Brasília, DF, Brasil: Biblioteca Nacional de Agricultura, 2011.

MARCONI, T. G. et al. Functional markers for gene mapping and genetic diversity studies in sugarcane. **BMC Research Notes**, v. 4, n. 1, p. 264, jan. 2011.

MUKHERJEE, S. K. Origin and Distribution of *Saccharum*. **Botanical Gazette**, v. 119, n. 1, p. 55–61, 1957.

MUTSAERS, H. **Peasants, Farmers and Scientists**. 1. ed. Dordrecht: Springer Netherlands, 2007.

NAYAK, S. N. et al. Promoting utilization of *Saccharum* spp. genetic resources through genetic diversity analysis and core collection construction. **PloS one**, v. 9, n. 10. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0110856>, jan. 2014.

NOVACANA. **Os processos para obtenção do etanol celulósico**. Disponível em: <<https://www.novacana.com/estudos/os-processos-para-obtencao-do-etanol-celulosico-241013/>>. Acesso em: 31 jan. 2017.

- OLIVEIRA, K. M. et al. Functional integrated genetic linkage map based on EST-markers for a sugarcane (*Saccharum* spp.) commercial cross. **Molecular Breeding**, v. 20, n. 3, p. 189–208, 6 abr. 2007.
- PALHARES, A. C. et al. A novel linkage map of sugarcane with evidence for clustering of retrotransposon-based markers. **BMC genetics**, v. 13, p. 51, jan. 2012.
- PAN, Y. Highly Polymorphic Microsatellite DNA Markers for Sugarcane Germplasm Evaluation and Variety Identity Testing. **Sugar Tech**, v. 8, n. 4, p. 246–256, 2006.
- PAN, Y. B. et al. Analysis of primer-derived, nonspecific amplification products in RAPD-PCR. **BioTechniques**, v. 22, n. 6, p. 1071–4, 1076–7, jun. 1997.
- PAN, Y. B.; BURNER, D. M.; LEGENDRE, B. L. An assessment of the phylogenetic relationship among sugarcane and related taxa based on the nucleotide sequence of 5S rRNA intergenic spacers. **Genetica**, v. 108, n. 3, p. 285–95, 2000.
- PAN, Y.; SCHEFFLER, B.; RICHARD, J. High-throughput genotyping of commercial sugarcane clones with microsatellite (SSR) DNA markers. **Sugar Technology**, v. 9, p. 176–181, 2007.
- PANJE, R. R.; BABU, C. N. Studies in *Saccharum spontaneum* Distribution and Geographical Association Chromosome Numbers. **Cytologia**, v. 25, p. 152–172, 1960.
- PARIDA, S. K. et al. Functionally relevant microsatellites in sugarcane unigenes. **BMC plant biology**, v. 10, n. 1, p. 251, jan. 2010.
- PERERA, M. F. et al. Genetic diversity assessment and genotype identification in sugarcane based on DNA markers and morphological traits. **Euphytica**, v. 185, n. 3, p. 491–510, 2012.
- PINTO, L. R. et al. Survey in the sugarcane expressed sequence tag database (SUCEST) for simple sequence repeats. **Genome / National Research Council Canada - Genome / Conseil national de recherches Canada**, v. 47, n. 5, p. 795–804, 2004.
- RAMALHO, M. A. P. et al. **Genética na Agropecuária**. 5. ed. Lavras, MG: Editora UFLA, 2012.
- SHARMA, R. K. et al. Evaluation of rice and sugarcane SSR markers for phylogenetic and genetic diversity analyses in bamboo 1. v. 103, n. 732, p. 91–103, 2008.
- SILVA, D. C. D. et al. DNA fingerprinting based on simple sequence repeat (SSR) markers in sugarcane clones from the breeding program RIDESA. **African Journal of Biotechnology**, v. 11, n. 21, p. 4722–4728, 13 mar. 2012.
- SILVA, J. A. The Importance of the Wild Cane *Saccharum spontaneum* for Bioenergy. **Sugar Tech**, p. 1–39, 2017.

SILVA, J. A. et al. Sugarcane Variety Identification through DNA Fingerprinting with Microsatellites Markers. **Subtropical Plant Science**, v. 3388, p. 1–7, 2008.

SILVA, J. A. G. Preliminary analysis of microsatellite markers derived from sugarcane expressed sequence tags (ESTs). **Genetics and Molecular Biology**, v. 24, n. 1, p. 155–159, 2001.

**The Plant List**. Disponível em:

<<http://www.theplantlist.org/tpl1.1/search?q=Saccharum>>. Acesso em: 22 fev. 2017.

THOKOANE, L. N. Progress towards a fingertyping database for sugarcane varieties. **Proc S Afr Sug Technol Ass**, v. 73, p. 164-6, 1999.

UNICA. **Etanol e Bioeletricidade: A cana de açúcar no futuro da matriz energética**. 1. ed. São Paulo, Brasil: LUC Comunicação Integrada, 2010.

UNICA. **Acompanhamento quinzenal da safra 2015/16** Departamento de Economia e Estatística. São Paulo, 2016.

VAVILOV, N. I. The Phytogeographical Basis for Plant Breeding. In LÖVE, D (tradutor) **Origin and Geography of Cultivated Plants**. 1 ed. Cambridge University Press, Cambridge, UK, 1992, p 316.

VETTORE, A. L. et al. Analysis and functional annotation of an expressed sequence tag collection for tropical crop sugarcane. **Genome research**, v. 13, n. 12, p. 2725–35, dez. 2003.

WATSON, J.; CRICK, F. A Structure for Deoxyribose Nucleic Acid. **Nature**, v. 171, p. 737–738, 1953.