



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
PRODUÇÃO VEGETAL E BIOPROCESSOS ASSOCIADOS**

**CARACTERIZAÇÃO FENOTÍPICA E MOLECULAR DO PAINEL BRASILEIRO DE
GENÓTIPOS DE CANA-DE-AÇÚCAR**

FERNANDA ZATTI BARRETO

**Araras
2016**



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
PRODUÇÃO VEGETAL E BIOPROCESSOS ASSOCIADOS**

**CARACTERIZAÇÃO FENOTÍPICA E MOLECULAR DO PAINEL BRASILEIRO DE
GENÓTIPOS DE CANA-DE-AÇÚCAR**

FERNANDA ZATTI BARRETO

ORIENTADOR: PROFa. DRa. MONALISA SAMPAIO CARNEIRO
CO-ORIENTADOR: PROF. DR. GABRIEL RODRIGUES ALVES MARGARIDO

Dissertação apresentada ao Programa
de Pós-Graduação em Produção
Vegetal e Bioprocessos Associados
como requisito parcial à obtenção do
título de MESTRE EM PRODUÇÃO
VEGETAL E BIOPROCESSOS
ASSOCIADOS

Araras

2016

Ficha catalográfica elaborada pelo DePT da Biblioteca Comunitária UFSCar
Processamento Técnico
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

B273c Barreto, Fernanda Zatti
Caracterização fenotípica e molecular do painel
brasileiro de genótipos de cana-de-açúcar / Fernanda
Zatti Barreto. -- São Carlos : UFSCar, 2016.
78 p.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal de
São Carlos, 2016.

1. Cana-de-açúcar. 2. Caracterização fenotípica e
molecular. 3. Painel Brasileiro de Genótipos de Cana-
de-açúcar. I. Título.



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS

Centro de Ciências Agrárias
Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal e Bioprocessos
Associados

Folha de Aprovação

Assinaturas dos membros da comissão examinadora que avaliou e aprovou a Defesa de Dissertação de Mestrado da candidata Fernanda Zatti Barreto, realizada em 20/06/2016:

Profa. Dra. Monalisa Sampaio Carneiro
UFSCar

Profa. Dra. Luciana Aparecida Carlini-Garcia
APTA

Profa. Dra. Mariângela Cristofani-Yaly
IAC

AGRADECIMENTOS

À Deus pela força, saúde e sabedoria para que eu possa sempre alcançar meus objetivos.

Aos meus pais, Fátima e Mauro, pelo amor incondicional e por me guiar por caminhos tão doces, com e por vocês tudo tem um significado maior e é por isso que a vocês dedico essa vitória e todas as vitórias que estão por vir.

Ao meu marido Thiago, vou literalmente fazer minha as suas palavras, não conseguiria agradecer de forma tão bela, quanto àquelas escritas nos seus agradecimentos por isso: "agradeço pelos anos de convivência e de trabalho conjunto, desde nossas iniciações científicas, que acabaram por gerar o amor mais verdadeiro o qual poderia sentir. Pela paciência que teve nos momentos difíceis, pela dedicação, carinho, amor, companheirismo e respeito, e por sempre estar ao meu lado zelando para que o melhor acontecesse em nossas vidas. Esta dissertação tem muito de você, da primeira letra ao último ponto final, sou grata pela força e coragem que me transmitiu. Obrigada!"

À minha família, por nunca deixar de me transmitir tanto amor mesmo que à distância. Em especial aos meus afilhados e sobrinhos, Luana e Lucca, que me ensinaram a amar da forma mais babona que existe.

À Professora Doutora Amiga Madrinha Monalisa Sampaio Carneiro, por todo apoio profissional e pessoal ao longo desses tantos anos de convivência. Esse caminho não seria percorrido sem sua valiosa colaboração científica, hoje eu não seria essa pessoa sem sua valiosa colaboração pessoal.

Ao Professor Dr. Gabriel Rodrigues Alves Margarido, agradeço por ser tão inteligente e por saber transmitir essa sabedoria de forma tão atenciosa e com uma paixão contagiante, foi inspirador e muito prazeroso ser sua co-orientada.

Ao Professor Dr. Rodrigo Gazaffi obrigada por toda ajuda, paciência e divertidas reuniões.

Aos “amigos” famintos do “vamu cume” ops... do Laboratório de Biotecnologia de Plantas, sem vocês esse caminho teria sido mais focado, mas com certeza teria sido muito mais sem graça e difícil, vocês tornaram tudo mais leve.

Aos amigos que sempre entenderam a minha ausência e não deixaram de apoiar, em especial aos polianos e a japa que tanto me faz falta, Bruna Harumi.

A todos os funcionários do Programa de Melhoramento Genético da Cana-de-Açúcar da Universidade Federal de São Carlos, campus Araras, (PMGCA/UFSCar) pelo apoio na condução deste projeto, mas principalmente agradeço pelos momentos tão agradáveis que compartilhamos. Em especial ao Sandro Ferrarez, pela ajuda sem tamanho.

Aos membros da banca de qualificação e aos da banca de defesa, pela disponibilidade em contribuir para que esse trabalho fosse melhorado.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa concedida.

Ao apoio financeiro das agências de fomento FAPESP-Bioen, INCT-Bioetanol e FINEP.

SUMÁRIO

	Página
ÍNDICE DE TABELAS	i
ÍNDICE DE FIGURAS	ii
RESUMO	iv
ABSTRACT	v
INTRODUÇÃO	1
OBJETIVOS	2
REVISÃO DE LITERATURA	2
1 Cultura da cana-de-açúcar.....	2
2 Melhoramento da cana-de-açúcar.....	3
3 Marcadores moleculares.....	4
4 Ferrugem marrom em cana-de-açúcar	5
4.1 Gene de resistência à ferrugem marrom <i>Bru1</i>	6
LITERATURA CITADA	6
CAPÍTULO 1. Caracterização fenotípica do Painel Brasileiro de Genótipos de Cana-de-açúcar (<i>Saccharum spp.</i>)	11
1 Resumo.....	12
2 Introdução.....	13
3 Materiais e Métodos.....	14
3.1 Material vegetal.....	14
3.2 Delineamento experimental.....	15
3.3 Avaliação das características fenotípicas.....	23
3.3.1 Avaliações de altura, diâmetro de colmos, número de colmos e peso total da parcela.....	23
3.3.2 Avaliações de sólidos solúveis (°Brix), teor de sacarose (Pol%Caldo e Pol%Cana) e teor de fibra (%).....	23
3.4 Análise dos dados das características fenotípicas.....	25
4 Resultados e Discussão.....	26
4.1 Herdabilidade e componentes de variância.....	27
4.2 Correlações genotípicas dos componentes de produção.....	30
4.3 Análise de Componentes Principais.....	31
4.4 Evolução dos acessos do germoplasma brasileiro.....	31

5	Conclusões.....	38
6	Literatura citada.....	39
CAPÍTULO 2. Validação dos marcadores R12H16 e 9O20-F4 associados ao gene <i>Bru1</i> de resistência à ferrugem marrom no Painel Brasileiro de Genótipos de Cana-de-açúcar.....		45
1	Resumo.....	46
2	Introdução.....	47
3	Materiais e Métodos.....	49
3.1	Material vegetal e delineamento experimental.....	49
3.2	Avaliação da incidência de ferrugem marrom.....	50
3.3	Análise molecular para presença de <i>Bru1</i>	55
3.4	Frequência do gene <i>Bru1</i> nas variedades no Brasil.....	56
3.5	Genealogia da variedade moderna de cana-de-açúcar RB966928.....	56
4	Resultados e Discussão.....	56
4.1	Resposta à ferrugem marrom a campo.....	56
4.2	Genotipagem da região do gene <i>Bru1</i>	57
4.3	Associação entre reação à ferrugem marrom e presença de <i>Bru1</i>	60
4.4	Frequência do gene <i>Bru1</i> nas variedades mais plantadas no Brasil.....	60
4.5	Genealogia da variedade moderna de cana-de-açúcar RB966928.....	62
5	Conclusões.....	69
6	Literatura citada.....	70
CONSIDERAÇÕES FINAIS.....		77

ÍNDICE DE TABELAS

Página

Capítulo 1

Tabela 1. Nome dos acessos, germoplasma, país de origem e grupo (A= Germoplasma ancestral, E= Germoplasma estrangeiro e B= Genótipos dos programas de melhoramento brasileiros subdivididos de acordo com a década em que foi realizado o cruzamento (B1= entre 1940 e 1951; B2= entre 1952 e 1961; B3= entre 1962 e 1971; B4= entre 1972 e 1981; B5= entre 1982 e 1991 e B6= entre 1992 e 2001) dos 242 acessos pertencentes ao Painel Brasileiro de Genótipos de Cana-de-açúcar. 16

Tabela 2. Amplitude fenotípica, médias fenotípicas, estimativas dos componentes de variâncias genética ($\hat{\sigma}_G^2$) e fenotípica ($\hat{\sigma}_P^2$), coeficientes de variação fenotípica, genotípica ($\overline{CV}_e(\%)$ e $\overline{CV}_{gt}(\%)$)* e herdabilidade no sentido amplo em nível de planta (\hat{h}^2) do número de colmos por contagem direta, peso total de parcela (kg), altura de colmos (m), diâmetro de colmos (mm), sólidos solúveis ($^{\circ}$ Brix), teor de sacarose da cana (Pol%Cana), teor de sacarose do caldo (Pol%Caldo) e teor de fibra (%), avaliados no Painel Brasileiro de Genótipos de Cana-de-açúcar em dois anos agrícolas, cana-planta (1) e cana-soca (2) 29

Tabela 3. Regressão linear, coeficiente de determinação (R^2) e P valor para testar a significância do coeficiente angular das oito características avaliadas em cana-planta e cana-soca (número de colmos, peso total de parcela, altura de colmos, diâmetro de colmos, sólidos solúveis ($^{\circ}$ Brix), Pol%Cana, Pol%Caldo e teor de fibra) em seis décadas dos acessos brasileiros pertencentes aos programas de melhoramento brasileiros do Painel Brasileiro de Cana-de-açúcar. 35

Capítulo 2

Tabela 1. Painel Brasileiro de Genótipos de Cana-de-açúcar (PBGCA): 242 acessos avaliados à campo para resposta de resistência (R) ou suscetibilidade (S) a doença de ferrugem marrom e haplótipos para o gene *Bru1* considerando a presença ou ausência dos marcadores moleculares R12H16 e 9O20-F4-Rsal. 51

Tabela 2. Frequência do gene *Bru1*, de dois anos agrícolas avaliados, nos acessos de programas de melhoramento genéticos brasileiros e estrangeiros, e também de espécies ancestrais. 59

Tabela 3. Distribuição de acessos resistentes e suscetíveis à ferrugem marrom no Painel Brasileiro de Genótipos de Cana-de-açúcar em relação à presença do gene *Bru1* considerando os marcadores moleculares R12H16 e 9O20-F4-Rsal e separando os genótipos em variedades de programas brasileiros, de melhoramento estrangeiro e espécies ancestrais 61

ÍNDICE DE FIGURAS

Página

Capítulo 1

Figura 1. Esquemática do estabelecimento em campo do Painel Brasileiro de Genótipos de Cana-de-açúcar (A) Indicação das gemas dos toletes (B) Cortes dos toletes para isolamento das gemas (C) Tratamento das gemas com fungicida (D) exemplo de gema atacada por fungos (E, F, G) Inserção das gemas tratadas em copo plástico com substratos (H) As gemas são cobertas com substrato (I, J, K) deixadas em ambiente protegido para germinação e desenvolvimento (L) quando as mudas atingem um tamanho satisfatório são levadas ao ambiente externo da casa de vegetação para aclimação (M, N, O, P) as mudas sendo transplantadas para o campo experimental. 15

Figura 2. Avaliações fenotípicas no Painel Brasileiro de Genótipos de Cana-de-Açúcar: (A) Medição de diâmetro (mm); (B) Peso de 10 colmos (kg); (C) Peso da parcela após a colheita da cana (kg). 25

Figura 3. Correlação genotípica entre as oito características avaliadas a partir das médias ajustadas dos dois anos agrícolas (cana-planta e cana-soca) obtidas via modelos mistos para o Painel Brasileiro de Genótipos de Cana-de-açúcar. 30

Figura 4. Análise dos componentes principais estimados a partir da média ajustada dos dois anos agrícolas, cana-planta e cana-soca (2014 e 2015), das oito características avaliadas no Painel Brasileiro de Genótipos de Cana-de-açúcar (número de colmos por contagem direta, peso total de parcela em kg, altura de colmos em m, diâmetro de colmos em mm, sólidos solúveis (°Brix), Pol%Cana, Pol%Caldo e teor de fibra). As cores representam, em verde acessos do germoplasma ancestral e em azul, acessos do germoplasma melhorado. 32

Figura 5. Boxplot das oito características (número de colmos, peso total de parcela, altura de colmos, diâmetro de colmos, sólidos solúveis (°Brix), Pol%Cana, Pol%Caldo e teor de fibra) avaliados no PBGCA. Os genótipos estão agrupados em A- Ancestrais, E- Estrangeiras, os genótipos dos programas de melhoramento brasileiros subdivididos de acordo com a década de cruzamento (B1-entre 1940 e 1951; B2-entre 1952 e 1961; B3-entre 1962 e 1971; B4-entre 1972 e 1981; B5-entre 1982 e 1991 e B6-entre 1992 e 2001). 34

Capítulo 2

Figura 1. Escala de notas para severidade de ferrugem marrom em cana-de-açúcar baseada nos trabalhos de Tai et al. (1981) e Amorim et al. (1987). 50

Figura 2. Três diferentes níveis de severidade de *Puccinia melanocephala*, fungo causador da ferrugem marrom, em folhas de cana-de-açúcar. Na avaliação fenotípica foi utilizada escala diagramática com notas para severidade da doença (TAI et al., 1981; AMORIM et al., 1987). Fig (a) - Folha sem o sintoma da doença; Fig (b) - Folha com nota 4 na escala diagramática; Fig (c) - Folha com nota 6 na escala diagramática. 57

Figura 3. Padrão de amplificação dos dois marcadores moleculares de diagnóstico para presença do gene *Bru1* em um subconjunto de acessos de cana-de-açúcar. Fig. 3a - R12H16; Fig. 3b - 9O20-F4-Rsal. 58

Figura 4. - Proporção de resistência e suscetibilidade à ferrugem marrom com base nas 10 variedades de cana-de-açúcar mais plantadas ao longo de 5 décadas, de acordo com dados do programa de melhoramento genético de Cana-de-açúcar da Universidade Federal de São Carlos, integrante da rede interuniversitária do setor sucroenergético (RIDESA) (<http://pmgca.dbv.cca.ufscar.br/>). A linha negra indica o progresso de variedades resistentes e linha cinza indica o declínio de variedades suscetíveis. 63

Figura 5. Genealogia da variedade de cana-de-açúcar RB966928. Acessos com cor cinza têm informações de haplótipos de marcadores moleculares de diagnóstico para o gene *Bru1*. Os haplótipos 1, 3 e 4 foram destacados em escala de cinza mais escuro: quadrado cinza e texto branco são haplótipo 1; cinza e sem quadrado de borda são haplótipo 3; Cinza mais leve e quadrado de borda pontilhada são haplótipo 4. Dados de parentesco foi fornecido pelo Programa de Melhoramento Genético de Cana-de-açúcar da Universidade Federal de São Carlos, integrante da Rede Interuniversitária para o Desenvolvimento do Setor Sucroenergético (RIDESA) (<http://pmgca.dbv.cca.ufscar.br/>). O software Pedigraph™ foi utilizado para a construção da árvore genealógica. R: acessos resistentes à ferrugem marrom; S: acessos suscetíveis à ferrugem marrom; * As informações coletadas de referências: Costet et al. (2012), Glynn et al. (2013), Racedo et al. (2013), Parco et al. (2014). 65

CARACTERIZAÇÃO FENOTÍPICA E MOLECULAR DO PAINEL BRASILEIRO DE GENÓTIPOS DE CANA-DE-AÇÚCAR

Autor: FERNANDA ZATTI BARRETO

Orientador: Profa. Dra. MONALISA SAMPAIO CARNEIRO

Co-orientador: Prof. Dr. GABRIEL RODRIGUES ALVES MARGARIDO

RESUMO

A cana-de-açúcar é uma fonte renovável de energia que possui potencial para expansão. A importância econômica da cana-de-açúcar é devido a sua utilização como matéria-prima, principalmente, para produção de açúcar e etanol e, mais recentemente, geração de energia elétrica a partir dos resíduos lignocelulósicos. O melhoramento genético da cana-de-açúcar é responsável por liberar variedades mais produtivas e resistentes as doenças, mas, no entanto, é um processo longo e de elevado custo. Além disso, a Cana-de-açúcar é poliplóide e com frequente aneuploidia, o que torna o trabalho dos programas de melhoramento ainda mais oneroso. Desta forma, o conhecimento fenotípico e molecular dos acessos que são utilizados em cruzamentos para obtenção de populações segregantes ou que fazem parte de bancos de germoplasma dos programas de melhoramento é de extrema importância, visto que este conhecimento pode direcionar o processo de melhoramento e aumentar as chances de seleção de variedades superiores que atendam a demanda do setor sucroenergético. Assim, neste trabalho, um conjunto de 242 genótipos de cana-de-açúcar, os quais compõem o Painel Brasileiro de Genótipos de Cana-de-açúcar (PBGCA), foi plantado no Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal de São Carlos, em Araras-SP, em delineamento experimental em blocos casualizados com quatro repetições. Foram avaliadas oito características fenotípicas de importância econômica: altura de colmos (m), diâmetro de colmos (mm), número de colmos, peso total de parcela (kg), sólidos solúveis (°Brix), teor de sacarose do caldo (Pol%Caldo), teor de sacarose da cana (Pol%Cana) e teor de fibra (%); além disso avaliou-se a incidência de ferrugem marrom (*Puccinia melanocephala*) a campo e a presença do gene de resistência a esta doença (*Bru1*). A estimativa de variâncias, a análise de correlação genotípica e a análise de componentes principais evidenciaram a diversidade genética do PBGCA, o qual possui, por exemplo, genótipos contrastantes para teor de açúcar e teor de fibra. Em adição, do total de acessos fenotipicamente resistentes à ferrugem marrom, 72,30% apresentaram o gene *Bru1*, o qual é fortemente associado com a resistência a esta doença. A caracterização fenotípica e molecular do PBGCA mostrou ser importante para guiar eficientemente as estratégias de melhoramento genético, possibilitando, ainda, estudos futuros de associação entre as características de importância econômica e marcadores moleculares com a finalidade de realizar seleção assistida em cana-de-açúcar.

PHENOTYPIC AND MOLECULAR CHARACTERIZATION OF THE BRAZILIAN PANEL OF SUGARCANE GENOTYPES

Author: FERNANDA ZATTI BARRETO

Adviser: Prof. Dr. MONALISA SAMPAIO CARNEIRO

Co-adviser: Prof. Dr. GABRIEL RODRIGUES ALVES MARGARIDO

ABSTRACT

Sugarcane is a renewable source of energy and has potential for expansion. The economic importance of sugarcane is due to its use as raw material, mainly for the sugar and ethanol production and, more recently for the electricity generation from lignocellulosic residues. The genetic improvement of sugarcane is responsible for releasing more productive and resistant cultivars but, however, is a long process with high cost. Furthermore, the sugarcane is polyploid and often presents aneuploid, which makes the work of breeding programs even more hampered. Thus, the phenotypic and molecular knowledge of the access that are commonly used for the crosses to obtain segregating populations or that are part of genebanks of breeding programs is of extreme importance, because this knowledge may drive the improvement process and increases the chances of selecting superior cultivars that meet the demand of the sugarcane industry. In this work, a panel of 242 genotypes of sugarcane, which compose the Brazilian Panel of Sugarcane Genotypes (PBGCA), was planted in the Agricultural Sciences Center of the Federal University of São Carlos, at Araras-SP, in a completely randomized block design with four replications. We evaluated eight phenotypic traits of economic importance: stalk height (m), stalk diameter (mm), stalk number, total weight (kg), soluble solids content ($^{\circ}$ Brix), juice sucrose content (POL%Caldo), cane sucrose content (POL%Cana) and fiber content (FIB%); and also the incidence of brown rust (*Puccinia melanocephala*) at field and the presence of the resistance gene of this disease (*Bru1*). The estimate of variance, genotypic correlation analysis and principal component analysis showed the genetic diversity of PBGCA, which has, for example, contrasting genotypes for sucrose content and fiber content. In addition, from all resistant accessions on the field to brown rust, 72.30% present the *Bru1* gene, which is strongly associated with resistance. Phenotypic and molecular characterization of PBGCA showed to be an efficiently important guide for the breeding strategies and enables future studies of association between traits of economic importance and molecular markers in order to perform assisted selection in sugarcane.

INTRODUÇÃO

A cana-de-açúcar (*Saccharum spp.*) possui um papel relevante para a economia brasileira. Atualmente, a espécie está entre as mais importantes cultivadas, sendo a principal fonte de sacarose e de inúmeros subprodutos que podem ser obtidos a partir do bagaço e do caldo (MATSUOKA; FERRO; ARRUDA, 2009).

Segundo a estimativa da Companhia Nacional de Abastecimento (CONAB, 2016), a área cultivada com cana-de-açúcar que será colhida e destinada à atividade sucroalcooleira na safra 2016/17 está estimada em 9.073,7 mil hectares, distribuídos em todos estados produtores. O estado de São Paulo é o maior produtor com 52,30% (4.498,3 mil hectares), seguido por Goiás com 10,30% (885,8 mil hectares). A produtividade média brasileira está estimada em aproximadamente 76 ton/ha. O Brasil é o maior produtor e exportador de açúcar, respondendo por cerca de 20% de toda produção mundial (ÚNICA, 2016), e, em relação ao etanol, o país disputa a liderança com os Estados Unidos (RFA,2016; CONAB, 2016)

A grande importância da cana-de-açúcar e seus derivados para países tropicais e subtropicais tem resultado em investimentos correspondente para pesquisa e obtenção de tecnologia com intuito de auxiliar os programas de melhoramento no entendimento genético dessa cultura, que se destaca por constantemente permitir a obtenção de variedades com requisitos adequados a interesses agrônômicos e industriais.

O melhoramento é dificultado pela complexidade apresentada pelo genoma dos híbridos de cana-de-açúcar, dada a natureza híbrida de seus cultivares, que possuem padrão citogenético de difícil análise, origem multiespecífica, alto nível de ploidia e aneuploidia, o que torna um processo longo que pode levar até 15 anos (D'HONT et al., 2008).

A agroindústria da cana-de-açúcar ainda apresenta grandes possibilidades de diversificação de seus produtos e incremento das disponibilidades energéticas, seja caminhando-se em direção às biorrefinarias, complexos produtivos capazes de fornecer bioenergia e fabricar biomateriais diversos (plásticos biodegradáveis), seja reforçando a base de recursos genéticos, inclusive com estudos ao nível do processo fotossintético.

As perspectivas para a expansão do setor sucroenergético rompem as fronteiras brasileiras. A necessidade de avanços no setor para sustentar a posição de liderança do Brasil é evidenciada pelo crescente interesse mundial nas tecnologias empregadas no país. Nesse contexto, os programas de melhoramento genético da cana-de-açúcar, têm concentrado esforços para o desenvolvimento e lançamento de novas variedades com características agrônômicas que atendam às demandas atuais e as perspectivas do setor sucroenergético.

OBJETIVOS

O objetivo deste trabalho foi:

- 1) Realizar a avaliação de componentes genéticos e a caracterização fenotípica do Painel Brasileiro Genótipos de Cana-de-açúcar com base em oito características agroindústrias ao longo de dois anos agrícolas;
- 2) Utilizar marcadores moleculares associados ao gene de resistência à ferrugem marrom, *Bru1*, para predição de fenótipos em programa de melhoramento genético da cana-de-açúcar

REVISÃO DE LITERATURA

1. Cultura da cana-de-açúcar

A cana-de-açúcar é uma planta alógama, da família Poaceae, tribo Andropogoneae, subtribo Saccharinae, gênero *Saccharum* (MATSUOKA; GARCIA; CALHEIROS, 1999). As cultivares comerciais em uso foram originalmente derivadas de hibridações interespecíficas, entre a espécie produtora de açúcar, *Saccharum officinarum* (“cana nobre”), e as espécies selvagens *S. spontaneum*, *S. edule*, *S. barberi* e *S. sinense*, seguidas de uma série de retrocruzamentos com *S. officinarum*. O genoma das variedades modernas apresenta predominantemente cromossomos derivados de *S. officinarum* com apenas 15% a 25% de cromossomos derivados de *S. spontaneum* (D’HONT ET AL., 1996; GRIVET et al., 1996) com número de cromossomos variando de 100 a 130. Por causa da sua alta poliploidia e origem interespecífica, as progênies obtidas são aneuplóides.

O elevado nível de ploidia ($2n = 100-130$), a ocorrência de aneuploidia e a complexidade citogenética dos híbridos interespecíficos, aliado à dificuldade de

controlar a hibridação e o tempo gasto com o desenvolvimento de novas variedades (de 12 a 15 anos), têm limitado os estudos genéticos em cana-de-açúcar. A complexidade do genoma, juntamente com a natureza multigênica e/ou multialélica das principais características agrônômicas, tornam o melhoramento da cana-de-açúcar uma árdua tarefa (CASU et al., 2005). O melhoramento clássico tem sido responsável pelo aumento da produtividade das variedades modernas de cana-de-açúcar, através de ferramentas clássicas de estudo da variabilidade genética existente. Em todas as regiões tropicais e subtropicais do mundo, a cana-de-açúcar é cultivada (CHEAVEGATTI-GIANOTTO et al., 2011). Os cinco principais produtores da cultura em 2013 foram o Brasil (40,19% da produção mundial), seguidos de Índia (17,85%), China (6,7%), Tailândia (5,24%) e Paquistão (3,34%) (FAO, 2016).

2. Melhoramento da cana-de-açúcar

O melhoramento clássico tem sido responsável pelo aumento da produtividade das variedades modernas de cana-de-açúcar através da seleção e clonagem de genótipos superiores presentes em populações segregantes obtidas pelo cruzamento de indivíduos contrastantes. Várias etapas são necessárias para se obterem poucos genótipos promissores em fases finais, sendo que a partir de um único cruzamento são gerados milhões de plântulas que são avaliadas com base em muitas repetições, em diferentes locais e anos de cultivo. Com isso, é possível obter razoável segurança nas recomendações e, assim, utilizar os genótipos como variedades comerciais (CESNIK & MIOCQUE, 2004; MATSUOKA; GARCIA; CALHEIROS, 1999). A liberação comercial de uma nova variedade ocorre, em média, entre 10 e 15 anos, sendo bastante onerosa a um programa de melhoramento genético (RABOIN et al., 2008).

Portanto, como mencionado por Lima et al., 2002 o sucesso de um programa de melhoramento depende do conhecimento e compreensão da diversidade genética disponível nos bancos de germoplasma, que poderá ser explorada para produzir coleções de estudos a fim de direcionar os cruzamentos entre genótipos contrastantes.

Atualmente, quatro principais programas de melhoramento genético da cana-de-açúcar estão em atividade no Brasil: Rede Interuniversitária para o Desenvolvimento do Setor Sucroenergético (RIDESA), Instituto Agrônomo de Campinas (IAC), o Centro de Tecnologia Canavieira (CTC) e a Vignis. Houve no

Brasil, também, um programa de melhoramento localizado na cidade de Campos, no estado do Rio de Janeiro, extinto em 1972 e que liberou variedades com a sigla CB (Campos Brasil) (CHEAVEGATTI-GIANOTTO et al., 2011).

Para a obtenção de novas variedades elite, é necessário possuir uma “coleção de trabalho” que é composta por genótipos de uma determinada espécie que carregam características, ou genes específicos, de interesse ao programa de melhoramento. Essa coleção de trabalho pode ser criada a partir de acessos contidos em um Banco Ativo de Germoplasma (BAG) (VEIGA et al., 2012).

A criação de um painel de diversidade criado a partir da seleção de acessos contidos em um BAG é uma ferramenta valiosa para auxiliar os estudos da variabilidade genética, como também dos melhoristas na criação da coleção de trabalho, uma vez que estes painéis tendem a representar o máximo das variações alélicas presentes na coleção original.

Diversos métodos são utilizados para a caracterização dos bancos de germoplasma. Tradicionalmente são utilizadas as características morfológicas e, no caso da cana-de-açúcar, são avaliadas características ligadas à produção, tais como sólidos solúveis (°Brix), peso, altura e diâmetro de colmos. No entanto, normalmente essas características sofrem grande influência do ambiente; desta forma, modernamente a diversidade pode ser avaliada também por meio de marcadores moleculares, os quais não sofrem influências ambientais.

3. Marcadores moleculares

Aa técnicas de marcadores moleculares possibilita a identificação das regiões genômicas que controlam as características de interesse agroindustrial e fornecem a estimativa da diversidade genética, pois são independentes de efeitos ambientais. Diversos tipos de marcadores moleculares estão disponíveis para análise do genoma de cana-de-açúcar, e têm sido utilizados para estudos básicos de genética e de melhoramento, incluindo caracterização molecular de germoplasma, identificação varietal, avaliação de grau de parentesco, mapeamento genético, seleção assistida por marcadores moleculares e marcadores de diagnóstico para resistência a doença (CORDEIRO; PAN; HENRY, 2003; COSTET et al., 2012; GARCIA et al., 2006; LIMA et al., 2002; PINTO et al., 2004, PINTO et al., 2006, RABOIN et al., 2006).

4. Ferrugem marrom em cana-de-açúcar

Existem diversos fatores que reduzem a produtividade da cana-de-açúcar, entre eles os fatores fitossanitários, sendo que o meio de controle mais eficiente e econômico para reduzir os danos causados pelo ataque de patógenos é a utilização de variedades resistentes (COSTET et al., 2012; GLYNN et al., 2012).

A ferrugem marrom da cana-de-açúcar é uma doença fúngica causada por *Puccinia melanocephala* Syd. & P. Syd. e está presente em quase todas as áreas de cultivo da cana. Relatada no Brasil pela primeira vez em 1986, no município de Capivari-SP, disseminou-se rapidamente por toda a região meridional do país, onde encontrou condições favoráveis ao seu desenvolvimento (MOURA, 2004).

A ocorrência desta doença é mais danosa à cana-de-açúcar nos locais de temperatura não muito elevadas (17°C a 25°C) e nas épocas de maior umidade do ar (70%), observando-se ainda ser a cana-de-açúcar mais suscetível na primeira metade do seu ciclo vegetativo, ou seja, dos dois aos oito meses de idade, existindo variedades que são resistentes à doença na fase adulta e suscetíveis na sua fase jovem, enquanto outras sofrem ataques ao longo de todo o ciclo, desde que as condições climáticas sejam favoráveis ao patógeno. A presença de água na superfície foliar (chuva, orvalho) tem sido relatada como o fator ambiental primordial para a ocorrência da infecção (COPERSUCAR, 1986). Desta forma, verifica-se que o surgimento da doença e o seu desenvolvimento estão relacionados com a interação Genótipos x Agentes Patogênicos x Ambientes (MATSUOKA, 1993).

Os sintomas da ferrugem marrom predominam nas partes foliares da planta (MASUDA et al., 1986; SILVA et al., 2001). Inicialmente, são pequenas pontuações cloróticas, visíveis principalmente contra o sol. Tais pontuações evoluem na forma de manchas alongadas de cor amarelo-pálida, visíveis em ambas as partes da folha. Medem de 2 a 10 mm de comprimento e de 1 a 3 mm de largura. As lesões, ligeiramente em alto relevo, aumentam rapidamente de tamanho adquirindo coloração avermelhada, podendo chegar a vermelho-parda e preta nos estádios finais de desenvolvimento (COPERSUCAR, 1986; MASUDA et al., 1986). As pústulas, que são os uredósporos subepidérmicos, rompem-se no centro das lesões, principalmente na fase inferior das folhas, deixando escapar os uredósporos de cor marrom, marrom-alaranjada ou marrom-avermelhada (COPERSUCAR, 1986; MASUDA et al., 1986; MOURA, 2004).

Em variedades mais suscetíveis estas pústulas reduzem a vida da folha que perdem a função fotossintética. A presença das pústulas resulta no crescimento reduzido da cana e perda de produção (ASNAGHI et al., 2001; MASUDA et al., 1986). A disseminação da ferrugem da cana-de-açúcar se dá principalmente pela ação dos ventos, respingos de água das chuvas e também através de materiais vegetais transportados pelo homem, sendo que, sob condições ideais, a evolução das pústulas e produção de nova massa de inóculo completam-se no período de 7 a 14 dias (COPERSUCAR, 1986; MOURA, 2004).

4.1 Gene de resistência a ferrugem marrom *Bru1*

A base da resistência à ferrugem marrom em cana-de-açúcar tem sido amplamente estudada e os resultados mostraram um controle monogênico e dominante envolvendo uma única cópia do alelo de resistência (DAUGROIS et al., 1996). Um dos genes encontrado é o gene de resistência, *Bru1*, que é o primeiro caráter mendeliano descrito para o complexo genoma da cana-de-açúcar (ASNAGHI et al., 2003; GLYNN et al., 2012).

Estudos relatam que a resistência à ferrugem marrom nas variedades modernas de cana-de-açúcar depende essencialmente do gene *Bru1* (COSTET et al., 2012). Estudos genômicos têm mostrado que *Bru1* está incluído numa inserção de tamanho desconhecido que é específico para *Bru1* - possuindo haplótipos, sendo que *Bru1* é ausente em haplótipos homeólogos (CUNFF et al., 2008). Esta inserção induz redução de recombinação, resultando em forte desequilíbrio de ligação (DL) na região *Bru1* e um completo DL entre dois marcadores moleculares, R12H16 e 9O20-F4. Estes representam valiosos marcadores de diagnóstico para a presença de *Bru1*, pois tal presença prevê comportamento resistente de qualquer variedade moderna de cana (RACEDO et al., 2013). Além disso, a ausência destes marcadores em uma variedade resistente indicaria a ausência de *Bru1*, sugerindo uma fonte alternativa de resistência (COSTET et al., 2012; GLYNN et al., 2012).

LITERATURA CITADA

ASNAGHI, C. et al. Resistance of Sugarcane Cultivar R 570 to *Puccinia melanocephala* Isolates from Different Geographic Locations. **Plant Disease**, [s.l.], v. 85, n. 3, p.282-286, mar. 2001. Scientific Societies. <http://dx.doi.org/10.1094/pdis.2001.85.3.282>.

ASNAGHI, C. et al. Targeted mapping of a sugarcane rust resistance gene (*Bru1*) using bulked segregant analysis and AFLP markers. **Theor Appl Genet**, [s.l.], v. 108, n. 4, p.759-764, 28 out. 2003. Springer Science + Business Media. <http://dx.doi.org/10.1007/s00122-003-1487-6>.

CASU, R E. et al. Genomics approaches for the identification of genes determining important traits in sugarcane. **Field Crops Research**, [s.l.], v. 92, n. 2-3, p.137-147, jun. 2005. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.fcr.2005.01.029>.

CESNIK, R.; MIOCQUE J. Melhoramento da cana-de-açúcar. Brasília: **Embrapa Informação Tecnológica**, 2004. 307p.

CHEAVEGATTI-GIANOTTO, A et al. Sugarcane (*Saccharum X officinarum*): A Reference Study for the Regulation of Genetically Modified Cultivars in Brazil. **Tropical Plant Biol.**, [s.l.], v. 4, n. 1, p.62-89, 22 fev. 2011. Springer Science + Business Media.<http://dx.doi.org/10.1007/s12042-011-9068-3>.

CONAB. **Acompanhamento da safra brasileira- Cana-de-açúcar**: Companhia nacional de abastecimento. Disponível em: <http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/16_04_18_14_27_15_boletim_cana_portugues_-_1o_lev_-_16.pdf>. Acesso em: 30 abr. 2016.

COPERSUCAR. (1986) Ferrugem da Cana-de-Açúcar e sua Constatação no Município de Capivari. Edição Especial. **Boletim Técnico Copersucar**; dezembro de 1986. p. 3-8

CORDEIRO, GM; PAN, Y-B; HENRY, RJ. Sugarcane microsatellites for the assessment of genetic diversity in sugarcane germplasm. **Plant Science**, [s.l.], v. 165, n. 1, p.181-189, jul. 2003. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/s0168-9452\(03\)00157-2](http://dx.doi.org/10.1016/s0168-9452(03)00157-2).

COSTET, L. et al. Haplotype structure around *Bru1* reveals a narrow genetic basis for brown rust resistance in modern sugarcane cultivars.**Theor Appl Genet**, [s.l.], v.

125, n. 5, p.825-836, 10 maio 2012. Springer Science + Business Media. <http://dx.doi.org/10.1007/s00122-012-1875-x>.

CUNFF, L. Le et al. Diploid/Polyploid Syntenic Shuttle Mapping and Haplotype-Specific Chromosome Walking Toward a Rust Resistance Gene (*Bru1*) in Highly Polyploid Sugarcane (2n = 12x = 115). **Genetics**, [s.l.], v. 180, n. 1, p.649-660, 24 ago. 2008. Genetics Society of America. <http://dx.doi.org/10.1534/genetics.108.091355>.

D'HONT, A. et al. Characterisation of the double genome structure of modern sugarcane cultivars (*Saccharum* spp.) by molecular cytogenetics. **Mgg Molecular & General Genetics**, [s.l.], v. 250, n. 4, p.405-413, mar. 1996. Springer Science + Business Media. <http://dx.doi.org/10.1007/bf02174028>.

D'HONT, A et al. Sugarcane: A Major Source of Sweetness, Alcohol, and Bio-energy. **Genomics Of Tropical Crop Plants**, [s.l.], p.483-513, nov. 2008. Springer Science + Business Media. http://dx.doi.org/10.1007/978-0-387-71219-2_21.

DAUGROIS, JH. et al. A putative major gene for rust resistance linked with a RFLP marker in sugarcane cultivar 'R570'. **Theoret. Appl. Genetics**, [s.l.], v. 92, n. 8, p.1059-1064, jun. 1996. Springer Science + Business Media. <http://dx.doi.org/10.1007/bf00224049>.

FAO. **FAOSTAT: FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS**. Disponível em: <<http://faostat.fao.org/site/567/DesktopDefault.aspx?PageID=567#ancor>>. Acesso em: 05 mar. 2016.

GARCIA, AAF. et al. Development of an integrated genetic map of a sugarcane (*Saccharum* spp.) commercial cross, based on a maximum-likelihood approach for estimation of linkage and linkage phases. **Theor Appl Genet**, [s.l.], v. 112, n. 2, p.298-314, 24 nov. 2005. Springer Science + Business Media. <http://dx.doi.org/10.1007/s00122-005-0129-6>.

GLYNN, NC. et al. Utilization of a major brown rust resistance gene in sugarcane breeding. **Molecular Breeding**, [s.l.], v. 31, n. 2, p.323-331, 10 nov. 2012. Springer Science + Business Media. <http://dx.doi.org/10.1007/s11032-012-9792-x>.

GRIVET, L. et al. RFLP Mapping in Cultivated Sugarcane (*Saccharum* spp.): Genome Organization in a Highly Polyploid and Aneuploid Interspecific Hybrid. **Genetics**, Bethesda, v. 142, p.987-1000, 1996.

MASUDA, Y., et al. A Ferrugem da Cana-de-Açúcar no Brasil. **Brasil Açucareiro – Planalsucar**, Ano LIV – vol.104, 1986,p. 6-13

MATSUOKA, S.; HOFFMANN, HP. Variedades de cana-de-açúcar para bovinos. In: SIMPÓSIO SOBRE NUTRIÇÃO DE BOVINOS, 5., 1993, Piracicaba. **Anais**. Piracicaba: FEALQ, 1993. p. 17-36.

MATSUOKA, S; GARCIA, AAF; CALHEIROS, GC. Hibridação em cana-de-açúcar. In: A, Borém (Ed.). **Hibridação Artificial de Plantas**.Viçosa: Editora Ufv, 1999. p. 221-254.

MATSUOKA, S; FERRO, J; ARRUDA, P. The Brazilian experience of sugarcane ethanol industry. **In Vitro Cell.dev.biol.-plant**, [s.l.], v. 45, n. 3, p.372-381, 28 maio 2009. Springer Science + Business Media. <http://dx.doi.org/10.1007/s11627-009-9220-z>.

MOURA, GL., Análise de herança da resistência à ferrugem da cana-de-açúcar *P. melanocephala* H. & P.Syd. 46f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – **Universidade Federal de São Carlos**, São Carlos, 2004.

PINTO, LR. et al. Characterization of novel sugarcane expressed sequence tag microsatellites and their comparison with genomic SSRs.**Plant Breeding**, [s.l.], v. 125, n. 4, p.378-384, ago. 2006. Wiley-Blackwell. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1439-0523.2006.01227.x>.

PINTO, LR et al. Survey in the sugarcane expressed sequence tag database (SUCEST) for simple sequence repeats.**Genome**, [s.l.], v. 47, n. 5, p.795-804, out. 2004. Canadian Science Publishing. <http://dx.doi.org/10.1139/g04-055>.

RABOIN, L. et al. Genetic mapping in sugarcane, a high polyploid, using bi-parental progeny: identification of a gene controlling stalk colour and a new rust resistance gene. **Theor Appl Genet**, [s.l.], v. 112, n. 7, p.1382-1391, 22 mar. 2006. Springer Science + Business Media. <http://dx.doi.org/10.1007/s00122-006-0240-3>.

RABOIN, LM et al. Analysis of genome-wide linkage disequilibrium in the highly polyploid sugarcane. **Theor Appl Genet**, [s.l.], v. 116, n. 5, p.701-714, 15 jan. 2008. Springer Science + Business Media. <http://dx.doi.org/10.1007/s00122-007-0703-1>.

RACEDO, J et al. *Bru1* gene and potential alternative sources of resistance to sugarcane brown rust disease. **Euphytica**, [s.l.], v. 191, n. 3, p.429-436, 19 mar. 2013. Springer Science + Business Media. <http://dx.doi.org/10.1007/s10681-013-0905-3>.

RFA- RENEWABLE FUELS ASSOCIATION (Washington). **World Fuel Ethanol Production**. 2016. Disponível em: <<http://www.ethanolrfa.org/resources/industry/statistics/#1454098996479-8715d404-e546>>. Acesso em: 18 maio 2016.

SILVA, MA., et al., Perdas causadas pela Ferrugem, *Puccinia melanocephala*, à Variedades de Cana-de-Açúcar com Diferentes Níveis de Resistência. **Summa Phytopatologica**, v.27, n.1. p.39-43. 2001.

VEIGA, RFA (Org.). Bancos de Germoplasma: importância e organização. In: COSTA, Ana Maria et al. **Conservação de Recursos Genéticos no Brasil**. Brasília: Embrapa, 2012. p. 104-124.

UNICA. **União da indústria de cana-de-açúcar**. Disponível em: <<http://www.unica.com.br/>>. Acesso em: 23 abr. 2016.

CAPÍTULO 1. Caracterização fenotípica do Painel Brasileiro de Genótipos de Cana-de-açúcar (*Saccharum spp.*)

Resumo.....	12
Introdução.....	13
Materiais e Métodos.....	14
3.1 Material vegetal.....	14
3.2 Delineamento experimental.....	15
3.3 Avaliação das características fenotípicas.....	23
3.3.1 Avaliações de altura, diâmetro de colmos, número de colmos e peso total da parcela.....	23
3.3.2 Avaliações de sólidos solúveis(°Brix), teor de sacarose (Pol%Caldo e Pol%Cana) e teor de fibra (%).....	23
3.4 Análise dos dados das características fenotípicas.....	25
Resultados e Discussão.....	26
4.1 Herdabilidade e componentes de variância.....	27
4.2 Correlações genotípicas dos componentes de produção.....	30
4.3 Análise de Componentes Principais.....	31
4.4 Evolução dos acessos do germoplasma brasileiro.....	31
Conclusões.....	38
Literatura citada.....	39

Caracterização fenotípica do Painei Brasileiro de Genótipos de Cana-de-açúcar (*Saccharum spp.*)

1. Resumo

Os programas de melhoramento de cana-de-açúcar têm concentrado esforços para a liberação de novas variedades superiores àquelas atualmente em cultivo. No entanto, esse processo tem sido bastante oneroso aos melhoristas em função do longo período, que normalmente ultrapassa 10 anos. Diante disso, o completo conhecimento e a compreensão da diversidade genética disponível nos bancos de germoplasma podem ser explorados para produzir coleções de estudos a fim de direcionar os cruzamentos entre genótipos contrastantes, garantindo um maior sucesso de um programa de melhoramento na seleção de novas variedades. Neste contexto, o objetivo deste estudo foi realizar a caracterização fenotípica de um conjunto de 242 genótipos de cana-de-açúcar (165 variedades e 77 ancestrais) oriundos do Brasil e de diferentes países, que foi denominado como Painei Brasileiro de Genótipos de Cana-de-açúcar (PBGCA). Foram avaliadas as seguintes características agroindustriais: diâmetro de colmos (mm), altura de colmos (m), número de colmos, peso de colmos (kg), sólidos solúveis (°Brix), teor de sacarose da cana (Pol%Cana), teor de sacarose do caldo (Pol%Caldo), e teor de fibra(%). O experimento de campo foi realizado em blocos completos casualizados com quatro repetições, durante dois anos agrícolas. A partir dos caracteres avaliados, observou-se a diversidade fenotípica presente nesse conjunto de acessos. O peso de colmos (kg) foi a característica com a maior amplitude de variação, em contraste o conteúdo de sólidos solúveis (°Brix) apresentou a menor amplitude. Os coeficientes de variação genético indicaram grande variabilidade genética com valores entre 11,54% (sólidos solúveis) e 63,85% (número de colmos). A herdabilidade foi acima de 0,61, sendo a maior de 0,91 (número de colmos). Foram encontradas 26 correlações significativas dos quais foram oito negativas e 18 positivas. A correlação positiva e mais alta foi entre Pol%Caldo e Pol%Cana (0,99) e a negativa mais alta foi entre teor de fibra e Pol%Cana (-0,79). Com base na análise de componentes principais (PCA) foi possível observar uma separação entre variedades melhoradas e acessos ancestrais, enquanto na avaliação dos boxplots foi observado a maior variação para os acessos ancestrais. Estes resultados poderão ser utilizados pelos melhoristas a fim de guiar estratégias para o desenvolvimento de novas variedades.

2.Introdução

Um programa de melhoramento genético tem por principal finalidade a melhoria de rendimento e produção (COX; HOGARTH; HANSEN, 1994). Estudos indicam o aumento de produtividade de cana-de-açúcar por volta de 41% ao longo das últimas 5 décadas (DAL BIANCO et al., 2012; GOUY et al., 2013; GOUY et al., 2015), com ganhos de aproximadamente 1 a 1,5% por ano. Para o desenvolvimento de novas variedades mais produtivas é importante ter como estratégia o conhecimento dos componentes genéticos, ambientais e as correlações entre as características de interesse.

O Brasil, além de ser o principal produtor de cana-de-açúcar, possui ainda variedades melhoradas com alta produtividade, desenvolvidas a partir dos trabalhos realizados pelos programas de melhoramento genético (BERDING et al., 2004; HOGARTH; COX; BULL, 1997; MATSUOKA et al., 1999a). A liderança do Brasil no setor foi alcançada graças às significativas reduções nos custos de produção, principalmente após o lançamento do Proálcool, resultantes dos ganhos de produtividade e eficiências agrícolas e industriais. Assim, a cana-de-açúcar, tornou-se uma das mais importantes culturas do Brasil. A safra 2015/16 está estimada em aproximadamente 9 milhões de hectares com produtividade de 76.909 kg.ha⁻¹ (CONAB, 2016).

A cana-de-açúcar é uma planta alógama, da família Poaceae, tribo Andropogoneae, subtribo Saccharinae, gênero *Saccharum* (MATSUOKA et al., 1999a). Daniels & Roach (1987) consideram a ocorrência de seis principais espécies no gênero *Saccharum*: *S. officinarum* L. (2n = 80), *S. robustum* Brandes e Jeswiet ex Grassl (2n = 60 – 205), *S. barberi* Jeswiet (2n = 81 – 124), *S. sinense* Roxb. (2n = 111 – 120), *S. spontaneum* L. (2n = 40 – 128) e *S. edule* Hassk (2n = 60-80). O complexo *Saccharum*, o qual compreende as variedades modernas de cana-de-açúcar, foi originado da hibridação interespecífica entre as espécies do gênero *Saccharum* juntamente de outras espécies selvagens relacionadas dos gêneros *Erianthus*, *Sclerostochya*, *Narenga* e *Miscanthus* (BERDING et al., 2004; DANIELS et al., 1975; DANIELS; ROACH, 1987; IRVINE, 1999; MATSUOKA et al., 1999b; MATSUOKA; GARCIA; ARIZONO, 2005; MUKHERJEE, 1954; MUKHERJEE, 1957). Por isso, considera-se que a cana-de-açúcar é uma das cultivares de maior complexidade genética (D'HONT, 2005; Hogarth et al., 1987; RABOIN et al., 2008;

RAHMANI et al., 2000), com alto grau de ploidia e frequente aneuploidia, o que muito dificulta o seu melhoramento (KIDO, 2003; MATSUOKA et al., 1999a).

O desempenho dos genótipos em relação a ambientes diversos é uma característica importante dentro de programas de melhoramento de cana-de-açúcar. Para o desenvolvimento de novas variedades superiores, inúmeros genótipos são avaliados durante diferentes fases do processo de seleção (RAMBURAN; ZHOU; LABUSCHAGNE, 2012). Normalmente, os experimentos realizados em tais fases envolvem a avaliação simultânea de várias características agroindustriais visto que variedades superiores devem concentrar alelos favoráveis para elevada produtividade (por exemplo, tonelada de cana por hectare (TCH), tonelada de pol por hectare (TPH), número de colmos, teor de sacarose e sólidos solúveis (°Brix), resistência a doenças (por exemplo, ferrugem marrom, carvão), pragas e estresses abióticos, entre outros fatores (WELHAM et al., 2010).

Diante disso, a caracterização fenotípica dos acessos dos bancos de germoplasma é um processo fundamental para a garantia de sucesso na seleção de novas variedades, uma vez que a escolha de genitores é o passo inicial de um longo processo de melhoramento. Esta é uma etapa de pré melhoramento, ainda pouco explorada pelos programas de melhoramento de cana-de-açúcar e que podem otimizar os ganhos baseando na escolha dos genitores. Além disso, esta caracterização pode ser utilizada em estudos de associações de fenótipos com marcadores moleculares.

O objetivo deste trabalho foi a avaliação de componentes genéticos e a caracterização fenotípica do Painel Brasileiro Genótipos de Cana-de-açúcar com base em oito características agroindústrias ao longo de dois anos agrícolas.

3. Material e métodos

3.1 Material Vegetal

Foram utilizados 242 acessos, os quais compõem o Painel Brasileiro de Genótipos de Cana-de-açúcar (PBGCA). Os genótipos do PBGCA foram escolhidos com base nos seguintes critérios: i) variedades importantes nos seus países de origem; ii) principais genitores utilizados em programas de melhoramento genético brasileiros; e iii) genitores utilizados em programas de mapeamento.

Neste conjunto de genótipos foi representada a diversidade de alelos do complexo *Saccharum* através de 77 acessos de espécies ancestrais. O

germoplasma ancestral foi constituído de 41 representantes *S. officinarum*, seis *Erianthus*, cinco *S. sinense*, cinco *S. barberi*, cinco *S. spontaneum*, nove *S. robustum*, um *S. edule*, e os híbridos NG57-50 (*S. officinarum* x *S. spontaneum*), F76-1762 (*Miscanthus* x *Erianthus* spp.), US85-1008 (*S. spontaneum* x US60-31-3) IJ76-314 (*S. robustum* x *S. officinarum*) e Badila (*S. officinarum* x NG9615) (Tabela 1).

Além disso, foram incluídos um total de 165 genótipos derivados de programas de melhoramento de 11 países (Austrália, Estados Unidos, Índia, Argentina, Bolívia, Ilhas de Reunião, Indonésia, Taiwan, África do Sul, República Dominicana e Brasil), englobando todos os continentes onde é produzida cana-de-açúcar (Tabela 1).

3.2 Delineamento experimental

Os acessos do PBGCA foram plantados no Centro de Ciências Agrárias (CCA) da Universidade Federal de São Carlos (UFSCar) (22°21'25" S; 47°23'03" W; 611 m de altitude), numa área experimental com solo latossolo vermelho eutroférico (Figura 1). O delineamento experimental utilizado foi de blocos completos casualizados com quatro repetições sendo que cada parcela experimental foi composta por duas linhas de 3,0 m com espaçamento de 1,40 m. Em cada linha foram plantadas seis mudas de cana-de-açúcar que foram previamente desenvolvidas em casa-de-vegetação e pátio de aclimatação.



Figura 1- Esquematisação do estabelecimento em campo do Painele Brasileiro de Genótipos de Cana-de-açúcar (A) Indicação das gemas dos toletes (B) Cortes dos toletes para isolamento das gemas (C) Tratamento das gemas com fungicida (D) exemplo de gema atacada por fungos (E, F, G) Inserção das gemas tratadas em copo plástico com substratos (H) As gemas são cobertas com substrato (I, J, K) deixadas em ambiente protegido para germinação e desenvolvimento (L) quando as mudas atingem um tamanho satisfatório são levadas ao ambiente externo da casa de vegetação para aclimatação (M, N, O, P) as mudas sendo transplantadas para o campo experimental.

Tabela 1- Nome dos acessos, germoplasma, país de origem e grupo (A= Germoplasma ancestral, E= Germoplasma estrangeiro e B= Genótipos dos programas de melhoramento brasileiros subdivididos de acordo com a década em que foi realizado o cruzamento (B1= entre 1940 e 1951; B2= entre 1952 e 1961; B3= entre 1962 e 1971; B4= entre 1972 e 1981; B5= entre 1982 e 1991 e B6= entre 1992 e 2001) dos 242 acessos pertencentes ao Painel Brasileiro de Genótipos de Cana-de-açúcar.

Acessos	Germoplasma ¹	Origem	Grupo
28NG289	<i>S. robustum</i>	NA	A
57NG12	<i>S. robustum</i>	NA	A
75//09 ERIANTHUS	<i>Erianthus</i> spp.	NA	A
AGAUL	<i>S. sinense</i>	África do Sul ^b	A
AGOULE	<i>S. barberi</i> x ?	NA	A
AJAX	<i>S. officinarum</i>	NA	A
AKBAR	BP	NA	E
AR CHI	<i>S. sinense</i>	Taiwan ^b	A
ARUNDOID B	BP	Estados Unidos ^b	E
BADILA	<i>S. officinarum</i> x NG9615	Nova Guiné ^a	A
BLACK BORNEO	<i>S. officinarum</i>	Indonésia ^b	A
CAIANA FITA	<i>S. officinarum</i>	NA	A
CAIANA LISTRADA	<i>S. officinarum</i>	NA	A
CAIANA RISCADA	<i>S. officinarum</i>	NA	A
CAIANA VERDADEIRA	<i>S. officinarum</i>	NA	A
CANA ALHO	<i>S. officinarum</i>	NA	A
CANA BLANCA	<i>S. officinarum</i>	NA	A
CANA MANTEIGA	<i>S. officinarum</i>	NA	A
CB36-14	BP	Brasil ^a	B1
CB36-24	BP	Brasil ^a	B1
CB36-25	BP	Brasil ^a	B1
CB36-68	BP	Brasil ^a	B1
CB40-13	BP	Brasil ^a	B1
CB40-77	BP	Brasil ^a	B1
CB41-76	BP	Brasil ^a	B1
CB45-155	BP	Brasil ^a	B1
CB45-3	BP	Brasil ^a	B1
CB46-47	BP	Brasil ^a	B1
CB47-355	BP	Brasil ^a	B1
CB49-260	BP	Brasil ^a	B1
CB53-98	BP	Brasil ^a	B2
CERAM RED	<i>S. officinarum</i>	NA	A
CHIN	<i>S. barberi</i>	Índia ^a	A

Tabela 1- Continuação

Acessos	Germoplasma ¹	Origem	Grupo
CHINA	<i>S. sinense</i>	NA	A
CHUNNEE	<i>S. barberi</i>	Índia ^b	A
CIMCA77-316	BP	Bolívia ^c	E
CIMCA77-318	BP	Bolívia ^c	E
Co290	BP	Índia ^c	E
Co331	BP	Índia ^c	E
Co419	BP	Índia ^c	E
Co449	BP	Índia ^c	E
Co740	BP	Índia ^c	E
Co997	BP	Índia ^c	E
CP51-22	BP	Estados Unidos ^c	E
CP52-68	BP	Estados Unidos ^c	E
CP53-76	BP	Estados Unidos ^c	E
CP70-1547	BP	Estados Unidos ^c	E
CR72/106	BP	R. Dominicana ^c	E
CRIOLLA MORADA	<i>S. officinarum</i>	NA	A
CRIOLLA RAYADA	<i>S. officinarum</i>	NA	A
CRISTALINA	<i>S. officinarum</i>	NA	A
D11/35	<i>S. officinarum</i>	Estados unidos ^c	A
D152	BP	NA	E
D625	BP	NA	E
F150	BP	Taiwan ^c	E
F31-962	BP	Taiwan ^a	E
F36-819	BP	Estados unidos ^c	E
F76-1762	<i>Miscanthus x Erianthus</i> spp.	NA	A
FORMOSA	<i>S. officinarum</i>	Taiwan ^c	A
GANDA CHENI	<i>S. barberi</i>	Índia ^b	A
H. KAWANDANG	<i>Erianthus</i> spp. x ?	Indonésia	A
H53-3989	BP	Estados Unidos ^c	E
H59-1966	BP	Estados Unidos ^c	E
HJ5741	BP	Estados Unidos ^c	E
IAC48-65	BP	Brasil ^a	B1
IAC49-131	BP	Brasil ^a	B1
IAC50-134	BP	Brasil ^a	B1
IAC51-205	BP	Brasil ^a	B1
IAC52-150	BP	Brasil ^a	B2
IAC58-480	BP	Brasil ^a	B2

Tabela 1- Continuação

Acessos	Germoplasma ¹	Origem	Grupo
IAC64-257	BP	Brasil ^a	B3
IAC68-12	BP	Brasil ^a	B3
IAC82-2045	BP	Brasil ^a	B5
IAC82-3092	BP	Brasil ^a	B5
IAC83-4157	BP	Brasil ^a	B5
IAC86-2210	BP	Brasil ^a	B5
IAC87-3396	BP	Brasil ^a	B5
IJ76-293	<i>S. robustum</i>	Indonésia ^b	A
IJ76-313	<i>S. officinarum</i>	Indonésia ^b	A
IJ76-314	<i>S. robustum x S. officinarum</i>	Indonésia ^b	A
IJ76-317	<i>S. officinarum</i>	Indonésia ^b	A
IJ76-318	<i>S. robustum x ?</i>	Indonésia ^b	A
IJ76-325	<i>S. officinarum</i>	Indonésia ^b	A
IJ76-326	<i>S. officinarum x ?</i>	Indonésia ^b	A
IJ76-360	<i>S. edule</i>	Indonésia ^b	A
IJ76-418 RED	<i>S. officinarum</i>	Indonésia ^b	A
IM76-227	<i>Erianthus</i> spp.	Indonésia ^b	A
IM76-228	<i>S.robustum</i>	Indonésia ^b	A
IM76-229	<i>S.robustum</i>	Indonésia ^b	A
IN84-103	<i>S.officinarum</i>	Indonésia ^b	A
IN84-104	<i>S. robustum x ?</i>	Indonésia ^b	A
IN84-105	<i>S. officinarum</i>	Indonésia ^b	A
IN84-106	<i>S. officinarum</i>	Indonésia ^b	A
IN84-117	<i>S. robustum</i>	Indonésia ^b	A
IN84-46	<i>S. officinarum</i>	Indonésia ^b	A
IN84-58	<i>S. spontaneum</i>	Indonésia ^b	A
IN84-73	<i>Erianthus</i> spp.	NA	A
IN84-77	<i>Erianthus</i> spp.	NA	A
IN84-82	<i>S. spontaneum</i>	Indonésia ^b	A
IN84-83	<i>Erianthus</i> spp.	NA	A
IN84-88	<i>S. spontaneum</i>	Indonésia ^b	A
IS76-155	<i>S. officinarum</i>	NA	A
KRAKATAU	<i>S. spontaneum</i>	NA	A
L60-14	BP	Estados Unidos ^c	E
LAUKONA	<i>S. officinarum x ?</i>	Estados Unidos ^c	A
LOUSER	<i>S. officinarum x ?</i>	NA	A

Tabela 1- Continuação

Acessos	Germoplasma ¹	Origem	Grupo
MALI	BP	NA	E
MANA II	BP	NA	E
MANERIA	<i>S. sinense</i>	Índia ^b	A
MUNTOK JAVA	<i>S. officinarum</i>	Indonésia ^b	A
MZ-151	<i>S. officinarum</i>	NA	A
NA56-79	BP	Argentina ^a	E
NCo 310	BP	África do Sul ^a	E
NG21-17	<i>S. officinarum</i>	Nova Guiné ^b	A
NG21-21	<i>S. officinarum</i>	Nova Guiné ^b	A
NG57-221	<i>S. officinarum</i>	Nova Guiné ^b	A
NG57-50	<i>S. officinarum</i> x <i>S. spontaneum</i>	Nova Guiné ^c	A
NG77-18	<i>S. officinarum</i>	Nova Guiné ^b	A
POJ161	BP	Indonésia ^c	E
POJ2878	BP	Indonésia ^c	E
Q117	BP	Austrália ^a	E
Q165	BP	Austrália ^a	E
Q70	BP	Austrália ^a	E
R570	BP	Ilhas de Reunião ^a	E
RB002601	BP	Brasil ^a	B6
RB002700	BP	Brasil ^a	B6
RB002754	BP	Brasil ^a	B6
RB721012	BP	Brasil ^a	B4
RB72199	BP	Brasil ^a	B4
RB72454	BP	Brasil ^a	B4
RB725053	BP	Brasil ^a	B4
RB725828	BP	Brasil ^a	B4
RB732577	BP	Brasil ^a	B4
RB735200	BP	Brasil ^a	B4
RB735220	BP	Brasil ^a	B4
RB735275	BP	Brasil ^a	B4
RB736018	BP	Brasil ^a	B4
RB739735	BP	Brasil ^a	B4
RB75126	BP	Brasil ^a	B4
RB765418	BP	Brasil ^a	B4
RB785148	BP	Brasil ^a	B4

Tabela 1- Continuação

Acessos	Germoplasma ¹	Origem	Grupo
RB785750	BP	Brasil ^a	B4
RB806043	BP	Brasil ^a	B4
RB815521	BP	Brasil ^a	B4
RB815627	BP	Brasil ^a	B4
RB815690	BP	Brasil ^a	B4
RB825317	BP	Brasil ^a	B5
RB825336	BP	Brasil ^a	B5
RB825548	BP	Brasil ^a	B5
RB83100	BP	Brasil ^a	B5
RB83102	BP	Brasil ^a	B5
RB83160	BP	Brasil ^a	B5
RB835019	BP	Brasil ^a	B5
RB835054	BP	Brasil ^a	B5
RB835089	BP	Brasil ^a	B5
RB835205	BP	Brasil ^a	B5
RB835486	BP	Brasil ^a	B5
RB835687	BP	Brasil ^a	B5
RB845197	BP	Brasil ^a	B5
RB845210	BP	Brasil ^a	B5
RB845239	BP	Brasil ^a	B5
RB845257	BP	Brasil ^a	B5
RB845286	BP	Brasil ^a	B5
RB855002	BP	Brasil ^a	B5
RB855035	BP	Brasil ^a	B5
RB855036	BP	Brasil ^a	B5
RB855063	BP	Brasil ^a	B5
RB855070	BP	Brasil ^a	B5
RB855077	BP	Brasil ^a	B5
RB855113	BP	Brasil ^a	B5
RB855156	BP	Brasil ^a	B5
RB855196	BP	Brasil ^a	B5
RB855206	BP	Brasil ^a	B5
RB855350	BP	Brasil ^a	B5
RB855357	BP	Brasil ^a	B5
RB855453	BP	Brasil ^a	B5

Tabela 1- Continuação

Acessos	Germoplasma ¹	Origem	Grupo
RB855463	BP	Brasil ^a	B5
RB855465	BP	Brasil ^a	B5
RB855511	BP	Brasil ^a	B5
RB855533	BP	Brasil ^a	B5
RB855536	BP	Brasil ^a	B5
RB855546	BP	Brasil ^a	B5
RB855563	BP	Brasil ^a	B5
RB855574	BP	Brasil ^a	B5
RB855589	BP	Brasil ^a	B5
RB855595	BP	Brasil ^a	B5
RB855598	BP	Brasil ^a	B5
RB865214	BP	Brasil ^a	B5
RB867515	BP	Brasil ^a	B5
RB925211	BP	Brasil ^a	B6
RB925268	BP	Brasil ^a	B6
RB925345	BP	Brasil ^a	B6
RB92579	BP	Brasil ^a	B6
RB935744	BP	Brasil ^a	B6
RB965902	BP	Brasil ^a	B6
RB965917	BP	Brasil ^a	B6
RB966928	BP	Brasil ^a	B6
RB975148	BP	Brasil ^a	B6
SABURA	<i>S. officinarum</i>	NA	A
SAC.OFFIC.8272	<i>S. officinarum</i>	Malásia ^b	A
SAC.OFFIC.8276	<i>S. officinarum</i>	Malásia ^b	A
SAC.OFFIC.8280	<i>S. officinarum</i>	Malásia ^b	A
SAC.OFFIC.8284	<i>S. officinarum</i>	Malásia ^b	A
SES 205 A	<i>S. spontaneum</i>	Índia ^a	A
SP70-1005	BP	Brasil ^a	B3
SP70-1078	BP	Brasil ^a	B3
SP70-1143	BP	Brasil ^a	B3
SP70-1284	BP	Brasil ^a	B3
SP70-1423	BP	Brasil ^a	B3
SP70-3370	BP	Brasil ^a	B3
SP71-1406	BP	Brasil ^a	B3

Tabela 1- Continuação

Acessos	Germoplasma ¹	Origem	Grupo
SP71-6949	BP	Brasil ^a	B3
SP71-799	BP	Brasil ^a	B3
SP72-4928	BP	Brasil ^a	B4
SP77-5181	BP	Brasil ^a	B4
SP79-1011	BP	Brasil ^a	B4
SP79-2233	BP	Brasil ^a	B4
SP79-2312	BP	Brasil ^a	B4
SP79-2313	BP	Brasil ^a	B4
SP79-6192	BP	Brasil ^a	B4
SP80-1520	BP	Brasil ^a	B4
SP80-1816	BP	Brasil ^a	B4
SP80-1836	BP	Brasil ^a	B4
SP80-1842	BP	Brasil ^a	B4
SP80-185	BP	Brasil ^a	B4
SP80-3280	BP	Brasil ^a	B4
SP81-1763	BP	Brasil ^a	B4
SP81-3250	BP	Brasil ^a	B4
SP83-2847	BP	Brasil ^a	B5
SP83-5073	BP	Brasil ^a	B5
SP86-155	BP	Brasil ^a	B5
SP89-1115	BP	Brasil ^a	B5
SP91-1049	BP	Brasil ^a	B5
TUC71-7	BP	Argentina ^a	E
UBA DEMERARA	<i>S. sinense</i>	NA	A
US57-141-5	<i>S. robustum</i>	NA	A
US60-31-3	BP	Estados Unidos ^b	E
US85-1008	<i>S. spontaneum</i> x US60-31-3	NA	A
WHITE MAURITIUS	<i>S. officinarum</i>	India ^b	E
WHITE PARARIA	<i>S. barberi</i>	India ^b	E
WHITE TRANSPARENT	<i>S. officinarum</i>	India ^b	E
ZWART MANILA	<i>S. officinarum</i>	Indonésia ^b	E

¹Informação consultada em: a) Banco de Germoplasma da RIDESA (<http://pmgca.dbv.cca.ufscar.br/>); b) Miami World Collection (<https://npgsweb.ars-grin.gov/gringlobal/search.aspx>); e c) Sugarcane Variety Notes (MACHADO, 2000). BP: Genótipos oriundos de Programa de Melhoramento. NA: Informação não disponível

O plantio foi realizado utilizando mudas pré-brotadas (MPB) oriundas de gemas do Banco de Germoplasma do Programa de Melhoramento Genético da Cana-de-açúcar da RIDESA (Rede Interuniversitária para o Desenvolvimento do Setor Sucroenergético) em Murici-AL. As gemas foram tratadas com fungicida, colocadas em recipiente com substrato apropriado (copos plásticos) e mantidas em casa de vegetação por 6 meses, e em seguida transferidas ao campo em fevereiro de 2013.

3.3 Avaliação das características fenotípicas

Os genótipos foram avaliados para oito características fenotípicas, sendo quatro a campo: altura de colmos (m), diâmetro de colmos (mm), número de colmos, peso total da parcela (kg) (Figura 2); e quatro tecnológicos: sólidos solúveis (°Brix), teor de sacarose da cana (Pol%Cana, em %), teor de sacarose do caldo (Pol%Caldo, em %) e teor de fibra (%). As avaliações foram realizadas no momento em que apresentavam 18 meses em cana-planta (no ano de 2014) e também 18 meses de idade após o primeiro corte em cana-soca (no ano de 2015).

3.3.1 Avaliações de altura, diâmetro de colmos, número de colmos e peso total da parcela

Uma amostra de 10 colmos de cana-de-açúcar foi retirada de cada parcela para as análises de altura e diâmetro de colmos. A altura foi medida em metros, com trena graduada, da base do colmo até o meristema apical. O diâmetro foi mensurado em milímetros, através de paquímetro digital com erro de 0,02 mm, no décimo internódio a partir da base do colmo. O número de colmos foi estimado pela contagem direta dos colmos no campo.

Todos os colmos produzidos por parcela foram pesados por intermédio de um dinamômetro analógico 18 meses após o plantio.

3.3.2 Avaliações de sólidos solúveis (°Brix), teor de sacarose (Pol%Caldo e Pol%Cana) e teor de fibra (%).

Os dados das características tecnológicas foram avaliados de acordo com a metodologia descrita por CONSECANA (2006). Foram coletados 10 colmos de cada parcela e encaminhados ao LAST (Laboratório de Análise e Simulação Tecnológica) do Centro de Ciências Agrárias da UFSCar. Os colmos foram desfibrados em partes

menores e posteriormente homogeneizados. Para realizar a extração do caldo na prensa hidráulica, foi aplicada uma pressão de 250 Kg/m² por um minuto em 500 gramas da cana desfibrada. O caldo extraído foi recolhido e o bagaço prensado (bolo úmido) restante foi pesado.

Após a extração do caldo foi realizada a leitura de sólidos solúveis através de refratômetro.

O teor de fibra presente na cana utiliza o peso do bolo úmido e pode ser calculado pela seguinte equação:

$$\text{Fibra\% Cana} = 0,08 \times \text{PBU} + 0,876,$$

em que:

PBU = peso do bagaço úmido da prensa, em gramas.

Através de sacarímetro digital determinou-se o teor de sacarose presente no caldo extraído (Pol%Caldo). Para realização da leitura sacarimétrica o caldo foi clarificado adicionando-se, aproximadamente, 5 gramas de clarificante por 200 mL de caldo. Após a clarificação, o caldo foi filtrado e, então, feita a leitura da polarização no sacarímetro. O teor de sacarose presente no caldo (Pol%Caldo) é dado pela fórmula:

$$\text{Pol\%Caldo} = \text{LPb} (0,2605 - 0,0009882 \times B)$$

em que:

LPb = leitura sacarimétrica;

B = °Brix do caldo.

O teor de sacarose presente na cana (Pol%Cana) é calculado com base no teor de sacarose presente no caldo extraído (Pol%Caldo), no teor de fibra presente na cana e no Coeficiente C, o qual converte Pol do caldo extraído em Pol do caldo absoluto. Assim, o Pol%Cana é dado pela fórmula:

$$\text{Pol\%Cana} = S \times (1 - 0,01 \times F) \times C$$

Em que:

S = Pol%Caldo;

F = Fibra da cana;

C = Coeficiente C = 1,0313 - 0,00575 x F.



Figura 2. Avaliações fenotípicas no Painel Brasileiro de Genótipos de Cana-de-Açúcar: (A) Medição de diâmetro (mm); (B) Peso de 10 colmos (kg); (C) Peso da parcela após a colheita da cana (kg).

3.4 Análise dos dados das características fenotípicas

As características fenotípicas foram analisadas através da abordagem de modelos mistos baseados no método da máxima verossimilhança restrita (REML, do inglês- restricted maximum likelihood) e seguindo o modelo linear:

$$y_{ikm} = \mu + h_m + l_{km} + t_{im} + e_{ikm} \quad (1)$$

Em que y_{ikm} é o fenótipo do genótipo i no bloco k e corte m ; μ é a média geral; h_m é o efeito fixo do corte m^{th} ($m = 1, \dots, M; M = 2$); l_{km} é o efeito fixo da repetição k^{th} ($k = 1, \dots, K; K = 4$) no corte m ; t_{im} é o efeito aleatório do genótipo i^{th} ($i = 1, \dots, I_g; I_g = 242$) no corte m ; e e_{ikm} é o efeito aleatório do erro residual. Para os genótipos, o vetor $\mathbf{t} = (t_{11}, \dots, t_{IM})'$ teve uma distribuição normal com média zero e matriz genética de variâncias e covariâncias (VCOV) $\mathbf{G} = \mathbf{G}_M \otimes \mathbf{I}_{I_g}$, i.e., $\mathbf{g} \sim N(0, \mathbf{G})$, em que M é o número de cortes, \otimes representa o produto direto de Kronecker de ambas matrizes genética \mathbf{G}_M e identidade \mathbf{I}_{I_g} com as respectivas dimensões $M \times M$ e $I_g \times I_g$.

Para a matriz \mathbf{G}_M foi testado a significância das estruturas de identidade (ID) e diagonal (DIAG), que foi determinado através do valor da 'deviance'.

Ainda para as oito características foi verificado no modelo a significância dos efeitos de linhas e colunas sobre cada parcela, afim de se testar a homogeneidade para todos os genótipos dentro de cada bloco. Além disso, foi também testado como

covariável o número de touceira. As análises foram conduzidas para cada característica utilizando o software GenStat (16th Edition) (PAYNE , 2009).

Com base nas médias ajustadas da análise conjunta dos dois anos agrícolas avaliados (cana-planta e cana-soca) foram calculadas as correlações genóticas entre as características utilizando o coeficiente de correlação de Pearson e testadas considerando um nível de significância global de $\alpha^* = 0.05$. Tais análises foram realizadas utilizando-se o software R (<http://www.cran.r-project.org>), por meio do pacote *psych* (REVELLE, 2016), que foi também usado para desenhar gráficos de dispersão entre pares de características.

Em adição, ainda com base nas médias, foi realizada a análise de componentes principais (PCA, do inglês Principal Component Analysis) a partir de uma matriz de dados **D**, em que as linhas continham os genótipos de cana-de-açúcar (acessos) e as colunas representaram as médias ajustadas para os componentes de produção. Nesta análise foi utilizada a função *prcomp* do software R (<http://www.cran.r-project.org>).

As variâncias fenotípicas ($\hat{\sigma}_p^2$) e genéticas ($\hat{\sigma}_G^2$) estimadas foram utilizadas para o cálculo da herdabilidade ($\hat{h}^2 = \hat{\sigma}_G^2 / \hat{\sigma}_p^2$). A variância fenotípica ($\hat{\sigma}_p^2$) foi determinada a partir de $\hat{\sigma}_p^2 = \hat{\sigma}_G^2 + \hat{\sigma}_e^2$, onde $\hat{\sigma}_e^2$ é a variância residual (HOLLAND; NYQUIST; CERVANTES-MARTÍNEZ, 2010). A partir das variâncias foi também calculado o coeficiente de variação genético ($\overline{CV}_{gt}(\%) = (\sqrt{\hat{\sigma}_G^2 / \bar{X}}) \times 100$) e o coeficiente de variação experimental ($\overline{CV}_e(\%) = (\sqrt{\hat{\sigma}_e^2 / \bar{X}}) \times 100$).

Para verificar a evolução temporal dos acessos dentro do germoplasma brasileiro foi realizada a subdivisão destes genótipos com base no ano que foi realizado o cruzamento para a obtenção dos genótipos, sendo de 1940 a 1951 (classificado como grupo B1), de 1952 a 1961 (grupo B2), de 1962 a 1971 (grupo B3), de 1972 a 1981 (grupo B4), de 1982 a 1991 (grupo B5) e de 1992 a 2001 (grupo B6). A partir das médias ajustadas dos oito componentes de produção avaliados (peso, número de colmos, altura, diâmetro, sólidos solúveis, Pol%Cana, Pol%Caldo e teor de fibra) foi realizado o estudo da regressão linear e foram construídos boxplots para comparar a variação dos dados do germoplasma ancestral (grupo A) e do germoplasma melhorado estrangeiro (grupo E).

4. Resultados e Discussão

A partir dos dados coletados, verificou-se no modelo a significância do efeito do número de touceiras sobre as oito características avaliadas, sendo que apenas número de colmos e peso total da parcela, apresentaram resposta positiva, com isso para estas duas características foi utilizado número de touceira como co-fator da análise.

Enquanto que a análise da significância de linhas e colunas em cada parcela, para o teste da homogeneidade dos genótipos dentro de cada bloco, indicou não haver efeito significância para as características no modelo.

As matrizes ID e DIAG testadas para a análise dos dados nos dois anos agrícolas, não apresentaram diferença estatística entre si, por isso, para as oito características avaliadas, foi adotada a estrutura identidade (ID). Sendo assim as variâncias genéticas foram homocedásticas para cana-planta e cana-soca.

4.1 Herdabilidade e componentes de variância

Os resultados referentes às amplitudes fenotípicas, médias, estimativas dos componentes de variância, coeficientes de variação experimental e genético, e herdabilidade dos oitos componentes de produção avaliados nos acessos do PBGCA foram sumarizados na Tabela 2. A amplitude fenotípica das características avaliadas tornou evidente que o PBGCA foi composto por genótipos contrastantes.

Os valores mostraram que a característica peso por parcela foi a que teve maior variação, sendo que o acesso do extremo superior com 404,08kg (CP53-76) apresentou um peso por parcela aproximadamente 292 vezes maior que o acesso do extremo inferior com 1,38kg (IN84-117) e média de 120,24kg. O número de colmos também apresentou uma alta variação, sendo que, variou de 6,00 (MZ-151) a 602,00 (SES 205A), com média de 93,38.

Em contraste, sólidos solúveis foi a característica com menor variação, sendo que os genótipos com alto conteúdo de sólidos solúveis 24,4°Brix (CERAM RED e NG57221) foram cerca de três vezes maiores que o genótipo do extremo inferior 8,00°Brix (IN84-73), a média da característica foi de 19,40°Brix.

Para os outros componentes relacionados ao acúmulo de açúcar foi observada para teor de sacarose do caldo (Pol%Caldo) a variação de 2,42% (SES 205A) a 22,97% (CERAM RED), sendo a média de 16,68% e teor de sacarose da

cana (Pol%Cana) a variação de 1,50% (SES 205A) a 18,90% (RB002700), sendo a média de 13,94%.

O teor de fibra da cana (%) teve uma variação de 4,36% (SAC. OFFIC. 8272) a 31,93% (IJ76-318), com a média de 13,07%, enquanto que altura de colmo variou de 0,77m (IN84-106) a 3,80m (CP53-76), sendo a média de 2,34m e diâmetro variou de 9,73mm (SES205A) a 44,32mm (CANA MANTEIGA), sendo a média de 25,15mm (Tabela 2).

Os valores das estimativas das variâncias residuais ($\hat{\sigma}_e^2$) foram similares em cana-planta e cana-soca para cada característica avaliada. Uma exceção foi $\hat{\sigma}_e^2$ para número de colmos, cerca de 3 vezes menor em cana-planta (301,02) que em cana-soca (805,70).

Os coeficientes de variação genética (CV_{gi}) indicaram grande variabilidade genética com valores de 11,54% para sólidos solúveis ($^{\circ}$ Brix) a 63,85% para número de colmos. O CV_{gi} para teor de fibra, Pol%Caldo e Pol%Cana foi de 24,70%, 20,50% e 22,46%, respectivamente, sendo proporções próximas entre si. Enquanto que o CV_{gi} de peso foi de 39,73%, diâmetro foi 16,41% e altura foi 15,03%.

Os coeficientes de variação residual (\overline{CV}_e) para o primeiro e o segundo anos agrícola, para cada característica avaliada, foram similares (Tabela 2). As maiores diferenças entre \overline{CV}_e de cana-planta e cana-soca foram as seguintes: (a) número de colmos foi aproximadamente 40% maior em cana-soca (33,27%) que em cana-planta (20,34%); (b) teor de fibra foi aproximadamente 26% maior em cana-planta (12,01%) que em cana-soca (8,80%).

A herdabilidade (\hat{h}^2) para as características avaliadas a campo (altura, diâmetro, número de colmos e peso da parcela) foram acima de 0,60 nos dois anos avaliados, com uma variação de 0,61 (peso em cana-planta) a 0,91 (número de colmos em cana-planta). Em relação à herdabilidade para as características tecnológicas avaliadas em laboratório (sólidos solúveis ($^{\circ}$ Brix), teor de sacarose do caldo (Pol%Caldo) e da cana (Pol%Cana) e teor de fibra) essas estimativas foram acima de 0,70, variando de 0,74 ($^{\circ}$ Brix em cana-planta) a 0,88 (teor de fibra em cana-soca).

Tabela 2 – Amplitude fenotípica, médias fenotípicas, estimativas dos componentes de variância genética ($\hat{\sigma}_G^2$) e fenotípica ($\hat{\sigma}_P^2$), coeficientes de variação fenotípica, genotípica ($\overline{CV}_e(\%)$ e $\overline{CV}_{gt}(\%)$)* e herdabilidade no sentido amplo em nível de planta (\hat{h}^2) do número de colmos por contagem direta, peso total de parcela (kg), altura de colmos (m), diâmetro de colmos (mm), sólidos solúveis (°Brix), teor de sacarose da cana (Pol%Cana), teor de sacarose do caldo (Pol%Caldo) e teor de fibra (%), avaliados no Painel Brasileiro de Genótipos de Cana-de-açúcar nos dois anos agrícolas, cana-planta (1) e cana-soca (2).

Característica	Amplitude fenotípica	Médias fenotípica	$\hat{\sigma}_G^2$	$\hat{\sigma}_{P(1)}^2$	$\hat{\sigma}_{P(2)}^2$	$\overline{CV}_{gt}(\%)$	$\overline{CV}_{e(1)}(\%)$	$\overline{CV}_{e(2)}(\%)$	$\hat{h}^2_{(1)}$	$\hat{h}^2_{(2)}$
Altura de colmos (m)	0,77 - 3,80	2,34	0,14	0,20	0,19	15,03	10,12	9,54	0,67	0,70
Diâmetro de colmos (mm)	9,73 - 44,32	25,15	18,03	21,71	22,92	16,41	7,43	8,55	0,83	0,78
Número de colmos	6,00 - 602,00	93,38	2967,10	3268,12	3772,80	63,85	20,34	33,27	0,91	0,78
Peso total da parcela (kg)	1,38 - 404,10	120,24	2458,00	3975,00	3693,00	39,73	31,21	28,16	0,61	0,66
Sólidos solúveis (°Brix)	8,00 - 24,40	19,40	4,19	5,66	5,05	11,54	6,83	5,22	0,74	0,83
Teor de Fibra (%)	4,36 - 31,93	13,07	9,77	12,10	11,01	24,70	12,01	8,80	0,80	0,88
Teor de sacarose da cana (Pol%Cana)	1,50 - 18,90	13,94	7,61	9,37	8,79	22,46	10,8	8,84	0,81	0,86
Teor de sacarose do caldo (Pol%Caldo)	2,42 - 22,97	16,68	8,90	11,09	10,49	20,50	10,17	8,66	0,80	0,85

*Para o cálculo dos coeficientes de variação fenotípica e genotípica foram utilizadas a média genotípica não apresentada na tabela.

4.2 Correlações genótípicas dos componentes de produção

As correlações entre as oito características avaliadas estão apresentadas na Figura 3. No total foram encontradas 26 correlações significativas ($p < 0,05$), das quais oito associações foram negativas (por exemplo, fibra e peso) e 18 positivas (por exemplo, Pol%Cana e Pol%Caldo).

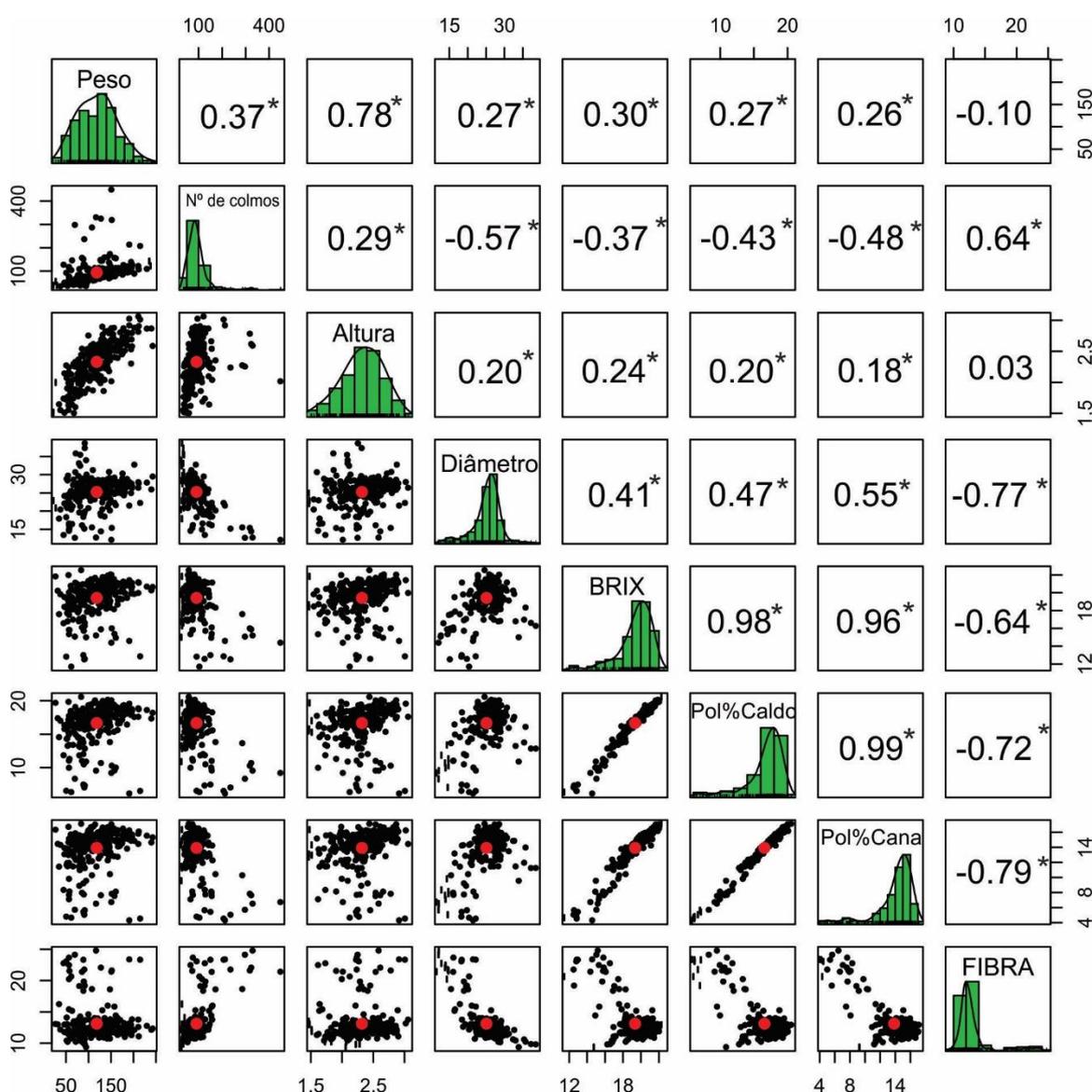


Figura 3 - Correlação genótípica entre as oito características avaliadas a partir das médias ajustadas dos dois anos agrícolas (cana-planta e cana-soca) obtidas via modelos mistos para o Painel Brasileiro de Genótipos de Cana-de-açúcar.

*Altamente significativo

Nove correlações foram classificadas com valores abaixo de 0,35, 10 com valores entre 0,36 e 0,70 e sete com valores acima de 0,71. As características avaliadas através das análises laboratoriais possuíram correlações de valores elevados, como por exemplo Pol%Cana e Pol%Caldo apresentando valor absoluto de 0,99, bem como entre fibra e Pol%Cana com valor absoluto de 0,79. Em contrapartida as correlações nas análises a campo foram menores, sendo que altura teve correlação abaixo de 0,24 com as características que apresentou valores significativos. A correlação entre diâmetro e peso foi de 0,27.

4.3 Análise de Componentes Principais

A análise de componentes principais (PCA) identificou a relação entre as oito características de produção. Esta análise revelou que o primeiro componente (PC1) explicou grande parte da variabilidade dos dados representando uma proporção de 55,56%, onde foi possível observar uma separação dos acessos pertencentes ao PBGCA enquanto o segundo componente (PC2) contribuiu com 25,55% da explicação de variação dos dados (Figura 4).

Com uso de atribuições em cores foi realizada a classificação entre acessos pertencentes ao germoplasma melhorado, coloridos em azul (grupo B e E) e acessos pertencentes ao germoplasma ancestral, coloridos em verde (grupo A) (Tabela 1). Esta separação foi feita com a finalidade de se observar a variação presente no primeiro componente (PC1).

Os acessos do germoplasma melhorado, em azul, mostram uma tendência de ficarem agrupados e próximos das características relacionadas com açúcar (sólidos solúveis, Pol%Caldo e Pol%Cana). Enquanto os pontos verdes que se distanciaram se agruparam próximos a características de número de colmos e teor de fibra (Figura 4).

4.4 Evolução temporal dos acessos do germoplasma brasileiro

A partir da inspeção visual dos boxplots (Figura 5), foi observado que a amplitude do grupo A (germoplasma ancestral) foi maior para as oito características avaliadas. Entretanto a mediana do grupo A foi superior ao grupo B (genótipos brasileiros) apenas para teor de fibra, que no grupo A tem valor de 12,74% e no grupo B tem valor médio de 12,27%. No grupo dos genótipos estrangeiros (grupo E), as amplitudes foram menores quando comparadas ao grupo A, entretanto os valores de medianas são maiores para as características avaliadas.

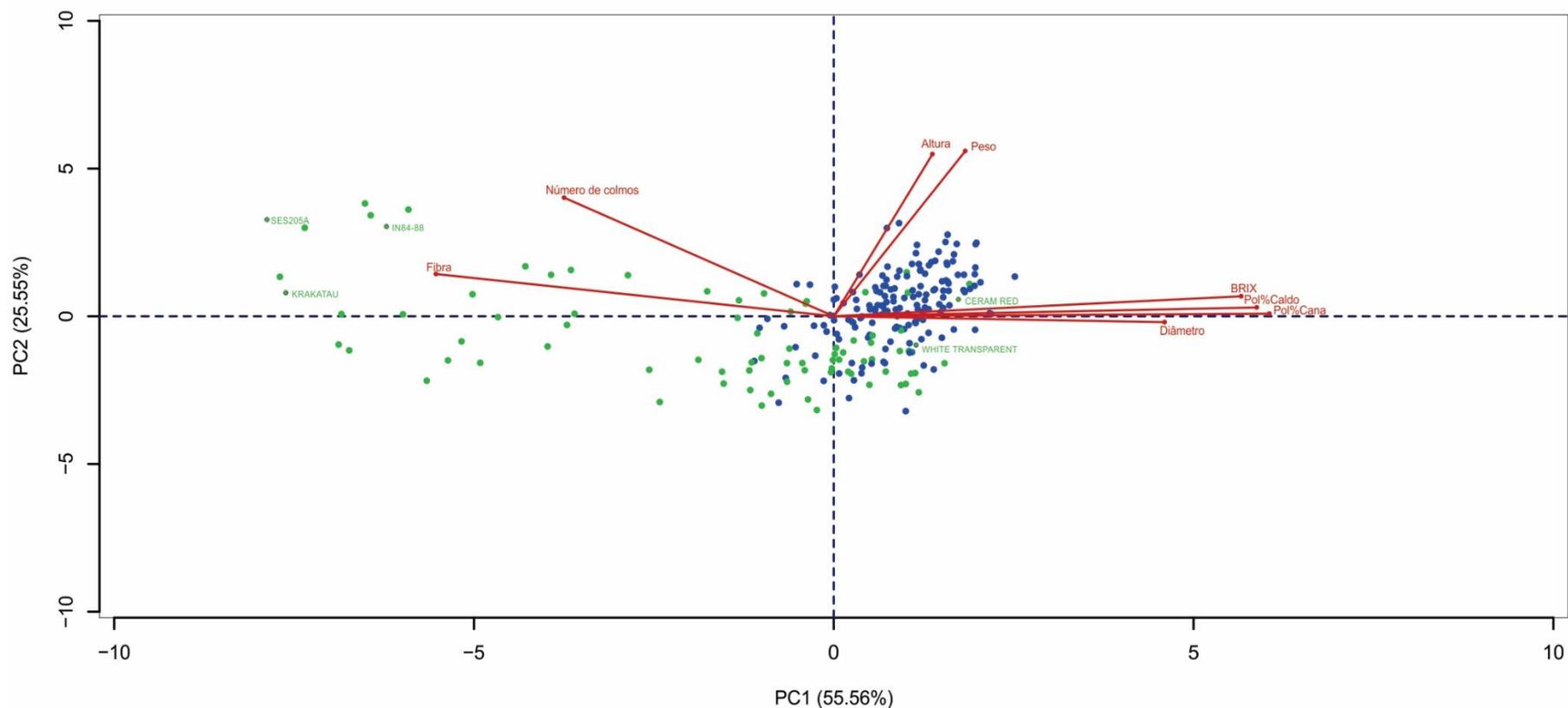


Figura 4- Análise dos componentes principais estimados a partir da média ajustada dos dois anos agrícolas, cana-planta e cana-soca (2014 e 2015), das oito características avaliadas no Painel Brasileiro de Genótipos de Cana-de-açúcar (número de colmos por contagem direta, peso total de parcela em kg, altura de colmos em m, diâmetro de colmos em mm, sólidos soluveis (°Brix), Pol%Cana, Pol%Caldo e teor de fibra). As cores representam, em verde acessos do germoplasma ancestral e em azul, acessos do germoplasma melhorado.

Em contrapartida, o grupo E, quando comparado ao grupo B, apresentou maior amplitude para as oito características avaliadas e menor valor de mediana para três características: (1) peso, com valores do grupo B de 138kg e do grupo E de 114kg. (2) Altura grupo B com 2,5m e do grupo E com 2,3m e (3) número de colmos grupo B com 88,13 e grupo E com 80,85 (Figura 5).

Ao longo das seis décadas representadas no grupo B, foi possível observar ganhos genéticos para as características que são de interesse do melhoramento genético da cana-de-açúcar, com exceção para fibra e diâmetro. Entre o período de B1 a B6, as características avaliadas a campo (peso, número de colmos e altura) tiveram aumento de 38,25%, 17,07% e 15,95%, respectivamente.

O maior ganho para peso foi entre B5 (com mediana de 147kg) e B6 (com mediana de 173,5kg). Também foi observado que número de colmos teve mediana de 92,19 para B5 e mediana de 100,14 para B6. Diferentemente, em altura o maior ganho foi entre B4, com mediana de 2,43m, e B5, com mediana de 2,60m.

Ainda considerando todo o período entre B1 e B6, as características avaliadas em laboratório e relacionadas a acúmulo de açúcar, sólidos solúveis, Pol%Cana e Pol%Caldo tiveram aumento de 6,36%, 10,06% e 7,02%, respectivamente, e o maior ganho para as três características foi verificado de B4 (1972 a 1981) para B5 (1982 a 1991).

Para a compreensão da magnitude dos ganhos no grupo B, um modelo de regressão linear foi ajustado para as oito características avaliadas, conforme descrito na Tabela 3.

De acordo com a regressão linear, teor de fibra e diâmetro de colmos não apresentaram a regressão significativa ao nível de 5% para a variável década, já as características avaliadas em laboratório sólidos solúveis, Pol%Cana e Pol%Caldo mostraram aumento médio por década de 0,029°Brix, 0,28% e 0,33%, respectivamente. As características avaliadas a campo tais como peso, número de colmos e altura, mostraram aumento médio por década de 10,31 kg, 2,88 colmos e 0,07 metros, respectivamente.

Apesar dessas características apresentarem a regressão linear significativa ao nível de 5%, os valores apresentados de R^2 são baixos, como peso com R^2 de 15,65% e número de colmos com R^2 de 4,73%, enquanto sólidos solúveis e Pol%Cana apresentaram R^2 de 20,58% e 21,67%, respectivamente.

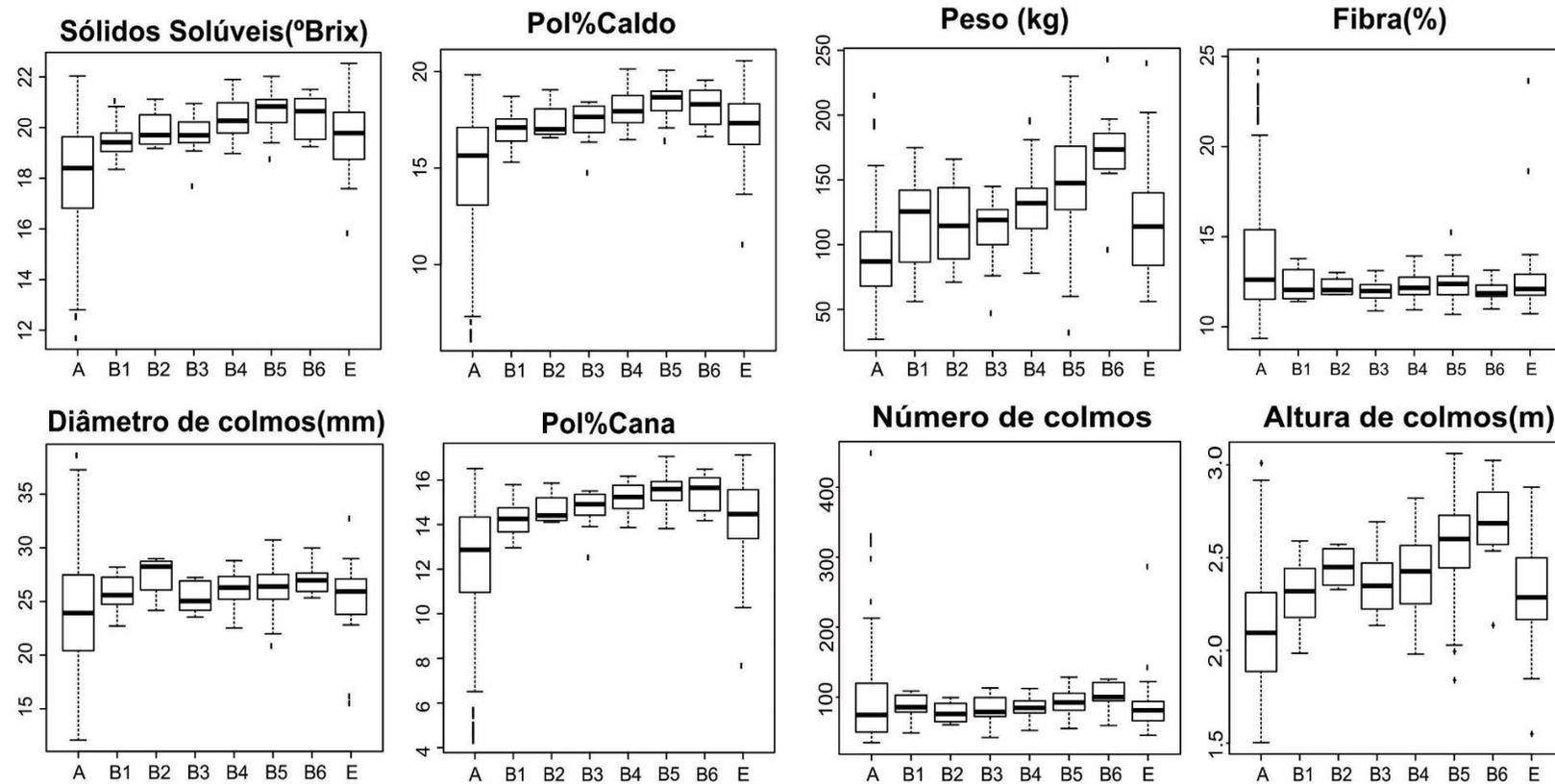


Figura 5- Boxplot das oito características (número de colmos, peso total de parcela, altura de colmos, diâmetro de colmos, sólidos solúveis (°Brix), Pol%Cana, Pol%Caldo e teor de fibra) avaliados no PBGCA. Os genótipos estão agrupados em A- Ancestrais, E- Estrangeiras, os genótipos dos programas de melhoramento brasileiro subdivididos de acordo com a década de cruzamento (B1-entre 1940 e 1951; B2-entre 1952 e 1961; B3-entre 1962 e 1971; B4-entre 1972 e 1981; B5-entre 1982 e 1991 e B6-entre 1992 e 2001).

Tabela 3 – Regressão linear, coeficiente de determinação (R^2) e P valor para testar a significância do coeficiente angular das oito características avaliadas em cana-planta e cana-soca (número de colmos, peso total de parcela, altura de colmos, diâmetro de colmos, sólidos solúveis ($^{\circ}$ Brix), Pol%Cana, Pol%Caldo e teor de fibra) em seis décadas dos acessos brasileiros pertencentes aos programas de melhoramento brasileiros do Painel Brasileiro de Genótipos de Cana-de-açúcar.

Característica	Regressão linear	$R^2(\%)$	p-valor
Sólidos solúveis ($^{\circ}$ Brix)	$y = 18,32 + 0,029x$	20,58	$3,56e^{-08}$
Pol%Caldo	$y = 16,67 + 0,33x$	21,67	$1,44e^{-08}$
Pol%Cana	$y = 14,03 + 0,28x$	23,04	$4,51e^{-09}$
Número de colmos	$y = 77,54 + 2,88x$	4,73	0,001
Teor de Fibra (%)	$y = 12,29 - 0,01x$	-0,007	$0,91^{ns}$
Peso total da parcela (kg)	$y = 96,28 + 10,31x$	15,65	$1,90e^{-06}$
Altura de colmos (m)	$y = 2,19 + 0,07x$	0,17	$5,64e^{-07}$
Diâmetro de colmos (mm)	$y = 25,56 + 0,17x$	1,42	$0,1^{ns}$

A formação de bancos de germoplasma é muito importante para manutenção das bases genéticas e para garantir a continuidade de todo o processo de melhoramento genético de uma cultura (GOVINDARAJ et al., 2013). Assim, o estabelecimento e a caracterização de bancos de germoplasma são importantes para o sucesso dos programas de melhoramento genético da cana-açúcar, uma vez que a escolha de genitores para cruzamentos é o ponto de partida de um longo processo de melhoramento. Tais genitores devem concentrar o máximo de alelos favoráveis para alto rendimento como teor de sacarose e produção de cana em tonelada por hectare, além de resistência a doenças, pragas e estresses abióticos, quantidade e qualidade de fibra, entre outros fatores.

Neste trabalho a amplitude fenotípica dos oito componentes de produção avaliados deixou evidente o quanto diversificado e representativo é o PBGCA. As médias apresentadas para sólidos solúveis, diâmetro de colmos, altura de colmos e número de colmos estão de acordo com as médias reportadas para cultura, em trabalhos que também utilizaram um conjunto diversificado de genótipos de cana-de-açúcar (AITKEN; JACKSON; MCINTYRE, 2006; GOY et al., 2013; GOUY et al., 2015; HOARAU et al., 2002; TODD et al., 2014).

Dentre os genótipos ancestrais, os acessos de *S. officinarum* tiveram as maiores taxas dos caracteres relacionados ao acúmulo de açúcar (média de 18,88 °Brix, 15,98 para Pol%Caldo e 13,50 para Pol%Cana) e os menores teores de fibra (média de 11,89%). Essa relação está de acordo com o processo de melhoramento da cana-de-açúcar, o qual utilizou representantes de *S. officinarum* nos cruzamentos interespecíficos por serem mais ricas em açúcar que as demais.

Em contrapartida, os acessos de *S. spontaneum* apresentaram baixas estimativas de médias para os caracteres de acúmulo de açúcar (14,76 para sólidos solúveis, 7,02 para Pol%Caldo e 5,03 para Pol%Cana), porém médias elevadas para porcentagem de teor de fibra (22,18%). Esses resultados acerca do teor de fibra indicam que essa é uma espécie que pode ser utilizada quando se realiza seleção para cana-de-açúcar destinada à geração de energia. Estes resultados corroboram com o que vem sendo descrito nas literaturas sobre cana-energia (KIM; DAY, 2011; MATSUOKA et al., 2014; TEW; COBIL, 2008;).

As variâncias calculadas não são comparáveis entre as características avaliadas, uma vez que os valores dependem diretamente da unidade métrica das características. Por conta disso, foi calculado o coeficiente de variação genética que utiliza a variância genética no cálculo e pode ser uma medida adimensional de comparação entre as características.

Os resultados do $\bar{C}V_{gi}$ evidenciaram a variabilidade genética dos acessos presentes no PBGCA e indicaram que os genótipos têm um bom potencial de ganho genético no processo de seleção (ANDRADE et al., 2011) para todas as características avaliadas, reforçando a importância dos bancos de germoplasma na manutenção da variabilidade de alelos de interesse econômico. No conjunto de dados avaliado, número de colmos foi a que apresentou a maior capacidade de ganhos genéticos. Ao contrário das características relacionadas ao acúmulo de açúcar (sólidos solúveis, Pol%Cana e Pol%Caldo), que apresentaram uma menor variabilidade genética e, conseqüentemente, um menor ganho.

A mensuração da herdabilidade de características de importância econômica pode ajudar a selecionar a estratégia ideal para programas de melhoramento (PIEPHO; MÖHRING, 2007; SADRAS; REBETZKE; EDMEADES, 2013). Em nosso estudo, de forma geral os valores de herdabilidade no sentido amplo (\hat{h}^2) foram altos, variando de 0,61 a 0,91 para cana-planta e de 0,66 a 0,88 para cana-soca

(Tabela 2). Os resultados de \hat{h}^2 são semelhantes aos encontrados na literatura: Chaudhary (2001), utilizando 32 acessos, encontrou valores semelhantes de \hat{h}^2 para diâmetro (0,85) e altura (0,72); Kimbeng et al. (2009), utilizando 17 acessos, encontraram valores semelhantes de \hat{h}^2 para Pol%Cana (0,81); Gouy et al. (2013), utilizando dois painéis de diversidade (REU e GUA), encontraram valores semelhantes de \hat{h}^2 para número de colmos (0,80 e 0,90, respectivamente), diâmetro (0,89 e 0,96, respectivamente), sólidos solúveis (0,83 e 0,88, respectivamente) e teor de fibra (0,89 e 0,71, respectivamente); e Gouy et al. (2015), utilizando 180 acessos em duas condições de altitude (baixa e alta), encontraram valores ligeiramente mais baixos de \hat{h}^2 para Pol%Cana (0,60 e 0,67, respectivamente) e para número de colmos (0,48 e 0,50, respectivamente), e valores semelhantes de \hat{h}^2 para altura (0,73 e 0,79, respectivamente). Neste estudo, a variação fenotípica observada nos dois anos avaliados é, em grande parte, devido à variação genotípica presente nos acessos que compõem o PBGCA.

Novas variedades podem ser selecionadas através de correlação genotípica, a qual combina mais que uma característica desejável na mesma planta por seleção indireta (RAM; CHAUDHARY; YADAV, 1997). Correlações entre características refletem processos biológicos que resultam de interações genéticas, funcionais e de natureza fisiológica (BALSALOBRE et al., 2016; JAMOZA et al., 2014; SOOMRO et al., 2006). As fortes e significativas correlações genotípicas observadas neste estudo (positivas: peso-altura, Brix-Pol%Cana, Brix-POL%Caldo e Pol%Cana-Pol%Caldo; e negativas: Pol%Cana-Teor de fibra e Pol%Caldo e Teor de fibra) já foram evidenciadas em outros estudos (AITKEN et al., 2008; BALSALOBRE et al., 2016; HOARAU et al., 2002; MING et al., 2001) e mostram que os acessos que compõem o PBGCA possuem contrastes para teor de sacarose e teor de fibra. Este é um indicativo que o PBGCA apresenta acessos com base genética para obtenção de cana-de-açúcar e acessos com alelos favoráveis para obtenção de cana com elevado teor de biomassa.

A análise de componentes principais revelou uma divisão dos genótipos pertencentes ao PBGCA (Figura 4). Os pontos verdes mais distantes aos pontos azuis foram os acessos ancestrais que apresentaram baixos teores de sólidos solúveis, tais como SES 205A, IN84-88 e KRAKATAU com médias ajustadas de 14,38°Brix, 15,88°Brix e 12,51°Brix, respectivamente, e altos valores de teor de fibra

(com médias ajustadas de 21,40%, 22,05% e 21,74%, respectivamente). Esses acessos contrastam com os genótipos que passaram por seleção pelos programas de melhoramento genético e mostram uma tendência de se agruparem próximas as características que influenciam no ganho de biomassa (número de colmos e teor de fibra).

Os ancestrais (pontos verdes) que se agruparam junto aos acessos que passaram por processo de seleção (pontos azuis) são representantes de *S. officinarum*, com altos teores de açúcar, tais como CAIANA RISCADA, WHITE TRANSPARENT e CERAM RED que possuem, na média, valores de sólidos solúveis bem próximos aos valores dos genótipos cultivados com valores aproximados de 20,50°Brix.

O germoplasma melhorado, em azul, refletiu o processo de melhoramento genético da cana-de-açúcar, uma vez que mostraram uma tendência de ficarem agrupados e próximos das características relacionadas com açúcar, com destaque para as variedades mais atuais oriundas dos programas de melhoramento genético brasileiros que, como apresentado por Dal-Bianco et al. (2012), já chegaram em um patamar elevado de produção de açúcar.

Gouy et al. (2015), em estudos utilizando dados fenotípicos em um painel de cana-de-açúcar, obtiveram resultados semelhantes referente a separação das espécies *S. spontaneum* e *S. officinarum* além das tendências dos genótipos híbridos de se agruparam próximos a *S. officinarum*. Todd et al. (2014) utilizaram uma coleção mundial de cana-de-açúcar para a realização da caracterização fenotípica. A partir de 1.177 genótipos, sendo a maior parte de representantes ancestrais, estes autores também observaram uma distância significativa entre os representantes *S. spontaneum* e *S. officinarum*.

Com a análise dos boxplots, além da separação dos acessos entre germoplasma melhorado (grupo B e E) e germoplasma ancestral (grupo A), foi possível observar que existe uma ampla divergência dentro do germoplasma ancestral bem como foi citado por diversos autores (AITKEN et al., 2006; BROWN et al., 2007; GOVINDARAJ et al., 2013; TODD et al., 2014). No Brasil, os programas de melhoramento genético de cana-de-açúcar foram os responsáveis pela evolução dos componentes genéticos com ganhos significativos que são observados nos boxplots do grupo B (Figura 5).

5. Conclusões

A caracterização do PBGCA através de oito componentes de produção mostrou ser uma importante ferramenta para auxiliar os programas de melhoramento de cana-de-açúcar, principalmente na fase de pré-melhoramento, que é quando se realiza a escolha dos genitores para cruzamentos.

A separação que ocorreu entre os genótipos ancestrais e cultivados do PBGCA, como também a amplitude observada nos acessos ancestrais, revelou a diversidade alélica presente na cana-de-açúcar. Além disso, também demonstrou que os bancos de germoplasma são uma valiosa fonte de alelos para o desenvolvimento de genótipos superiores e podem auxiliar a obtenção de variedades para produção de energia e não somente açúcar.

O coeficiente de variação genética indicou os componentes de produção que possuem maior capacidade de se obter ganhos genéticos com a seleção, como número de colmos e peso, conseqüentemente estas características merecem uma maior atenção dos melhoristas que buscam variedades mais produtivas. Além disso a correlação observada entre algumas características também sugere a possibilidade de seleção indireta.

Este estudo possibilita também futuros trabalhos de associação das características de importância econômica que foram avaliadas com marcadores moleculares a fim de promover a seleção assistida em cana-de-açúcar.

6. Literatura citada

AITKEN, K. S.; JACKSON, P. A.; MCINTYRE, C. L. Quantitative trait loci identified for sugar related traits in a sugarcane (*Saccharum* spp.) cultivar × *Saccharum officinarum* population. **Theor Appl Genet**, [s.l.], v. 112, n. 7, p.1306-1317, 1 mar. 2006. Springer Science + Business Media. <http://dx.doi.org/10.1007/s00122-006-0233-2>

AITKEN, K. S. et al. Genetic control of yield related stalk traits in sugarcane. **Theor Appl Genet**, [s.l.], v. 117, n. 7, p.1191-1203, 22 ago. 2008. Springer Science + Business Media. <http://dx.doi.org/10.1007/s00122-008-0856-6>.

ANDRADE, J.S.C.O. et al. Avaliação de progênies em famílias RB na fase inicial do melhoramento genético em cana-de-açúcar. **Revista Brasileira de Ciências**

Agrárias - Brazilian Journal Of Agricultural Sciences, [s.l.], v. 6, n. 4, p.609-616, 31 dez. 2011. Revista Brasileira de Ciências Agrárias. <http://dx.doi.org/10.5039/agraria.v6i4a1310>.

BALSALOBRE, T.W.A. et al. Mixed Modeling of Yield Components and Brown Rust Resistance in Sugarcane Families. **Agronomy Journal**, v. 108, p. 1-14, 2016. <http://dx.doi.org/10.2134/agronj2015.0430>.

BERDING N, HOGARTH M, COX M. Plant improvement of sugarcane. In: James, GL (Ed.) Sugarcane. 2ed. **Blackwell Science**, 2004, Oxford. p.119.

BROWN, J. Steven et al. Analysis of clonal germplasm from five *Saccharum* species: *S. barberi*, *S. robustum*, *S. officinarum*, *S. sinense* and *S. spontaneum*. A study of inter- and intra species relationships using microsatellite markers. **Genet Resour Crop Evol**, [s.l.], v. 54, n. 3, p.627-648, 9 mar. 2007. Springer Science + Business Media. <http://dx.doi.org/10.1007/s10722-006-0035-z>

CHAUDHARY, R. R. Genetic Variability and Heritability in Sugarcane. **Nepal Agriculture Research Journal**, [s.l.], v. 4, p.56-59, 14 jun. 2011. Nepal Journals Online (JOL). <http://dx.doi.org/10.3126/narj.v4i0.4870>.

CHEAVEGATTI-GIANOTTO, A. et al. Sugarcane (*Saccharum X officinarum*): A Reference Study for the Regulation of Genetically Modified Cultivars in Brazil. **Tropical Plant Biol.**, [s.l.], v. 4, n. 1, p.62-89, 22 fev. 2011. Springer Science + Business Media. <http://dx.doi.org/10.1007/s12042-011-9068-3>.

CONAB. Acompanhamento da safra brasileira- Cana-de-açúcar: **Companhia nacional de abastecimento**. Disponível em: <http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/16_04_18_14_27_15_boletim_cana_portugues_-_1o_lev_-_16.pdf>. Acesso em: 30 abr. 2016.

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

COX, MC; HOGARTH, DM; HANSEN, PB. Breeding and selection for high early season sugar content in a sugarcane (*Saccharum* spp. hybrids) improvement program. **Aust. J. Agric. Res.**, [s.l.], v. 45, n. 7, p.1569-1581, 1994. CSIRO Publishing. <http://dx.doi.org/10.1071/ar9941569>.

DAL-BIANCO, M et al. Sugarcane improvement: how far can we go?. **Current Opinion In Biotechnology**, [s.l.], v. 23, n. 2, p.265-270, abr. 2012. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.copbio.2011.09.002>.

DANIELS, J et al. The origin of the genus *Saccharum*. **Sugarcane Breeding News**, 1975. 36: 24 - 39.

DANIELS J, ROACH BT. Taxonomy and evolution. In: Heinz, D. J.(ed). **Sugarcane improvement through breeding**. Elsevier, Amesterdam, 1987, p.784.

D'HONT, A.. Unraveling the genome structure of polyploids using FISH and GISH; examples of sugarcane and banana. **Cytogenetic And Genome Research**, [s.l.], v. 109, n. 1-3, p.27-33, 8 mar. 2005. S. Karger AG. <http://dx.doi.org/10.1159/000082378>

GOUY, M. et al. Experimental assessment of the accuracy of genomic selection in sugarcane. **Theor Appl Genet**, [s.l.], v. 126, n. 10, p.2575-2586, 2 ago. 2013. Springer Science + Business Media. <http://dx.doi.org/10.1007/s00122-013-2156-z>.

GOUY, M. et al. Site and *Saccharum spontaneum* introgression level drive sugarcane yield component traits and their impact on sucrose yield in contrasted radiation and thermal conditions in La Réunion. **Field Crops Research**, [s.l.], v. 171, p.99-108, fev. 2015. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.fcr.2014.11.002>.

GOVINDARAJ, P. et al. Collection, Characterization and Phenotypic Diversity of *Saccharum spontaneum* L. from Arid and Semi Arid Zones of Northwestern India. **Sugar Tech**, [s.l.], v. 16, n. 1, p.36-43, 9 ago. 2013. Springer Science + Business Media. <http://dx.doi.org/10.1007/s12355-013-0255-4>.

HOARAU, JY. et al. Genetic dissection of a modern sugarcane cultivar (*Saccharum* spp.).II. Detection of QTLs for yield components. **Tag Theoretical And Applied**

Genetics, [s.l.], v. 105, n. 6-7, p.1027-1037, 1 nov. 2002. Springer Science + Business Media. <http://dx.doi.org/10.1007/s00122-002-1047-5>.

HOGARTH DM, COX MC, BULL JK Sugarcane improvement: past achievements and future prospects. In: Crop Improvement for the 21st century (ed. MS Kang). **Research Signpost**, Trivandrum, India, 1997, p.29-56.

HOLLAND, JB.; NYQUIST, WE.; CERVANTES-MARTÍNEZ, C.T. Estimating and Interpreting Heritability for Plant Breeding: An Update. **Janick/plant Breeding Reviews**, Volume 22, [s.l.], p.9-112, 22 jun. 2010. Wiley-Blackwell. <http://dx.doi.org/10.1002/9780470650202.ch2>.

JAMOZA, JE et al. Broad-sense heritability estimation and correlation among sugarcane (*Saccharum* spp. hybrids) yield and some agronomic traits in western Kenya. **International Journal Of Agricultural Policy And Research**, [s.l.], p.16-25, 2014. Unpublished. <http://dx.doi.org/10.13140/RG.2.1.5153.3280>.

KIDO, EA (2003) Mapeamento de marcadores moleculares AFLP em população derivada de clones elite de cana-de-açúcar (*Saccharum* spp.) e suas associações com caracteres agrônômicos. Tese (Doutorado em Energia na Agricultura) – CENA, Centro de Energia Nuclear na Agricultura, **Universidade de São Paulo**, Piracicaba, 164p.

KIM, M; DAY, DF. Composition of sugar cane, energy cane, and sweet sorghum suitable for ethanol production at Louisiana sugar mills. **Journal Of Industrial Microbiology & Biotechnology**, [s.l.], v. 38, n. 7, p.803-807, 29 ago. 2010. Springer Science + Business Media. <http://dx.doi.org/10.1007/s10295-010-0812-8>.

KIMBENG, CA, Zhou, MM, Silva, JA Genotype x environment interactions and resource allocation in sugarcane yield trials in the Rio Grande Valley Region of Texas. **Journal of the American Society of Sugar Cane Technologists**, 29: 11-24. 2009.

MACHADO, GR. **Sugarcane variety notes**. Piracicaba ., 2000.

MATSUOKA, S; GARCIA, AAF; CALHEIROS, GC. Hibridação em cana-de-açúcar. In: A, Borém (Ed.). **Hibridação Artificial de Plantas**. Viçosa: Editora UFV, 1999a. p. 221-254.

MATSUOKA S, GARCIA AAF, ARIZONO H. Melhoramento da cana-de-açúcar. In: Borém, A (Ed.) **Melhoramento de espécies cultivadas**. Viçosa, MG: UFV, 1999b p. 205- 252.

MATSUOKA, S et al. Energy Cane: Its Concept, Development, Characteristics, and Prospects. **Advances In Botany**, [s.l.], v. 2014, p.1-13, 2014. Hindawi Publishing Corporation. <http://dx.doi.org/10.1155/2014/597275>.

MING, R. QTL Analysis in a Complex Autopolyploid: Genetic Control of Sugar Content in Sugarcane. **Genome Research**, [s.l.], v. 11, n. 12, p.2075-2084, 12 nov. 2001. Cold Spring Harbor Laboratory Press. <http://dx.doi.org/10.1101/gr.198801>.

MUKHERJEE, SK. Revision of the genus *Saccharum*. Bull. Bot. Soc. Bengal, 1954 n. 8: p.143-148.

MUKHERJEE, SK . Origin and distribution of *Saccharum*. Bot. Gaz.1957, n.119: p.55-61.

PAYNE, Roger W.. GenStat. **Wires Comp Stat**, [s.l.], v. 1, n. 2, p.255-258, set. 2009. Wiley-Blackwell. <http://dx.doi.org/10.1002/wics.32>.

PIEPHO, HP.; MOHRING, J. Computing Heritability and Selection Response From Unbalanced Plant Breeding Trials. **Genetics**, [s.l.], v. 177, n. 3, p.1881-1888, 1 nov. 2007. Genetics Society of America. <http://dx.doi.org/10.1534/genetics.107.074229>.

RABOIN, LM et al. Analysis of genome-wide linkage disequilibrium in the highly polyploid sugarcane. **Theor Appl Genet**, [s.l.], v. 116, n. 5, p.701-714, 15 jan. 2008. Springer Science + Business Media. <http://dx.doi.org/10.1007/s00122-007-0703-1>.

RAM, B; CHAUDHARY, B.S.; YADAV, D.K. General and specific selection indices for single stool stage of selection in sugarcane. **Euphytica**, [s.l.], v. 95, n. 1, p.39-44,

1997. Springer Science + Business Media.
<http://dx.doi.org/10.1023/a:1002965924609>.

RAMBURAN, S; ZHOU, M; LABUSCHAGNE, M. Integrating Empirical and Analytical Approaches to Investigate Genotype × Environment Interactions in Sugarcane. **Crop Science**, [s.l.], v. 52, n. 5, p.2153-2168, 2012. Crop Science Society of America. <http://dx.doi.org/10.2135/cropsci2012.02.0128>.

RAHMANI M, et al. Biomass research and development in Florida: results of 20 years experience. Proceedings of the bioenergy. The ninth biennial bioenergy conference, Buffalo, 2000, 15-19 October.

SADRAS, V.O.; REBETZKE, G.O.; EDMEADES, G.O. The phenotype and the components of phenotypic variance of crop traits. **Field Crops Research**, [s.l.], v. 154, p.255-259, dez. 2013. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.fcr.2013.10.001>.

SOOMRO, AF et al. Evaluation of Different Promising Sugarcane Varieties for some Quantitative and Qualitative Attributes Under Thatta (Pakistan) Conditions. **International Journal Of Agriculture & Biology**, S.i, v. 2, n. 8, p.195-197, fev. 2006

TEW,T.L; COBIL, R. M. “ Genetic improvement of sugarcane (*Saccharum* spp.) as an energy crop,” in Genetic Improvement of Bioenergy Crops,W. Vermerris, Ed., pp. 249–272, Springer, 2008

TODD, J et al. Phenotypic characterization of the Miami World Collection of sugarcane (*Saccharum* spp.) and related grasses for selecting a representative core. **Genet Resour Crop Evol**, [s.l.], v. 61, n. 8, p.1581-1596, 6 jun. 2014. Springer Science + Business Media. <http://dx.doi.org/10.1007/s10722-014-0132-3>.

WELHAM, SJ. et al. A comparison of analysis methods for late-stage variety evaluation trials.**Australian & New Zealand Journal Of Statistics**, [s.l.], v. 52, n. 2, p.125-149, 25 maio 2010. Wiley-Blackwell. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1467-842x.2010.00570.x>.

CAPÍTULO 2. Validação dos marcadores R12H16 e 9O20-F4 associados ao gene <i>Bru1</i> de resistência à ferrugem marrom no Painel Brasileiro de Genótipos de Cana-de-açúcar.....		45
1	Resumo.....	46
2	Introdução.....	47
3	Materiais e Métodos.....	49
3.1	Material vegetal e delineamento experimental.....	49
3.2	Avaliação da incidência de ferrugem marrom.....	50
3.3	Análise molecular para presença de <i>Bru1</i>	55
3.4	Frequência do gene <i>Bru1</i> nas variedades no Brasil.....	56
3.5	Genealogia da variedade moderna RB966928.....	56
4	Resultados e Discussão.....	56
4.1	Resposta à ferrugem marrom a campo.....	56
4.2	Genotipagem da região do gene <i>Bru1</i>	57
4.3	Associação entre reação à ferrugem marrom e presença de <i>Bru1</i>	60
4.4	Frequência do gene <i>Bru1</i> nas variedades mais plantados no Brasil.....	60
4.5	Genealogia da variedade moderna RB966928.....	62
5	Conclusões.....	69
6	Literatura citada.....	70

Validação dos marcadores R12H16 e 9O20-F4 associados ao gene *Bru1* de resistência à ferrugem marrom no Painel Brasileiro de Genótipos de Cana-de-açúcar

1. Resumo

A cana-de-açúcar (*Saccharum* spp.) é uma cultura importante em áreas tropicais e subtropicais. Além de matéria-prima para produção de açúcar, é também uma fonte de energia renovável. Doenças como a ferrugem marrom, causada pelo fungo *Puccinia melanocephala*, tem efeitos negativos sobre a produtividade em áreas comerciais. Programas de melhoramento genético têm dedicado esforços para liberar variedades que apresentam algum nível de resistência a essa doença. Ferramentas de genética molecular contribuíram para a identificação de *Bru1*, um gene de efeito maior para resistência à ferrugem marrom. Marcadores moleculares associados a *Bru1* foram desenvolvidos e podem ser grandes aliados do melhoramento molecular da cana-de-açúcar para predizer fenótipos resistentes a essa doença. Neste estudo, caracterizou-se o Painel Brasileiro de Genótipos de Cana-de-açúcar constituído por 242 acessos de cana-de-açúcar com dois marcadores moleculares, R12H16 e 9O20-F4, que são fortemente associados ao gene *Bru1*. Além disso, avaliamos a existência de possíveis fontes alternativas de resistência e a frequência do gene *Bru1* no Brasil, considerando as 10 variedades mais plantadas no período de 1974 a 2015. Um total de 131 genótipos foram avaliados a campo como resistentes à ferrugem marrom e, destes, 71,76% foram portadores do gene *Bru1*. Além disso, 16 acessos ancestrais resistentes não tiveram qualquer associação com o gene *Bru1*, indicando possível fonte alternativa de resistência. Avaliando a genealogia da variedade moderna RB966928, foi possível supor que *Bru1* possivelmente teve como origem, para os programas brasileiros de melhoramento genético, a variedade POJ2878. Também uma fonte secundária de resistência pode estar presente em variedades que possuam POJ213 como ancestral. O gene de efeito maior *Bru1* é a principal fonte de resistência dos programas brasileiros de melhoramento genético da cana-de-açúcar e pode ser empregado no direcionamento de cruzamentos e na seleção eficiente de genótipos resistentes ainda nas primeiras fases do melhoramento. Apesar de serem necessárias mais pesquisas para caracterizar os genes secundários envolvidos com resistência à ferrugem marrom, a incorporação dessa fonte em programas de

melhoramento pode auxiliar na manutenção efetiva da resistência em cana-de-açúcar.

2. Introdução

A cana-de-açúcar (*Saccharum* spp.) está entre as mais importantes espécies cultivadas, principalmente para produção de açúcar (FAO, 2015). Com a crescente necessidade de ampliar o uso de fontes renováveis, aumentar a segurança energética e reduzir os impactos ambientais associados aos combustíveis fósseis, o bioetanol de primeira geração da cana-de-açúcar é uma alternativa viável economicamente e amplamente empregado no Brasil (GOLDEMBERG, 2007). O Brasil é atualmente o país com a maior produção de cana-de-açúcar (FAO, 2015), com mais de 9 milhões de hectares e produtividade estimada em 76.9 kg ha⁻¹ na safra 2015/16 (CONAB, 2016).

O uso da bioenergia proveniente de culturas eficientes na utilização de recursos ambientais, como a cana-de-açúcar (DE VRIES et al., 2010), pode ser expandida com aumento da produtividade e/ou da área de cultivo. A cana-de-açúcar é uma gramínea semi-perene com propagação vegetativa, sendo que os programas de melhoramento genético têm concentrado esforços para o desenvolvimento e lançamento de novas variedades com rendimentos que atendam às demandas atuais e as perspectivas do setor sucroenergético (DAL-BIANCO et al., 2012; WACLAWOVSKY et al., 2010). No entanto, o processo de melhoramento é caro e demorado, pois envolve a obtenção de milhares de progênies F1 todos os anos, seguida por fases de seleção e experimentação, o que consome cerca de 15 anos (GOUY et al., 2015; MATSUOKA et al., 2009).

Além disso, a complexidade genética é outro fator que tem dificultado o melhoramento desta cultura, em decorrência ao alto número de cromossomos, variando de 100 a 130 (D'HONT et al., 1998; IRVINE, 1999), do tamanho do genoma, com aproximadamente 10 Gb (D'HONT, 2005; D'HONT and GLASZMANN, 2001; PIPERIDIS et al., 2010), e a ocorrência de aneuploidia, com um número variável de cromossomos em cada grupo de homeologia (GRIVET, ARRUDA, 2002).

Entre as doenças que causam danos relevantes à cana-de-açúcar, a ferrugem marrom, que é uma doença fúngica causada por *Puccinia melanocephala* H. & P. Sydow., está presente em quase todas as áreas de cultivo (ASNAGHI et al., 2004; HOY, HOLLIER, 2009; RYAN, EGAN, 1989). Em variedades suscetíveis, o patógeno

prejudica a taxa fotossintética, ao reduzir a área foliar, e vias correlatas ocasionando redução da altura e do diâmetro dos colmos, redução da quantidade de perfilho e comprometendo a produção final de biomassa (HOY, HOLLIER, 2009; McFARLANE et al., 2006; PURDY et al., 1983; RAID, COMSTOCK, 2000). No México, nos anos de 1981 e 1982, foram registrados prejuízos que atingiram 50% da produção (PURDY et al., 1983). No Brasil, no ano de 1992, estima-se que o prejuízo na produção chegou a 8,74% e as perdas a 107 milhões de dólares devido ao cultivo predominante de genótipos que não apresentavam níveis satisfatórios de resistência (MOURA et al., 1999).

O método mais eficaz para controlar a ferrugem marrom é o uso de variedades resistentes (BALSALOBRE et al., 2016; COSTET et al., 2012; GLYNN et al., 2012; PARCO et al., 2014; RACEDO et al., 2013). A base da herança genética de resistência a essa doença tem sido amplamente estudada e alguns autores defendem que a resistência é controlada por um ou poucos genes (ASNAGHI et al., 2004; CUNFF et al., 2008; COSTET et al., 2012; DAUGROIS et al., 1996; GARSMEUR et al., 2011; GLYNN et al., 2013; HOGARTH et al., 1993; PARCO et al., 2014; RABOIN et al., 2006; RACEDO et al., 2013; RAMDOYAL et al., 2000; SORDI et al., 1988). Um gene de resistência, denominado *Bru1*, foi o primeiro caráter mendeliano descrito para o complexo genoma da cana-de-açúcar (ASNAGHI et al., 2004; DAUGROIS et al., 1996; GLYNN et al., 2012; RABOIN et al., 2006).

Estudos genômicos têm mostrado que *Bru1* está incluído numa inserção de tamanho desconhecido (CUNFF et al., 2008; GARSMEUR et al., 2011). Esta inserção induz à redução de recombinação, resultando em forte desequilíbrio de ligação (DL) dentro da região do gene *Bru1* e um completo DL entre dois marcadores moleculares específicos, R12H16 e 9O20-F4, dentre os 10 marcadores identificados na região. Estes dois representam valiosos marcadores diagnóstico para a presença de *Bru1*, pois sua presença prevê comportamento resistente em variedades modernas de cana (COSTET et al., 2012; GLYNN et al., 2012; RACEDO et al., 2013). Além disso, a ausência destes dois marcadores em uma variedade resistente indicaria a ausência de gene *Bru1*, sugerindo uma fonte alternativa de resistência (COSTET et al., 2012; GLYNN et al., 2012; PARCO et al., 2014; RACEDO et al., 2013). Com o surgimento desses marcadores, o desenvolvimento de variedades superiores resistentes à ferrugem marrom pelo melhoramento tradicional poderá ser otimizada com a seleção dos genótipos a serem cruzados ou

com a predição do fenótipo dos clones gerados nas fases iniciais do melhoramento genético.

Desta forma, os objetivos deste trabalho foram: (i) avaliar a presença do gene *Bru1* nos acessos do Painel Brasileiro de Genótipos de Cana-de-açúcar (PBGCA); (ii) avaliar a frequência e a evolução do gene *Bru1* entre as variedades mais plantadas no Brasil; e (iii) verificar a presença de fontes genéticas alternativas de resistência à ferrugem marrom.

3. Material e métodos

3.1 Material vegetal e delineamento experimental

O Painel Brasileiro de Genótipos de Cana-de-açúcar (PBGCA) compreende 242 acessos oriundos de germoplasma melhorado e também ancestral, que foram representados por espécies constituintes do complexo *Saccharum* spp. (Tabela 1). Constituiu o germoplasma melhorado estrangeiro um total de 36 acessos oriundos de 11 países e 129 acessos foram representantes do germoplasma melhorado brasileiro.

Estes genótipos foram escolhidos com base nos seguintes critérios: i) variedades importantes nos seus países de origem; ii) principais genitores para os programas de melhoramento genético brasileiros; e iii) genitores utilizados em programas de mapeamento.

Setenta e sete acessos constituíram o germoplasma ancestral e foram representados por: 41 *S. officinarum*, seis *Erianthus* spp., cinco *S. sinense*, cinco *S. barberi*, cinco *S. spontaneum*, nove *S. robustum*, um *S. edule* e 5 híbridos. Os híbridos foram obtidos a partir dos seguintes cruzamentos: NG57-50 (*S. officinarum* x *S. spontaneum*), F76 -1762 (*Miscanthus* x *Erianthus* spp.), US85-1008 (*S. spontaneum* x US60-31-3) IJ76-314 (*S. robustum* x *S. officinarum*) e Badila (*S. officinarum* x NG9615) (Tabela 1).

Os acessos do PBGCA foram plantados no Centro de Ciências Agrárias (CCA) da Universidade Federal de São Carlos (UFSCar) (22°21'25" S; 47°23'03" W; 611 m de altitude), numa área experimental com solo latossolo vermelho eutroférico. O delineamento experimental utilizado foi de blocos casualizados com quatro repetições, sendo que cada parcela experimental foi composta por duas linhas de 3,0 m com espaçamento de 1,40 m. Em cada linha foram plantadas seis mudas de cana-de-açúcar.

O plantio foi realizado utilizando mudas pré-brotadas (MPB) oriundas de gemas do Banco de Germoplasma do Programa de Melhoramento Genético da Cana-de-açúcar da RIDESA (Rede Interuniversitária para o Desenvolvimento do Setor Sucroenergético) em Murici-AL. As gemas foram tratadas com fungicida, colocadas em copos plásticos com substrato apropriado e mantidas em casa de vegetação por 6 meses, e em seguida transferidas ao campo em fevereiro de 2013.

3.2 Avaliação da incidência de ferrugem marrom

A reação para ferrugem marrom foi avaliada no campo sob inoculação natural. As avaliações da incidência de ferrugem marrom foram realizadas nos 242 acessos do PBGCA em fevereiro de 2014 e 2015. Este período é considerado a época epidemiológica mais favorável para ocorrência da ferrugem marrom, considerando condições de temperatura (17°C a 25°C) e umidade, além da idade das plantas que favorece a incidência do patógeno (BARRERA al., 2013). A incidência da ferrugem marrom foi verificada em folhas 3+ de cada parcela atribuindo-se notas de 1 (resistente) a 9 (suscetível) considerando uma escala diagramática de acordo com TAI et al., (1981) e Amorim et al., (1987). Esta escala é baseada em avaliação visual dos sintomas da doença (Figura 1). A nota 1 indicou ausência de pústulas esporuladas (uredósporos) e plantas resistentes. A nota 2 indicou raras pústulas esporuladas. Da nota 2 a 9, a densidade de pústulas esporuladas aumenta gradativamente indicando plantas suscetíveis.

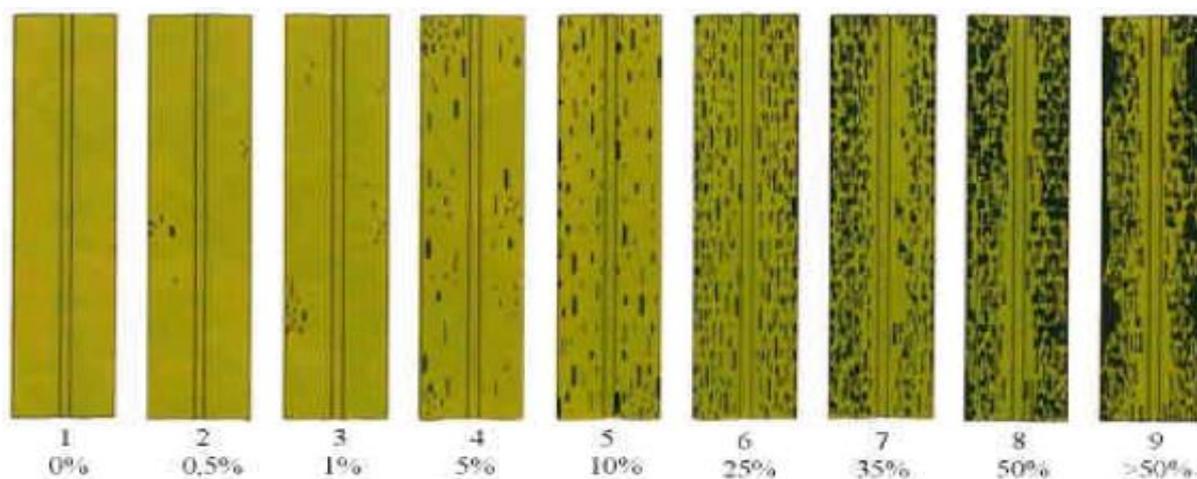


Figura 1- Escala de notas para a severidade de ferrugem marrom em cana-de-açúcar baseado nos trabalhos de Tai et al. (1981) e Amorim et al. (1987).

Tabela 1 – Painel Brasileiro de Genótipos de Cana-de-Açúcar (PBGCA): 242 acessos avaliados à campo para resposta de resistência (R) ou suscetibilidade (S) a doença de ferrugem marrom e haplótipos para o gene *Bru1* considerando a presença ou ausência dos marcadores moleculares R12H16 e 9O20-F4-Rsal.

Acessos	Genótipos ¹	País	Fenótipo	Haplótipo	Acessos	Genótipos ¹	País	Fenótipo	Haplótipo
28NG289	<i>S. robustum</i>	NA	R	4	CERAM RED	<i>S. officinarum</i>	NA	R	1
57NG12	<i>S. robustum</i>	NA	R	4	CHIN	<i>S. barberi</i>	índia ^a	R	1
75//09 ERIANTHUS	<i>Erianthus</i> spp.	NA	R	4	CHINA	<i>S. sinense</i>	NA	R	1
AGAUL	<i>S. sinense</i>	África do Sul ^b	R	1	CHUNNEE	<i>S. barberi</i>	índia ^b	R	1
AGOULE	<i>S. barberi</i> x ?	NA	R	1	CIMCA77-316	BP	Bolívia ^c	S	2
AJAX	<i>S. officinarum</i>	NA	R	1	CIMCA77-318	BP	Bolívia ^c	S	2
AKBAR	BP	NA	S	4	Co290	BP	índia ^c	S	4
AR CHI	<i>S. sinense</i>	Taiwan ^b	R	1	Co331	BP	índia ^c	S	2
ARUNDOID B	BP	USA ^b	S	4	Co419	BP	índia ^c	R	1
BADILA	<i>S. officinarum</i> x NG9615	Nova Guiné ^a	R	2	Co449	BP	índia ^c	S	4
BLACK BORNEO	<i>S. officinarum</i>	Índonesia ^b	R	1	Co740	BP	índia ^c	R	1
CAIANA FITA	<i>S. officinarum</i>	NA	S	4	Co997	BP	índia ^c	R	1
CAIANA LISTRADA	<i>S. officinarum</i>	NA	R	1	CP51-22	BP	USA ^c	S	2
CAIANA RISCADA	<i>S. officinarum</i>	NA	S	4	CP52-68	BP	USA ^c	R	1
CAIANA VERDADEIRA	<i>S. officinarum</i>	NA	S	2	CP53-76	BP	USA ^c	R	1
CANA ALHO	<i>S. officinarum</i>	NA	S	4	CP70-1547	BP	USA ^c	R	1
CANA BLANCA	<i>S. officinarum</i>	NA	R	1	CR72/106	BP	R. Dominicana ^c	S	2
CANA MANTEIGA	<i>S. officinarum</i>	NA	S	4	CRIOLLA MORADA	<i>S. officinarum</i>	NA	S	4
CB36-14	BP	Brasil ^a	S	4	CRIOLLA RAYADA	<i>S. officinarum</i>	NA	R	4
CB36-24	BP	Brasil ^a	S	2	CRISTALINA	<i>S. officinarum</i>	NA	R	4
CB36-25	BP	Brasil ^a	S	4	D11/35	<i>S. officinarum</i>	USA ^c	S	4
CB36-68	BP	Brasil ^a	R	1	D152	BP	NA	R	1
CB40-13	BP	Brasil ^a	S	2	D625	BP	NA	S	4
CB40-77	BP	Brasil ^a	S	4	F150	BP	Taiwan ^c	R	1
CB41-76	BP	Brasil ^a	S	4	F31-962	BP	Taiwan ^a	R	1
CB45-155	BP	Brasil ^a	S	4	F36-819	BP	Taiwan ^a	R	1
CB45-3	BP	Brasil ^a	S	4	F76-1762	<i>Miscanthus</i> x <i>Erianthus</i> spp.	NA	S	4
CB46-47	BP	Brasil ^a	R	3	FORMOSA	<i>S. officinarum</i>	Taiwan ^c	S	2
CB47-355	BP	Brasil ^a	S	2	GANDA CHENI	<i>S. barberi</i>	índia ^b	R	1
CB49-260	BP	Brasil ^a	R	1	H. KAWANDANG	<i>Erianthus</i> spp. x ?	Indonésia	R	4
CB53-98	BP	Brasil ^a	R	1	H53-3989	BP	Estados Unidos ^c	S	4

Tabela 1 – Continuação.

Acessos	Genótipos ¹	País	Fenótipo	Haplótipo	Acessos	Genótipos ¹	País	Fenótipo	Haplótipo
H59-1966	BP	Estados Unidos	R	1	IN84-117	<i>S. robustum</i>	Indonésia ^b	S	3
HJ5741	BP	Jamaica ^c	R	1	IN84-46	<i>S. officinarum</i>	Indonésia ^b	S	4
IAC48-65	BP	Brasil ^a	S	4	IN84-58	<i>S. spontaneum</i>	Indonésia ^b	R	2
IAC49-131	BP	Brasil ^a	S	4	IN84-73	<i>Erianthus</i> spp.	NA	R	4
IAC50-134	BP	Brasil ^a	R	1	IN84-77	<i>Erianthus</i> spp.	NA	R	4
IAC51-205	BP	Brasil ^a	S	2	IN84-82	<i>S. spontaneum</i>	Indonésia ^b	R	2
IAC52-150	BP	Brasil ^a	S	4	IN84-83	<i>Erianthus</i> spp.	NA	R	4
IAC58-480	BP	Brasil ^a	S	4	IN84-88	<i>S. spontaneum</i>	Indonésia ^b	R	4
IAC64-257	BP	Brasil ^a	R	1	IS76-155	<i>S. officinarum</i>	NA	R	2
IAC68-12	BP	Brasil ^a	R	1	KRAKATAU	<i>S. spontaneum</i>	NA	R	1
IAC82-2045	BP	Brasil ^a	R	3	L60-14	BP	Estados Unidos ^c	S	4
IAC82-3092	BP	Brasil ^a	S	4	LAUKONA	<i>S. officinarum</i> x ?	Estados Unidos ^b	R	1
IAC83-4157	BP	Brasil ^a	S	2	LOUSER	<i>S. officinarum</i> x ?	NA	S	4
IAC86-2210	BP	Brasil ^a	R	1	MALI	BP	NA	S	3
IAC87-3396	BP	Brasil ^a	S	2	MANA II	BP	NA	S	4
IJ76-293	<i>S. robustum</i>	Indonésia ^b	S	3	MANERIA	<i>S. sinense</i>	Índia ^b	R	1
IJ76-313	<i>S. officinarum</i>	Indonésia ^b	S	4	MUNTOK JAVA	<i>S. officinarum</i>	Indonésia ^b	R	2
IJ76-314	<i>S. robustum</i> x <i>S. officinarum</i>	Indonésia ^b	S	4	MZ-151	<i>S. officinarum</i>	NA	S	2
IJ76-317	<i>S. officinarum</i>	Indonésia ^b	S	4	NA56-79	BP	Argentina ^a	S	4
IJ76-318	<i>S. robustum</i> x ?	Indonésia ^b	R	2	NCo 310	BP	África do sul ^a	R	1
IJ76-325	<i>S. officinarum</i>	Indonésia ^b	R	2	NG21-17	<i>S. officinarum</i>	Nova Guiné ^b	S	4
IJ76-326	<i>S. officinarum</i> x ?	Indonésia ^b	R	4	NG21-21	<i>S. officinarum</i>	Nova Guiné ^b	S	4
IJ76-360	<i>S. edule</i>	Indonésia ^b	R	4	NG57-221	<i>S. officinarum</i>	Nova Guiné ^b	R	1
IJ76-418 RED	<i>S. officinarum</i>	Indonésia ^b	R	2	NG57-50	<i>S. officinarum</i> x <i>S. spontaneum</i>	Nova Guiné ^c	S	4
IM76-227	<i>Erianthus</i> spp.	Indonésia ^b	R	4	NG77-18	<i>S. officinarum</i>	Nova Guiné ^b	S	4
IM76-228	<i>S. robustum</i>	Indonésia ^b	R	1	POJ161	BP	Java ^c	S	4
IM76-229	<i>S. robustum</i>	Indonésia ^b	S	3	POJ2878	BP	Java ^c	R	1
IN84-103	<i>S. officinarum</i>	Indonésia ^b	S	2	Q117	BP	Austrália ^a	S	4
IN84-104	<i>S. robustum</i> x ?	Indonésia ^b	S	3	Q165	BP	Austrália ^a	S	4
IN84-105	<i>S. officinarum</i>	Indonésia ^b	R	1	Q70	BP	Austrália ^a	S	4
IN84-106	<i>S. officinarum</i>	Indonésia ^b	R	1	R570	BP	Ilhas Reunião ^a	R	1

Tabela 1 - Continuação.

Acessos	Genótipos ¹	País	Fenótipo	Haplótipo	Acessos	Genótipos ¹	País	Fenótipo	Haplótipo
RB002601	BP	Brasil ^a	R	1	RB835205	BP	Brasil ^a	R	1
RB002700	BP	Brasil ^a	R	1	RB835486	BP	Brasil ^a	S	4
RB002754	BP	Brasil ^a	R	1	RB835687	BP	Brasil ^a	S	4
RB721012	BP	Brasil ^a	S	4	RB845197	BP	Brasil ^a	R	1
RB72199	BP	Brasil ^a	R	3	RB845210	BP	Brasil ^a	R	1
RB72454	BP	Brasil ^a	R	1	RB845239	BP	Brasil ^a	S	2
RB725053	BP	Brasil ^a	S	4	RB845257	BP	Brasil ^a	R	1
RB725828	BP	Brasil ^a	S	2	RB845286	BP	Brasil ^a	S	4
RB732577	BP	Brasil ^a	S	4	RB855002	BP	Brasil ^a	R	1
RB735200	BP	Brasil ^a	R	1	RB855035	BP	Brasil ^a	S	4
RB735220	BP	Brasil ^a	S	2	RB855036	BP	Brasil ^a	R	1
RB735275	BP	Brasil ^a	S	4	RB855063	BP	Brasil ^a	R	2
RB736018	BP	Brasil ^a	S	4	RB855070	BP	Brasil ^a	S	4
RB739735	BP	Brasil ^a	R	1	RB855077	BP	Brasil ^a	S	4
RB75126	BP	Brasil ^a	R	1	RB855113	BP	Brasil ^a	R	1
RB765418	BP	Brasil ^a	R	1	RB855156	BP	Brasil ^a	R	1
RB785148	BP	Brasil ^a	R	1	RB855196	BP	Brasil ^a	R	1
RB785750	BP	Brasil ^a	R	2	RB855206	BP	Brasil ^a	R	1
RB806043	BP	Brasil ^a	S	2	RB855350	BP	Brasil ^a	R	1
RB815521	BP	Brasil ^a	S	4	RB855357	BP	Brasil ^a	R	1
RB815627	BP	Brasil ^a	S	2	RB855453	BP	Brasil ^a	R	1
RB815690	BP	Brasil ^a	S	4	RB855463	BP	Brasil ^a	S	4
RB825317	BP	Brasil ^a	S	4	RB855465	BP	Brasil ^a	R	2
RB825336	BP	Brasil ^a	S	2	RB855511	BP	Brasil ^a	R	1
RB825548	BP	Brasil ^a	R	1	RB855533	BP	Brasil ^a	R	1
RB83100	BP	Brasil ^a	S	4	RB855536	BP	Brasil ^a	R	1
RB83102	BP	Brasil ^a	S	4	RB855546	BP	Brasil ^a	R	1
RB83160	BP	Brasil ^a	S	4	RB855563	BP	Brasil ^a	S	2
RB835019	BP	Brasil ^a	R	1	RB855574	BP	Brasil ^a	S	4
RB835054	BP	Brasil ^a	R	1	RB855589	BP	Brasil ^a	S	2
RB835089	BP	Brasil ^a	R	3	RB855595	BP	Brasil ^a	R	2

Tabela 1 - Continuação.

Acessos	Genótipos ¹	País	Fenótipo	Haplótipo	Acessos	Genótipos ¹	País	Fenótipo	Haplótipo
RB855598	BP	Brasil ^a	S	4	SP77-5181	BP	Brasil ^a	R	1
RB865214	BP	Brasil ^a	S	4	SP79-1011	BP	Brasil ^a	S	2
RB867515	BP	Brasil ^a	R	1	SP79-2233	BP	Brasil ^a	R	1
RB925211	BP	Brasil ^a	R	1	SP79-2312	BP	Brasil ^a	R	1
RB925268	BP	Brasil ^a	R	1	SP79-2313	BP	Brasil ^a	S	2
RB925345	BP	Brasil ^a	S	4	SP79-6192	BP	Brasil ^a	S	2
RB92579	BP	Brasil ^a	R	1	SP80-1520	BP	Brasil ^a	S	4
RB935744	BP	Brasil ^a	R	1	SP80-1816	BP	Brasil ^a	R	1
RB965902	BP	Brasil ^a	R	1	SP80-1836	BP	Brasil ^a	S	2
RB965917	BP	Brasil ^a	R	1	SP80-1842	BP	Brasil ^a	S	2
RB966928	BP	Brasil ^a	R	1	SP80-185	BP	Brasil ^a	S	4
RB975148	BP	Brasil ^a	R	1	SP80-3280	BP	Brasil ^a	R	1
SABURA	<i>S. officinarum</i>	NA	R	1	SP81-1763	BP	Brasil ^a	R	1
SAC.OFFIC.8272	<i>S. officinarum</i>	Malasia ^b	S	2	SP81-3250	BP	Brasil ^a	R	1
SAC.OFFIC.8276	<i>S. officinarum</i>	Malasia ^b	S	4	SP83-2847	BP	Brasil ^a	R	1
SAC.OFFIC.8280	<i>S. officinarum</i>	Malasia ^b	R	3	SP83-5073	BP	Brasil ^a	R	2
SAC.OFFIC.8284	<i>S. officinarum</i>	Malasia ^b	R	1	SP86-155	BP	Brasil ^a	R	1
SES 205 A	<i>S. spontaneum</i>	India ^a	R	4	SP89-1115	BP	Brasil ^a	R	1
SP70-1005	BP	Brasil ^a	S	4	SP91-1049	BP	Brasil ^a	R	1
SP70-1078	BP	Brasil ^a	S	2	TUC71-7	BP	Argentina ^a	S	4
SP70-1143	BP	Brasil ^a	S	2	UBA DEMERARA	<i>S. sinense</i>	NA	R	4
SP70-1284	BP	Brasil ^a	S	4	US57-141-5	<i>S. robustum</i>	NA	R	3
SP70-1423	BP	Brasil ^a	S	2	US60-31-3	BP	USA ^b	S	4
SP70-3370	BP	Brasil ^a	S	4	US85-1008	<i>S. spontaneum</i> x US60-31-3	NA	R	1
SP71-1406	BP	Brasil ^a	S	4	WHITE MAURITIUS	<i>S. officinarum</i>	Índia ^b	R	4
SP71-6949	BP	Brasil ^a	S	2	WHITE PARARIA	<i>S. barberi</i>	Índia ^b	R	2
SP71-799	BP	Brasil ^a	S	4	WHITE TRANSPARENT	<i>S. officinarum</i>	Índia ^b	R	1
SP72-4928	BP	Brasil ^a	S	2	ZWART MANILA	<i>S. officinarum</i>	Indonésia ^b	S	4

¹Informação consultada em: a) Banco de Germoplasma da RIDESA (<http://pmgca.dbv.cca.ufscar.br/>); b) Miami World Collection (<https://npgsweb.ars-grin.gov/gringlobal/search.aspx>); e c) Sugarcane Variety Notes (MACHADO, 2000). BP: Material de Programa de Melhoramento. NA: Informação não disponível.

Cada parcela foi avaliada por 2 pessoas independentemente. A nota de severidade de cada parcela foi dada através da avaliação individual de 5 touceiras tomadas ao acaso dentro da parcela.

As médias de temperatura e pluviosidade foram respectivamente 21,9°C e 1396,3mm para o ano de 2013 e 23,0°C e 1035,0 mm para o ano de 2014, sendo as médias de temperatura para os meses de fevereiro de 2014 e 2015 (meses de avaliação da doença) de 26,1°C e 24,6°C, respectivamente (ARARAS, 2016).

3.3 Análise molecular para presença de *Bru1*

Aproximadamente 3,0g de tecidos dos primórdios foliares de cada acesso do PBGCA foram coletados e o DNA genômico foi extraído seguindo o método CTAB descrito por Al-Janabi et al., (1999). As reações de amplificação dos marcadores R12H16 e 9O20-F4-Rsal foram realizadas seguindo o protocolo: 20 µL de volume final contendo 50 ng de DNA, 0,4 M de cada primer, 0,4 mM de cada dNTP, 2,5 mM MgCl₂, 0,5 unidades de Taq DNA Polymerase (Invitrogen) com 1 X PCR buffer.

As amplificações foram realizadas no termociclador Mastercycler gradient (Eppendorf) de acordo com seguintes ciclos: 4 min de desnaturação inicial a 94°C seguido por 35 ciclos de 94°C por 30 s, 55.5°C por 45 s, 72°C por 72 s e extensão final por 8 min a 72°C. O marcador R12H16 foi amplificado com o par de primers: Forward (Fw): CTACGATGAACTACACCCTTGTC Reverse (Rv): CTTATGTTAGCGTGACCTA, que corresponde a um fragmento específico de aproximadamente 570 pb. Para observar o resultado diagnóstico utilizando o par de primers 9O20-F4 (Fw: TACATAATTTTAGTGCGCACTCAGC/Rv:ACCATAATTCAATTCTGCAGGTAC) foi necessário a digestão do produto de amplificação com enzima de restrição Rsal. Volume de 15 µL do produto de PCR 9O20-F4 foi digerido para visualizar a presença de uma banda específica de aproximadamente 270 pb associada ao gene *Bru1*. Os produtos de PCR do marcador R12H16 e os fragmentos digeridos do marcador 9O20-F4-Rsal foram visualizados após eletroforese em gel de agarose 1,5% e 3,0%, respectivamente, com coloração via brometo de etídio. Foi utilizado o acesso R570 como controle positivo, porque o gene *Bru1* foi originalmente encontrado nesse genótipo. Acessos que apresentaram os fragmentos dos dois marcadores foram classificados como haplótipo 1, enquanto que os acessos que não apresentaram qualquer um dos dois fragmentos foram classificados como haplótipo 4. Acessos que continham somente

o fragmento amplificado pelo marcador R12H16 foram classificados como haplótipo 2, e acessos que apresentaram apenas o fragmento amplificado pelo marcador 9O20-F4-Rsal foram classificados como haplótipo 3.

3.4 Frequência do gene *Bru1* nas variedades do Brasil

A frequência do gene *Bru1*, avaliada através da presença do haplotipo 1, foi calculada considerando as 10 variedades mais plantadas na região Centro-Sul do Brasil (São Paulo e Mato Grosso do Sul) durante 5 décadas no período 1974-2015 (DAL-BIANCO et al., 2011; PMGCA/UFSCar, 2016). Essa região produtora representa cerca de 60% da área de cultivo de cana-de-açúcar no país (CONAB, 2016).

3.5 Genealogia da variedade moderna de cana-de-açúcar RB966928

Para inferir as possíveis origens da transmissão genética do gene *Bru1* de resistência à ferrugem marrom foi construída a genealogia da variedade moderna de cana-de-açúcar RB966928, está que não apresenta em sua genealogia a variedade R570, acesso onde originalmente foi se descoberto o gene *Bru1*. Os dados de parentesco dos genótipos que compõem a genealogia da RB966928 foram obtidos pelo PMGCA/UFSCar e para construção da árvore genealógica foi utilizado o software Pedigraph™ (GARBE, DA, 2008). Os ancestrais da variedade RB966928 foram avaliados para resposta à incidência da ferrugem marrom a campo e também para a região *Bru1*. Seis acessos (CP33-224, CP48-126, CP36-105, US1694, POJ213 e Kassoer) tiveram informações a cerca da presença ou ausência dos marcadores, como também da resposta a campo a ferrugem marrom, extraídos da literatura (COSTET et al., 2012; GLYNN et al., 2013; RACEDO et al., 2013; PARCO et al., 2014).

4. Resultados e Discussão

4.1. Resposta à ferrugem marrom a campo

Os resultados da avaliação fenotípica de reação à ferrugem marrom dos 242 acessos que compõem o PBGCA foram sumarizados na Tabela 1. Nas avaliações dos dois anos agrícolas foram observados acessos com notas que variaram de nota 1 (nenhum sintoma) a nota 6 (com 25% de área foliar atacada) (Figura 2). Um total de 131 acessos (54,13%) apresentou nota 1, portanto resistentes, nos dois anos

agrícolas e 111 acessos (45,87%) apresentaram nota entre 2 e 9, sendo considerados como suscetíveis.

Dos 77 acessos do germoplasma ancestral, 49 (63,64%) não apresentaram sintomas da doença na área foliar, sendo, portanto classificados como resistentes. Do total

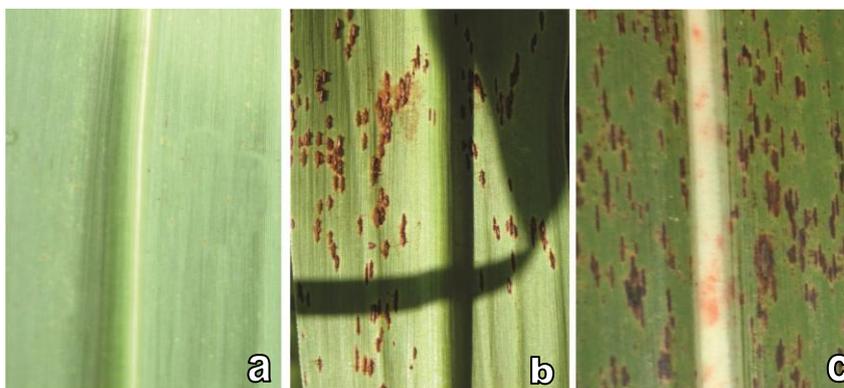


Figura 2 - Três diferentes níveis de severidade de *Puccinia melanocephala*, fungo causador da ferrugem marrom, em folhas de cana-de-açúcar. Na avaliação fenotípica foi utilizado escala diagramática com notas para severidade da doença (TAI et al., 1981; AMORIM et al., 1987). Fig. (a) - folha sem o sintoma da doença; Fig. (b) - folha com nota 4 na escala diagramática; Fig. (c) - folha com nota 6 na escala diagramática.

de representantes de cada espécie, foram resistentes, 51,22% (21) de *S. officinarum*, 55,56% (5) de *S. robustum* e 100% dos acessos representantes de *S. spontaneum*, *Erianthus*, *S. sinense*, *S. barberi*, como também os híbridos US85-1008 e Badila. Em contrapartida, os híbridos NG57-50, F76 -1762 e IJ76-314, e mais o acesso *S. edule* foram classificados como suscetíveis com notas maiores que 2.

Do total de 36 acessos do germoplasma melhorado estrangeiro, 41,66% (15) foram resistentes a campo bem como os representantes da Indonésia (POJ2878) e Ilhas de Reunião (R570), sendo a maior representatividade, em número (5), de acessos resistentes oriundas dos EUA. Nos acessos oriundos dos programas de melhoramento brasileiros 44 (59,5%) das variedades RB, 12 (41,37%) das SP, 5 (38,46%) das IAC e 4 (30,76%) das CB foram resistentes (Tabela 2).

4.2. Genotipagem da região do gene *Bru1*

Todos os acessos foram classificados quanto à presença ou ausência dos marcadores moleculares R12H16 e 9O20-F4-Rsal (Figura 3), variando de 94 (38,84%) que apresentaram o haplótipo 1 a 89 (36,77%) que apresentaram o haplótipo 4, sendo que 48 acessos apresentaram o haplótipo 2 e 11 acessos

apresentaram o haplótipo 3 (Tabela 3). A frequência do haplótipo 1 foi maior, em porcentagem, no germoplasma melhorado, com 43,03% (71) dos 165 acessos avaliados, enquanto 29,87% (23) dos 77 acessos do germoplasma ancestral apresentaram o haplótipo 1.

Para o germoplasma melhorado brasileiro, os acessos que apresentaram uma maior proporção da presença do gene *Bru1* foram as representantes do programa “RB”. Enquanto que no germoplasma ancestral essa maior proporção foi observada entre todos os representantes das espécies *S. sinense* e *S. barberi*.

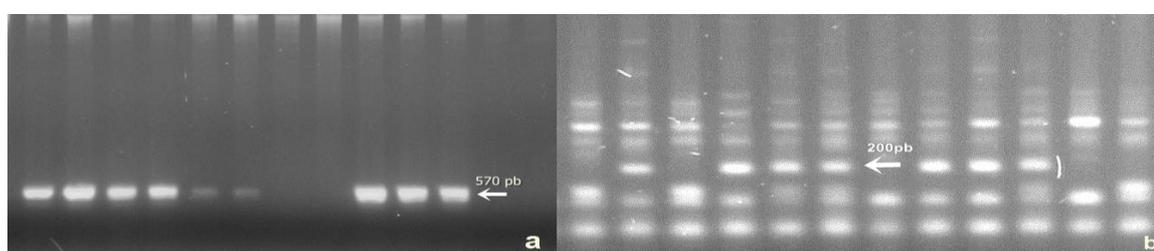


Figura 3 - Padrão de amplificação dos dois marcadores moleculares de diagnóstico para presença do gene *Bru1* em um subconjunto de acessos de cana-de-açúcar. Fig. 3a - R12H16; Fig. 3b - 9O20-F4-Rsal.

O haplótipo 2 teve uma frequência de aproximadamente 4,5 vezes maior em relação ao haplótipo 3, sendo que o primeiro representou 19,83% e o segundo 4,55% do total de acessos. Não houve uma grande variação entre os germoplasmas ancestral e melhorado na frequência destes dois haplótipos.

Em contrapartida, o haplótipo 4 teve uma maior frequência no germoplasma ancestral, principalmente entre as *S. officinarum*, apresentando 19 acessos sem a presença dos dois marcadores moleculares. Tal ausência também ocorreu entre todos os representantes de *Erianthus* ssp. e nos híbridos NG57-50, F76-1762 e IJ76-314.

No germoplasma melhorado estrangeiro os acessos dos países Argentina e Austrália não possuíram resposta positiva à presença do gene *Bru1*. Dentro do germoplasma melhorado brasileiro, os que apresentam maior proporção de haplótipo 4, com quase metade dos acessos, foram os representantes CB.

Tabela 2 - Frequência do gene *Bru1*, de dois anos agrícolas avaliados, nos acessos de programas de melhoramento genéticos brasileiros e estrangeiros, e também de espécies ancestrais.

	Programas de melhoramento Brasileiro				Melhoramento Estrangeiros ¹	Espécies Ancestrais ²	Total
	RB	SP	IAC	CB			
Número de acessos	74	29	13	13	36	77	242
Acessos Resistentes (%) ³	44 (59,45)	12 (41,37)	5 (38,46)	4 (30,76)	15 (41,66)	50 (64,93)	130 (53,71)
Acessos resistentes com haplótipo 1 (%)	38 (86,36)	11 (91,66)	4 (80,00)	3 (75,00)	15 (100,00)	23 (46,00)	94 (72,30)

¹São considerados melhoramento estrangeiros: CIMCA, Co, CP, CR, D, F, H, HJ, L, M, NA, NCo, POJ, Q, R, TUC, US, e os acesso AKBAR e ARUNDOID B.

²*Saccharum officinarum*, *S. spontaneum*, *S. sinense*, *S. robustum*, *S. barberi*, *S. edule*, *Erianthus* e os híbridos NG57-50(*S. officinarum* x *S. spontaneum*), F76-1762(*Mischanthus* x *Erianthus*), IJ76-314(*S. robustum* x *S. officinarum*), US85-1008 (*S. spontaneum* x US60-31-3) e Badila (*S. officinarum* x NG9615).

³ Acessos que não tiveram sintomas da doença e nota 1 nos dois anos agrícolas avaliados, cana-planta (2014) e cana-soca (2015)

4.3. Associação entre reação à ferrugem marrom e presença de *Bru1*

A presença conjunta dos dois marcadores moleculares (R12H16 e 9O20-F4-Rsal), representado pelo haplótipo 1, e conseqüentemente do gene *Bru1* foram conferidas em 94 (72,30%) dos 130 acessos classificados como resistentes (Tabelas 1 e 3). No germoplasma melhorado brasileiro foi possível observar que 86,36%, 91,66%, 80% e 75,00% dos acessos pertencentes aos programas RB, SP, IAC e CB, respectivamente, foram resistentes à ferrugem marrom e possuíram o gene *Bru1*. Os acessos oriundos de programas de melhoramento genético estrangeiros apresentaram 100% de associação entre fenótipo resistente e presença do gene *Bru1* (Tabelas 1 e 2).

Em contraste, o germoplasma ancestral apresentou apenas 46,00% de associação entre fenótipo resistente e presença do gene *Bru1* (Tabela 2). Do total de 41 acessos representantes de *S. officinarum*, 21 foram resistentes sendo 12 com haplótipo 1 (57,14%). Em adição, todos os cinco acessos de *S. spontaneum* foram resistentes à doença e apenas o acesso KRAKATAU apresentou o gene *Bru1*. Um total de 16 acessos do germoplasma ancestral resistentes à ferrugem marrom foi classificado com o haplótipo 4, sendo 6 representantes *Erianthus* ssp., 2 *S. spontaneum*, 4 *S. officinarum*, 2 *S. robustum*, um de *S. edule* e um *S. sinense* (Tabela 3).

Nenhum acesso do PBGCA classificado como suscetível à ferrugem marrom apresentou o haplótipo 1. Além disso, do total de 27 acessos do germoplasma ancestral suscetíveis à doença (Tabela 3), 20 foram representantes de *S. officinarum*, sendo que 15 destes apresentaram o haplótipo 4, ou seja, não possuem os marcadores associados ao gene *Bru1* (Tabela 1).

4.4 Frequência do gene *Bru1* nas variedades mais plantadas no Brasil

A evolução da frequência de *Bru1* entre as dez variedades mais plantadas no Brasil e conseqüentemente a incorporação deste gene pelos programas brasileiros de melhoramento genético pode ser visualizada desde antes da chegada da doença no país, em 1986 (Figura 4).

Em 1974, a variedade CB41-76, suscetível à ferrugem marrom e com o haplótipo 4, ocupava aproximadamente 40% da área plantada de cana-de-açúcar no país. Neste mesmo ano, apenas duas variedades foram resistentes entre as 10 mais plantadas, CB49-260 e Co419, ambas resistentes a doença e com haplótipo 1,

Tabela 3 – Distribuição de acessos resistentes e suscetíveis a ferrugem marrom no Painel Brasileiro de Genótipos de Cana-de-açúcar em relação a presença do gene *Bru1* considerando os marcadores moleculares R12H16 e 9O20-F4-Rsal e separando os genótipos em variedades de programas brasileiros, de melhoramento estrangeiro e espécies ancestrais

Haplótipos	Acessos Resistentes ³				Acessos Suscetíveis			
	1	2	3	4	1	2	3	4
Variedades de programas Brasileiros								
RB	38	4	2	0	0	8	0	22
SP	11	1	0	0	0	10	0	7
IAC	4	0	1	0	0	3	0	5
CB	3	0	1	0	0	3	0	6
Genótipos de melhoramento estrangeiro ¹	15	0	0	0	0	5	1	15
Espécie Ancestral ²	23	9	2	16	0	5	4	18
Total	94	14	6	16	0	34	5	73

¹São considerados melhoramento estrangeiros: CIMCA, Co, CP, CR, D, F, H, HJ, L, M, NA, NCo, POJ, Q, R, TUC, US, e os acesso AKBAR e ARUNDOID B.

²*Saccharum officinarum*, *S. spontaneum*, *S. sinense*, *S. robustum*, *S. barberi*, *S. edule*, *Erianthus* e os híbridos NG57-50(*S. officinarum* x *S. spontaneum*), F76-1762(*Mischanthus* x *Erianthus*), IJ76-314(*S. robustum* x *S. officinarum*), US85-1008 (*S. spontaneum* x US60-31-3) e Badila (*S. officinarum* x NG9615).

³ Acessos que não tiveram sintomas da doença e nota 1 nos dois anos agrícolas avaliados, cana-planta (2014) e cana-soca (2015).

ocupando aproximadamente 12% da área comercial. Em 1980, a variedade NA56-79, também suscetível à ferrugem marrom com haplótipo 4, juntamente com a CB41-76 ocupou quase 60% da área com cana-de-açúcar.

Em 1988, a variedade SP70-1143, com suscetibilidade intermediária à ferrugem marrom e haplótipo 2, ocupou o primeiro lugar no ranking das variedades mais plantadas com 28,60% de área plantada, bem próximo da NA56-79 com 25,70%, seguidos da SP71-1406 com 16,00%, todas suscetíveis a ferrugem marrom (Figura 4).

No ano de 1995, a variedade RB72454, resistente à ferrugem marrom e haplótipo 1, ocupou o primeiro lugar no ranking. Em 1997, a variedade RB72454 continuava em primeiro e ocupou cerca de 23% da área de cana no país, e juntamente com as variedades RB785148, RB765418, RB806043, aumentaram a área com plantas resistentes ao patógeno e com o haplótipo 1 para mais de 38%. Nove anos depois, em 2006, oito das 10 variedades mais plantadas eram resistentes à ferrugem marrom e ocupavam mais de 58% da área comercial.

No ano de 2010, as variedades resistentes ocupavam cerca de 70% da área comercial com cana-de-açúcar, sendo que a variedade que possuiu o haplótipo 1, RB867515, primeira no ranking, foi responsável por cerca de 21% da área, seguida pelas variedades SP81-3250 e RB855453, ambas resistentes e com o haplótipo 1. Em 2011, nove das 10 variedades mais plantadas no Brasil foram resistentes e ocupavam mais de 61% da área comercial, sendo as três primeiras variedades no ranking RB867515, SP81-3250 e RB92579.

No período de 2012 a 2015, aconteceu um ligeiro aumento no plantio de variedades suscetíveis à ferrugem marrom (Figura 4), porém mais de 70% da área foi ocupada pelas variedades, RB867515, SP81-3250, RB966928, RB92579, RB855156 e RB855453, todas classificadas com o haplótipo 1 e resistentes à doença.

4.5 Genealogia da variedade moderna de cana-de-açúcar RB966928

A genealogia da variedade RB966928 foi mostrada na Figura 5 e apresenta 67 ascendentes, representados por genótipos ancestrais e melhorados. Um total de 30 genótipos foram caracterizados para a presença ou ausência dos marcadores moleculares R12H16 e 9O20-F4-Rsal.

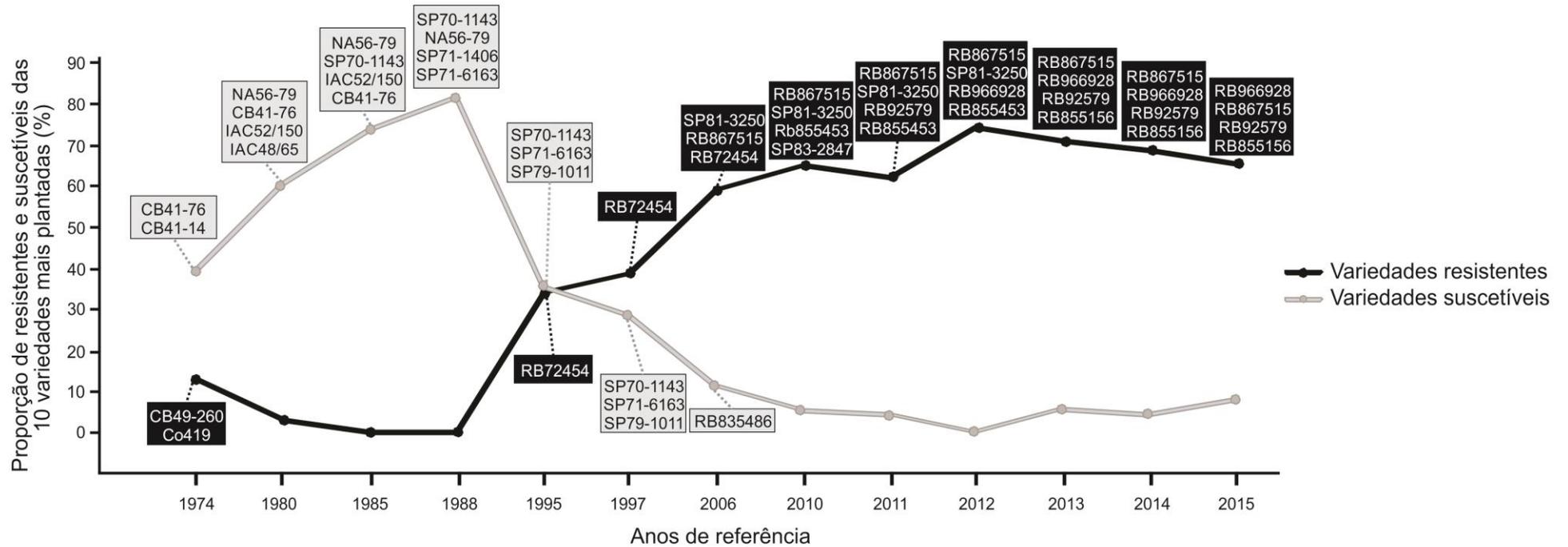


Figura 4 - Proporção de resistência e suscetibilidade à ferrugem marrom com base nas 10 variedades de cana-de-açúcar mais plantadas ao longo de 5 décadas, de acordo com dados do programa de melhoramento genético de Cana-de-açúcar da Universidade Federal de São Carlos, integrante da rede interuniversitária do setor sucroenergético (RIDESA) (<http://pmgca.dbv.cca.ufscar.br/>). Linha preta indica o progresso de variedades resistentes e linha cinza indica o declínio de variedades suscetíveis.

Os resultados obtidos mostraram que o haplótipo 1 foi encontrado em acessos ancestrais, como WHITE TRANSPARENT (*S. officinarum*) e Kassoer (híbrido do cruzamento entre Black Cheribon e de Glagah, *S. officinarum* e *S. spontaneum*, respectivamente) (Figura 5), como também em variedades melhoradas que foram frequentemente utilizadas em cruzamentos nos programas de melhoramentos do Brasil, como a POJ2878.

A partir da análise visual dos cruzamentos apresentados na genealogia, foi possível observar que os híbridos gerados a partir das variedades que apresentaram o haplótipo 1 herdaram, em quase 50% dos casos, além da característica fenotípica de resistência à doença, também o gene *Bru1*. Como exemplo, tem-se o cruzamento entre o genótipo suscetível (haplótipo 4) RB815690 e o genótipo resistente (haplótipo 1) RB855156 que deram origem a variedade RB966928, que apresentam resistência à ferrugem marrom e presença dos dois marcadores moleculares para o gene *Bru1*.

Além disso, através da genealogia da variedade RB966928 foi possível observar também que a variedade POJ213 (híbrido do cruzamento entre CHUNNEE e Black Cheribon, *S. barberi* e *S. officinarum*, respectivamente) apesar de ser resistente à ferrugem marrom, apresenta o haplótipo 4, o que sugere uma fonte secundária de resistência à doença. Tal resistência que pode estar presente em variedades que possuem a POJ213 como ancestral, bem como pode ser visto na US 1694, também resistente e com o haplótipo 4.

A ferrugem marrom está associada com a redução significativa no rendimento da cultura da cana-de-açúcar e, como consequência, importantes perdas econômicas. As novas variedades, antes de lançadas no mercado para os produtores, devem ser submetidas a testes de resistência à ferrugem. No entanto, esse procedimento é trabalhoso, demorado e de alto custo, sendo que os programas de melhoramento, em geral, realizam a seleção de clones resistentes aproveitando-se da infestação natural em campo.

Desta forma, é essencial que os programas de melhoramento genético se aliem aos estudos moleculares na busca das marcas genéticas relacionadas à resistência de plantas visando o desenvolvimento de variedades resistentes por melhoramento assistido.

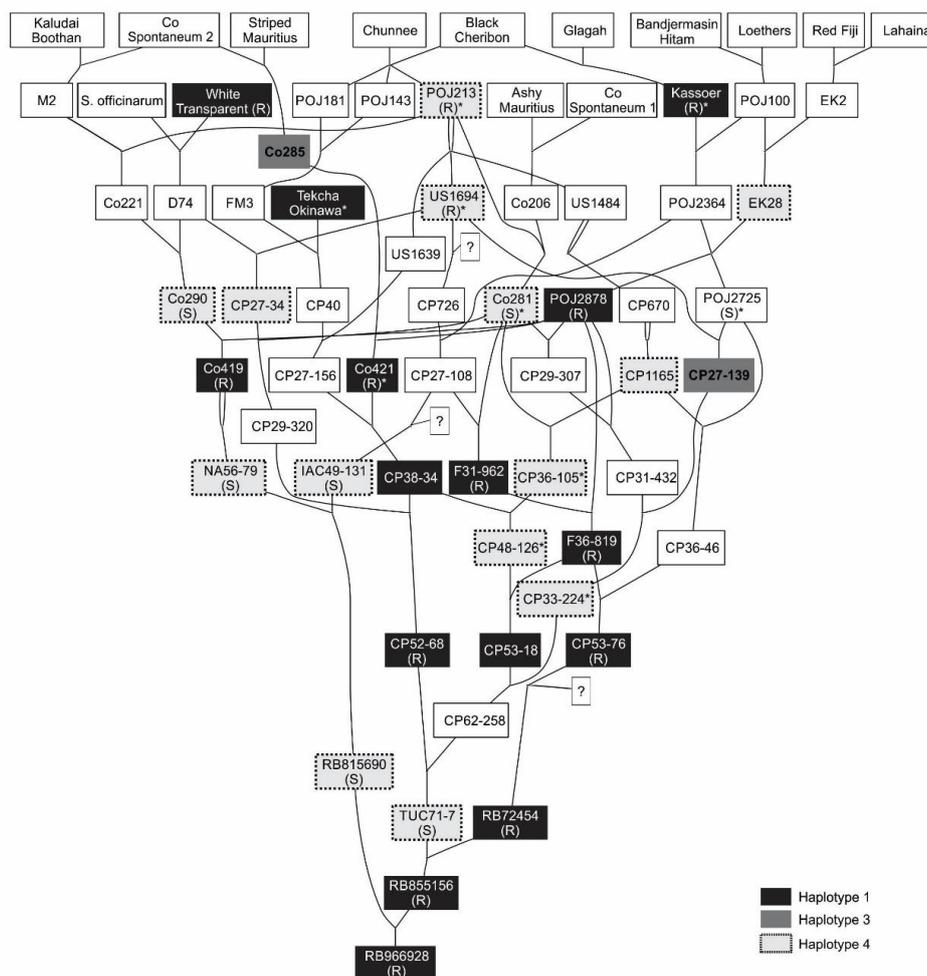


Figura 5 - Genealogia da variedade de cana-de-açúcar RB966928. Acessos com cor cinza têm informações de haplótipos de marcadores moleculares de diagnóstico para o gene *Bru1*. Os haplótipos 1, 3 e 4 foram destacados em escala de cinza mais escuro: quadrado cinza e texto branco são haplótipo 1; cinza e sem quadrado de borda são haplótipo 3; Cinza mais leve e quadrado de borda pontilhada são haplótipo 4. Dados de parentesco foi fornecido pelo Programa de Melhoramento Genético de Cana-de-açúcar da Universidade Federal de São Carlos, integrante da Rede Interuniversitária para o Desenvolvimento do Setor Sucroenergético (RIDESA) (<http://pmgca.dbv.cca.ufscar.br/>). O software Pedigraph™ foi utilizado para a construção da árvore genealógica. R: acessos resistentes à ferrugem marrom; S: acessos suscetíveis à ferrugem marrom; * As informações coletadas de referências: Costet et al. (2012), Glynn et al. (2013), Racedo et al. (2013), Parco et al. (2014).

No germoplasma ancestral, os acessos representantes de *S. officinarum* foram os que apresentaram a maior porcentagem de suscetibilidade, diferentemente de outras espécies como *S. spontaneum*, *Erianthus* spp., *S. sinense* e *S. barberi* que apresentaram resposta de resistência ao fungo, causador da ferrugem marrom.

Estes resultados demonstram o que está descrito na literatura, onde na formação das variedades modernas, *S. officinarum* contribuíram com a genes relacionados à produção maior de açúcar e as outras espécies, em destaque para *S. spontaneum* colaboraram com genes de resistência a doenças (CHEAVEGATTI-GIANOTTO *et al.*, 2011; MATSUOKA *et al.*, 2014; TEW, COBIL, 2008)

A alta frequência do haplótipo 1 em genótipos resistentes nos programas de melhoramento brasileiros indicam uma seleção a favor para o gene *Bru1*. Nos programas de melhoramento da Louisiana (Estados Unidos) e Obispo Colombres (Argentina) (GLYNN *et al.*, 2013; PARCO *et al.*, 2014; RACEDO *et al.*, 2013) este resultado não é observado, já que as taxas de frequência de *Bru1* são baixas (6% e 7%, respectivamente) sugerindo a predominância de fonte alternativa de resistência à ferrugem marrom, ou a ocorrência de raças de *Puccinia melanocephala* que não são controladas pelo gene *Bru1*.

Além disso, os programas de melhoramento brasileiros, têm uma maior exigência em relação à classificação de resistência à doença. Apenas são selecionados aqueles que apresentarem nota 1, ou seja, nenhum sintoma de ferrugem marrom, diferentemente dos programas anteriormente citados, nos quais até nota 2 (0,5% de área afetada) consideram a planta resistente. Ao observar os cruzamentos das últimas 3 décadas dos programas de melhoramentos do Brasil (de 1985 a 2010) presentes no PBGCA (Tabela 3), nota-se uma eficiente seleção as variedades resistentes à ferrugem marrom.

A forte associação observada entre os genótipos resistentes do PBGCA e os marcadores para *Bru1* sugere que este gene é a principal fonte de resistência para ferrugem marrom inserida na base genética dos programas brasileiros de melhoramento genético da cana-de-açúcar. Costet *et al.* (2012), mostraram que dentre 380 genótipos oriundos de diversos países, 194 foram fenotipicamente classificados como resistentes os quais 85,56% apresentaram o haplótipo 1. Glynn *et al.* (2013) mostraram que *Bru1* está presente em 27% das variedades utilizadas para cruzamentos e em 87% dos clones do segundo estágio de seleção do

Programa de Melhoramento Genético de Canal Point na Flórida, Estados Unidos, sendo a principal fonte de resistência à ferrugem marrom.

No germoplasma ancestral, apesar de *Bru1* ser observado em quase 50% dos acessos resistentes, notou-se que uma segunda fonte de resistência pode estar presente para a ferrugem marrom. Isso foi verificado pela atribuição da nota 1 na classificação da doença e da presença do haplótipo 4 em duas representantes *S. spontaneum* (SES 205A e IN84-88) e os 6 acessos de *Erianthus* spp.

As distorções de segregação conjunta dos marcadores associados a *Bru1*, representados pelos haplótipos 2 e 3, podem evidenciar eventos raros de recombinação ou, ainda, outra fonte de resistência à ferrugem marrom, principalmente nos casos de genótipos resistentes que não apresentam nenhum dos dois marcadores e, conseqüentemente, o gene *Bru1*, representado pelo haplótipo 4 (Tabela 3). Costet et al. (2012), Glynn et al. (2013) e Racedo et al. (2013) mostraram que a ausência de *Bru1* em genótipos resistentes pode ajudar a diversificar a base genética dos bancos de germoplasma para o caráter avaliado.

Esta possível nova fonte de resistência, apesar de estar contribuindo pouco para a resistência à ferrugem marrom, deve ser investigada mais cuidadosamente pelos melhoristas a fim de minimizar os riscos de um colapso futuro no gene de resistência principal. Este colapso pode ocorrer, principalmente, com a evolução da raça de *P. melanocephala* e surgimento de novas raças que não são controladas por *Bru1*. É importante que se realize experimentos controlados para identificar o gene responsável pela fonte alternativa de resistência, selecionar clones resistentes que não possuam o gene *Bru1* e integrá-los ao melhoramento para ampliar a base genética de resistência a ferrugem marrom (COSTET *et al.*, 2012; GLYNN *et al.*, 2013; PARCO *et al.*, 2014; RACEDO *et al.*, 2013).

Ao avaliar a evolução da doença ferrugem marrom e da frequência de *Bru1* ao longo das últimas 5 décadas, nota-se que, após a constatação da chegada da doença no Brasil, em 1986, os programas de melhoramento genético iniciaram as atividades para o desenvolvimento de variedades resistentes com busca por fontes de resistência nos bancos de germoplasma. Naquela época ainda não se tinha o conhecimento do gene que confere resistência ao *Bru1* as variedades suscetíveis que estavam entre as 10 mais plantadas do Brasil até então apresentavam o haplótipo 4, indicando ausência do gene.

Como o desenvolvimento de novas variedades de cana-de-açúcar tem sido um processo longo, ainda no ano de 1988 as 10 variedades mais plantadas apresentavam suscetibilidade à doença e as ocupavam quase 80% de toda a área plantada com cana-de-açúcar no país (Figura 4). Após o ano de 1988, iniciou-se uma queda no plantio de variedades suscetíveis, sendo que no ano de 1995, com o lançamento de variedades resistentes e haplótipo 1, houve uma mudança no cenário anterior de modo que os canaviais passaram a ter quase 50% de variedades resistentes entre as 10 mais plantadas. Nos anos seguintes, foram cada vez maiores as porcentagens de variedades resistentes plantadas em áreas comerciais.

Como exemplo de sucesso deste controle da doença, podemos destacar que após 20 anos, as variedades resistentes e com o haplótipo 1 ocupam quase 70% da área plantada. Com esse acompanhamento, foi possível verificar que, a partir da ampla base genética presente nos bancos de germoplasma dos programas brasileiros de melhoramento genético, as variedades de cana-de-açúcar que não apresentavam os sintomas da ferrugem marrom foram gradativamente substituindo as variedades suscetíveis. Além disso, o uso dessas variedades resistentes como genitores de cruzamentos pode ter auxiliado a incorporação do gene *Bru1* como principal fonte de resistência.

No entanto, um ligeiro aumento de variedades suscetíveis foi observado a partir do ano de 2012. Isso pode ter ocorrido pelo fato de que a durabilidade da resistência à ferrugem marrom é afetada por uma série de fatores diferentes, incluindo genética e raças de patógenos, fase de crescimento das plantas, condições climáticas, nutrição das plantas e características do solo (ANDERSON; DEAN, 1986). Devido a isso, mudanças nas reações de variedades de resistência para suscetibilidade foram observadas em cana-de-açúcar (HOY; HOLLIER, 2009; RAMALLO et al., 2005), mas ainda pouco se sabe sobre a existência de raças de *Puccinia melanocephala* em todo o mundo (COSTET et al., 2012).

Em contrapartida, a variedade resistente à ferrugem marrom, R570, uma das mais amplamente cultivadas por 20 anos na Ilha de Reunião (ASNAGHI et al., 2004), nunca perdeu a sua resistência, embora desafiada com vários isolados coletados a partir de várias partes do mundo (ASNAGHI et al., 2001).

A variedade brasileira SP80-3280, presente no PBGCA e utilizada no projeto SUCEST (VETTORE et al., 2003), cultivada há quase 20 anos no Brasil, apresenta aproximadamente 55 mil hectares cultivados atualmente e em nenhum momento foi

relatado suscetibilidade à ferrugem marrom. Desta forma, é importante que variedades resistentes continuem sendo plantadas e que os programas de melhoramento genético de cana-de-açúcar promovam maior conscientização sobre as vantagens do controle genético.

Ao analisar a genealogia da variedade de cana-de-açúcar RB966928, na busca da possível fonte de resistência e por consequência fonte do gene *Bru1* nos programas brasileiros podemos destacar a variedade POJ2878 (POJ2364 x EK28), que tem em sua genealogia o híbrido Kassoer. A variedade POJ2878 foi incorporada pelos programas brasileiros de melhoramento genético da cana-de-açúcar como genitor de cruzamentos para obtenção de híbridos com maior eficiência no acúmulo de açúcar. Além disso, tal variedade é resistente à ferrugem marrom possuindo haplótipo 1.

Muitas variedades modernas brasileiras, resistentes à ferrugem marrom, possuem a POJ2878 como ancestral comum, o que indica que a herança do gene *Bru1* pode ter a origem compartilhada pelos diferentes programas de melhoramento genético de cana-de-açúcar do Brasil. A variedade resistente à ferrugem marrom RB72454, responsável por mudar o cenário do plantel de variedades na chegada da doença no país, bem como as mais plantadas atualmente no Brasil (RB966928, RB867515, RB92579 e RB855156), possuem o haplótipo 1 e a variedade POJ2878 em suas respectivas genealogias.

Os resultados obtidos mostraram que o haplótipo 1 foi encontrado em variedades ancestrais e que os híbridos gerados a partir dessas variedades herdaram o genótipo dos marcadores indicando o caráter mendeliano do gene *Bru1* como discutido por diversos autores (ASNAGHI et al., 2001, ASNAGHI et al., 2004; COSTET et al., 2012; CUNFF et al., 2008; DAUGROIS et al., 1996; GARCIA et al., 2013; GLYNN et al., 2012; MCINTYRE et al., 2005; RABOIN et al., 2006; RACEDO et al., 2013).

5. Conclusões

A caracterização fenotípica da ferrugem marrom no Painel Brasileiro de Genótipos de Cana-de-açúcar (PBGCA) reforçou a importância dos bancos de germoplasma para a obtenção de alelos de interesse. Nos programas brasileiros de melhoramento, as variedades mais recentes, em sua maioria, já possuem a resistência à ferrugem marrom.

Contudo, ao realizar este estudo notamos que alguns acessos ancestrais que pouco, ou nunca, são utilizados em cruzamentos recentes possuem resistência a essa doença. Tais ancestrais representam um potencial uso destes como genitores, que além de contribuir com características ligadas diretamente à produção, podem também auxiliar no controle da ferrugem marrom.

Em relação à caracterização molecular do PBGCA com os marcadores diagnósticos para detecção da presença da região do gene *Bru1*, é notório o grande potencial que demonstraram para serem utilizados na predição de fenótipos resistentes à ferrugem marrom, otimizando ainda mais os trabalhos de melhoristas nas fases iniciais dos processos de seleção dos programas brasileiros de melhoramento genético da cana-de-açúcar.

Além disso, ao verificar a associação da região do gene *Bru1* com a caracterização fenotípica, notou-se que alguns acessos ancestrais, apesar de terem apresentado resistência à campo para ferrugem marrom, não apresentaram o gene *Bru1*, indicando o potencial de novos estudos acerca destes genótipos na busca do gene responsável pela fonte alternativa de resistência a doença.

6. Literatura citada

AL-JANABI, S. M. et al. An improved and rapid protocol for the isolation of polysaccharide-and polyphenol-free sugarcane DNA. **Plant Molecular Biology Reporter**, v.17, p.1-8 1999.

AMORIM, L. et al. Metodologia de avaliação da ferrugem da cana-de-açúcar (*Puccinia melanocephala*). **Bol. Tec. COPERSUCAR**, v. 39, p.13–16, 1987.

ANDERSON, D. L.; DEAN, J.L. Relationship of rust severity and plant nutrients in sugarcane. **Phytopath**, v. 76, p. 581-585, 1986.

ARARAS. GRUPO DE ESTUDOS E PRÁTICAS EM IRRIGAÇÃO. (Org.). Estação Meteorológica Automática: UFSCar - Centro de Ciências Agrárias - Araras/SP. 2016. Disponível em: <http://blog.cca.ufscar.br/estacaoautomatica/dados-meteorologicos/estacao-meteorologica-automatica-ema/dados/>. Acesso em: 26 de abril de 2016.

ASNAGHI C. et al. Resistance of sugarcane cultivar R570 to *Puccinia melanocephala* from different geographic locations. **Plant Disease**, v.85, p. 282–286, 2001.

ASNAGHI, C. et al. Targeted mapping of a sugarcane rust resistance gene (*Bru1*) using bulked segregant analysis and AFLP markers. **Theor Appl Genet**, [s.l.], v. 108, n. 4, p. 759-764, 2004. Springer Science + Business Media. <http://dx.doi.org/10.1007/s00122-003-1487-6>.

BALSALOBRE, TWA. et al. Mixed Modeling of Yield Components and Brown Rust Resistance in Sugarcane Families. **Agronomy Journal**, v. 108, p. 1-14, 2016. <http://dx.doi.org/10.2134/agronj2015.0430>.

BARRERA, W; HOY, J; LI, B. Effects of Temperature and Moisture Variables on Brown Rust Epidemics in Sugarcane. **J Phytopathol**, [s.l.], v. 161, n. 2, p. 98-106, 2013. Wiley-Blackwell. <http://dx.doi.org/10.1111/jph.12035>.

CHEAVEGATTI-GIANOTTO, A et al. Sugarcane (*Saccharum X officinarum*): A Reference Study for the Regulation of Genetically Modified Cultivars in Brazil. **Tropical Plant Biol.**, [s.l.], v. 4, n. 1, p. 62-89, 2011. Springer Science + Business Media. <http://dx.doi.org/10.1007/s12042-011-9068-3>.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO (CONAB). Levantamento de Safra. Quarto levantamento safra 2015/2016 de cana-de-açúcar. Disponível em: <http://www.conab.gov.br/conteudos.php?a=1253&>. Acesso em: 20 de abril de 2016.

COSTET, L. et al. Haplotype structure around *Bru1* reveals a narrow genetic basis for brown rust resistance in modern sugarcane cultivars. **Theor Appl Genet**, [s.l.], v. 125, n. 5, p. 825-836, 2012. Springer Science + Business Media. <http://dx.doi.org/10.1007/s00122-012-1875-x>.

D'HONT, A; GLASZMANN, JC. Sugarcane genome analysis with molecular markers: a first decade research. **Proc. Int. Soc. Sugar-Cane Technol**, v. 24, p. 556–559, 2001.

D'HONT, A et al. Determination of basic chromosome numbers in the genus *Saccharum* by physical mapping of ribosomal RNA genes. **Genome**, [s.l.], v. 41, n. 2, p. 221-225, abr. 1998. Canadian Science Publishing. <http://dx.doi.org/10.1139/g98-023>.

D'HONT, A.. Unraveling the genome structure of polyploids using FISH and GISH; examples of sugarcane and banana. **Cytogenetic And Genome Research**, [s.l.], v. 109, n. 1-3, p. 27-33, 8 mar. 2005. S. Karger AG. <http://dx.doi.org/10.1159/000082378>.

DAL-BIANCO, M. et al. Sugarcane improvement: how far can we go?. **Current Opinion In Biotechnology**, [s.l.], v. 23, n. 2, p. 265-270, abr. 2012. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.copbio.2011.09.002>.

DAUGROIS, JH. et al. A putative major gene for rust resistance linked with a RFLP marker in sugarcane cultivar 'R570'. **Theor Appl Genetics**, [s.l.], v. 92, n. 8, p. 1059-1064, jun. 1996. Springer Science + Business Media. <http://dx.doi.org/10.1007/bf00224049>.

DE VRIES, et al. Resource use efficiency and environmental performance of nine major biofuel crops, processed by first-generation conversion techniques. **Biomass Bioenergy**, v. 34, p. 588–601, 2010. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biombioe.2010.01.001>.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS (FAO). 2015. FAOSTAT. [Database] FAO, Rome. Disponível em: <http://faostat3.fao.org/home/E>. Acessado em: 10 de Nov. de 2015.

GARBE, J. R.; Da, Y. Pedigraph: A Software Tool for the Graphing and Analysis of Large Complex Pedigree. User manual Version 2.4. **Department of Animal Science**, University of Minnesota, 2008.

GARCIA, AAF. et al. SNP genotyping allows an in-depth characterisation of the genome of sugarcane and other complex autopolyploids. **Scientific Reports**, v. 3, 2013. <http://dx.doi.org/10.1038/srep03399>.

GARSMEUR, O. et al. High homologous gene conservation despite extreme autopolyploid redundancy in sugarcane. **New Phytologist**, [s.l.], v. 189, n. 2, p. 629-642, 2011. Wiley-Blackwell. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1469-8137.2010.03497.x>.

GLYNN, NC. et al. Utilization of a major brown rust resistance gene in sugarcane breeding. **Molecular Breeding**, [s.l.], v. 31, n. 2, p. 323-331, 2013. Springer Science + Business Media. <http://dx.doi.org/10.1007/s11032-012-9792-x>.

GOLDEMBERG, J. Ethanol for a Sustainable Energy Future. **Science**, [s.l.], v. 315, n. 5813, p. 808-810, 9 fev. 2007. American Association for the Advancement of Science (AAAS). <http://dx.doi.org/10.1126/science.1137013>.

GOUY, M. et al. Experimental assessment of the accuracy of genomic selection in sugarcane. **Theor Appl Genet**, [s.l.], v. 126, n. 10, p. 2575-2586, 2 ago. 2013. Springer Science + Business Media. <http://dx.doi.org/10.1007/s00122-013-2156-z>.

GOUY, M. et al. Site and *Saccharum spontaneum* introgression level drive sugarcane yield component traits and their impact on sucrose yield in contrasted radiation and thermal conditions in La Réunion. **Field Crops Research**, [s.l.], v. 171, p. 99-108, fev. 2015. <http://dx.doi.org/10.1016/j.fcr.2014.11.002>.

GRIVET, L; ARRUDA, P. Sugarcane genomics: depicting the complex genome of an important tropical crop. **Current Opinion In Plant Biology**, [s.l.], v. 5, n. 2, p. 122-127, abr. 2002. [http://dx.doi.org/10.1016/s1369-5266\(02\)00234-0](http://dx.doi.org/10.1016/s1369-5266(02)00234-0).

HOGARTH, DM.; RYAN, CC; TAYLOR, PWJ. Quantitative inheritance of rust resistance in sugarcane. **Field Crops Research**, [s.l.], v. 34, n. 2, p.187-193, ago. 1993. [http://dx.doi.org/10.1016/0378-4290\(93\)90006-9](http://dx.doi.org/10.1016/0378-4290(93)90006-9).

HOY, JW; HOLLIER, CA. Effect of Brown Rust on Yield of Sugarcane in Louisiana. **Plant Disease**, [s.l.], v. 93, n. 11, p. 1171-1174, nov. 2009. Scientific Societies. <http://dx.doi.org/10.1094/pdis-93-11-1171>.

IRVINE, JE. Saccharum species as horticultural classes. **Theor and Appl Genetics**, [s.l.], v. 98, n. 2, p. 186-194, 15 fev. 1999. Springer Science + Business Media. <http://dx.doi.org/10.1007/s001220051057>.

CUNFF, et al. Diploid/Polyploid Syntenic Shuttle Mapping and Haplotype-Specific Chromosome Walking Toward a Rust Resistance Gene (*Bru1*) in Highly Polyploid Sugarcane (2n approximately 12x approximately 115). **Genetics**, [s.l.], v. 180, n. 1, p. 649-660, 24 ago. 2008. Genetics Society of America. <http://dx.doi.org/10.1534/genetics.108.091355>.

MACHADO, GR. **Sugarcane variety notes**. Piracicaba ., 2000

MATSUOKA, S; FERRO, J; ARRUDA, P. The Brazilian experience of sugarcane ethanol industry. **In Vitro Cell. dev. biol. -plant**, [s.l.], v. 45, n. 3, p. 372-381, 28 maio 2009. Springer Science + Business Media. <http://dx.doi.org/10.1007/s11627-009-9220-z>.

MATSUOKA, S. et al. Energy cane: its concept, development, characteristics, and prospects. **Advances in Botany**, p. 1–13, 2014. <http://dx.doi.org/10.1155/2014/597275>.

MCFARLANE, K. et al. Fungicide trials to determine the effect of brown rust on the yield of sugarcane variety N29. **Proc. S. Afr. Sugar Technol. Assoc.** v. 79, p. 297–300, 2006.

McINTYRE, CL. et al. Resistance gene analogues in sugarcane and sorghum and their association with quantitative trait loci for rust resistance. **Genome**, v. 48, p. 391-400, 2005.

MOURA, GL. et al. The impact of rust (*P. melanocephala*) on Sugarcane Production in the State of São Paulo. In: Congresso Brasileiro de Fitopatologia, XXXII, 1999, Curitiba-PR, Brasil. Anais do XXXII Congresso Brasileiro de Fitopatologia, Curitiba-PR, Brasil, Fitopatologia Brasileira, 1999, v. 24, p. 279-279.

PARCO, AS. et al. Frequency and distribution of the brown rust resistance gene *Bru1* and implications for the Louisiana sugarcane breeding programme. **Plant Breeding**, v. 133, n. 5, p. 654-659, 2014. Wiley Online Library. <http://dx.doi.org/10.1111/pbr.12186>.

PIPERIDIS, George; PIPERIDIS, Nathalie; D'HONT, Angélique. Molecular cytogenetic investigation of chromosome composition and transmission in sugarcane. **Molecular Genetics And Genomics**, [s.l.], v. 284, n. 1, p. 65-73, 8 jun. 2010. Springer Science + Business Media. <http://dx.doi.org/10.1007/s00438-010-0546-3>.

PROGRAMA DE MELHORAMENTO GENÉTICO DA CANA-DE-AÇÚCAR (PMGCA) DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS (UFSCar). Censo varietal de cana-de-açúcar. Disponível em: <http://pmgca.dbv.cca.ufscar.br/>. Acesso em: 20 de fev. de 2016.

PURDY, L. H.. Sugarcane Rust, a Newly Important Disease. **Plant Disease**, [s.l.], v. 67, n. 11, p.1292-1305, 1983. Scientific Societies. <http://dx.doi.org/10.1094/pd-67-1292>.

RABOIN, LM. et al. Genetic mapping in sugarcane, a high polyploid, using biparental progeny: identification of a gene controlling stalk colour and a new rust resistance gene. **Theor Appl Genet**, [s.l.], v. 112, n. 7, p.1382-1391, 22 mar. 2006. Springer Science + Business Media. <http://dx.doi.org/10.1007/s00122-006-0240-3>.

RACEDO, J et al. *Bru1* gene and potential alternative sources of resistance to sugarcane brown rust disease. **Euphytica**, [s.l.], v. 191, n. 3, p.429-436, 19 mar. 2013. Springer Science + Business Media. <http://dx.doi.org/10.1007/s10681-013-0905-3>.

RAID, RN.; COMSTOCK, JC. Common rust. In: P. ROTT et al., Ed(s). *A guide to sugarcane diseases*. Montpellier, France: CIRAD and ISSCT, 2000. p.85–89.

RAMALLO, JC. et al. Distribución y severidad de la roya marrón de la caña de azúcar en la variedad LCP 85-384 en Tucumán. **Avance Agroindustrial**, v. 26, n. 1, p. 9-11, 2005.

RAMDOYAL, K. et al. The genetics of rust resistance in sugar cane seedling populations. **Theor Appl Genet**, [s.l.], v. 100, n. 3-4, p.557-563, fev. 2000. Springer Science + Business Media. <http://dx.doi.org/10.1007/s001220050073>.

RYAN, CC.; EGAN, BT. Rust. In: C. Ricaud and B.T. Egan, Ed(s). *Diseases of sugarcane: Major diseases*. Amsterdam: Elsevier Science Publ., 1989. p. 189–210.

SORDI, RA. et al. Indicadores de herdabilidade e avaliação da resistência de clones RB à ferrugem da cana-de-açúcar. **Bras. Acucareiro**, v. 106, p. 18–23, 1988.

TAI, PYP. et al. Inheritance of resistance to rust in sugarcane. **Field Crops Research**, v. 4, p. 261–268, 1981. [http://dx.doi.org/10.1016/0378-4290\(81\)90077-0](http://dx.doi.org/10.1016/0378-4290(81)90077-0).

TEW, TL.; COBIL, RM. Genetic improvement of sugarcane (*Saccharum* spp.) as an energy crop. In: VERMERRIS, W. (Ed). *Genetic Improvement of Bioenergy Crops*. Nova York: Springer, 2008. p. 273–294.

VETTORE, AL. et al. Analysis and functional annotation of an expressed sequence tag collection for tropical crop sugarcane. **Genome Research**, v. 13, p. 2725-2735, 2003.

WACLAWOVSKY, AJ. et al. Sugarcane for bioenergy production: an assessment of yield and regulation of sucrose content. **Plant Biotechnology Journal**, [s.l.], v. 8, n. 3, p.263-276, abr. 2010. Wiley-Blackwell. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1467-7652.2009.00491.x>.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Com base nos resultados obtidos nos capítulos deste trabalho é importante considerarmos:

1) A caracterização fenotípica realizada somente após os cruzamentos e não para os potenciais genitores, limita a exploração de toda a diversidade alélica oferecida pelos diferentes genótipos dos bancos de germoplasma de cana-de-açúcar. A escolha dos genitores bem como o conhecimento genético das principais características alvo do melhoramento são fatores primordiais para aumentar as chances de obtenção de variedades que superem os patamares atuais de produtividade.

A avaliação das correlações entre as características fenotípicas e a estimativa de parâmetros genéticos, como herdabilidade e coeficiente de variação genética, constituem-se de poderosas ferramentas para o melhoramento genético da cana-de-açúcar. Desta forma, a caracterização de bancos de germoplasma pode direcionar os programas de melhoramento na escolha eficiente de genitores, os quais poderão transmitir para as progênes os alelos necessários para aumentar os níveis de produtividade da cana-de-açúcar.

2) A caracterização fenotípica presente neste trabalho permite a associação com estudos, a partir de marcadores moleculares, que possibilitam a busca por genes que controlam as características de interesse. Estes estudos poderão auxiliar os programas de melhoramento genético a aumentar também a eficiência das etapas de seleção.

3) A ocorrência de doenças como a ferrugem marrom em cana-de-açúcar pode diminuir a produtividade e inviabilizar o plantio de variedades suscetíveis. Desta forma, é importante que os programas de melhoramento fiquem atentos à ocorrência de doenças e busquem fontes de resistência que sejam eficazes para o seu controle.

Os marcadores moleculares associados ao gene de resistência à ferrugem marrom, *Bru1*, foram eficientes na predição de acessos resistentes e suscetíveis do PBGCA. Além disso, houve um indicativo de que os programas brasileiros de melhoramento genético da cana-de-açúcar incorporaram e fixaram este gene ao

longo dos anos de melhoramento como a principal fonte de resistência à ferrugem marrom.