

MICHELE JORGE DA SILVA

**CARACTERIZAÇÃO FENOTÍPICA E MOLECULAR DE LINHAGENS DE  
SORGO SACARINO VISANDO PRODUÇÃO DE BIOETANOL**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento, para obtenção do título de Magister Scientiae.

VIÇOSA  
MINAS GERAIS – BRASIL  
2015

**Ficha catalográfica preparada pela Biblioteca Central da  
Universidade Federal de Viçosa - Câmpus Viçosa**

T

S586c  
2015

Silva, Michele Jorge da, 1987-  
Caracterização fenotípica e molecular de linhagens de  
sorgo sacarino visando produção de bioetanol / Michele  
Jorge da Silva. - Viçosa, MG, 2015.  
x, 59f. : il. (algumas color.) ; 29 cm.

Orientador : José Eustáquio de Souza Carneiro.  
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de  
Viçosa.  
Referências bibliográficas: f.55-59.

1. Sorgo sacarino. 2. *Sorghum bicolor*. 3. Diversidade  
genética. 4. Energia - Fontes alternativas. 5. Álcool como  
combustível. I. Universidade Federal de Viçosa.  
Departamento de Fitotecnia. Programa de Pós-graduação  
em Genética e Melhoramento. II. Título.

CDD 22. ed. 633.62

MICHELE JORGE DA SILVA

**CARACTERIZAÇÃO FENOTÍPICA E MOLECULAR DE LINHAGENS DE SORGO  
SACARINO VISANDO PRODUÇÃO DE BIOETANOL**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento, para obtenção do título de Magister Scientiae.

APROVADA: 24 de fevereiro de 2015.

---

Leonardo Duarte Pimentel

---

Robert Eugene Schaffert

---

Rafael Augusto da Costa Parrella  
(Coorientador)

---

Pedro Crescêncio Souza Carneiro  
(Coorientador)

---

José Eustáquio de Souza Carneiro  
(Orientador)

## DEDICATÓRIA

*A Deus.*

*Aos meus queridos pais, Carlos (*in memoriam*) e Eliane.*

*A minha irmã Karla.*

*Ao meu amado Samuel.*

***Dedico***

*"A verdadeira viagem de descobrimento não consiste em procurar novas paisagens, mas sim em ter novos olhos".*

*Marcel Proust*

## AGRADECIMENTOS

Ao grandioso e amoroso Deus, Jeová, pela vida, paz, força e felicidade que provêm de adorá-lo.

À Universidade Federal de Viçosa e ao Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoria pela oportunidade e excelência de ensino.

À Embrapa Milho e Sorgo, na pessoa do seu chefe geral Dr. Antônio Álvaro Corsetti Purcino por me possibilitar a condução dos experimentos na unidade.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela concessão da bolsa de estudos.

Ao Prof. José Eustáquio, pela confiança, incentivo e por me permitir que o trabalho fosse realizado na Embrapa Milho e Sorgo.

Ao Dr. Rafael Parrella, pela acolhida na Embrapa Milho e Sorgo, pelo apoio e conhecimentos a mim transmitidos sobre a cultura do sorgo sacarino.

À Dra. Maria Marta Pastina, pelos inúmeros ensinamentos estatísticos, sugestões e pela sua disponibilidade em me auxiliar durante todo o desenvolvimento do trabalho.

À Dra. Cynthia Damasceno, pela ajuda na obtenção dos dados genotípicos e à possibilidade de aprendizagem no laboratório de Biologia Molecular da Embrapa Milho e Sorgo.

Ao Dr. Robert Schaffert, pela atenção e ensinamentos em diversidade genética do sorgo sacarino.

Ao Prof. Pedro Crescêncio pela atenção e orientação.

Aos meus pais Carlos (in memoriam) e Eliane pelo amor, preocupação e grande contribuição para a realização dos meus sonhos.

À minha irmã Karla pela amizade e companheirismo.

Ao meu namorado Samuel, por me entender, estar sempre ao meu lado, e me trazer muita felicidade.

À toda equipe do Galpão de Melhoramento de Sorgo, pela ajuda constante na condução do experimento de campo.

Ao Vander e à Karine, pela ajuda nas análises e interpretações estatísticas.

A todos os amigos que a Universidade Federal de Viçosa me possibilitou conhecer, desde a minha graduação até os dias de hoje.

Enfim, a todos que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho.

Muito obrigada!

## **BIOGRAFIA**

Michele Jorge da Silva, filha de Carlos Roberto Jorge (in memoriam) e Eliane Jorge da Silva, nasceu na cidade de Matozinhos, Minas Gerais, Brasil, em 10 de outubro de 1987.

Em abril de 2013 obteve o título de Engenheira Agrônoma pela Universidade Federal de Viçosa, em Viçosa, Minas Gerais, Brasil e iniciou o curso de Mestrado no Programa de Pós Graduação em Genética e Melhoramento, na Universidade Federal de Viçosa, submetendo-se a defesa de dissertação em fevereiro de 2015.

## SUMÁRIO

RESUMO.....	vii
ABSTRACT.....	ix
1 INTRODUÇÃO .....	1
2 REVISÃO DE LITERATURA .....	2
2.1 Aspectos Gerais do Sorgo .....	2
2.2 Origem do sorgo sacarino .....	4
2.3 Importância do sorgo sacarino .....	5
2.4 Melhoramento Genético de sorgo sacarino.....	6
2.5 Descrição de algumas linhagens de sorgo sacarino.....	7
2.6 Importância do estudo da diversidade genética.....	10
3. MATERIAL E MÉTODOS .....	11
3.1 Caracterização do material vegetal .....	11
3.2 Caracterização morfoagronômica.....	16
3.2.1 Condução do Experimento .....	16
3.2.2 Descritores utilizados .....	16
3.2.3 Análises Estatísticas .....	17
3.3 Caracterização Agronômica .....	19
3.3.1 Condução do experimento e delineamento experimental.....	19
3.3.2 Características avaliadas .....	19
3.3.3 Análises Estatísticas .....	22
3.4 Caracterização Molecular.....	25
3.4.1 Coleta de Material Vegetal.....	25
3.4.2 Seleção dos SNPs.....	27
3.4.3 Análises Estatísticas .....	27
4. Resultados e Discussão .....	28
4.1 Análises estatísticas via modelos mistos.....	28
4.2.1 Correlação entre os dados morfoagronômicos .....	30
4.2.2 Correlação entre os dados agronômicos.....	32
4.3 Análise de diversidade .....	33
4.3.1 Diversidade baseada em dados morfoagronômicos .....	33
4.3.2 Diversidade baseada em dados agronômicos .....	39
4.3.3 Estudo da diversidade entre as variáveis morfoagronômicas e agronômicas.....	45
4.3.4 Diversidade baseada em dados moleculares .....	47
4.3.5 Diversidade baseada nas características morfoagronômicas, agronômicas e moleculares ..	49
4.4 Análise de Componentes Principais.....	51
5 CONCLUSÃO .....	54
6 REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA .....	55

## RESUMO

SILVA, Michele Jorge da, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, fevereiro de 2015. **Caracterização fenotípica e molecular de linhagens de sorgo sacarino visando produção de bioetanol.** Orientador: José Eustáquio de Souza Carneiro. Coorientadores: Rafael Augusto da Costa Parrella e Pedro Crescêncio Souza Carneiro.

Nos dias atuais, devido a elevada demanda por etanol, o cultivo de sorgo sacarino (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) surge como uma importante alternativa para a produção de bioenergia. O sorgo sacarino é uma cultura que vem apresentando destaque no setor agroenergético, uma vez que o armazenamento de açúcares se localiza nos colmos, apresenta facilidade de mecanização, alto teor de açúcares diretamente fermentáveis contidos no colmo, elevada produção de biomassa e antecipação da colheita com relação à cana-de-açúcar. Para o melhor entendimento da variabilidade genética dessa cultura, o presente estudo foi desenvolvido com o objetivo de realizar a caracterização fenotípica e molecular de linhagens de sorgo sacarino, pois o estudo da diversidade de uma espécie é fundamental para a escolha de genótipos superiores a serem usados em programa de desenvolvimento de cultivares. Para a caracterização fenotípica e molecular das linhagens de sorgo sacarino, foram utilizados 100 materiais pertencentes ao programa de melhoramento genético da Embrapa Milho e Sorgo. Primeiramente, foi realizado um levantamento sobre a origem e identificação dos genitores das linhagens utilizadas. O estudo da diversidade foi realizado baseando-se em caracteres morfoagronômicos e agronômicos, e com base em dados de marcadores moleculares. A avaliação das características morfoagronômicas e agronômicas foram conduzidas na Embrapa Milho e Sorgo, em Sete Lagoas – MG, e a genotipagem dos materiais foi realizada no IGD (Institute for Genomic Diversity) da Universidade de Cornell, nos Estados Unidos. A caracterização morfoagronômica foi feita de acordo com o teste de Distinguilidade, Homogeneidade e Estabilidade (DHE), avaliando-se 51 descritores. As avaliações agronômicas foram feitas a partir de um experimento em campo com delineamento em látice com três repetições, considerando as características mais relacionadas a produção de açúcares e biomassa. A caracterização molecular foi feita através da técnica de GBS (Genotyping by sequencing) que se baseia na redução da complexidade genômica com base em diferentes combinações de enzimas de restrição. As análises estatísticas dos dados agronômicos foram realizadas com base em modelos mistos, no qual os componentes de variância foram estimados via REML (Restricted Maximum Likelihood) e as médias BLUP (Best Linear Unbiased Prediction) foram obtidas para os materiais avaliados para cada característica fenotípica de interesse. As análises de diversidade foram realizadas para os dados

morfoagronômicos, agronômicos e moleculares, a partir da obtenção de uma matriz de distâncias, formando-se agrupamentos das linhagens através do método Neighbor-Joining. Para a caracterização fenotípica, observou-se que os caracteres agronômicos apesar da grande importância, não foram muito informativos para o agrupamento dos acessos e a caracterização baseada em dados moleculares foi a que demonstrou os melhores resultados no estudo da diversidade. No entanto, a partir do estudo da diversidade genética combinando os dados das características morfoagronômicas, agronômicas e dados de marcadores moleculares, notou-se um melhor agrupamento entre as linhagens.

## ABSTRACT

SILVA, Michele Jorge da, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, february, 2015. **Phenotypic and molecular characterization of sweet sorghum for bioethanol production.** Adviser: José Eustáquio de Souza Carneiro. Co-advisers: Rafael Augusto da Costa Parrella and Pedro Crescêncio Souza Carneiro.

Currently, due to the high demand for ethanol, sweet sorghum (*Sorghum bicolor* L. Moench) cultivation emerges as an important alternative for the production of bioenergy. The sweet sorghum is a crop that has shown highlighted in the agro-energy industry, since its sugar storage is located in the stalk, possibility of harvest mechanization, high content of directly fermentable sugars, high biomass production and early harvest compared to sugarcane. For a better understanding of the genetic variability of this crop, the present study was developed with the objective of performing a phenotypical and molecular characterization of sweet sorghum inbred lines, since the study of diversity of a species is essential for choosing superior genotypes to be used in a cultivar development program. In the phenotypic and molecular characterization of sweet sorghum inbred lines, we used 100 materials from the breeding program of Embrapa Maize and Sorghum. First, a research was carried out in order to identify the origin of the parental lines of the inbred lines used. The study of diversity was conducted based on morpho-agronomic, agronomic traits and molecular markers. The field evaluation of morpho-agronomic and agronomic traits were carried out at Embrapa Maize and Sorghum in Sete Lagoas MG, and the genotyping of the materials was performed in the IGD (Institute for Genomic Diversity) at Cornell University in the United States. The morpho-agronomic characterization was performed according to the Distinctness, Uniformity and Stability (DUS) test, evaluating 51 descriptors. The agronomic evaluations were conducted in a field experiment, in a lattice design with three replications, considering the traits related to sugar and biomass production. Molecular characterization was conducted through the GBS (Genotyping by sequencing) technique which is based in the reduction of the genomic complexity using different combinations of restriction enzymes. Statistical analysis of the agronomic data was performed through the mixed models approach, in which the variance components were estimated by REML (Restricted Maximum Likelihood) and the BLUP means (Best Linear Unbiased Prediction) were obtained for the evaluated materials for each agronomic trait of interest. The diversity analyses were performed based on morph-agronomic, agronomic and molecular markers data, obtaining a distance matrix and forming clusters of inbred lines through the Neighbor-Joining method. For the phenotypic characterization, it was observed that, despite the great importance, the agronomic characteristics were not very informative for group-

ing the inbred lines and the characterization based on molecular markers showed the best results in the study of diversity. However, based on the study of genetic diversity, in which data from morpho-agronomic, agronomic and molecular markers were combined, it was observed a better grouping for the inbred lines.

## 1 INTRODUÇÃO

Em todo o mundo, o cenário mundial da agricultura, da produção de energia e da geopolítica muda rapidamente. Países com maior potencial para produzir energia de forma renovável a um custo baixo e oferta abundante possuem maiores chances de aproveitar as oportunidades do mercado. Com a disponibilidade de grandes extensões de terras ociosas, além de clima favorável e elevado grau de avanço em tecnologia agropecuária, o Brasil está em posição privilegiada em relação a outros países produtores (GENTIL & FAGGION, 2014).

O petróleo é a principal fonte de energia ao nível mundial. Porém, os elevados preços do petróleo como consequência das crises de 70 e 80, assim como os impactos ambientais, econômicos e sociais decorrentes do uso intensivo de fontes não renováveis de energia, incentivam a busca por biocombustíveis. Assim, a demanda mundial por combustíveis renováveis tem-se expandido rapidamente nos últimos anos em todo o mundo. Menor custo, autossuficiência em relação aos países exportadores de petróleo, redução do volume de emissões de gases do efeito estufa, incertezas a respeito da disponibilidade futura de recursos não renováveis e tensões geopolíticas em regiões produtoras do combustível fóssil são alguns dos fatores que têm despertado grande interesse pelos biocombustíveis (MARTINS & ANDRADE, 2014).

A produção de bioenergia é também uma medida de extrema importância para enfrentarmos os sérios desafios ambientais relacionados com os efeitos das mudanças climáticas globais. Ainda que a bioenergia não seja a única solução para este problema, ela certamente contribuirá para mitigar as emissões de combustíveis fósseis (BARCELOS, 2012).

Lipinski & Kresovich (1992) afirmaram que as três culturas de maior destaque para a produção de etanol são a cana-de-açúcar, a beterraba açucareira e o sorgo sacarino. Embora no Brasil a cana-de-açúcar se destaque como a matéria-prima que estabelece as melhores condições de produtividade, a expectativa de um mercado mundial crescente de etanol leva à procura por novas fontes de energia. Além disso, o país ainda apresenta problemas para suprimento de sua demanda interna, principalmente na entressafra da cana.

Em virtude da elevada demanda atual por etanol, o cultivo de sorgo sacarino (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) é uma importante alternativa para a produção de bioe-

nergia (RATNAVATHI et al., 2011). O sorgo é uma planta que se assemelha à cana-de-açúcar, uma vez que o armazenamento de açúcares se localiza nos colmos, e é utilizado para a produção de etanol nas mesmas destilarias da cana-de-açúcar. Entretanto, o sorgo é cultivado a partir de sementes e apresenta um ciclo vegetativo de 90 a 130 dias, bem mais curto que o da cana-de-açúcar (SOUZA et al., 2005).

A divergência genética é um dos mais importantes parâmetros avaliados por melhoristas de plantas na fase inicial de um programa de melhoramento genético. Muitos métodos estão disponíveis para avaliá-la em populações de plantas, diferenciando-se na habilidade em detectar diferenças entre genótipos (MORALES et al., 2011). Embora a coleção mundial de sorgo seja uma das mais extensas, menos de 3% dos acessos tem sido utilizados em programas de melhoramento. É necessário ampliar as informações sobre diversidade genética na cultura do sorgo sacarino, permitindo com o avanço dos estudos a identificação de possíveis genitores, ou, até mesmo, de genótipos com características superiores (DAHLBERG et al., 1996).

Visando contribuir para o entendimento da variabilidade genética do sorgo sacarino, o presente estudo foi desenvolvido com o objetivo de realizar a caracterização fenotípica e molecular de linhagens dessa cultura. O conhecimento sobre a diversidade genética dos materiais usados em programas de melhoramento é de fundamental importância para ajudar os melhoristas na identificação e organização dos recursos genéticos disponíveis, visando a utilização destes para o desenvolvimento de cultivares.

## **2 REVISÃO DE LITERATURA**

### **2.1 Aspectos Gerais do Sorgo**

O sorgo é uma gramínea anual, pertencente a ordem Poales, família Poaceae, gênero *Sorghum* e espécie *Sorghum bicolor*. Quanto ao número de cromossomos, se trata de uma espécie diplóide ( $2n = 20$ ). Essa cultura apresenta uma grande variação em termos de especialização da planta conforme a finalidade de cultivo sendo que, em âmbito agrônomo, a cultura pode ser classificada em cinco grupos: sorgo granífero, vassoura, forrageiro, sacarino e lignocelulósico (RIBAS, 2003). Essa grande variabilidade entre os tipos de sorgo torna a cultura especial, por ser capaz de atender diversos mercados, interesses e necessidades em todo o mundo.

Nos países em desenvolvimento, o sorgo destina-se à alimentação humana de mais de 500 milhões de pessoas, enquanto nos demais países a cultura é utilizada essencialmente como alimento animal. É uma cultura muito importante, sendo o quinto cereal mais produzido no mundo, atrás, apenas, de arroz, trigo, milho e cevada. Sua maior área de produção localiza-se na África, enquanto a maior produção está na América do Norte, México e Estados Unidos. É também uma cultura que apresenta bastante versatilidade, podendo ser utilizada na alimentação humana e animal, servindo de matéria-prima para a produção de etanol, bebidas alcoólicas, colas, tintas, vassouras, na extração de açúcar, produção de amido e óleo comestível (CONAB, 2014).

O sorgo é uma planta monóica que apresenta flores perfeitas, sendo basicamente uma espécie autógama. A fertilização se inicia no topo da panícula com duração de 4 a 6 dias. Ocorre a predominância de autofecundação e a taxa de fecundação cruzada pode variar de 2% a 10%, o polén germina imediatamente quando em contato com estigma receptivo.

O processo de produção de sementes se divide em duas etapas: a primeira corresponde a obtenção de linhagens puras; e a segunda, está relacionada a geração de híbridos a partir de cruzamentos. Possui uma inflorescência terminal do tipo panícula, composta por uma espiga séssil, fértil, acompanhada por duas espiguetas estéreis pedunculadas que caracterizam o gênero, e, por fim, seu fruto é uma cariopse ou grão seco.

Com relação à fisiologia, o sorgo se trata de uma planta C4, de dias curtos e com altas taxas fotossintéticas. Em sua grande maioria, os materiais genéticos de sorgo requerem temperaturas superiores a 21 °C para um bom crescimento e desenvolvimento. Sua estrutura radicular é composta por raízes que por possuir sílica na endoderme, grande quantidade de pêlos absorventes e altos índices de lignificação de periciclo, conferem à cultura maior tolerância ao déficit hídrico e ao excesso de umidade no solo, do que os demais cereais. O caule por sua vez é dividido em nós e entrenós, com folhas ao longo de toda a planta. (MAGALHÃES et al., 2010).

A produtividade do sorgo está relacionada com diversos fatores, sendo que a radiação solar, a precipitação, a disponibilidade de água no solo, e a temperatura do ar são aqueles que exercem maior influência na sua produtividade. Apesar do sorgo ser uma cultura de clima quente, com mecanismos eficientes de tolerância à seca, existem varie-

dades adaptadas às mais diferentes condições climáticas, inclusive a locais de baixa temperatura (RODRIGUES, 2010).

## **2.2 Origem do sorgo sacarino**

O sorgo sacarino (*Sorghum bicolor*, L. Moench) é uma gramínea de origem africana, introduzida no Brasil no início do século XX. É uma cultura rústica com aptidão para cultivo em áreas tropicais, subtropicais e temperadas. Apresenta ampla adaptabilidade, tolerância a estresses abióticos e pode ser cultivado em diferentes tipos de solos (EMYDGIO, 2010).

A domesticação do sorgo, segundo registros arqueológicos, deve ter acontecido por volta de 3000 AC, ao tempo em que a prática da domesticação e cultivo de outros cereais era introduzida no Egito Antigo à partir da Etiópia. As rotas comerciais terrestres ou marítimas da antiguidade que levavam ao Extremo Oriente (China, Coreia e Japão) certamente foram usadas para introduzir o sorgo na Índia. O sorgo chegou ao Oriente Médio um pouco mais tarde e ao mesmo tempo atingiu a Europa através da Itália, provavelmente, com sementes trazidas da Índia por volta de 60 a 70 anos DC. Partindo, também da Índia, o sorgo chegou à China no século III DC (RIBAS, 2003).

Com relação ao sorgo sacarino, este começou a se desenvolver nos EUA durante os últimos 150 anos. Na década de 1850 a importância do sorgo sacarino era para a produção de xarope e forragem. O primeiro sorgo sacarino introduzido nos EUA foi o da raça local pertencente à China, o Chinês Âmbar, em 1853. Várias cultivares vieram da África, como: Orange, Sumac, Redtop, Gooseneck, Texas Seed Ribbon Cane, Honey e White African. (WINBERRY, 1980). Outras cultivares foram introduzidas mais tarde: Collier da África do Sul, Mclean da Austrália, e outras de origem desconhecida, Folger, Coleman, Sugar Drip, e Rex (MAUNDER, 2000).

A maioria das cultivares de sorgo sacarino foram desenvolvidas no período de 1940 a 1983 com o apoio do Departamento de Agricultura dos Estados Unidos (USDA - United States Department of Agriculture) e da Estação Experimental de Culturas Açucareiras (Sugar Crops Field Station), localizada na cidade de Meridian, no estado americano de Mississippi. Foram utilizadas nas pesquisas landraces, ou seja, linhagens consideradas nativas, para o melhoramento genético de sorgo sacarino, desenvolvendo-se materiais para a produção de xarope, no qual o foco principal era a resistência a doen-

ças, alto teor de sólidos solúveis e a boa pureza e qualidade do produto. As landraces MN foram muito utilizadas nos programas de melhoramento dos Estados Unidos, para o desenvolvimento de novas variedades (MURRAY, et.al. 2009).

### **2.3 Importância do sorgo sacarino**

Dentre as diversas matérias-primas renováveis e sustentáveis, disponíveis atualmente, para auxiliar o setor sucroalcooleiro do Brasil, destaca-se o sorgo sacarino. Esta planta possui várias vantagens para a produção de açúcar e etanol quando comparada a outras culturas, como: colmos com caldo rico em açúcares fermentescíveis, semelhante ao da cana; facilidade de mecanização da cultura; alto teor de açúcares diretamente fermentáveis contidos no colmo, sendo este açúcar composto principalmente de sacarose (70-80%), frutose e glicose, similar ao do açúcar de beterraba; elevada produção de biomassa; e antecipação da colheita com relação à cana-de-açúcar. Outra grande vantagem do sorgo sacarino em relação à cana-de-açúcar é o fato de apresentar ciclo curto (120-130 dias), permitindo que a cultura seja estabelecida e colhida durante a entressafra da cana-de-açúcar, beneficiando a indústria alcooleira, que não ficaria sem matéria-prima para a produção de etanol nesse período (EMYDGIO, 2010). Apresenta aptidão para cultivo em áreas tropicais, subtropicais e temperadas, sendo tolerante a estresses abióticos (LIZARAZU & MONTI, 2012), o que amplia o zoneamento agroenergético, podendo esta cultura ser implantada em áreas aptas ao cultivo da cana-de-açúcar e ser cultivada em solos de diferentes fertilidades e níveis de acidez, mostrando-se eficiente na utilização de insumos e de água, o que promove um balanço energético favorável para a produção (EMYDGIO, 2010).

A escolha de cultivares adequadas é fator de grande importância no cultivo do sorgo sacarino para produção de etanol. Uma boa cultivar de sorgo sacarino deve apresentar as seguintes características: a) alta capacidade de rendimento do colmo (comprimento e diâmetro de médio a grande); b) resistência ao acamamento; c) alta percentagem de caldo extraível; d) alto conteúdo de sólidos solúveis totais (°Brix) no caldo, principalmente açúcares; e) resistência às principais doenças; f) tolerância à seca e ao encharcamento; e g) tolerância a inseticidas (SCHAFFERT, et al., 1980).

Os trabalhos de pesquisa e estudo de viabilidade da utilização do sorgo sacarino para produção alternativa de etanol vêm sendo desenvolvidos desde 1976, pelo Centro

Nacional de Pesquisa de Milho e Sorgo, da Embrapa. Com o Pró-Álcool, a Embrapa Milho e Sorgo iniciou um programa de melhoramento de cultivares de sorgo sacarino com o objetivo de desenvolver cultivares destinadas à produção de álcool, principalmente por pequenas destilarias. Devido à eliminação dos incentivos governamentais às pequenas destilarias na década de 80, o programa de melhoramento do sorgo sacarino foi desacelerado na Embrapa. Entretanto, mais recentemente, e de acordo com o Plano Nacional de Agroenergia (BRASIL, 2006), a Embrapa tem priorizado o desenvolvimento de cultivares de sorgo sacarino (produção de etanol de primeira geração e resíduos) e de sorgo-energia (biomassa diferenciada para características lignocelulósicas para fins energéticos, com foco em etanol de segunda geração ou cogeração de energia) (PURCINO, 2011).

O etanol de primeira geração consiste na obtenção do biocombustível por meio do processo de fermentação de açúcares diretamente fermentescíveis presentes no colmo da planta, utilizando fundamentalmente enzimas responsáveis pela hidrólise da sacarose. Já a tecnologia de produção de etanol de segunda geração, a matéria-prima utilizada para produção do álcool é a biomassa vegetal, a qual tem seus polímeros de parede celular transformados em açúcares simples (pré-tratamento e sacarificação) e convertidos em etanol por meio da fermentação (RUBIN, 2008). Esse processo representa uma fonte alternativa para produção em larga escala de etanol de segunda geração, por ser renovável, geograficamente distribuída, e relativamente favorável no que diz respeito à emissão de gases poluentes (SOMERVILLE, 2007).

Dessa forma para que haja uniformidade, controle na produção de etanol, e melhor desempenho na geração de energia a partir do sorgo sacarino, a caracterização do caldo extraído e do bagaço produzido após a moagem e extração do caldo torna-se de grande importância.

## **2.4 Melhoramento Genético de sorgo sacarino**

Os principais objetivos dos programas de melhoramento do sorgo sacarino é a melhoria na quantidade e na qualidade dos açúcares presentes no colmo e o aumento da produtividade de biomassa verde. As cultivares desenvolvidas, além de serem produtivas, também precisam ser estáveis quanto às variações ambientais e responsivas às melhorias no ambiente. Devido à estrutura e aos mecanismos naturais de polinização do

sorgo sacarino a realização do cruzamento controlado entre dois indivíduos é uma tarefa difícil devido a dificuldade em realizar a emasculação. Porém, a exploração comercial de híbridos se tornou possível a partir de 1954, com a descoberta do sistema de macho-esterilidade genético-citoplasmática (STEPHENS & HOLLAND, 1954).

A esterilidade genético-citoplasmática ocorre através da interação entre o gene Kafir e o citoplasma Milo. São necessários três diferentes linhagens para produção de um híbrido de sorgo sacarino. A primeira é denominada linhagem A, que possui citoplasma estéril e os alelos restauradores da fertilidade são recessivos, ou seja é a linhagem macho-estéril. A segunda linhagem, denominada B, é conhecida como mantenedora, essa linhagem possui a mesma constituição genética da linhagem A, porém com citoplasma fértil, ou seja, essa linhagem é usada para a multiplicação da linhagem A. E a terceira linhagem é denominada R, conhecida como restauradora, essa deve ser homocigota dominante para que o gene possa restaurar a fertilidade (PARRELLA, 2011). A linhagem R não é fenotipicamente similar a linhagem A, e a combinação delas deverá resultar em um híbrido de alto potencial de rendimento.

## **2.5 Descrição de algumas linhagens de sorgo sacarino**

A variabilidade genética em programas de melhoramento de sorgo pode ser ampliada pelo uso da coleção mundial, da aquisição de sementes de outros programas de melhoramento e de cruzamento entre linhagens selecionadas. A introdução de genótipos oriundos do ICRISAT - International Crops Research Institute for The Semi-Arid Tropics, na Índia, e de coleções do CIAT – Centro Internacional de Agricultura Tropical, na Colômbia, CIRAD – La Recherche Agronomique Pour Le Développement, na França e de instituições públicas dos Estados Unidos, como (USDA/ARS, Universidade do Texas Kentucky) teve importante contribuição para os programas de melhoramento do Brasil (SANTOS et al., 2005).

Algumas das mais importantes linhagens de sorgo sacarino conhecidas a nível internacional são: Dale, Brandes, Georgia Blue Ribbon, Honey, M81E, Sugar Drip, Theis, Tracy, Sart e Willians. Segundo Mask & Morris (1991) e Freeman et al. (1986), as principais características de cada uma delas são:

Dale: é uma linhagem melhorada, desenvolvida na Estação Experimental de Culturas Açucareiras, no Mississippi, Estados Unidos em 1970. Seus genitores foram as linhagens Tracy e MN960, sendo Tracy o genitor recorrente. As sementes são pequenas, com coloração avermelhada a marrom. Com relação à formação de panículas, as hastes se classificam em tamanho médio. É também uma linhagem resistente à antracnose foliar e à podridão vermelha do colmo, capaz de produzir um xarope de excelente qualidade.

Brandes: foi lançada em 1968 e desenvolvida na Estação Experimental de Culturas Açucareiras, no Mississippi. Seus genitores foram as linhagens Collier 706-C e MN 1500. É uma variedade de ciclo tardio, possui um sistema radicular excelente e é bastante resistente ao acamamento. As sementes são pequenas, com coloração branca. Com relação às doenças, se trata de um material resistente à antracnose e à podridão vermelha do colmo. Produz um xarope de boa qualidade, mas é mais suscetível à seca do que outras linhagens.

Georgia Blue Ribbon: é uma linhagem desenvolvida na Estação Experimental de Culturas Açucareiras, no Mississippi. As sementes são de tamanho médio e coloração marrom. O xarope é de boa qualidade, porém é suscetível a várias doenças do sorgo sacarino.

Honey: é uma linhagem desenvolvida pelo Departamento de Agricultura dos Estados Unidos, 1986. É suscetível às principais doenças do sorgo sacarino.

M81E: é uma linhagem de ciclo tardio, desenvolvida na Estação Experimental de Culturas Açucareiras, no Mississippi em 1983. Seus genitores foram as linhagens Brawley e Rio. É semelhante à linhagem Dale em altura, e é resistente à antracnose foliar e podridão vermelha do colmo, mas é suscetível ao mosaico-comum. O rendimento de seu xarope é geralmente superior ao da linhagem Dale, possui um sabor suave, cor âmbar, e de excelente qualidade.

Sugar Drip: é uma linhagem desenvolvida pelo Departamento de Agricultura dos Estados. Trata-se de um material muito precoce, e muito suscetível para a maioria das doenças do sorgo. Apresenta sementes de tamanho médio e com coloração marrom.

Theis: é uma linhagem desenvolvida na Estação Experimental de Culturas Açucareiras, no Mississippi em 1978. Seus genitores são as linhagens Wiley, White African, MN 1054 e MN 660. Possui maturidade tardia semelhante à Brandes e Wiley. As sementes são grandes, com coloração marrom e a planta possui boa resistência ao acamamento. O xarope geralmente é excelente. É altamente resistente à antracnose foliar e à podridão vermelha do colmo.

Tracy: é uma linhagem desenvolvida pelo Departamento de Agricultura dos Estados Unidos e lançado em 1953. Seus genitores são as linhagens White African e Sumac. Possui capacidade de perfilhamento intermediário. Os colmos são rígidos e suculentos, porém é uma planta suscetível à antracnose, podridão vermelha do colmo e ferrugem. Produz um excelente xarope, mas com baixo rendimento.

Sart: é uma linhagem de maturação tardia para produção de xarope. Foi desenvolvida pelo Departamento de Agricultura dos Estados Unidos em 1945, a partir de materiais vindos do Sudão, África Central. A semente é grande e possui coloração branca. Sart é muito resistente à antracnose foliar e podridão vermelha do colmo.

Williams: foi desenvolvida pelo Departamento de Agricultura dos Estados Unidos. Apresenta sementes com coloração marrom e glumas avermelhadas. Os caules são suculentos, e muito suscetíveis às principais doenças de sorgo sacarino, porém produz xarope de boa qualidade.

No início dos anos 80, o Centro Nacional de Pesquisa de Milho e Sorgo (CNPMS) selecionou seis variedades de sorgo sacarino - BR 500, BR 501, BR 502, BR 503, BR504 e BR505 – derivadas das variedades Rio, Brandes, Roma, Theis, Dale e Wray, respectivamente, e vindas do Sugar Crops Field Station, Mississippi. Todas com produtividade de colmos superior a 40 t ha<sup>-1</sup> e teor de sólidos solúveis médios entre 18 e 20° Brix. Em 1984, as primeiras variedades brasileiras foram desenvolvidas com potencial para produção de etanol, sendo o BRS 506 e BRS 507, e o híbrido BRS 601 (PARRELLA, 2011). Como já mencionado, com a crise do Pró-álcool, perdeu-se o foco do melhoramento genético do sorgo sacarino no Brasil. A partir de 2008, a Embrapa reini-

ciou seu programa de melhoramento de sorgo sacarino, devido ao grande potencial desta cultura na geração de energia renovável e à grande demanda por matéria-prima alternativa.

## **2.6 Importância do estudo da diversidade genética**

O estudo da diversidade de uma espécie é fundamental para a escolha de genótipos superiores a serem usados em programas de desenvolvimento de cultivares. Essa avaliação envolve a caracterização fenotípica e genotípica, para o estabelecimento do grau de parentesco entre os genótipos (CANIATO, 2005). Assim, recursos genéticos são coletados não apenas para serem conservados, mas também para serem utilizados em um programa de melhoramento. Em ambos os casos, não basta ter a semente ou a planta, é necessário que se tenha informações sobre elas (QUEROL, 1993). Para tanto, devem ser devidamente caracterizados a fim de permitir ganhos genéticos mais promissores no melhoramento e também potencializar o uso destes recursos pelos agricultores e produtores (COELHO, 2007).

De acordo com Arriel (2006), apesar dos caracteres morfológicos serem amplamente usados na caracterização da diversidade, a combinação com os marcadores moleculares pode fornecer um quadro mais completo para o agrupamento de genótipos e o planejamento de cruzamentos no melhoramento genético vegetal. A análise molecular da diversidade apresenta algumas características vantajosas, como a sua independência de fatores ambientais e a velocidade de obtenção de dados.

A utilização do germoplasma tem sido limitada, principalmente como fonte de caracteres de importância agrônômica e exótica (DAHLBERG et al., 1996). O processo de caracterização fenotípica e molecular é muito importante para o estudo da diversidade genética de uma cultura, uma vez que fornece uma série de informações a respeito da variabilidade genética de cada material estudado, possibilitando, dessa forma, o conhecimento do germoplasma e a determinação de sua utilidade potencial e futura. Estudos de diversidade podem ser enriquecidos com o auxílio de marcadores moleculares, capazes de detectar o polimorfismo genético diretamente do DNA (CANIATO, 2005). Segundo Belicuas et al. (2009) a caracterização de linhagens é essencial para um programa de melhoramento, e os marcadores moleculares são eficientes para caracterizar e deter-

minar a variabilidade das linhagens de milho e sorgo do programa de melhoramento da Embrapa Milho e Sorgo.

### **3. MATERIAL E MÉTODOS**

#### **3.1 Caracterização do material vegetal**

Para a caracterização fenotípica e molecular das linhagens de sorgo sacarino, foram utilizados 100 materiais (TABELA 1) pertencentes ao programa de melhoramento genético da Embrapa Milho e Sorgo. Essa caracterização visa a obtenção de um maior número de informações sobre caracteres agrônômicos e industriais de interesse, para que seja possível a identificação de materiais com maior potencial de uso em programas de melhoramento para produção de bioenergia.

Primeiramente, foi realizado um levantamento sobre a origem e identificação dos genitores das linhagens de sorgo sacarino utilizadas, classificando-as de acordo com o banco de dados da GRIN (Germoplasm Resources Information Network) (USDA-ARS, 2008), em linhagens históricas, linhagens modernas e landraces MN, IS e SSM. De acordo com Murray et al. (2009), as linhagens chamadas históricas são aquelas que, a partir do ano 1900, começaram a ser cultivadas, e apresentam, em geral, origem desconhecida e falta de informações concretas sobre seus genitores. As linhagens modernas correspondem àqueles materiais que foram melhorados geneticamente, e que possuem informações sobre o pedigree. Foram, também, utilizadas linhagens geneticamente melhoradas da Embrapa Milho e Sorgo, chamadas de linhagens modernas - Embrapa. E as linhagens denominadas “landraces” são cultivares nativas, que muitas vezes são diferentes fenotipicamente, mas que podem apresentar certa similaridade genética entre si.

**TABELA 1.** Materiais de sorgo sacarino, pertencentes ao Programa de Melhoramento Genético da Embrapa Milho e Sorgo, selecionados para a caracterização fenotípica e molecular

<b>LINHAGEM</b>	<b>Fonte</b>	<b>Classificação</b>	<b>Pedigree/Informações Gerais</b>
ATLAS	MISSISSIPPI	SH	Blackhull Kafir x Sourless, 1938
BRANDES	MISSISSIPPI	SM	Collier 706-C x MN 1500, 1968
BRAWLEY	USDA/ARS	SM	(SC 949/3/4-dwarf Martin B line/SC 949/2/SC 949)x2/4/SC 949, 1983
CMSXS604	EMBRAPA	SM	NP3R x PU785091
CMSXS624	EMBRAPA	SM	CMSXS605 x CMSXS607, 1975
CMSXS627	EMBRAPA	SM	Keller, 1979
CMSXS629	EMBRAPA	SM	Theis x Wray, 1986
CMSXS630	EMBRAPA	SM	Theis x Wray, 1983
CMSXS631	EMBRAPA	SM	Brandes x Wray, 1983
CMSXS632	EMBRAPA	SM	Brandes x Wray, 1983
CMSXS633	EMBRAPA	SM	Brandes x Wray, 1983
CMSXS634	EMBRAPA	SM	Theis x Wray, 1983
CMSXS635	EMBRAPA	SM	Theis x Wray, 1983
CMSXS636	EMBRAPA	SM	Theis x Wray, 1983
CMSXS637	EMBRAPA	SM	Theis x Wray, 1983
CMSXS639	EMBRAPA	SM	Theis x Wray, 1984
CMSXS641	EMBRAPA	SM	Brandes x Wray, 1984
CMSXS642	EMBRAPA	SM	Rio x Wray, 1984
CMSXS643	EMBRAPA	SM	Brandes x Wray, 1984
CMSXS645	EMBRAPA	SM	Brandes x Wray, 1984
CMSXS646	EMBRAPA	SM	Theis x Wray, 1984
CMSXS647	EMBRAPA	SM	Theis x Wray, 1984
CMSXS648	EMBRAPA	SM	Theis x Wray, 1984
COES	USDA/ARS	SH	-
COLLIER	MISSISSIPPI	SH	Introduzido do Sul da África, 1946
DALE	MISSISSIPPI	SM	Tracy x MN960, sendo Tracy o genitor recorrente, 1970
EARLY FOLGER	MISSISSIPPI	SH	Seleção de Early Amber; Introduzido da África, 1942

**Tabela 1, continuação**

ELLIS SORGO	USDA/ARS	SH	Leoti xAtlas, 1948
GEORGIA BLUE RIBBON	MISSISSIPPI	SH	-
HODO	USDA/ARS	SM	-
HONEY	USDA/ARS	SH	Acesso foi coletado em 1983, Índia
ICEBERG	USDA/ARS	SH	Pertence ao grupo Orange, 1983
IS15443	ICRISAT	LIS	Camarões, África Central, 1973
IS15752	ICRISAT	LIS	Camarões, África Central, 1972
IS16044	ICRISAT	LIS	Camarões, África Central, 1972
IS19453	ICRISAT	LIS	Botswana, África Meridional
IS22332	ICRISAT	LIS	Botswana, África Meridional, 1980
IS2263	ICRISAT	LIS	Sudão, África Oriental, 1993
IS26833	ICRISAT	LIS	Sudão, África Oriental, 1993
IS27146	ICRISAT	LIS	Zimbabwe, África Meridional
IS2787	ICRISAT	LIS	Kenya, África Oriental, 1967
IS28409	ICRISAT	LIS	Iémen, Ásia
IS29310	ICRISAT	LIS	Suazilândia, África Meridional
IS32569	ICRISAT	LIS	Somália, África Oriental
IS5972	ICRISAT	LIS	Índia, Ásia, 1967
IS6351	ICRISAT	LIS	Índia, Ásia, 1967
IS929	ICRISAT	LIS	Sudão, África Oriental, 1993
KANSAS ORANGE	USDA/ARS	SH	Seleção de Orange; Introduzido da África, 1938
KELLERS CRYSTAL DRIP	USDA/ARS	SM	Texas, EUA, 1961
LEOTI RED	USDA/ARS	SH	Texas, EUA, 1946
M81E	MISSISSIPPI	SM	Brawley x (Brawley x Rio), 1983
MCLEAN	USDA/ARS	SH	-
MN 1357	USDA/ARS	LMN	-
MN1030	USDA/ARS	LMN	Sudão, África Orienta, 1945
MN1056	USDA/ARS	LMN	Seleção de SC 1055, Sudão, África Oriental

**Tabela 1**, continuação

---

MN1060	USDA/ARS	LMN	Sudão, África Oriental
MN1500	USDA/ARS	LMN	Seleção de SC 1057. Uganda, África Oriental
MN1996	USDA/ARS	LMN	Malawi, África Oriental, 1946
MN4004	USDA/ARS	LMN	Norte da Austrália
MN4008	USDA/ARS	LMN	-
MN4080	USDA/ARS	LMN	Zaire, África Meridional, 1958
MN4291	USDA/ARS	LMN	-
MN4418	USDA/ARS	LMN	-
MN4423	USDA/ARS	LMN	-
MN4490	USDA/ARS	LMN	Etiópia, África Oriental
MN4508	USDA/ARS	LMN	Uganda, África Oriental, 1960
MN4509	USDA/ARS	LMN	Uganda, África Oriental, 1960
MN4512	USDA/ARS	LMN	Índia, Ásia
MN4514	USDA/ARS	LMN	Índia, Ásia
MN4578	USDA/ARS	LMN	Etiópia, África Oriental
MN4581	USDA/ARS	LMN	Etiópia, África Oriental
MN752	USDA/ARS	LMN	Sudão, África Oriental
MN960	USDA/ARS	LMN	Sudão, África Oriental
NORKAN	USDA/ARS	SM	Atlas x Early Sumac, 1941.
RAMADA	USDA/ARS	SM	Mer. 45-45 x (MN 1056 x MN 1054 x MN 1060)
REX	USDA/ARS	SH	-
RIBBON CANE STRAIGHT NECK	USDA/ARS	SH	-
RIO	USDA/ARS	SM	MN 23 x MN 1048, 1965
ROMA	USDA/ARS	SM	Mer 45-45 X MN 1060
ROSSO LOMBARDO	-	SH	Buenos Aires, Argentina, 1959
ROX ORANGE	MISSISSIPPI	SH	Conhecido como cana-de-açúcar, pertence ao grupo Orange, 1938
SACCALINE	USDA/ARS	SH	-
SART	USDA/ARS	SM	Sudão, África Oriental, 1951

**Tabela1**, continuação

---

SIRRI	USDA/ARS	SH	Sudão, África Oriental
SOAVE	USDA/ARS	SH	Sudão, África Oriental
SOURCELESS	MISSISSIPPI	SH	-
SSM1123	ICRISAT	LSSM	Níger, África Ocidental
SSM1267	ICRISAT	LSSM	Camarões, África Central
SSM215	ICRISAT	LSSM	Etiópia, África Oriental
SUGAR DRIP	USDA/ARS	SH	Pertence ao grupo Orange.
TAGUAIBA	-	SH	Região Amazônica, Brasil, 1979
THEIS	USDA/ARS	SM	Wiley/C.P. Special x (MN 1054/ White African/ MN 660), 1978
TOPPER	USDA/ARS	SM	Mer60-2 x Brandes, 1995.
TRACY	USDA/ARS	SM	White African x Sumac, 1953
WACONIA AMBER	USDA/ARS	SH	-
WHITE AFRICAN	MISSISSIPPI	SH	Introduzido do Sul da África, 1938
WHITE SOURCELESS	USDA/ARS	SM	Acesso foi coletado no TEXAS, EUA 1961
WILEY	USDA/ARS	SM	(Collier/ MN 822) x MN 2046, 1965
WILLIAMS	USDA/ARS	SM	-
WRAY	MISSISSIPPI	SM	Mer. 57-1 x Brawley x Rio, 1981

---

EMBRAPA: Embrapa Milho e Sorgo, Sete Lagoas, Brasil; USDA/ARS: United States Department of Agriculture/Agricultural Research Service, Estados Unidos; ICRISAT: International Crops Research Institute for the Semi-Arid Tropics, Índia; MISSISSIPPI: Sugar Crops Field Station, Meridian, Mississippi, Estados Unidos; SH: Sorgo Sacarino Histórico; SM: Sorgo Sacarino Moderno; LIS: Landrace IS; LSSM: Landrace SSM; LMN: Landrace MN.

## **3.2 Caracterização morfoagronômica**

Em estudos realizados na maioria das coleções de germoplasma é comum a obtenção de dados morfológicos e agronômicos simultaneamente, o que explica a denominação de caracterização morfoagronômica. Para conhecer os acessos a serem explorados no melhoramento, é necessária a utilização de descritores morfológicos. Dessa forma, as características avaliadas no presente estudo foram selecionadas de acordo com a lista de descritores do *Sorghum bicolor* para fins de registro de cultivares, com base nas “Instruções Para Execução dos Ensaios de Distinguíbilidade, Homogeneidade e Estabilidade de Cultivares de Sorgo”, usadas pelo Serviço Nacional de Proteção de Cultivares da Secretaria de Desenvolvimento Agropecuário e Cooperativismo do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA, 1997).

### **3.2.1 Condução do Experimento**

O experimento foi conduzido na Embrapa Milho e Sorgo, em Sete Lagoas, Minas Gerais (19°28' latitude sul e 44°15'08" longitude oeste). Todas as observações foram feitas em 20 plantas ou em partes de 20 plantas, seguindo o teste de Distinguíbilidade, Homogeneidade e Estabilidade (MAPA, 1997). Assim, o experimento foi conduzido em canteiro, com apenas uma repetição, tratando-se assim de um experimento descritivo para avaliação preliminar das linhagens.

### **3.2.2 Descritores utilizados**

Foram avaliadas as seguintes partes das linhagens de sorgo sacarino: plântula, planta completa, colmo, folha, panícula e cariopse, avaliando-se um total de 51 descritores, conforme abaixo:

Plântula: pigmentação do coleóptilo pela antocianina, pigmentação da parte dorsal da primeira folha pela antocianina e pigmentação da bainha foliar pela antocianina;

Planta adulta: altura total, número de dias de emergência até o florescimento, cor da planta;

Colmo: diâmetro, suculência, qualidade do suco, capacidade de perfilhamento, sincronização dos perfilhos com o florescimento da planta-mãe;

Folha: inserção da folha no colmo; ondulação da margem foliar; comprimento da lâmina da terceira folha a partir da folha bandeira, largura da lâmina da terceira folha a partir da folha bandeira; pigmentação verde da folha, pigmentação da lâmina foliar pela antocianina, pigmentação da nervura central, ângulo entre a folha e o colmo e cerosidade da bainha.

Panícula: forma, densidade, comprimento da ráquis principal, comprimento da ramificação primária, forma e extensão do pedúnculo, comprimento da flor pedicelada, cor da gluma durante o florescimento, pigmentação da gluma pela antocianina, pigmentação da pubescência da gluma pela antocianina, comprimento da arista na lema, formação de aristas na pálea, pigmentação do estigma, comprimento estigma, pigmentação do ovário, pigmentação das anteras secas, pigmentação dos estames secos, cor da gluma na maturidade fisiológica e porcentagem do grão coberto pela gluma;

Cariopse: cor do cariótipo, forma dorsal, forma do perfil, peso de mil grãos, tamanho do embrião, presença da testa, presença de tanino, composição do endosperma, textura do endosperma, cor do endosperma, brilho, cor púrpura do pericarpo e capacidade de debrulha.

### **3.2.3 Análises Estatísticas**

#### **3.2.3.1 Análise de Correlação**

Primeiramente, foi realizada uma análise de correlação, com base no coeficiente de Pearson (PEARSON, 1896), entre todas as características recomendadas segundo o teste de DHE, para que fossem selecionadas variáveis mais informativas. As estimativas de correlações permitem prever o comportamento de uma característica quando se realiza a seleção em outra correlacionada. Para isso, foi utilizada a função `rcorr` do pacote `Hmisc`, disponíveis no software R (R CORE TEAM, 2014).

### 3.2.3.2 Análise de diversidade

Para o estudo da diversidade genética, primeiramente, foi realizado a padronização dos dados, conforme fórmula a seguir:

$$Z_{ij} = \frac{X_{ij} - \bar{X}_j}{S_j} \quad Z_{ij} \sim (0,1)$$

em que:

$Z_{ij}$  é o valor do  $j$ -ésimo caráter padronizado para o  $i$ -ésimo indivíduo;

$X_{ij}$  é o valor do  $j$ -ésimo caráter;

$\bar{X}_j$  é a média do  $j$ -ésimo caráter;

$S_j$  é o desvio-padrão do  $j$ -ésimo caráter.

Em seguida, foi gerada a matriz de dissimilaridade entre as linhagens, a partir da distância Euclidiana (CLIFFORD & STEPHENSON, 1975). Para isso, foram utilizadas as funções `scale` e `euclidean`, respectivamente, no software R. A distância euclidiana entre os indivíduos  $a$  e  $b$  é dada matricialmente por:

$$d_{ab} = [(X_a - X_b)' \cdot (X_a - X_b)]^{\frac{1}{2}}$$

em que:

$X_a = (X_{a1} \ X_{a2} \ \dots \ X_{ap})'$  = vetor de características do indivíduo  $a$ ;

$X_b = (X_{b1} \ X_{b2} \ \dots \ X_{bp})'$  = vetor de características do indivíduo  $b$ .

A partir da matriz de dissimilaridade fenotípica, foi realizado o agrupamento das linhagens através do método Neighbor-Joining (SAITOU & NEI, 1987), utilizando o software DARwin versão 6.0.4 (PERRIER E JACQUEMOUND-COLLET, 2006). O método de Neighbor-Joining é utilizado para a construção de árvores filogenéticas sem raiz. A partir de uma matriz de distância e de acordo com o princípio da evolução mínima, buscou-se encontrar pares de unidades taxonômicas operacionais (OTU's) que minimizam o comprimento total dos ramos (SAITOU & NEI, 1987). A idéia central da

técnica é identificar pares de vizinhos (neighbors) conectados por um nó interno. Dessa maneira, foi realizado a separação dos materiais em grupos de acordo com os nós das árvores e a separação em subgrupos foi feita para facilitar a explicação sobre a localização dos materiais.

### **3.2.3.3 Análise de Componentes Principais**

Com os dados obtidos a partir da caracterização morfoagronômica foi feita uma análise de componentes principais (Principal Component Analysis, PCA – PRICE et al., 2006), baseada na matriz de correlação. Com esta análise inferiu-se sobre quais caracteres foram os principais responsáveis pela discriminação das linhagens de sorgo sacarino via análise de diversidade genética. Para isso utilizou-se a função princomp, do pacote Stats do software R (R CORE TEAM, 2014).

## **3. 3 Caracterização Agronômica**

### **3.3.1 Condução do experimento e delineamento experimental**

O experimento foi conduzido na área experimental da Embrapa Milho e Sorgo. As parcelas experimentais foram constituídas por 4 fileiras de 5m de comprimento, com espaçamento de 0,70 m entre fileiras, em delineamento látice quadrado triplo 10x10. A adubação de plantio foi de 400 kg ha<sup>-1</sup> do formulado 08-28-16 e 200 kg ha<sup>-1</sup> de uréia em cobertura. Procedeu-se irrigação suplementar durante a condução do experimento, este que foi semeado no dia 19 de dezembro de 2013. Após 15 dias foi realizado o desbaste do experimento.

### **3.3.2 Características avaliadas**

As avaliações foram feitas nas duas fileiras centrais de cada parcela, considerando as seguintes características mais relacionadas a produção de açúcares e biomassa:

### 3.3.2.1 Caracteres tecnológicos relacionados à produção de açúcares:

Florescimento (FLOR): se trata do número de dias decorridos a partir da data de plantio até a emissão de pólen das estruturas florais de 50% das plantas de cada parcela experimental;

Altura de Planta (AP): na época da colheita, foi realizado a medida da altura média das plantas (cm) na área útil da parcela, sendo esta medida da superfície do solo ao ápice da panícula;

Produção de Massa Verde (PMV): foi determinada pela pesagem da área útil da parcela experimental, colhidas durante a maturidade fisiológica do grão. Em seguida foi realizada a pesagem das plantas inteiras sem panícula, por meio de balança de suspensão digital, em Kg. Os dados finais foram transformados em  $t.ha^{-1}$ ;

Extração de caldo (EXT): foram amostradas aleatoriamente 5 a 8 plantas inteiras por parcela, sem panículas, colhidas na área útil da parcela. Em seguida, as plantas foram desintegradas em desfibrador e homogeneizadas. Posteriormente, foi retirada uma amostra de aproximadamente 500 +/- 0,5 g para a extração do caldo em prensa hidráulica, com pressão mínima e constante de 250 kgf/cm<sup>2</sup> sobre a amostra, durante o tempo de 1 minuto. A partir do caldo extraído, foi anotado o peso (g) e o volume (ml) de caldo extraído da sub-amostra;

Sólidos Solúveis Totais (SST): foi determinado através do refratômetro digital de leitura automática, no qual os dados são lidos em °Brix;

Teor de sacarose no caldo (POL): é a medida da quantidade de sacarose (%) na mistura de açúcares;

Açúcares Redutores (AR): o teor de açúcares redutores (%), em peso de caldo foi calculado pela equação adaptada de CONSECANA (2006):

$$\text{AR \% caldo} = 3,641 - 0,0343 \times Q,$$

em que: Q corresponde a pureza aparente do caldo, expressa em porcentagem.

Foram avaliadas a severidade de quatro doenças que afetam o cultivo do sorgo sacarino, de acordo com Cota et al. (2010). A avaliação da severidade das doenças foi mensurada utilizando a escala de notas adaptada por Santos et al. (2005), onde: 0 - planta sadia; 1 - menos de 1% da área foliar afetada; 3 - entre 1 e 5% da área foliar afetada; 5 - entre 6 e 25% da área foliar afetada; 7 - entre 26 a 50% da folha afetada; 9 - mais que 50% da área foliar afetada.

Helminthosporiose (HEL): causada pelo fungo *Exserohilum turcicum*, se trata de uma doença que sob condições favoráveis e em cultivares suscetíveis, antes do florescimento da cultura, pode ocasionar perdas superiores a 50% na produção;

Antracnose (ANT): é considerada a doença mais importante da cultura do sorgo no Brasil, estando presente em praticamente, todas as áreas de plantio do país, é causada pelo fungo *Colletotrichum sublineolum*;

Ferrugem (FER): uma doença muito comum no Brasil, que se encontra distribuída por todas as áreas de plantio de sorgo. Sua maior incidência ocorre em regiões de temperaturas amenas e elevada umidade, como em algumas áreas de plantio da região Sudeste, é causada pelo fungo *Puccinia purpúrea*;

Míldio (MI): se trata de uma doença com ampla faixa de adaptação climática, sendo encontrada em todas as regiões de plantio de sorgo no Brasil. É causada pelo fungo *Peronosclerospora sorghi* e no experimento realizado foi avaliado o míldio sistêmico, devido à maior incidência quando comparado ao míldio localizado.

### **3.3.2.2 Caracteres tecnológicos relacionados à produção de biomassa:**

A célula vegetal é revestida por uma parede celular rígida, composta basicamente por celulose, mas em células adultas esta parede sofre um espessamento que pode

formar uma segunda parede composta por lignina e hemicelulose. A metodologia mais simples utilizada para as análises de lignina, hemicelulose e celulose é baseada no método de extração sequencial proposto por Van Soest & Wine (1968). A metodologia é subdividida na obtenção da FDA (fibras insolúveis em detergente ácido) e FDN (fibras insolúveis em detergente neutro). Desta maneira, faz-se necessário conhecer a estrutura e as principais características que estão relacionadas aos principais componentes da biomassa lignocelulósica, ou seja, lignina, hemicelulose, celulose, produção de massa verde e altura de plantas. Conforme descrito a seguir:

Lignina (LIG): embora muito importante para as plantas, a lignina dificulta a conversão enzimática em cadeias menores de açúcares, que podem ser fermentados a etanol. A determinação da lignina é feita sequencialmente à extração das fibras em detergente neutro e ácido, através da digestão do resíduo de FDN em solução de ácido sulfúrico e posterior calcinação;

Hemicelulose (HEM): a proporção de hemicelulose é determinada através de cálculos pela diferença entre os teores de FDN e FDA;

Celulose (CEL): após a determinação dos teores de FDA e de lignina, efetua-se a incineração do resíduo da lignina. A celulose corresponde à parte do resíduo que se perde com a incineração, e o que sobra, corresponde à cinza residual, que contém sílica. A celulose é então calculada por diferença de peso.

As mesmas doenças relacionadas com as variáveis que afetam a produção de açúcares, também foram relacionadas com as variáveis que afetam a produção de biomassa.

### **3.3.3 Análises Estatísticas**

#### **3.3.3.1 Componentes de variância**

As análises estatísticas dos dados agrônômicos foram realizadas com base em modelos mistos (HENDERSON, 1984). Para isso, foi utilizado o seguinte modelo matemático:

$$Y_{ijk} = \mu + G_i + R_j + B_{k(j)} + F_{ijk} + A_{ijk} + e_{ijk}$$

em que:

$Y_{ijk}$  é o valor fenotípico observado para o genótipo  $i$ , no bloco  $k$  da repetição  $j$ ;

$\mu$  é a média geral;

$G_i$  é o efeito aleatório do genótipo  $i$  com  $G_i \sim N(\mu, \sigma_G^2)$ ;

$R_j$  é o efeito fixo da repetição  $j$  ( $j = 1, \dots, 3$ );

$B_{k(j)}$  é o efeito aleatório do bloco  $k$ , dentro da repetição  $j$  ( $k = 1, \dots, 10$ ) com

$$B_{k(j)} \sim N(\mu, \sigma_B^2);$$

$F_{ijk}$  é o efeito fixo do florescimento do genótipo  $i$ , no bloco  $k$  da repetição  $j$ ;

$A_{ijk}$  é o efeito fixo da altura do genótipo  $i$ , no bloco  $k$  da repetição  $j$ ;

$e_{ijk}$  corresponde ao erro experimental associado a  $Y_{ijk}$ , com  $e_{ijk} \sim N(0, \sigma_R^2)$ .

As características florescimento e altura foram consideradas como covariáveis no modelo, uma vez que estas têm efeito direto no fenótipo de outras variáveis de grande interesse para a produção de açúcar e bioenergia.

As análises estatísticas foram feitas com o auxílio do software GenStat (PAYNE et al., 2012). No caso dos efeitos aleatórios, é recomendado o teste da razão de verossimilhanças (LRT - Likelihood Ratio Test, NEYMAN & PEARSON, 1928), gerando o quadro denominado Análise de Deviance. Para os efeitos fixos, foi usado o Teste de Wald (WALD, 1943). No teste de LRT a razão de verossimilhanças, que também apresenta distribuição  $X^2$  aproximada, foi obtida por meio da diferença entre o Deviance,  $-2 \times \text{Log Verossimilhança}$ , (NELDER & WEDDERBURN, 1972), do modelo reduzido e o Deviance do modelo completo, ou seja sem e com o efeito testado, respectivamente. A fórmula para o LRT encontra-se descrita abaixo, em que  $L(\theta)_r$  corresponde ao valor da função de verossimilhança obtido para o modelo reduzido, e  $L(\theta)$  ao valor da função de verossimilhança para o modelo completo:

$$LRT = -2 \times \left[ \text{Log} \frac{L(\theta)_r}{L(\theta)} \right]$$

Para o cálculo do coeficiente de variação e da herdabilidade, foram usadas as seguintes expressões:

$$CV = \left( \frac{\sqrt{\sigma^2_R}}{\bar{X}} \right) \times 100 \qquad h^2 = \frac{\sigma_G^2}{\sigma_G^2 + \frac{\sigma^2_R}{r}},$$

em que:  $\sigma^2_R$ , corresponde a variância residual,  $\bar{X}$  a média geral,  $\sigma_G^2$  a variância genética e  $r$  ao número de repetições.

Os componentes de variância foram estimados via REML (Restricted Maximum Likelihood) e as médias BLUP (Best Linear Unbiased Prediction) foram obtidas para os linhagens avaliadas para cada característica agrônômica de interesse (HENDERSON, 1949).

### **3.3.3.2 Análise de Correlação**

Com a finalidade de verificar a existência de variáveis altamente correlacionadas entre si e identificar variáveis informativas, foi realizada uma análise de correlação de Pearson, com base nas médias BLUP. Para isso, foi utilizada, novamente, a função `rcorr` do software R.

### **3.3.3.3 Análise de Diversidade Genética**

A análise de diversidade genética com base nos dados agrônômicos foi realizada seguindo os mesmos procedimentos empregados para os dados morfoagronômicos. Assim, a distância euclidiana foi usada como medida de dissimilaridade e o método de Neighbor-Joining para o agrupamento dos materiais de sorgo sacarino.

### **3.3.3.4 Análise de Componentes Principais**

Através das médias preditas (BLUP) obtidas para as características relacionadas com a produção de açúcares e biomassa foi realizado também a análise de componentes principais (PCA).

### 3.4 Caracterização Molecular

#### 3.4.1 Coleta de Material Vegetal

Amostras de folhas de cada uma das 100 linhagens foram coletadas em campo, e tiveram seu DNA extraído, seguindo o procedimento padrão do Laboratório de Biologia Molecular da Embrapa Milho e Sorgo para extração de DNA de folhas (LANA et al., 2010). Em seguida, o DNA coletado foi encaminhado para o IGD (Institute for Genomic Diversity) da Universidade de Cornell, onde foi realizada a genotipagem com base na técnica de GBS (Genotyping by sequencing - ELSHIRE et al., 2011).

De forma resumida, a técnica de GBS baseia-se na redução da complexidade genômica com base em diferentes combinações de enzimas de restrição (ER), específicas e otimizadas para cada espécie, para o corte do DNA total. Após a redução da complexidade via ER, e antes do sequenciamento, cada amostra de DNA a ser genotipada recebe adaptadores com sequências indexadoras (barcodes) que permitem mais tarde rastrear as sequências geradas para cada amostra. A seleção dos SNPs úteis é feita seguindo vários critérios, o que leva a uma redução significativa no número de SNPs considerados para análise. Mesmo assim, ao final do procedimento, obtém-se uma quantidade significativa de marcadores SNP (cerca de milhares), com grau de polimorfismo elevado.

A técnica de GBS apresenta as seguintes etapas:

- i) Redução da complexidade genômica e ligação de adaptadores: Esta etapa é realizada mediante digestão com enzimas de restrição;
- ii) Ligação de adaptadores comuns e adaptadores barcode: O adaptador do tipo barcode termina com uma sequência indexadora de 4 a 8 pb, seguida de 4 pb em forma de cadeia simples expostas no extremo 3', as quais são complementares ao extremo gerado pelo corte produzido pela enzima de restrição. Já o adaptador comum é igual para todas as amostras e deve ser incluído na mistura de digestão/ligação;
- iii) Digestão das amostras: As amostras são digeridas com uma enzima de restrição apropriada para o material genético que está sendo utilizado, possibilitando que os adaptadores se liguem as extremidades dos fragmentos de restrição, por meio de uma ligase. Essa ligase é desativada, posteriormente, por meio de aquecimento, e um pool contendo

os fragmentos de DNA genômico ligados aos adaptadores (denominados tags) é formado e, respectivamente, purificado por meio de um kit comercial para essa finalidade;

iv) Amplificação dos tags: A amplificação dos fragmentos digeridos utiliza dois iniciadores (primers) com sequências complementares aos adaptadores ligados, e uma reação de PCR é realizada;

v) Agrupamento, purificação e quantificação dos tags: Todos os tags amplificados com sucesso foram agrupados, enquanto as falhas foram removidas antes do agrupamento (pooling). Posteriormente, a mistura de tags é purificada e uma amostra deste produto é quantificada em uma estação automática de eletroforese, para que o tamanho dos fragmentos seja obtido e a viabilidade da amostra determinada, uma vez que dímeros de adaptadores possuem aproximadamente 128 pb de comprimento e os fragmentos de DNA, entre 170-350 bp, logo pela quantidade de dímeros é possível saber sobre a qualidade da amostra;

vi) Sequenciamento Illumina: As amostras, ou também chamadas de bibliotecas, obtidas de todo processo mencionado anteriormente, são utilizadas para o sequenciamento Illumina (Illumina, Inc., San Diego, CA);

O Sistema Illumina proporciona automação completa de um processo complexo como é a geração de clusters. Com pouca mão de obra ocorre a amplificação dos fragmentos, criando simultaneamente centenas de milhões de moldes de moléculas de DNA individuais em pouco tempo. A partir disso, ocorre a construção da biblioteca de sequenciamento de GBS que tomou como base o protocolo desenvolvido por Elshire (2011). Neste método, cada base é marcada com um corante fluorescente diferente, e uma DNA polimerase é capaz de incorporá-los à medida que o sequenciamento prossegue: a) Inicialmente, o DNA é fragmentado e ligado a adaptadores em ambas as extremidades do fragmento; b) Após uma desnaturação, os fragmentos são imobilizados em uma superfície densamente coberta por oligos complementares aos adaptadores; c) Cada fragmento fita-simples imobilizado cria uma ponte, ou seja, a outra extremidade do fragmento hibridiza com os oligos da superfície sólida, sendo clonados e formando um agrupamento (cluster); d) Reagentes de amplificação são adicionados e os adaptadores servem como iniciadores; e) Novamente se faz necessário uma reação de amplificação para que haja um aumento na intensidade do sinal luminoso emitido; f) Os reagentes são retirados e adicionados novamente, repetindo o ciclo de síntese; g) Em seguida ocorre o alinhamento das bases de cada fragmento, e estes são alinhados de acordo com um ge-

noma de referência. O sequenciamento de nova geração permite revelar polimorfismo de DNA em uma escala inédita (número de marcadores por unidade de tempo) através da comparação de sequências dos genomas sequenciados.

### **3.4.2 Seleção dos SNPs**

Após a genotipagem, os dados de marcadores SNP (Single Nucleotide Polymorphism) foram filtrados de acordo com os critérios de 5% de frequência do alelo raro (MAF, Minor Allele Frequency), e 5% de dados perdidos, utilizando o software TASSEL versão 5.1.0 (BRADBURY et al., 2007). O critério de filtragem para MAF pode variar de acordo com o tamanho amostral, mas limites entre 1 e 5% são comuns (ZIEGLER et al., 2008). Dessa maneira, de um total de X, restaram-se 40.206 marcadores SNPs para a realização das análises de diversidade genética.

### **3.4.3 Análises Estatísticas**

Para realizar o estudo de diversidade genética foi obtida uma matriz de dissimilaridade no software TASSEL, calculada a partir da matriz de similaridade gerada via IBS (Identity-by-state) (POWELL et al., 2010). Esta medida de similaridade leva em conta o número de alelos idênticos por estado, independentemente de serem ou não herdados de um ancestral comum. Os marcadores moleculares do tipo SNP permitem detectar polimorfismos de nucleotídeos em sequências de DNA, possibilitando estimar as relações genéticas entre indivíduos via IBS (POWELL et al., 2010). Assim, indivíduos com certa relação de parentesco irão compartilhar mais alelos IBS do que o esperado por acaso, com o grau de compartilhamento adicional proporcional ao grau de parentesco. Amostras idênticas apresentarão IBS próximo de 100%, e indivíduos aparentados terão IBS maior do que indivíduos não relacionados.

Em seguida, a partir da matriz de distâncias, foi realizado o agrupamento através do método Neighbor-Joining, utilizando o software DARwin.

## **4. Resultados e Discussão**

### **4.1 Análises estatísticas via modelos mistos**

Na Tabela 2 estão apresentados os resultados da análise estatística para cada característica avaliada em campo: florescimento (FLOR), altura de plantas (ALT), produção de massa verde (PMV), extração de caldo (EXT), sólidos solúveis totais (SST), teor de sacarose aparente (POL), açúcares redutores (AR), lignina (LIG), hemicelulose (HEM), celulose (CEL), e severidade para helmintosporiose (HEL), antracnose (ANT), ferrugem (FER) e míldio (MI). Foi constatada variância genética significativa entre os genótipos para todas as características estudadas. Quanto ao coeficiente de variação, este é muito importante para avaliar a qualidade do experimento, indicando maior controle da variabilidade e aumento da precisão experimental. O coeficiente de variação (CV) é classificado de baixo ( $CV < 10\%$ ) a muito alto ( $> 30\%$ ) (GOMES, 1990). No presente trabalho, o coeficiente de variação foi considerado satisfatório, pois segundo Steel & Torrie (1980), quanto menor o CV, mais homogêneos são os dados obtidos sob as mesmas condições, e maior será a precisão experimental. Este variou de 2,17 a 22,35. Com relação à herdabilidade, este é um parâmetro de fundamental importância para a estimação dos ganhos genéticos, e também, para a escolha dos métodos de seleção a serem aplicados (REIS, 2000). No presente estudo, a herdabilidade variou de 0,62 a 0,92.

**TABELA 2.** Componentes de variância, herdabilidade, coeficiente de variação (CV), significância dos efeitos fixos, média, mínimo e máximo para as médias BLUP das características avaliadas em linhagens de sorgo sacarino na Embrapa Milho e Sorgo.

FV	Significância													
	FLOR (dias)	ALT (m)	PMV (t.ha <sup>-1</sup> )	EXT (%)	SST (°Brix)	POL (%)	AR (%)	LIG (%)	HEM (%)	CEL (%)	HEL	ANT	FER	MS
<b>Efeitos fixos</b>														
R <sub>k(j)</sub>	NS	NS	NS	NS	**	*	NS	NS	NS	NS	*	NS	*	NS
F <sub>i</sub>	-	-	**	NS	*	*	*	NS	*	NS	-	-	-	-
A <sub>i</sub>	-	-	**	NS	NS	NS	NS	NS	NS	*	-	-	-	-
<b>Efeito aleatório</b>	<b>Componentes de variância</b>													
G <sub>i</sub>	42,86	0,11	65,30	31,48	2,52	2,59	0,03	0,4808	1,176	6,612	0,00	0,03	0,01	0,00
B <sub>l(kj)</sub>	2,00	0,02	NS	4,80	0,59	0,40	NS	0,122	1,014	0,495	NS	0,01	0,00	NS
E <sub>ijklmn</sub>	11,46	0,06	114,50	13,37	2,49	2,48	0,06	0,363	1,864	3,756	0,00	0,01	0,00	0,00
Média	77,70	2,74	46,62	61,68	13,76	8,76	1,45	5,813	21,86	36,85	0,92	1,73	1,38	0,99
Mínimo	56,00	1,50	11,71	35,98	6,70	1,51	0,57	3,647	17,7	29,76	1,00	2,27	1,62	1,00
Máximo	77,00	2,80	44,57	63,22	14,10	9,09	1,45	5,74	21,8	36,54	0,83	1,27	1,15	0,76
CV	4,36	8,73	22,95	5,93	11,46	17,98	16,90	10,36	6,25	5,26	3,17	11,65	7,11	2,17
Herdabilidade	0,92	0,85	0,63	0,88	0,75	0,76	0,62	0,80	0,65	0,84	0,69	0,65	0,64	0,65

FLOR: Florescimento; ALT: Altura; PMV: Produção de massa verde; EXT: Extração do caldo; SST: Sólidos solúveis totais; POL: Teor de sacarose; AR: Açúcares redutores; LIG: Lignina; HEM: Hemicelulose; CEL: Celulose; HEL: Helmintosporiose; ANT: Antracnose; FER: Ferrugem; MS: Míldio Sistemico. NS,\*,\*\*; não significativo e significativo a 5 e 1% de probabilidade, respectivamente pelo Teste de Wald. O NS para os efeitos aleatórios indica que o componente de variância não foi significativo de acordo com o Teste da razão de verossimilhanças.

## 4.2 Análise de correlação entre as variáveis

### 4.2.1 Correlação entre os dados morfoagronômicos

Foi realizada análise de correlação entre todas as 51 variáveis morfoagronômicas avaliadas. De acordo com Carvalho et al. (2004), as correlações medem o grau de associação entre duas variáveis e geralmente são utilizadas por permitir a seleção para uma característica de herança complexa, por meio de outra característica correlacionada e de mais fácil mensuração. Os coeficientes de correlação seguem uma magnitude de valores, onde valores iguais a zero, a correlação é nula, valores de zero a 0,30 é fraca, de 0,30 a 0,60 é média, de 0,60 a 0,90 é forte e de 0,90 a 1,00 é muito forte. Verificou-se que 16 variáveis apresentaram correlação muito forte, e a partir daí foram eliminadas, restando 35 variáveis para a continuação do estudo de caracterização morfoagronômica (TABELA 3).

Observou-se nessa análise que a maioria das correlações apresentou-se de nula a fraca. Sendo que apenas algumas correlações foram maiores que 0,3 e significativas a 5% de probabilidade, são elas: pigmentação do coleóptilo pela antocianina/pigmentação da bainha foliar pela antocianina, com correlação de 0,35; altura de plantas/ dias de emergência até o florescimento (0,31); qualidade do caldo/dias de emergência até o florescimento (0,36); qualidade do caldo/diâmetro do colmo (0,32); qualidade do caldo/suculência do colmo (0,58); sincronização dos perfilhos com florescimento/suculência do colmo (0,34); comprimento da lâmina foliar/ diâmetro do colmo (0,38); pigmentação da nervura foliar/comprimento da lâmina foliar (0,58); comprimento da ráquis principal/dias de emergência até o florescimento (0,31); comprimento da ramificação primária da panícula/ qualidade do caldo (0,31); forma e extensão do pedúnculo/dias de emergência até o florescimento (0,50); comprimento da flor pedicelada/ dias de emergência até o florescimento (0,4); comprimento do grão coberto pela gluma/qualidade do caldo (0,32); composição do endosperma/dias de emergência até o florescimento (0,32); composição do endosperma/diâmetro do colmo (0,45); textura do endosperma/dias de emergência até o florescimento (0,41); capacidade de debulha/pigmentação da parte dorsal da primeira folha pela antocianina (0,37); capacidade de debulha/dias de emergência até o florescimento (0,39); e capacidade de debulha/forma e extensão do pedúnculo (0,34).

**TABELA 3.** Estimativa dos coeficientes de correlação de Pearson (acima da diagonal), p-valor associado a cada estimativa de correlação (abaixo da diagonal), para as características morfoagronômicas selecionadas.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35
1		0,3	0,4	0,0	-0,1	0,0	-0,3	-0,3	-0,3	0,0	-0,1	-0,1	0,3	-0,1	0,1	0,1	-0,1	0,0	0,1	0,0	0,0	-0,1	0,3	-0,1	0,2	0,0	0,1	-0,1	0,0	0,1	0,1	0,0	0,0	0,3	0,0
2	0,0		0,2	0,1	0,0	0,0	-0,1	0,1	0,0	0,0	0,1	0,0	0,0	0,0	0,2	0,1	0,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	-0,1	0,1	0,1	-0,3	-0,1	0,1	-0,1	0,2	0,2	0,0	0,1	0,4	
3	0,0	0,0		0,0	-0,2	0,1	-0,1	-0,2	-0,1	0,1	-0,1	0,1	0,2	0,1	0,1	0,0	-0,1	0,1	0,1	0,0	0,1	0,2	-0,1	0,2	-0,1	-0,2	0,0	-0,2	0,0	0,2	0,0	0,2	0,1	0,2	
4	0,7	0,3	0,7		0,3	0,3	0,2	0,1	0,3	0,0	0,0	0,2	0,3	0,2	-0,3	0,1	0,1	0,2	0,0	0,2	0,1	0,0	0,1	0,0	0,1	0,0	0,0	0,2	-0,1	0,0	0,2	-0,3	-0,1	0,2	
5	0,3	0,7	0,1	0,0		0,2	0,3	0,2	0,4	0,0	0,1	0,1	0,1	0,1	-0,3	0,1	0,3	0,3	0,3	0,5	0,4	0,2	0,3	0,2	0,2	0,2	0,1	0,3	0,1	0,3	0,4	0,1	0,1	0,3	
6	0,7	1,0	0,6	0,0	0,0		0,1	0,1	0,1	-0,1	0,0	0,0	0,0	0,0	-0,1	-0,2	-0,1	0,0	0,0	0,2	0,2	0,1	0,2	0,1	0,0	0,0	0,0	0,3	0,0	0,0	0,0	-0,1	0,0	0,2	
7	0,0	0,5	0,6	0,0	0,0	0,5		0,3	0,3	0,0	0,0	0,4	-0,1	0,4	-0,3	-0,2	-0,1	-0,1	0,1	0,0	0,1	0,2	-0,2	0,2	0,1	0,1	0,2	0,2	0,0	0,5	0,1	0,0	-0,1		
8	0,0	0,4	0,1	0,4	0,1	0,6	0,0		0,7	-0,2	0,3	0,2	-0,3	0,2	0,0	0,0	-0,2	0,1	0,3	-0,1	-0,1	0,1	-0,1	0,1	-0,1	0,3	0,1	-0,1	-0,2	0,2	0,1	0,2	0,0		
9	0,0	0,8	0,2	0,0	0,0	0,4	0,0	0,0		-0,1	0,2	0,2	-0,1	0,2	-0,1	0,1	-0,1	0,2	0,3	0,2	0,2	0,2	0,0	0,1	-0,1	0,3	0,1	0,0	-0,1	0,2	0,2	0,1	-0,1		
10	0,8	0,7	0,3	0,7	1,0	0,6	0,9	0,0	0,2		-0,6	0,0	-0,1	0,0	-0,1	-0,1	-0,1	-0,1	-0,1	0,0	-0,1	0,1	0,0	0,0	0,0	-0,2	0,1	-0,1	-0,1	0,1	0,0	-0,1	-0,1		
11	0,4	0,6	0,4	0,8	0,2	0,9	0,7	0,0	0,0	0,0		0,0	0,1	0,0	0,1	0,1	0,1	0,3	0,3	0,0	0,1	0,1	0,0	0,0	-0,1	0,2	-0,1	0,0	0,0	0,0	0,2	0,0	0,1		
12	0,7	0,8	0,2	0,1	0,3	1,0	0,0	0,1	0,0	0,9	0,8		-0,1	1,0	-0,1	0,0	-0,2	0,0	0,3	0,0	-0,2	0,1	-0,3	0,0	-0,1	0,1	0,0	0,1	-0,1	0,2	0,0	0,0	-0,1		
13	0,0	0,9	0,1	0,0	0,3	0,7	0,3	0,0	0,3	0,3	0,5	0,2		-0,1	0,0	0,1	0,2	0,1	0,1	0,2	0,2	0,0	0,3	-0,1	0,1	0,2	-0,1	0,2	0,1	-0,1	0,2	-0,2	0,1	0,2	
14	0,7	0,8	0,2	0,1	0,3	1,0	0,0	0,1	0,0	0,9	0,8	0,0	0,2		-0,1	0,0	-0,2	0,0	0,3	0,0	-0,2	0,1	-0,3	0,0	-0,1	0,1	0,0	0,1	-0,1	0,2	0,0	0,0	-0,1		
15	0,5	0,1	0,5	0,0	0,0	0,3	0,0	1,0	0,3	0,5	0,3	0,2	0,7	0,2		0,0	-0,2	0,0	-0,1	-0,2	0,0	-0,2	0,0	0,0	-0,2	0,2	-0,2	-0,2	0,0	-0,4	0,1	-0,1	0,2		
16	0,2	0,3	0,8	0,5	0,2	0,1	0,0	1,0	0,4	0,5	0,5	0,7	0,5	0,7	0,9		0,4	0,1	0,0	0,0	-0,1	0,1	0,1	0,0	0,2	0,1	0,1	0,0	-0,1	-0,1	0,0	0,0	0,0		
17	0,4	0,6	0,4	0,2	0,0	0,3	0,5	0,1	0,2	0,2	0,7	0,1	0,1	0,1	0,1	0,0		-0,1	-0,2	0,2	0,0	0,1	0,0	0,2	-0,1	-0,1	-0,1	0,1	0,1	0,0	0,1	0,0	0,1		
18	0,8	0,8	0,3	0,1	0,0	0,9	0,6	0,2	0,1	0,4	0,0	0,7	0,4	0,7	0,8	0,2	0,4		0,4	0,2	0,3	0,1	0,2	0,1	0,2	0,1	0,1	0,1	0,2	0,0	0,3	0,2	0,2		
19	0,6	0,7	0,3	0,9	0,0	0,8	0,6	0,0	0,0	0,3	0,0	0,0	0,4	0,0	0,6	0,9	0,0	0,0		0,2	0,2	0,1	0,0	-0,1	0,1	0,3	0,1	0,2	0,0	0,2	0,0	0,2	0,2		
20	1,0	0,7	1,0	0,1	0,0	0,0	1,0	0,3	0,1	0,9	0,7	0,8	0,0	0,8	0,0	0,9	0,1	0,0	0,1		0,3	0,1	0,2	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,3	0,2	0,2	0,4	0,1		
21	0,9	0,9	0,5	0,2	0,0	0,1	0,2	0,6	0,1	0,5	0,2	0,1	0,1	0,1	0,8	0,8	0,9	0,0	0,1	0,0		0,0	0,3	0,2	0,2	0,2	-0,1	0,0	0,3	0,0	0,3	0,0	0,1		
22	0,5	1,0	0,1	0,7	0,1	0,5	0,0	0,3	0,1	0,5	0,3	0,4	0,9	0,4	0,0	0,6	0,6	0,3	0,2	0,3	0,8		0,0	0,3	0,1	0,0	0,2	-0,1	0,0	0,3	0,1	0,2	0,0		
23	0,0	0,9	0,5	0,7	0,0	0,1	0,0	0,2	1,0	0,7	0,9	0,0	0,0	0,0	0,9	0,2	0,8	0,1	0,9	0,0	0,0	0,8		0,0	0,4	0,2	0,1	0,2	0,0	-0,1	0,1	-0,1	0,1		
24	0,4	0,4	0,0	0,9	0,0	0,5	0,0	0,4	0,5	0,8	0,9	0,6	0,9	0,7	0,3	0,1	0,6	0,2	0,4	0,0	0,0	0,8		0,0	-0,2	0,2	-0,1	0,0	0,2	0,2	0,1	-0,1	0,2		
25	0,1	0,2	0,6	0,7	0,0	0,9	0,3	0,6	0,5	0,7	0,5	0,3	0,4	0,3	0,1	0,7	0,2	0,1	0,6	0,2	0,0	0,6	0,0	0,9		0,1	0,1	0,1	0,2	0,0	0,0	-0,1	0,1		
26	0,9	0,3	0,0	0,8	0,1	0,8	0,3	0,0	0,0	0,1	0,1	0,6	0,1	0,6	0,1	0,1	0,4	0,2	0,0	0,3	0,1	0,8	0,0	0,1	0,2		0,1	0,2	0,1	-0,1	0,2	0,1	0,0		
27	0,2	0,0	0,9	0,7	0,6	0,8	0,1	0,3	0,5	0,3	0,4	0,8	0,5	0,8	0,0	0,2	0,4	0,2	0,2	0,6	0,4	0,1	0,4	0,1	0,2	0,2		0,2	-0,2	0,4	-0,1	0,0	0,2		
28	0,6	0,2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,1	0,4	1,0	0,2	1,0	0,3	0,0	0,3	0,0	0,5	0,2	0,3	0,1	0,0	0,7	0,4	0,1	0,4	0,2	0,1	0,1		0,0	0,0	0,0	-0,2	0,0		
29	0,8	0,2	0,9	0,2	0,3	0,9	0,9	0,1	0,4	0,4	0,8	0,4	0,6	0,4	0,9	0,7	0,2	0,1	1,0	0,1	0,0	0,7	0,8	0,8	0,2	0,5	0,1	0,7		-0,1	0,1	0,3	0,3		
30	0,6	0,4	0,0	0,8	0,0	0,7	0,0	0,1	0,1	0,5	0,8	0,0	0,4	0,0	0,0	0,3	1,0	0,9	0,1	0,1	0,9	0,0	0,4	0,1	0,1	0,4	0,0	0,9	0,3		0,0	0,2	0,2		
31	0,5	0,1	0,8	0,1	0,0	0,8	0,2	0,6	0,1	0,9	0,1	1,0	0,0	1,0	0,3	0,7	0,3	0,0	0,9	0,0	0,0	0,2	0,2	0,1	0,7	0,0	0,6	1,0	0,3	0,7		0,2	0,3		
32	0,8	0,0	0,1	0,0	0,2	0,2	0,9	0,0	0,4	0,6	0,9	0,9	0,0	0,9	0,3	1,0	1,0	0,1	0,1	0,2	0,9	0,0	0,4	0,0	0,9	0,3	0,9	0,0	0,0	0,0	0,1		0,2		
33	0,9	0,7	0,3	0,2	0,2	0,9	0,9	0,7	0,5	0,4	0,9	0,5	0,9	0,3	0,8	0,9	0,0	0,1	0,0	0,2	0,1	0,5	0,6	0,2	0,8	0,1	0,9	0,0	0,1	0,0	0,0		0,0		
34	0,0	0,2	0,5	0,1	0,0	0,1	0,5	0,5	0,3	0,1	0,0	0,3	0,0	0,3	0,1	0,9	0,2	0,0	0,5	0,0	0,0	1,0	0,3	0,1	0,4	0,4	0,8	0,0	0,8	0,9	0,0	0,6	0,8		
35	0,8	0,0	0,1	0,4	0,0	0,2	0,8	0,7	0,3	0,4	0,5	0,5	0,1	0,5	0,6	0,2	0,3	0,1	0,0	0,0	0,0	0,2	0,3	0,8	0,6	0,2	0,3	0,7	0,0	0,6	0,0	0,0	0,3		

1- Pigmentação do coleóptilo pela antocianina; 2- Pigmentação da parte dorsal da 1ª folha; 3- Pigmentação da bainha foliar pela antocianina; 4- Altura Total; 5- Dias de emergência até o florescimento; 6- Cor da planta; 7- Diâmetro do colmo; 8- Suculência; 9- Qualidade do suco; 10- Perfilhamento; 11- Sincronização dos perfilhos com o florescimento da planta-mãe; 12- Comprimento da lâmina da 3ª folha; 14- Pigmentação da lâmina foliar pela antocianina; 15- Pigmentação da nervura central; 16- ângulo entre a folha e o colmo; 17- Forma da panícula; 18- Densidade da panícula; 19- Comprimento da ráquis principal; 20- Comprimento da ramificação 1º; 21- Forma e extensão do pedúnculo; 22- Comprimento da flor pedicelada; 23- Cor da gluma; 24- Formação de aristas na pálea; 25- Pigmentação estigma; 26- Comprimento do estigma; 27- Porcentagem do grão coberto pela gluma; 28- Cor do grão; 29- Peso de mil grãos; 30- Presença da testa; 31- Composição do endosperma; 32- Textura do endosperma; 33- Brilho do grão; 34- Cor púrpura no pericarpo; 35- Capacidade de debulha.

#### 4.2.2 Correlação entre os dados agronômicos

Foi realizada análise de correlação entre todas as variáveis agronômicas avaliadas com base nas médias BLUP obtidas (TABELA 4). Verificou-se que a maioria das variáveis possui correlação não significativa.

**TABELA 4.** Estimativa dos coeficientes de correlação de Pearson (acima da diagonal), p-valor associado a cada estimativa de correlação (abaixo da diagonal), para as médias BLUP obtidas para as características avaliadas em campo na Embrapa Milho e Sorgo.

	FLOR	ALT	PMV	EXT	SST	POL	AR	LIG	HEM	CEL	HEL	ANT	FER	MI
FLOR		0,45	0,18	0,19	0,09	0,09	-0,05	-0,19	-0,16	-0,19	-0,25	0,02	0,03	-0,09
ALT	0,00		-0,08	0,11	0,13	0,14	-0,13	0,01	-0,07	0,02	-0,14	0,08	0,09	-0,02
PMV	0,07	0,42		0,29	-0,29	-0,32	0,33	-0,37	-0,20	-0,43	-0,19	0,16	0,16	-0,15
EXT	0,05	0,29	0,00		0,34	0,33	-0,27	-0,41	-0,48	-0,44	-0,11	-0,13	-0,13	0,05
SST	0,37	0,19	0,00	0,00		0,97	-0,82	-0,62	-0,75	-0,60	-0,04	-0,05	-0,05	0,09
POL	0,35	0,15	0,00	0,00	0,00		-0,92	-0,59	-0,73	-0,56	-0,01	-0,07	-0,06	0,10
AR	0,59	0,20	0,00	0,01	0,00	0,00		0,45	0,61	0,42	-0,06	0,12	0,12	-0,13
LIG	0,06	0,92	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00		0,84	0,95	0,25	-0,10	-0,10	0,14
HEM	0,12	0,50	0,05	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00		0,80	0,12	0,00	0,00	-0,03
CEL	0,06	0,86	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00		0,25	-0,09	-0,10	0,18
HEL	0,01	0,17	0,05	0,26	0,71	0,90	0,52	0,01	0,23	0,01		-0,41	-0,42	0,25
ANT	0,87	0,43	0,12	0,20	0,60	0,50	0,22	0,33	0,98	0,37	0,00		1,00	-0,17
FER	0,78	0,38	0,12	0,21	0,64	0,54	0,23	0,31	0,99	0,34	0,00	0,00		-0,17
MI	0,36	0,83	0,14	0,61	0,39	0,34	0,19	0,15	0,78	0,07	0,01	0,09	0,08	

FLOR: Florescimento; ALT: Altura; PMV: Produção de Massa Verde; EXT: Extração de caldo; SST: Sólidos solúveis totais; POL: Teor de sacarose; AR: Açúcares Redutores; LIG: Lignina; HEM: Hemicelulose; CEL: Celulose, HEL: Helminthosporiose; ANT: Antracnose; FER: Ferrugem; MI: Míldio.

As correlações não significativas ( $p\text{-valor} > 0,05$ ) ocorreram entre quase todas as variáveis correlacionadas com florescimento, com exceção apenas da produção de massa verde (PMV), para todas as correlações com a variável altura e para a maioria das correlações com as doenças. Do total de 91 correlações agronômicas, apenas 37 foram significativas de acordo com o p-valor associado a cada estimativa do coeficiente de correlação e independentemente da significância estatística; 4,4% foram consideradas muito fortes; 9,9% fortes; 16,5% médias; e 69,2,0% fracas. Na porcentagem acumulada das correlações, apenas 30,8% enquadraram-se entre média e muito forte.

As características que quantificam os teores de açúcares (SST, AR e POL) e biomassa (LIG, HEM e CEL) apresentaram as maiores correlações. A característica PMV, apresentou correlação positiva e moderada para as características correspondentes aos teores de açúcar, com exceção do AR, que foi negativa. Já para as características relacionadas à biomassa, a PMV apresentou correlação negativa para lignina, hemicelulose e celulose.

### 4.3 Análise de diversidade

#### 4.3.1 Diversidade baseada em dados morfoagronômicos

A caracterização morfoagronômica possibilitou a identificação de descritores que podem ser utilizados na discriminação das linhagens. Dentre os 35 caracteres morfológicos selecionados, alguns são mais importantes para o melhoramento genético do sorgo sacarino, principalmente com relação à produção de açúcares e biomassa, como: florescimento, altura total, diâmetro do colmo, suculência do colmo, qualidade do caldo, perfilhamento, densidade da panícula e cor da nervura foliar. Os resultados dos caracteres morfoagronômicos avaliados com a respectiva classe e frequência são apresentados na Tabela 5.

**TABELA 5-** Caracteres morfoagronômicos selecionados, classes fenotípicas e frequência de cada característica avaliada na Embrapa Milho e Sorgo

<b>Caráter</b>	<b>Classe</b>	<b>Frequência (%)</b>
Pigmentação do coleóptilo pela antocianina	1-Ausente	76
	2-Presente	24
Pigmentação da parte dorsal da 1° folha pela antocianina	1-Ausente	91
	2-Média	1
	3-Forte	8
Pigmentação da bainha foliar pela antocianina	1-Ausente	94
	2-Forte	6
Altura Total	1-Muito baixa (<80cm)	30
	2-Baixa (81 a120 cm)	10
	3-Média (121 a180 cm)	22
	4-Alta (181 a240 cm)	10
	5-Muito alta (> 241cm)	28
Dias de emergência até o florescimento	1-Média	3
	2-Tardia	22
	3-Muito tardia	74
Cor da planta	1-Palha	55
	2-Vermelha	8
	3-Púrpura	37

**TABELA 5**, continuação

Diâmetro do colmo	1-Pequeno	67
	2-Médio	14
	3-Grande	19
Suculência do colmo	1-Seco	23
	2-Suculento	77
Qualidade do suco	1-Insípido	39
	2-Doce	61
Capacidade de perfilhamento	1-Ausente	64
	2-Baixo	29
	3-Alto	7
Sincronização dos perfilhos com o florescimento	1-Coincidente	19
	2-Não coincidente	81
Comprimento da 3 <sup>o</sup> lâmina foliar partir da folha bandeira	1-Curta	20
	2-Média	59
	3-Longa	21
Pigmentação da lâmina foliar pela antocianina	1-Verde Clara	1
	2-Verde médio	47
	3-Verde Escuro	52
Pigmentação da nervura central a partir da folha bandeira	1-Branca	20
	2-Esverdeada	59
	3-Marrom	21
Ângulo entre a lâmina foliar e o colmo, medido na 3 <sup>o</sup> folha a partir da folha bandeira	1-Médio (30 a 60°)	48
	2-Grande (>60°)	52
Forma da panícula	1-Ramos primários eretos	40
	2-Ramos primários pendentes	15
	3-Elíptica	19
	4-Semi-compacta	5
	5-Semi-aberta	19
	6-Tipo vassoura	1
Densidade da panícula	1-Muito aberta	5
	2-Aberta	10
	3-Semi-aberta	30
	4-Semi-compacta	29
	5-Compacta	25
Comprimento da ráquis principal da panícula	1-Curto (3 a 6 cm)	3
	2-Médio (6,1 a 12 cm)	26
	3-Longo (12,1 a 24cm)	63
	4-Muito longo (>24cm)	7
Comprimento da ramificação primária da panícula	1-Muito curto (<3cm)	12
	2-Curto (3 a 6 cm)	68
	3-Médio (6,1 a 12 cm)	17
	4-Longo (12,1 a 24cm)	2
Forma e extensão do pedúnculo	1-Alongado (2a10cm)	15
	2-Muito alongado (>10cm)	80
	3-Recurvado (pescoço de ganso)	5
Comprimento da flor pedicelada	1-Médio	22
	2-Longo	67
	3-Muito longo	10
Cor da gluma	1-Branca	40
	2-Cinza	1
	3-Amarela	31

**TABELA 5**, continuação

	4-Marrom	27
Formação da arista na pálea	1-Ausente	88
	2-Presente	12
Pigmento do estigma	1-Ausente	76
	2-Amarelo	20
	3-Púrpura	3
Comprimento do estigma	1-Curto	59
	2-Médio	21
	3-Longo	16
Comprimento do cariopse coberto pela gluma	1-até 25%	12
	2-até 50%	55
	3-até 75%	27
	4-totalmente coberta	5
Cor do cariopse	1-Branca	5
	2-Cinza	19
	3-Creme	24
	4-Amarela	2
	5-Marrom clara	24
	6-Marrom	25
Peso de mil sementes	1-16	47
	2-17	1
	3-18	30
	4-20	21
Presença de testa	1-Ausente	84
	2-Presente	15
Composição do endosperma	1-75% de amilopectina	96
	2-doce	3
Textura do endosperma	1-Completa.vítreo	3
	2-3/4 vítreo	32
	3-1/2 vítreo	16
	4-3/4 farináceo	25
	5-Completa.farináceo	23
Cor do endosperma	1-Branco	34
	2-Amarelo	65
Brilho do cariopse	1-Cristalino	68
	2-Não cristalino	31
Cor púrpura no pericarpo	1-Ausente	89
	2-Presente	10
Capacidade de debulha (% grãos retidos na panícula)	1-1 a 5%	95
	2-6 a 10%	4

Dentre estes descritores, é possível notar que alguns possuem herança monogênica ou seja, estão relacionados com um ou poucos genes, como aqueles relacionados à pigmentação, e outros com herança poligênica, como aqueles relacionados às variáveis para produtividade. Com relação aos descritores de herança poligênica, os dados do presente trabalho podem apenas auxiliar na realização de outros estudos de caracterização, com base em um delineamento experimental adequado.

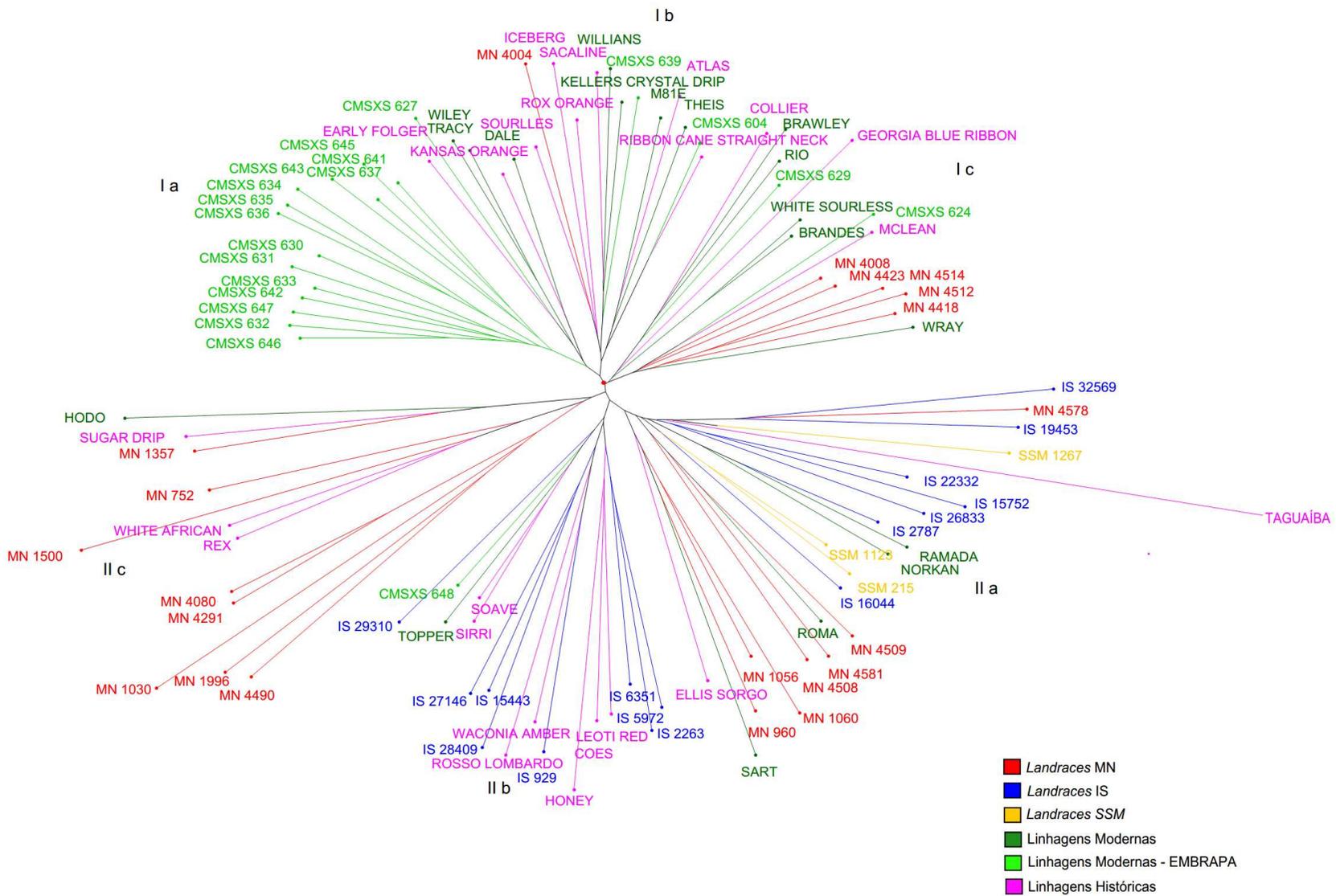
O agrupamento das linhagens, de acordo com método de Neighbor-Joining está apresentado na Figura 1. Neste método de agrupamento não há preocupação com um número ótimo de grupos, uma vez que o número de ramificações obtidas na árvore é mais interessante. Através de um exame visual, avaliando os pontos de alta mudança de nível, foi possível observar a formação de dois grupos, com três subgrupos cada (CRUZ et al., 2011). O valor de dissimilaridade mínimo apresentado entre as linhagens foi 2.80 e o valor máximo foi 21.27.

Notou-se a existência de dois grupos maiores, em que para melhor explicação foram separados em três subgrupos cada. No subgrupo Ia houve forte similaridade entre a maioria das linhagens CMSXS. As linhagens Theis, Wray, Brandes e Rio, presentes em Ib e Ic são genitoras dessas linhagens, conforme mostrado na tabela 1. Essas linhagens são ricas principalmente em sacarose, e são materiais de bastante interesse para o melhoramento genético de sorgo sacarino, pois todas possuem produtividade de colmos superior a 40 t ha<sup>-1</sup> e teor de sólidos solúveis médios entre 16 e 20 °Brix. No subgrupo Ib, houve maior similaridade entre algumas linhagens históricas e modernas. Neste grupo, a linhagem ME81, está próxima de seus genitores Rio e Brawley, a linhagem Dale e um de seus genitores, Tracy e a linhagem Theis e Wiley. E no subgrupo Ic estão algumas landraces MN, juntamente com a linhagem Wray, que se encontrou próxima de seus genitores Brawley e Rio. Esse agrupamento pode ter ocorrido devido ao fato de todos esses materiais apresentarem altura baixa (< 80 cm), e a densidade das panículas variou de semi-aberta a aberta, divergindo dos outros materiais do grupo I.

Pode-se notar também que as linhagens dos subgrupo Ia e Ib são aquelas que se destacaram dentre todo o agrupamento, na classificação em relação a algumas importantes variáveis, como: altura total, consideradas altas a muito altas (> 200 cm); com relação ao florescimento foram consideradas de tardias a muito tardias; o diâmetro do colmo variou de médio a grande; os colmos foram classificados como suculentos; a qualidade do açúcar foi doce (> 8° BRIX); a capacidade de perfilhamento foi nula ou baixa; a pigmentação da nervura central variou de verde à marrom; a densidade da panícula variou de semi-compacta a compacta; e o comprimento da ramificação primária variou de curto à muito curto.

Já no subgrupo IIa, houve o agrupamento de algumas landraces IS, MN e SSM, juntamente com algumas linhagens modernas, Ramada, Norkan, Roma e Sart. A landrace MN 1056 é genitora da linhagem Roma, e juntamente com a landrace MN

1060, forma a linhagem Ramada, podendo assim explicar a aproximação entre elas. As landraces MN, apresentaram florescimento variando de tardio a muito tardio, e a densidade da panícula variando de compacta a semi-compacta. E as landraces IS, possuem a altura total variando de baixa a média e os colmos, com exceção da IS 26833, são secos. A linhagem Taguaíba, também se encontrou no grupo, porém com distância bem extrema aos demais materiais, sendo explicado pelo não florescimento deste material no experimento. O subgrupo IIb, foi composto por materiais não melhorados geneticamente, com exceção do CMSXS 648. Todos os materiais apresentaram florescimento tardio e o diâmetro do colmo pequeno. E no subgrupo IIc, agruparam-se algumas linhagens históricas, com algumas landraces MN, o florescimento neste grupo variou de médio a tardio.



**FIGURA 1.** Agrupamento das linhagens avaliadas na Embrapa Milho e Sorgo de acordo com o método de Neighbor-Joining, para as características morfoagronômicas.

### **4.3.2 Diversidade baseada em dados agronômicos**

#### **4.3.2.1 Variáveis relacionadas à produção de açúcares**

Para as variáveis relacionadas à produção de açúcares: florescimento (FLOR), altura (ALT), extração (EXT), produção de massa verde (PMV), teor de sólidos solúveis (SST), teor de sacarose no caldo (POL), açúcares redutores (AR), além das doenças, helmintosporiose (HEL), antracnose (ANT), ferrugem (FER) e míldio (MS) o valor de dissimilaridade mínima apresentado foi 0,87 e o valor máximo 9,89. Foi possível notar a formação de dois grupos, com dois subgrupos cada, conforme a Figura 2. Como a variância genética mostrada anteriormente foi significativa, existe variabilidade entre os materiais.

Verificou-se que no subgrupo Ia ocorreu o agrupamento da maioria das linhagens CMSXS, apenas com exceção das linhagens CMSXS 604 e CMSXS 624. As linhagens Wray, Theis e Rio, genitoras dessas linhagens, se localizaram neste grupo; a linhagem Rio é um dos genitores das linhagens Wray e CMSXS 642; com relação a linhagem Dale, seus dois genitores Tracy e MN 960 também se encontraram neste grupo. No subgrupo Ib, verificou-se o agrupamento da maioria das landraces IS e MN, com algumas linhagens históricas e modernas. No subgrupo IIa, houve o agrupamento de apenas quatro linhagens, Sirri, Leoti red, Roma e Soave. E o subgrupo IIb, foi composto pela maioria das linhagens históricas, algumas linhagens modernas e algumas landraces MN e IS. A linhagem CMSXS 624 ficou mais próxima de um de seus genitores, Brandes. As linhagens modernas Sugar Drip, Rox Orange e Iceberg, pertencem a classificação de sorgo, conhecido como Orange.

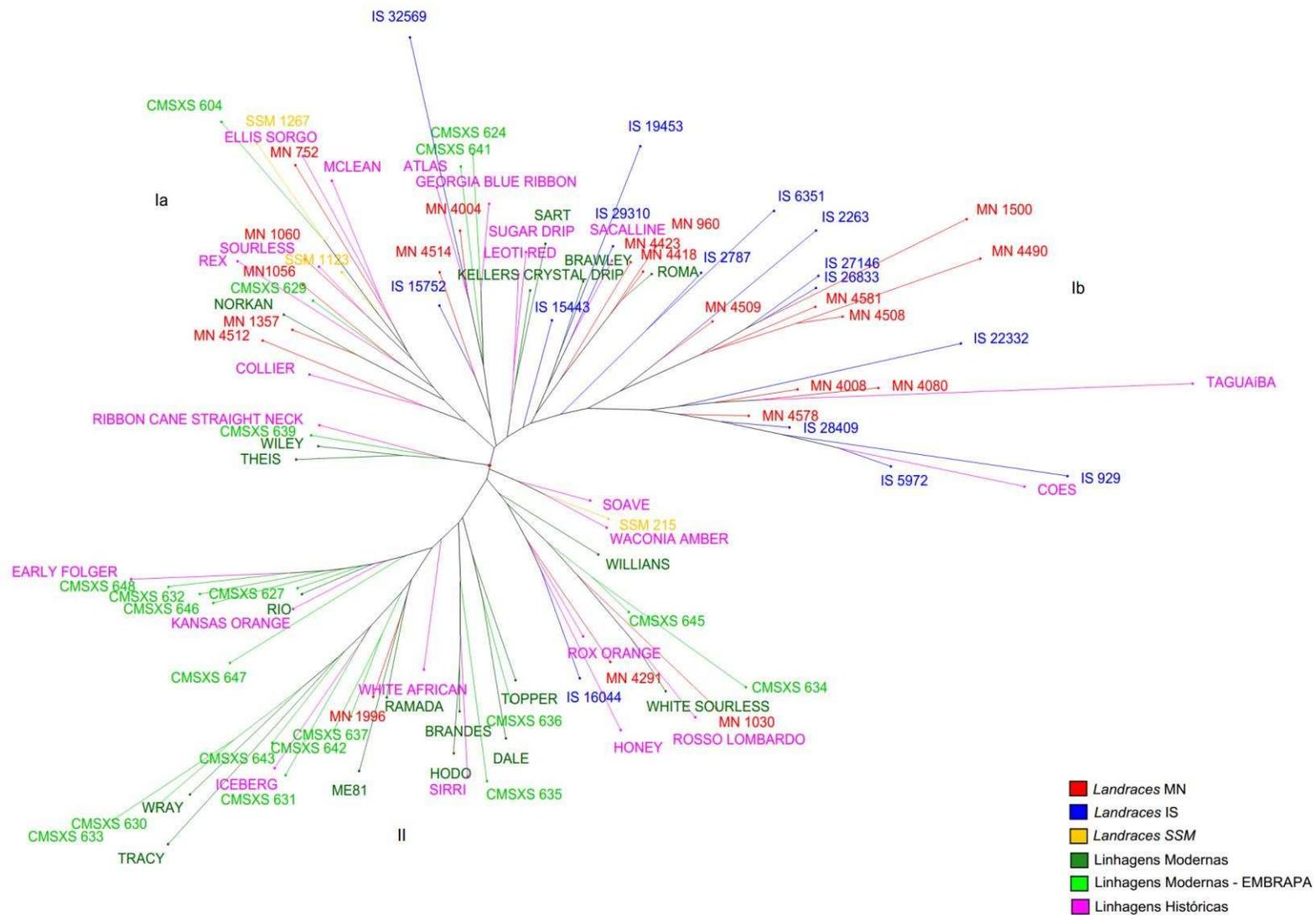
As características produção de massa verde (PMV) e teor de sólidos solúveis totais (SST) merecem destaque, quando se trata da obtenção de cultivares para a produção de etanol de primeira geração, uma vez que materiais com alta produção de biomassa associada a alto teor de SST são mais promissores para a produção de etanol. Neste caso, o subgrupo Ia apresentou os melhores resultados, sendo SST (13,84° Brix) e PMV (46,82 t.ha<sup>-1</sup>). Destaca-se que o agrupamento dos genótipos baseado nas linhagens e seus genitores não foi muito eficiente nesta análise de diversidade.



#### 4.3.2.2 Variáveis relacionadas à produção de biomassa

As características avaliadas para o estudo da diversidade entre as variáveis relacionadas à produção de biomassa foram: produção de massa verde (PMV), altura total de plantas (AT), lignina (LIG), hemicelulose (HEM), celulose (CEL), e também as doenças, helmintosporiose (HEL), antracnose (ANT), ferrugem (FER) e míldio sistêmico (MS) (FIGURA 3). A dissimilaridade mínima apresentada foi de 0.52 e a máxima de 9.43. As linhagens foram agrupadas em dois grupos, com dois subgrupos no grupo I. No subgrupo Ia notou-se grande variabilidade entre os tipos de materiais, com materiais modernos, históricos, landraces MN, IS e SSM. A linhagem Wiley, se encontrou próxima de seu genitor, Collier, a linhagem Theis, de seu genitor Wiley, Norkan próxima de Atlas e Roma da landrace MN 1060. O subgrupo Ib, foi o que apresentou maior homogeneidade entre os materiais. Houve o agrupamento da maioria das landraces MN e IS. E no grupo II, houve o agrupamento da maioria das linhagens CMSXS, e de seus genitores, Theis, Wray, Rio e Brandes

Ao se tratar do sorgo sacarino para a produção de etanol de segunda geração, o desenvolvimento de cultivares com uma maior PMV torna-se relevante, já que isso significa uma maior fonte de matéria prima, além disso, é necessária baixa proporção de lignina. Relacionando PMV e lignina, usou-se o critério maior PMV e menor proporção de lignina, já que cultivares com altas proporções de lignina não são indicados para a produção de etanol a partir de biomassa, uma vez que tal composto é um complicador no processamento da matéria verde. Observou-se que o grupo II apresentou o menor teor de lignina (5,81%) e a maior quantidade de PMV (46,48 t.ha<sup>-1</sup>), mostrando apresentar o melhor desempenho entre os genótipos para a produção do etanol de segunda geração. Notou-se que o agrupamento dos genótipos baseado nas linhagens e seus genitores também não foi muito eficiente neste agrupamento.



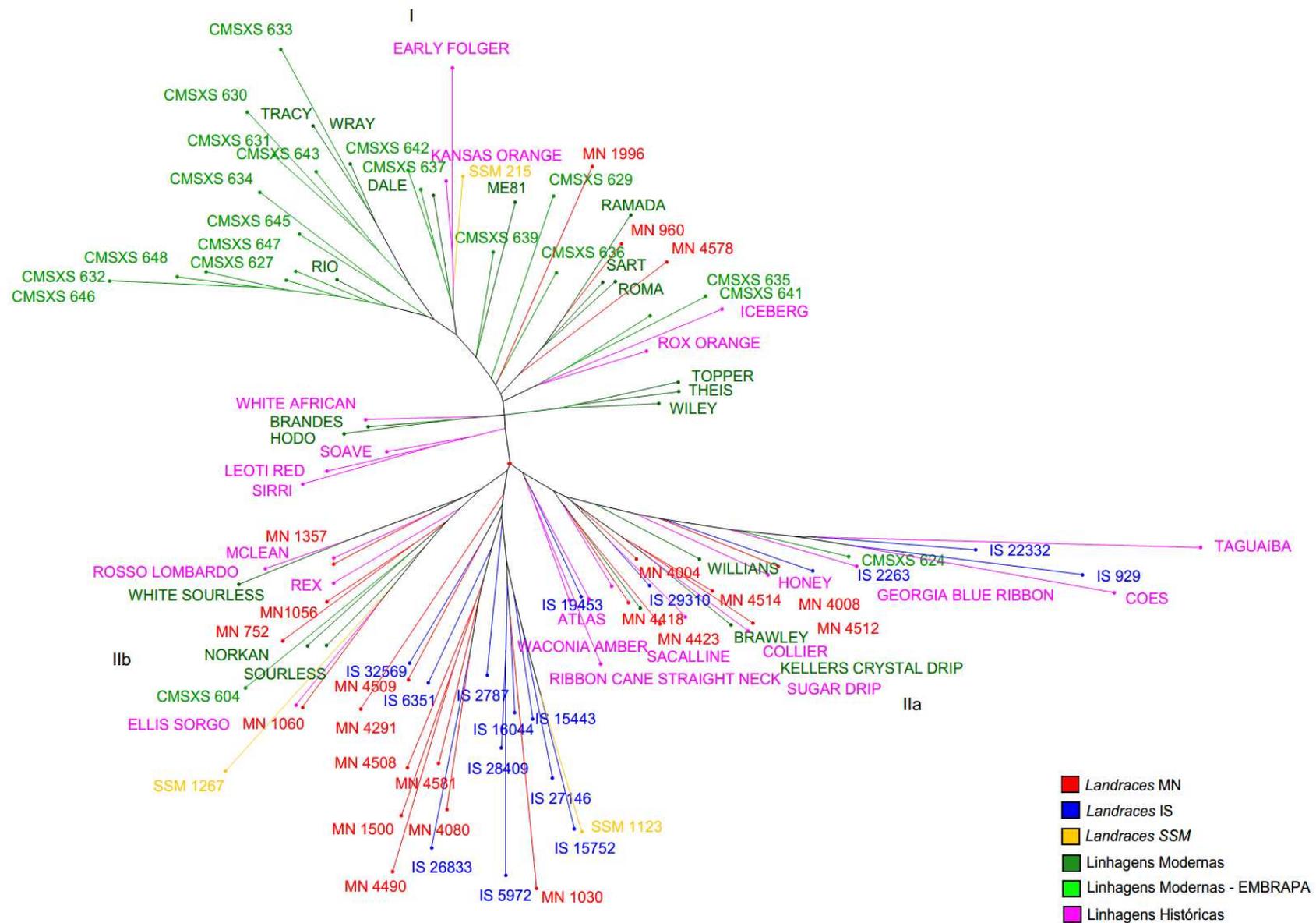
**FIGURA 3.** Agrupamento das linhagens avaliadas na Embrapa Milho e Sorgo de acordo com o método de Neighbor-Joining, para as características agronômicas relacionadas à produção de biomassa.

#### **4.3.2.3 Variáveis relacionadas à produção de açúcares e biomassa simultaneamente**

Para o estudo da diversidade desses dois critérios tecnológicos, produção de açúcares e biomassa, foi realizado o agrupamento com todas as seguintes características: florescimento (FLOR), altura total (ALT), extração (EXT), produção massa verde (PMV), teor de sólidos solúveis (SST), teor de sacarose no caldo (POL), açúcares redutores (AR), lignina (LIG), hemicelulose (HEM), celulose (CEL), e também as doenças, helmintosporiose (HEL), antracnose (ANT), ferrugem (FER) e míldio (MI), conforme Figura 4. Houve a formação de dois grupos, com dois subgrupos no grupo II. Neste caso, a dissimilaridade mínima apresentada foi de 1,43 e a máxima de 12,19.

Quando as características foram avaliadas simultaneamente, notou-se que o grupo I, apresentou os resultados mais favoráveis para a produção de açúcares e biomassa, do que o grupo II. Os resultados do grupo I foram: produção de massa verde ( $46,82 \text{ t.ha}^{-1}$ ), extração do caldo (61,53%), sólidos solúveis totais (13,84 °Brix), teor de sacarose (8,83%), açúcares redutores (1,49%), lignina (5,81%), hemicelulose (21,86%), e celulose (36,81%).

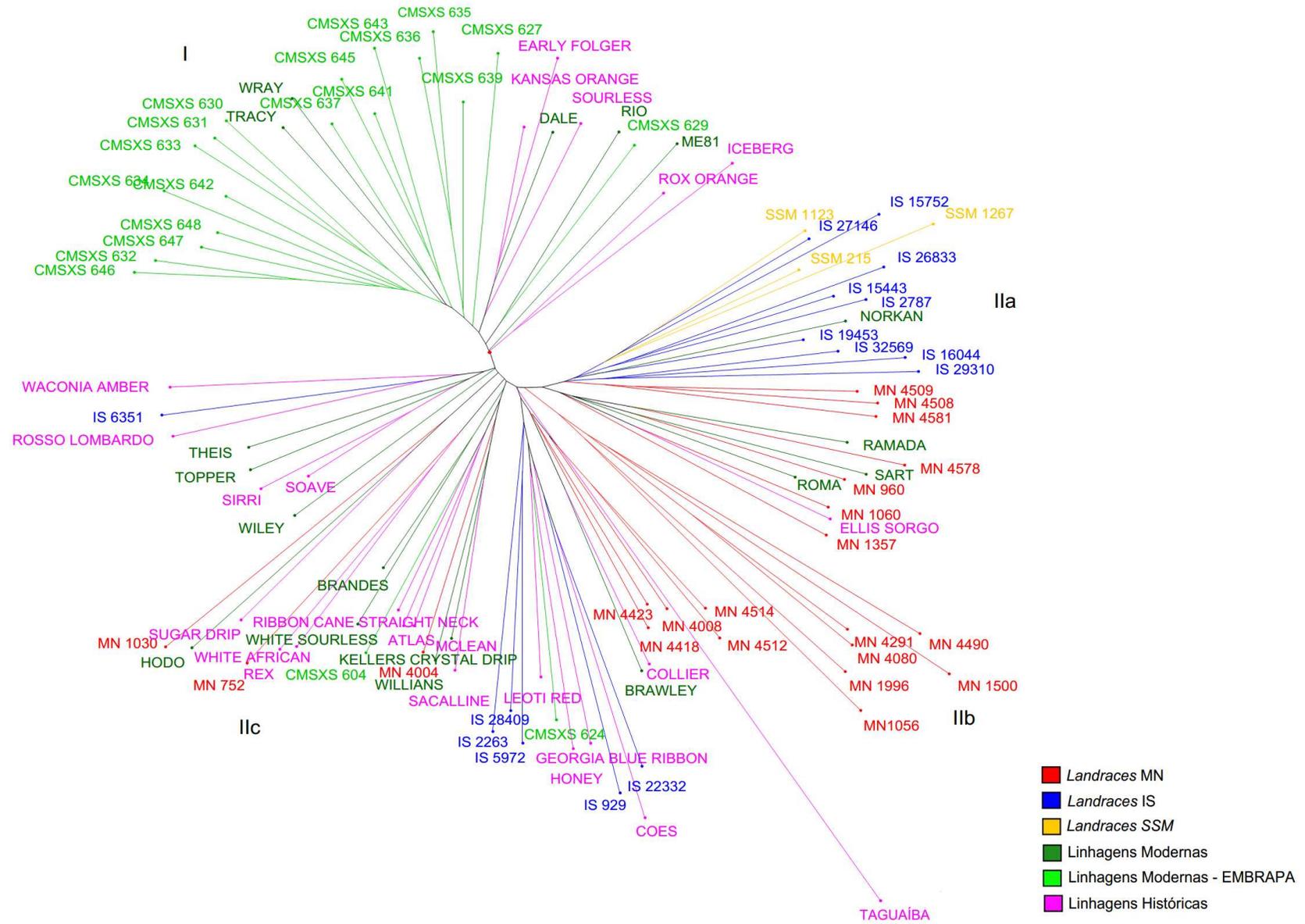
Observou-se que as informações agronômicas não foram eficientes no estudo da diversidade, isso pode ser explicado devido a grande influência do ambiente durante a condução do experimento.



**FIGURA 4.** Agrupamento das linhagens avaliadas na Embrapa Milho e Sorgo de acordo com o método de Neighbor-Joining, para as características agrônômicas relacionadas à produção de açúcares e biomassa.

### 4.3.3 Estudo da diversidade entre as variáveis morfoagronômicas e agronômicas

O estudo da diversidade genética realizado com as características morfoagronômica e agronômicas apresentou a formação de dois grupos, no qual o grupo II foi dividido em três subgrupos, conforme Figura 5. A dissimilaridade mínima apresentada foi de 4,05 e a máxima de 22,90. Observou-se que este agrupamento apresentou melhor formação de grupos, do que quando foi avaliado apenas as características morfoagronômicas ou agronômicas, pois foi possível a identificação de maior homogeneidade entre os subgrupos. O grupo I, apresentou a maioria das linhagens CMSXS, com exceção das linhagens CMSXS 604 e CMSXS 624, porém os genitores da maioria dessas linhagens, Theis e Brandes se localizaram no grupo II c. O subgrupo II a, apresentou-se uniforme, com a maioria das landraces IS e todas SSM. O subgrupo II b, apresentou-se também uniforme, com a presença da maioria das landraces MN, com exceção de MN 1030, MN 752 e MN 4004. E o subgrupo II c apresentou a maior variabilidade entre os materiais, com a presença de algumas landraces MN e IS e a maioria das linhagens históricas e modernas.

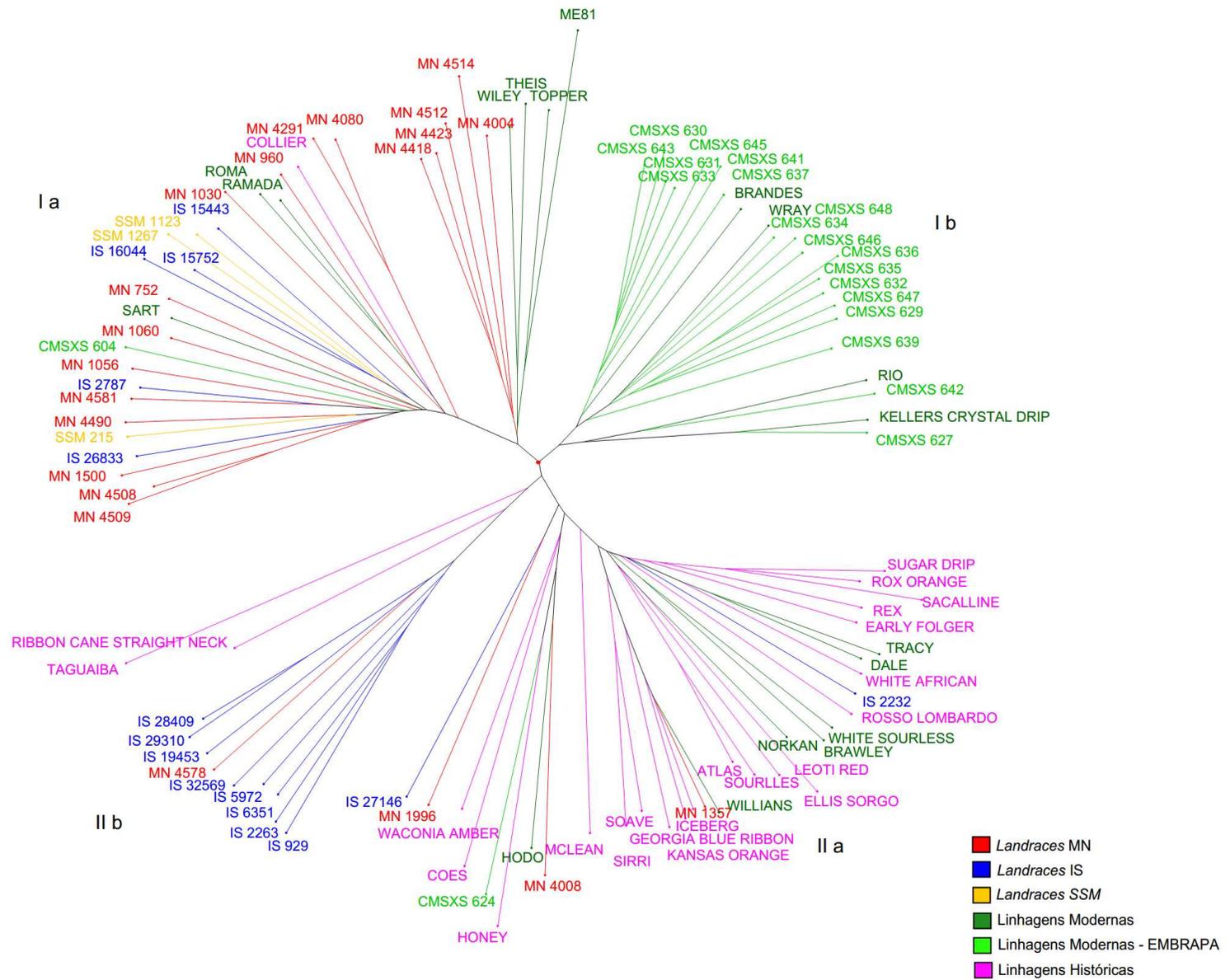


**FIGURA 5.** Agrupamento das linhagens avaliadas na Embrapa Milho e Sorgo de acordo com o método de Neighbor-Joining, para as características morfoagronômica e agronômicas.

#### 4.3.4 Diversidade baseada em dados moleculares

Após a obtenção dos resultados da Genotipagem por sequenciamento (GBS) e após a seleção dos SNPs restaram-se 40.206 SNPs para a análise de diversidade genética. Realizou-se a matriz de distâncias baseada na distância euclidiana, e os valores de dissimilaridade foram de 0,086 a 0,34. De acordo com o agrupamento de Neighbor-Joining (FIGURA 6), verificou-se formação de dois grupos, com dois subgrupos cada.

De acordo com o agrupamento dos acessos, verificou-se que o subgrupo Ia se mostrou mais diverso, com a presença de landraces IS, MN, SSM e de algumas linhagens consideradas históricas e modernas. A linhagem ME81, se encontrou no grupo, e um de seus genitores, Rio, está localizado no grupo próximo, Ib. A linhagem Topper, também está próxima de seu genitor Brandes. O subgrupo Ib apresentou a maioria das linhagens CMSXS, com exceção das linhagens CMSXS 604 e CMSXS 624. Os genitores, Wray, Brandes e Rio estão neste subgrupo e a linhagem Theis, também principal genitora da maioria destes materiais, está também próxima. Verificou-se também a forte proximidade entre a linhagem Kellers Crystal Drip com CMSXS 627. No subgrupo IIa, houve o agrupamento da maioria das linhagens históricas. A linhagem Dale, considerada moderna, se encontrou juntamente com seu genitor Tracy, e algumas linhagens modernas de origem desconhecida também se encontraram neste grupo, como Hodo, Willians e White Sourless. E o subgrupo IIb, foi composto pela maioria das landraces IS. Foi possível verificar no método de agrupamento com dados moleculares uma eficácia na separação dos materiais, condizente com as informações de genealogia.



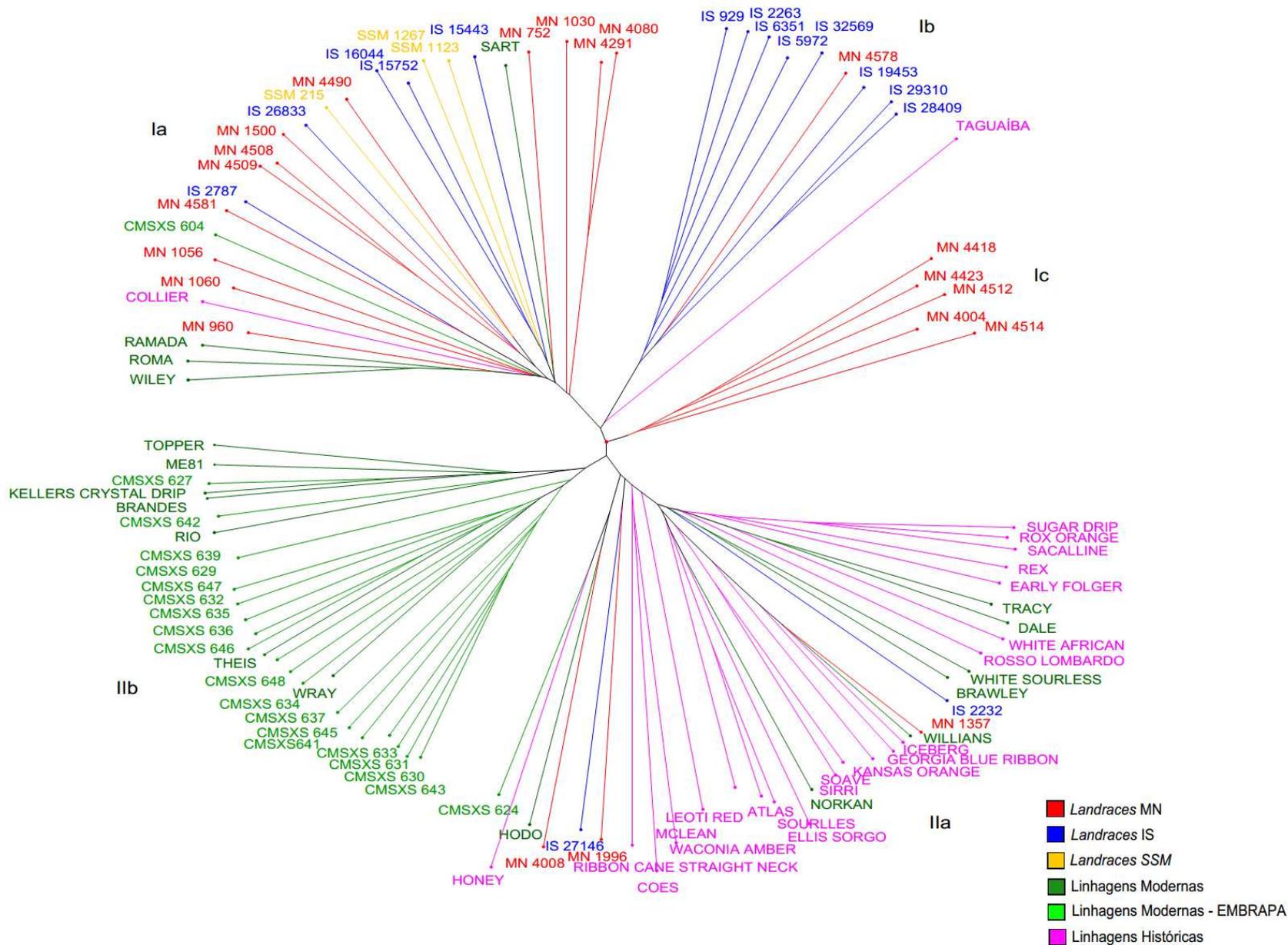
**FIGURA 6.** Agrupamento das linhagens avaliadas na Embrapa Milho e Sorgo de acordo com o método de Neighbor-Joining, considerando os dados de marcadores SNP.

#### **4.3.5 Diversidade baseada nas características morfoagronômicas, agronômicas e moleculares**

De acordo com Singh et al. (1991) a melhor forma de se identificar divergência entre os genótipos é o uso combinado de marcadores moleculares, descritores morfológicos, e dados agronômicos promovendo um complemento nos resultados. Com o estudo da diversidade genética utilizando as características morfoagronômicas, agronômicas e moleculares conjuntamente, notou-se o melhor agrupamento entre as linhagens. A dissimilaridade mínima observada foi de 75,17 e a máxima 206,82.

Conforme a Figura 7, houve a formação de dois grupos, no qual o grupo I foi subdividido em três subgrupos, e o grupo II, em dois subgrupos. O subgrupo Ia apresentou-se o mais diverso de todos os grupos, com a presença de algumas landraces MN, IS e todas SSM. O subgrupo Ib, foi formado pela maioria das landraces IS e o subgrupo Ic, por algumas landraces MN. A linhagem Taguaíba se encontra distante das demais linhagens históricas, isso pode ser explicado pelo não florescimento do material durante o experimento, dessa forma ele diferiu bastante dos resultados obtidos, principalmente os morfoagronômicos.

Já o subgrupo IIa, foi formado pela maioria das linhagens históricas e o subgrupo IIb, destacou-se devido ao agrupamento formado pelas linhagens CMSXS, juntamente com os genitores Theis, Wray, Brandes e Rio, com exceção das linhagens CMSXS604 e CMSXS 624. A linhagem ME81 está localizada próxima do genitor Rio e a linhagem Topper, também se encontra perto do genitor Brandes.



**FIGURA 7.** Agrupamento das linhagens avaliadas na Embrapa Milho e Sorgo de acordo com o método de Neighbor-Joining, para a caracterização morfoagronômica, agrônômica e molecular.

## **4.4 Análise de Componentes Principais**

### **4.4.1 Importância relativa dos caracteres morfoagronômicos**

Pela análise de componentes principais (Tabela 6) observou-se que os dois primeiros componentes explicaram apenas 22% da variação total. Segundo Morrison (1976), para visualizar os grupos de similaridade via dispersão gráfica utilizando componentes principais é necessário que estes expliquem pelo menos 80% da variação total entre os genótipos, que neste caso corresponderia aos 16 primeiros componentes.

De acordo com Cruz et al. (2013), as variáveis de maiores pesos nos últimos autovetores são consideradas de menor importância para o estudo da diversidade genética. Com base neste critério, dentre os 35 descritores morfoagronômicos utilizados, os de menor importância foram: brilho do grão, textura do endosperma, cor do endosperma, composição do endosperma, peso de mil sementes, comprimento do estigma, pigmentação do estigma, comprimento da flor pedicelada, altura total da planta, forma e extensão do pedúnculo, presença de testa, comprimento da ramificação primária da panícula, comprimento da ráquis principal, densidade da panícula, cor da planta, pigmento da lâmina foliar pela antocianina, pigmento da nervura foliar, diâmetro do colmo, sincronização dos perfilhos com o florescimento, perfilhamento, e ângulo entre a lâmina foliar e o colmo. Assim, as variáveis que mais contribuíram para o estudo da diversidade morfoagronômica foram: pigmento do coleóptilo pela antocianina, pigmento da parte dorsal da 1ª folha pela antocianina, pigmento da bainha foliar pela antocianina, dias emergência até o florescimento, qualidade do suco, succulência do colmo, comprimento da lâmina foliar, forma da panícula, formação da arista na pálea, cor da gluma, comprimento do grão coberto pela gluma, cor do cariopse, cor púrpura no pericarpo, capacidade de debulha.

**Tabela 6.** Estimativas das variâncias associadas aos componentes principais referentes às variáveis morfoagronômicas avaliadas.

<b>Componentes</b>	<b>Desvio Padrão</b>	<b>Proporção de Variância</b>	<b>Variância Acumulada</b>
1	2,081	0,124	0,124
2	1,858	0,099	0,222
3	1,582	0,072	0,294
4	1,544	0,068	0,362
5	1,42	0,058	0,42
6	1,365	0,053	0,473
7	1,274	0,046	0,519
8	1,256	0,045	0,564
9	1217	0,042	0,607
10	1,101	0,035	0,641
11	1,079	0,033	0,675
12	1,028	0,03	0,705
13	1,008	0,029	0,734
14	0,959	0,026	0,76
15	0,934	0,025	0,785
16	0,884	0,022	0,807
17	0,858	0,021	0,828
18	0,812	0,019	0,847
19	0,775	0,017	0,864
20	0,727	0,015	0,879
21	0,715	0,015	0,894
22	0,691	0,014	0,908
23	0,646	0,012	0,92
24	0,635	0,012	0,931
25	0,597	0,01	0,941
26	0,57	0,009	0,951
27	0,56	0,009	0,96
28	0,528	0,008	0,967
29	0,506	0,007	0,975
30	0,464	0,006	0,981
31	0,454	0,006	0,987
32	0,435	0,005	0,992
33	0,388	0,004	0,997
34	0,347	0,003	1,00
35	0,00	0,00	1,00

#### 4.4.1 Importância relativa dos caracteres agronômicos

Para os caracteres agronômicos verificou-se que os dois primeiros componentes explicaram cerca de 45% da variação total (Tabela 7). Das 14 variáveis analisadas, as que mais contribuíram para o estudo da diversidade foram: teor de lignina (LIG), sólidos solúveis totais (SST), hemicelulose (HEM), produção de massa verde (PMV), extração (EXT), florescimento (FLOR) e altura total de plantas (ALT); enquanto as variáveis de menor importância foram: teor de sacarose (POL), míldio (MI), açúcares redutores (AR), antracnose (ANT), celulose (CEL), helmintosporiose (HEL) e ferrugem (FER). Observou-se que as quatro doenças avaliadas neste trabalho estão entre os caracteres que menos contribuíram para o estudo da diversidade das linhagens de sorgo sacarino.

**Tabela 7.** Estimativas das variâncias associadas aos componentes principais referentes às variáveis agronômicas avaliadas.

<b>Componentes</b>	<b>Desvio Padrão</b>	<b>Proporção de Variância</b>	<b>Variância Acumulada</b>
1	1,881	0,252	0,252
2	1,666	0,198	0,451
3	1,507	0,162	0,613
4	1,247	0,111	0,724
5	1,079	0,083	0,808
6	0,906	0,058	0,866
7	0,784	0,043	0,910
8	0,709	0,035	0,946
9	0,585	0,024	0,971
10	0,448	0,0143	0,985
11	0,396	0,011	0,996
12	0,194	0,002	0,999
13	0,077	0,000	0,999
14	0,044	0,000	1,00

## 5 CONCLUSÃO

As linhagens avaliadas apresentam elevada variabilidade genética e são promissoras para utilização em programas de melhoramento de sorgo sacarino.

Os caracteres agronômicos foram os menos informativos para o agrupamento das linhagens de sorgo sacarino comparados, nesta ordem, aos caracteres morfoagronômicos e moleculares.

Os agrupamentos das linhagens de sorgo sacarino nas análises de diversidade apresentaram-se mais coerentes com o histórico e a genealogia dos materiais quando se utilizaram as informações em conjunto dos caracteres morfoagronômicas, agronômicas e moleculares.

## 6 REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

ARRIEL, N.H.C.; MAURO, A.O.D.; MAURO, S.M.Z.D.; BAKKE, O.A.; UNÊDA-TREVISOLI, S.H.; COSTA, M.M.; CAPELATO, A.; CORRADO, A.R. Técnicas multivariadas na determinação da diversidade genética em gergelim usando marcadores RAPD. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.41, n.5, p.801- 809, 2006.

BARCELOS, C.A. **Aproveitamento das frações sacarínea, amilácea e lignocelulósica do sorgo sacaríneo [Sorghum bicolor (L.) Moench] para a produção de bioetanol**. 2012. 334f. Tese (Doutorado em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos) - Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, RJ, 2012.

BRADBURY, P.J.; ZHANG Z, KROON D.E.; CASSTEVENS T.M.; RAMDOSS Y.; BUCKLER E.S. TASSEL, software for association mapping of complex traits in diverse samples. **Bioinformatics**, v.23: p.2633-2635, 2007.

MAPA. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instruções para execução dos ensaios de Distingüibilidade, Homogeneidade e Estabilidade de cultivares de sorgo (Sorghum bicolor)**. Diário oficial da união, 7 nov, 1997.

BRASIL. **Plano Nacional de Agroenergia 2006-2011** / Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, Secretaria de Produção e Agroenergia. 2.ed. - Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, 2006. 110p.

BELICUAS, S.N.J.; GUIMARÃES, C.T.; MAGALHÃES, J. V. **Caracterização Molecular de Milho e Sorgo para Aplicação nos Programas de Melhoramento da Embrapa**. 1. ed. Sete Lagoas: EMBRAPA/ CNPMS. Comunicado Técnico, 2009. n.177, 8p.

CANIATO, F.F. **Diversidade Genética para Tolerância ao Alumínio em Sorgo**. 2005. 75f. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento Vegetal) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2005.

CARVALHO, F.I.F.; LORENCETTI, C.; BENIN, G. **Estimativas e implicações da correlação no melhoramento vegetal**. Pelotas: Editora e Gráfica Universitária - UFPel, 2004. 141p.

CLIFFORD, H.; STEPHENSON, W. **An introduction to numerical classification**. Academia Press, London, 1975.

COELHO, M.M.; COIMBRA; J.L.M.; SOUZA, C.A.; GUIDOLIN, A.F. Diversidade genética em acessos de feijão (*Phaseolus vulgaris*. L.). **Ciência Rural**, v.37, n.5, p.1241-1247, 2007.

CONSECANA. Conselho de produtores de cana, açúcar e álcool de São Paulo. **Manual de instruções**. 5.ed. Piracicaba: 2006. 112p.

CONAB. Companhia Nacional de Abastecimento. **Perspectivas para a Agropecuária**. v.2 - safra 2014/2015. Brasília: Conab, 2014. Disponível em:<http://www.conab.gov.br/>> Acesso em: 20 dez. 2014.

COTA, L.V.; CASELA, C. R.; COSTA, R.V. **Cultivo do sorgo**. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo. Cultivo do sorgo, 6ª edição, 2010.

CRUZ C.D.; FERREIRA F.M.; PESSONI L.A. **Biometria aplicada ao estudo da diversidade genética**. Visconde do Rio Branco: Suprema, 2011. 424p.

CRUZ, C.D.; REGAZZI, A.J.; CARNEIRO, P.C.S. **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético (volume 2)**. 3ª Ed. Viçosa: UFV. 2013. 668p.

DAHLBERG J.A.; WASYLIKOWA K. Image and statistical analyses of early sorghum remains (8000 B. P.) from the Nabta Playa archaeological site in the Western Desert, southern Egypt. **Vegetation History and Archaeobotany**. v.5, p. 293–299,1996.

ELSHIRE, R.J. et al. A robust, simple genotyping-by-sequencing (GBS) approach for high diversity species. **Plos One**. v.6, ed.5, 2011.

EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisa Milho e Sorgo. **Recomendações para o Cultivo do Sorgo**. Sete Lagoas-MG, 1982. (Circular Técnica Nº 01), 62 p.

EMYDGIO, B.M. **Produção de etanol a partir de sorgo sacarino**. Disponível em: <[http://www.infobibos.com/Artigos/2010\\_4/sorgo/index.htm](http://www.infobibos.com/Artigos/2010_4/sorgo/index.htm)>. Acesso em: 23 nov. 2014.

FREEMAN, K.C. **Sweet Sorghum Culture and Sirup Production**. USDA Agriculture Handbook, 1986, n.611. 55 p.

GENTIL L.V.; FAGGION F. **Agroanálise, revista do agronegócio**. FGV, 2014. Disponível em: <[http://www.agroanalysis.com.br/materia\\_detalhe.php?idMateria=1667](http://www.agroanalysis.com.br/materia_detalhe.php?idMateria=1667)> Acesso em 19 set. 2014.

GOMES, F.P. **Curso de estatística experimental**. 12.ed. São Paulo: Nobel, 1990. 467p.

HENDERSON, C.R.S. Estimation of changes in herd environment. **Journal of Dairy Science**, 1949. v.32, n.8, 709p.

HENDERSON, C.R.S. **Applications of linear models in animal breeding**. Guelph: University of Guelph, 1984. 462p.

ILLUMINA, Inc., San Diego, CA – **Illumina sequencing technology**. Disponível em:<[http://res.illumina.com/documents/products/techspotlights/techspotlight\\_sequencing.pdf](http://res.illumina.com/documents/products/techspotlights/techspotlight_sequencing.pdf)>. Acesso em: 16 out. 2014.

LANA, U.G.P.; GOMES, P.C.; TINOCO, C.F.S.; OLIVEIRA, B.C.F.S.; GUIMARÃES, C.T.; MAGALHÃES, J.V. **Procedimento da Embrapa Milho e Sorgo para extração de DNA de tecido vegetal em larga escala**. Embrapa Milho e Sorgo: Sete Lagoas, 2010. Disponível em:<[http://www.cnpms.embrapa.br/publicacoes/publica/2010/documento/Doc\\_104.pdf](http://www.cnpms.embrapa.br/publicacoes/publica/2010/documento/Doc_104.pdf)>. Acesso em: 15 out. 2014.

LIPINSKI, E.S.; KRESOVICH, S. Sugar crops as a solar energy converters. **Experimentia**, v.38, p.13-17, 1992.

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

MAGALHÃES, R.T.; GONÇALVES, L.C.; BORGES, I.; RODRIGUES, J.A.S.; FONSECA, J.F. Produção e composição bromatológica de vinte e cinco genótipos de sorgo (*Sorghum bicolor* (L.) Moench). **Arq. Bras. Med. Vet. Zoo**, v.62, p.747-751, 2010.

MASK, P.L; W.C. MORRIS. “**Sweet Sorghum Culture and Syrup Production.**” Alabama Cooperative Extension System, Alabama A&M University and Auburn University, 1991.

MARTINS, C.; ANDRADE, P.P. Produção de etanol no Brasil: Estratégia de sustentabilidade social, econômica e ambiental. **Sustainable Business**, n40, 2014.

MAUNDER, A.B. **History of cultivar development in the United States: From memoirs of A.B.** p.191-223, 2000.

MORALES R.G.F.; RESENDE J.T.V.; FARIA M.V.; SILVA P.R.; FIGUEIREDO A.S.T.; CARMINATTI R. Divergência genética em cultivares de morangueiro, baseada em caracteres morfoagronômicos. **Revista Ceres**, v.58, p.323-329, 2011.

MORRISON, D.F. Multivariate statistics methods. 2. ed. New York: McGraw Hill, 1976. 415 p.

MURRAY, S.C.; ROONEY, W.L.; HAMBLIN, M.T.; MITCHELL, S.E.; KRESOVICH, S. Sweet sorghum genetic diversity and association mapping for brix and height. **The Plant Genome**, v.2, p.48-62, 2009.

NELDER, J.A.; WEDDERBURN, R.W.M. Generalized linear models. **Journal of the Royal Statistical Society. Series A (General)**, v.135, n.3, p.370-384, 1972.

NEYMAN, J.; PEARSON, E. S. On the use and interpretation of certainest criteria for purpose of estatistical inference. **Biometrika**, v.20A, n.1, p.175-240, 1928.

PARRELLA, R.A.C. **Melhoramento genético do sorgo sacarino.** Agroenergia em revista, ano II, nº 3, p. 6, set.2011. Disponível em:<<http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/56043/1/BolfeAgroeRevis.pdf>> . Acesso em: 14 set. 2014.

PAYNE, R.W.; MURRAY, D.A.; HARDING, S.A.; BAIRD, D.B.; SOUTAR, D.M. **Introduction to GenStat for windows (15th Edition).** VSN International,Hemel Hempstead, 2012.

PEARSON, K. Mathematical contributions to the theory of evolution. III. Regression, Heredity and Panmixia, **Philosophical Transactions of the Royal Society of London**, v.187, p.253-318, 1896.

PERRIER X.; JACQUEMOUD-COLLET J.P. 2006. **DARwin software.** Disponível em: <<http://darwin.cirad.br/>> Acesso em 15 de set. 2014.

POWELL, J.E.; VISSCHER P.M.; GODDARD, M.E. Reconciling the analysis of IBD and IBS in complex trait studies. **Nature Genetics**. v.11, p.800-805, 2010.

PRICE, A.L.; PATTERSON, N.J.; PLENGE, R.M.; WEINBLATT, M.E.; SHADICK, N.A.; REICH, D. (2006) Principal components analysis corrects for stratification in genome-wide association studies. **Nature Genetics**, 38: 904 – 909.

PURCINO, A.A.C. **Sorgo Sacarino na Embrapa: história, importância e usos**. Agroenergia em revista, ano II, nº 3, p. 6, set.2011. Disponível em: <<http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/56043/1/BolfeAgroeRevis.pdf>>. Acesso em: 19 nov. 2014.

QUEROL, D. **Recursos genéticos, nosso tesouro esquecido: A abordagem técnica e sócio-econômica**. Rio de Janeiro: AS-PTA, 1993. 206p.

R CORE TEAM (R version 3.1.1). **The R project for statistical computing**. Disponível em: <<http://www.r-project.org/index.html>>. Acesso em: 10 jul. 2014.

RATNAVATHI, C.V.; CHAKRAVARTHY, S.K.; KOMALA, V.V.; CHAVAN, U.D.; PATIL, J.V. Sweet sorghum as feedstock for biofuel production: a review. **Sugar Tech**, v. 13, n.4, p.399-407, 2011.

REIS, E.F. **Ganhos preditos e realizados por diferentes estratégias de seleção, em populações de soja (Glycine max (L) Merrill)**. Viçosa, 2000. 120p. TESE (D.S.) – Universidade Federal de Viçosa.

RIBAS, P.M. **A Implantação da Cultura do Sorgo**. 1. ed. Sete Lagoas: EMBRAPA/CNPMS, 2003. Comunicado Técnico, n.94, 4p.

RODRIGUES, J.A.S. **Sistema de produção do sorgo**. Embrapa Milho e Sorgo. Sistemas de Produção v.2, 2010.

RUBIN, E.M. Genomics of cellulosic biofuels. **Nature Genetics**, v.454, p.841-845, 2008.

SAITOU N.; NEI M. The Neighbor-Joining method: A new method for reconstructing phylogenetic trees. **Molecular Biology Evolution**, v.4, p.406-425, 1987.

SANTOS, F.G.; CASELA, C.R.; WAQUIL, J.M. **Melhoramento de sorgo**. In: BORÉM, A. Melhoramento de espécies cultivadas. 2. ed. Viçosa: UFV, p.605-658, 2005.

SCHAFFERT, R.E.; SANTOS, F G.; BORGONOV, R.A.; SILVA, J.B. Aprenda a plantar sorgo sacarino. **Agroquímica**, São Paulo, v.13, p.10-14, 1980.

SINGH, S.P.; GUITIERREZ, J.A.; MOLINA, C. Genetic diversity in cultivated common bean – II: marker based analysis of morphological and agronomic traits. **Crop Science**, Madison, v.31, p.23-29, 1991.

SOMERVILLE, C. Biofuels. **Current Biology**, London, v.17, p.R115-R119, 2007.

SOUZA C.C.; DANTAS J.P.; SILVA S.M.; SOUZA V.C.; ALMEIDA F.A.; SILVA L.E. Produtividade do Sorgo granífero cv. sacarino e qualidade de produtos formulados isoladamente ou combinados ao caldo de cana-de-açúcar. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.25, n.3, p. 287-293, 2005.

STEEL, R.G D.; TORRIE, J.H. **Principles and procedures of statistics: a biometrical approach**. 2. ed. New York: McGraw-Hill, 1980. 633p.

STEPHENS, J.C.; HOLLAND, R.F. Cytoplasmic male-sterile for hybrid sorghum seed production. **Agronomy Journal**, v.46, p.20-23, 1954.

USDA/ARS, 2008. GRIN - **Germplasm Resources Information Network**. Maryland. Disponível em: <[http://www.arsgrin.gov/cgi-bin/npgs/html/tax\\_search.pl?language=pt](http://www.arsgrin.gov/cgi-bin/npgs/html/tax_search.pl?language=pt)>. Acesso em 15 set 2014.

VAN SOEST, P.J.; WINE, R.H. The determination of lignin and cellulose in acid-detergent fibre with permanganate. **Journal of the Association of Official Analytical Chemists**, v.51, p.780-785, 1968

WALD, Abraham. Tests of statistical hypotheses concerning several parameters when the number of observations is large. **Transactions of the American Mathematical Society**. v.54, n.3, p.426-481, 1943.

WINBERRY, J.J. The sorghum syrup industry: 1854–1975. **Agricultural History Society**. v.54, p.343-352, 1980.

ZIEGLER, A.; KÖNIG, I.R.; THOMPSON, J.R. Biostatistical aspects of genome-wide association studies. **Biometrical Journal**, v.50, p.1-21, 2008.