



Universidade Federal de Pernambuco
Centro de Ciências Biológicas
Programa de Pós-Graduação em Genética

João de Andrade Dutra Filho

**AVALIAÇÃO GENÉTICO-ESTATÍSTICA DE GENÓTIPOS RB
DE CANA-DE-AÇÚCAR E PROTEÔMICA ASSOCIADA AO
ESTRESSE HÍDRICO EM GENÓTIPOS ORIUNDOS DE
AUTOFECUNDAÇÃO EM PERNAMBUCO**

Recife

2014

João de Andrade Dutra Filho

**AVALIAÇÃO GENÉTICO-ESTATÍSTICA DE GENÓTIPOS RB
DE CANA-DE-AÇÚCAR E PROTEÔMICA ASSOCIADA AO
ESTRESSE HÍDRICO EM GENÓTIPOS ORIUNDOS DE
AUTOFECUNDAÇÃO EM PERNAMBUCO**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação
em Genética da Universidade Federal de
Pernambuco como parte dos requisitos exigidos para
obtenção do título de Doutor em Genética.

Orientador: Tercilio Calsa Junior

Coorientador: Djalma Euzébio Simões Neto

Recife

2014

Catálogo na fonte
Teresa Lucena
CRB 1249

Dutra Filho, João de Andrade

Avaliação genético-estatística de genótipos RB de cana-de-açúcar e proteômica associada ao estresse hídrico em genótipos oriundos de autofecundação em Pernambuco/ Recife: O Autor, 2014.

168 folhas : il., fig., tab.

Orientador: Tercilio Calsa Junior

Coorientador: Djalma Euzébio Simões Neto

**Tese (doutorado) – Universidade Federal de Pernambuco.
Centro de Ciências Biológicas. Programa de Pós-graduação em
Genética, 2014.**

Inclui bibliografia e anexo

1. Melhoramento Genético 2. Marcadores proteômicos

**3. *Saccharum* spp 4. Autofecundação I. Calsa Júnior, Tercílio
(orientador) II. Simões Neto, Djalma Eusébio (coorientador) III.
Título**

633.61

CDD (22.ed.)

UFPE/CCB- 2014-113

João de Andrade Dutra Filho

**AVALIAÇÃO GENÉTICO-ESTATÍSTICA DE GENÓTIPOS RB
DE CANA-DE-AÇÚCAR E PROTEÔMICA ASSOCIADA AO
ESTRESSE HÍDRICO EM GENÓTIPOS ORIUNDOS DE
AUTOFECUNDAÇÃO EM PERNAMBUCO**

Aprovado em ____/____/____

Banca Examinadora:

Dr. Tercilio Calsa Junior

Universidade Federal de Pernambuco

Dr. Djalma Euzébio Simões Neto

Universidade Federal Rural de Pernambuco

Dr. Gerson Quirino Bastos

Universidade Federal Rural de Pernambuco

Dr. Marcos André Cavalcanti Bezerra

Universidade Federal de Pernambuco

Dra. Vilma Loretto da Silva

Universidade Federal de Pernambuco

Recife

2014

Natan dos Reis Dutra, meu pequenino tesouro, não tive a oportunidade de te colocar nos meus braços, de beijar teu belo rosto, te acariciar e contemplar teu lindo sorriso, entretanto o que alegra o meu coração é poder te homenagear e como cristão ter a certeza profunda no meu coração que a hora de conhecê-lo irá chegar e finalmente poderei dizer face a face: te amo querido filho.

Agradecimentos

Primeiramente a Deus por capacitar-me a superar todas as dificuldades e estar sempre ao meu lado durante o curso, inspirando novas ideias e ampliando meu conhecimento. *Tudo foi feito por ele, e sem ele nada foi feito (Jo 1, 3).*

À Natália Gomes dos Reis Dutra, minha amada esposa, companheira, amiga e, sobretudo, mulher de Deus, por todas as suas orações e amor, e por estarmos juntos sustentando um ao outro nos momentos difíceis. *Eu te amo.*

Ao meu pequeno tesouro, presente de Deus na minha vida, meu pequeno Ian, filho amado do meu coração. *Seu sorriso é fonte de inspiração e força em minha vida.*

À Comunidade Católica Resgate, na pessoa do fundador Sérgio Erilson Maciel e sua esposa Ana Lúcia Silva Maciel por toda a sincera amizade e apoio.

Ao professor Dr. Tercilio Calsa Junior por sua orientação, ideias e apoio. Por ensinar-me com sabedoria e dedicação a genômica funcional e sua importância no melhoramento genético da cana-de-açúcar.

Ao grande amigo e profissional Dr. Djalma Euzébio Simões Neto por sua orientação, grande ajuda e disponibilidade. *O setor sucroenergético brasileiro agradece verdadeiramente as tuas contribuições por realmente ensinardes o que é a cultura da cana-de-açúcar e sua importância.*

Ao amigo e irmão Dr. Gerson Quirino Bastos por introduzir-me no melhoramento genético de plantas.

Ao coordenador do Programa de Pós-Graduação em Genética, profº. Dr. Valdir de Queiroz Balbino por sua dedicação ao programa e disponibilidade em sempre ajudar os alunos.

A todos os colegas dos PMGCA/UFRPE/RIDESA: Andrea Chaves, Ismael Gaião, Amaro Epifânio, Leonam Silva, Elder Velez, Gilberto Eduardo, Jaime José, Fernando Dias, Rodrigo Tomé, Diogo Borges, Paulo Rocha, Nathalia Sobral, José Manoel, Alane Couto e todos os eecaquianos pelo apoio indispensável.

À prof^a Dr^a Rejane Mansur, por sua grande contribuição e por disponibilizar o seu laboratório para as análises bioquímicas e fisiológicas.

Aos grandes amigos: Hugo Henrique, Marcelle Almeida, Hugo Bentzen, Cibele Alves pela grande ajuda na coleta dos dados de campo e por todos os momentos divertidos que vivemos.

Aos grandes amigos Adauto Neto e Cinthya Pacheco pelas indispensáveis contribuições nas análises de proteômica. *Deus abençoe vocês.*

Aos colegas do laboratório de genômica e proteômica de plantas que muito contribuíram: Juliana Souza, Renata Almeida, Elton Pedro, Amanda Souza, Taciana Manso.

Aos diretores, agrônomos e técnicos da Usina Santa Tereza pelo apoio aos trabalhos de campo.

À CAPES (coordenação de aperfeiçoamento de pessoal de nível superior) pela concessão da bolsa de estudos.

A todos os profissionais da EECAC (Estação Experimental de cana-de-açúcar de Carpina PMGCA/UFRPE/RIDESA), pelo apoio indispensável.

Ao secretário do programa de pós-graduação em genética, Henrique por todo apoio nos momentos de necessidade.

E finalmente, a todos aqueles que contribuíram direta ou indiretamente para a realização deste trabalho, Deus abençoe a todos.

"O valor e a utilidade de qualquer experimento é determinado pelo encaixe entre o material e a finalidade para a qual ele é usado e, assim, no caso diante de nós não podemos desconsiderar que as plantas quando objetos de experiência estão sujeitas à maneira como tal experimento é conduzido."

(Gregor Mendel)

Resumo

O Estado de Pernambuco é o segundo maior produtor de cana-de-açúcar da Região Nordeste. Entre os principais fatores que dificultam o incremento na produtividade estão a elevada interação genótipo x ambiente que se expressa na heterogeneidade dos solos, relevos acidentados e irregularidade das chuvas com longos períodos de estiagem. Objetivou-se com este trabalho avaliar o desempenho agroindustrial e proteoma de genótipos RB (República do Brasil) de cana-de-açúcar associado ao estresse hídrico nas microrregiões canavieiras do Estado de Pernambuco. Os experimentos foram conduzidos nas áreas agrícolas das usinas parceiras do Programa de Melhoramento Genético da Cana-de-açúcar da Universidade Federal Rural de Pernambuco integrante da Rede Interunivertária para o Desenvolvimento do Setor Sucroenergético (PMGCA/UFRPE/RIDESA). A estatística genética e os modelos biométricos experimentais: Análise de variância, agrupamento de médias, decomposição da interação genótipo x ambiente e estratificação, estimação de parâmetros genéticos, de adaptabilidade e estabilidade e coeficiente de repetibilidade, foram aplicados. Foram realizadas análises bioquímicas, fisiológicas e moleculares (genômica funcional). As análises biométricas identificaram genótipos promissores a serem cultivados na região canavieira do Estado de Pernambuco contribuindo para um aumento de produtividade, através do coeficiente de repetibilidade verificou-se que é possível, reduzir, em até três anos agrícolas, o tempo de liberação de novos cultivares nas condições edafoclimáticas em estudo. Nos processos fisiológicos, não foram verificados efeitos indesejáveis da depressão endogâmica no clone de autofecundação em relação ao cultivar comercial. Desta forma a autofecundação pode ser utilizada no melhoramento genético da cana-de-açúcar no desenvolvimento de novos genótipos tolerantes ao estresse hídrico.

Palavras-chave: Autofecundação; Biometria Experimental; Melhoramento Genético; Proteômica; *Saccharum* spp

Abstract

The State of Pernambuco is the second largest producer of sugarcane in the Northeast Region. Among the main factors that hinder the increase in productivity are high genotype x environment interaction expressed in the heterogeneity of soils, rugged relief and irregular rainfall with long dry spells. The objective of this study was to evaluate the agroindustrial performance and sugarcane RB genotypes proteome associated with stress by water deficit in sugarcane microrregions of the State of Pernambuco. The experiments were conducted in agricultural areas of the sugarmills partner PMGCA / UFRPE / RIDESA. The statistical genetics and experimental biometric models: Variance analysis, averages group, genotype x environment interaction decomposition and stratification, genetic parameters estimation, adaptability and stability, repeatability coefficient were applied. Were also carried out biochemical, physiological and molecular (functional genomics) analyzes. Biometric analysis identified promising genotypes to be grown in sugarcane region of Pernambuco contributing to increased productivity, through repeatability coefficient was found that it is possible, reduce by three agricultural years the release time new cultivars at conditions studied. In physiological processes, have not been verified undesirable endogamic effects depression in the self-pollinization clone in relation to commercial cultivar. Thus self pollinization can be used in genetic improvement of sugarcane in the development of new genotypes tolerant to drought stress.

Key words: self pollinization; experimental biometric; genetic breeding; proteomic; *Saccharum* spp

Lista de Ilustrações

Figuras

Figura 1. Diagrama representativo da origem e evolução da cana-de-açúcar	5
Figura 2. Diagrama representativo do gênero <i>Saccharum</i>	7
Figura 3. Constituição cromossômica dos cultivares comerciais de cana-de-açúcar	8
Figura 4. Curva de maturação do cultivar comercial de cana-de-açúcar RB002504	19
Figura 5. Precipitação pluviométrica nas microrregiões canavieiras do Estado de Pernambuco	30
Figura 6. Gel-SDS-PAGE (12,5%) de genótipos RB de cana-de-açúcar.	49
Figura 7. Representação da tabela de análises de classes no programa Image Master 2D Platinum v7.05	53
Figura 8. Géis 2D-PAGE (poliacrilamida 12,5%) de proteínas totais da folha +1 de cana-de-açúcar em condições de campo cultivadas sob estresse por déficit hídrico corados com <i>Coomassie blue</i>.	82

Lista de Tabelas

Tabela 1: Classificação botânica da cana-de-açúcar.	3
Tabela 2. Classes e exemplos de proteínas relacionadas com a resposta a estresses ambientais	33
Tabela 3. Resumo da análise de variância conjunta avaliada em grupos de experimentos conduzidos na fase de competição de variedades na primeira época de colheita	56
Tabela 4. Parâmetros genéticos estimados dos caracteres TPH, TCH, FIB e ATR t.ha⁻¹ dos genótipos da série 94, avaliados na fase de competição de variedades na primeira época de colheita	57
Tabela 5. Agrupamento de médias dos caracteres dos genótipos de cana-de-açúcar da série 94 avaliados na fase de competição de variedades na primeira época de colheita (início de safra)	58
Tabela 6. Coeficientes da interação G x A (%CI) entre pares de ambientes segundo metodologia de Cruz e Castoldi (1991) para as variáveis TPH (diagonal superior) e TCH (diagonal inferior)	59
Tabela 7. Coeficientes da interação G x A (%CI) entre pares de ambientes segundo metodologia de Cruz e Castoldi (1991) para as variáveis FIB (diagonal superior) e ATR/tha (diagonal inferior)	59
Tabela 8. Estratificação das microrregiões canavieiras do Estado de Pernambuco baseada no padrão de similaridade de resposta dos genótipos em relação aos ambientes avaliados	60
Tabela 9. Estimativas de adaptabilidade Wi geral (g) a ambientes favoráveis Wi(+) e desfavoráveis Wi(-) pelo método de Annichiarico (1992)	61
Tabela 10. Estimativas de adaptabilidade Wi geral (g) a ambientes favoráveis Wi(+) e desfavoráveis Wi(-) pelo método de Annichiarico (1992) para as variáveis FIB e ATR/tha	62
Tabela 11. Estimativas de adaptabilidade geral Pi(g) pelo método de Lin e Binns (1988), modificado por Carneiro (1998) a ambientes favoráveis Pi(f) e desfavoráveis	63

Pi(d) para as variáveis TPH e TCH

Tabela 12. Estimativas de adaptabilidade geral Pi(g) pelo método de Lin e Binns (1988), modificado por Carneiro (1998) a ambientes favoráveis Pi(f) e desfavoráveis Pi(d) para as variáveis FIB e ATR/tha	64
---	----

Tabela 13. Estimativas de parâmetros de adaptabilidade e estabilidade fenotípica (β_1 : coeficiente de regressão linear; σ^2_{di} : variância dos desvios de regressão, R^2 : coeficiente de determinação) obtidas pelo método de Eberhart e Russel para as variáveis TPH e TCH	65
---	----

Tabela 14. Estimativas de parâmetros de adaptabilidade e estabilidade fenotípica (β_1 : coeficiente de regressão linear; σ^2_{di} : variância dos desvios de regressão, R^2 : coeficiente de determinação) obtidas pelo método de Eberhart e Russel para as variáveis FIB e ATR/tha	66
---	----

Tabela 15. Classificação das microrregiões canavieiras do estado de Pernambuco em ambientes favoráveis e desfavoráveis quanto a metodologia de Annichiarico (1992), Lin e Binns (1988) e Eberhart e Russel (1966)	67
---	----

Tabela 16: Análise de variância conjunta de experimentos conduzidos nas Microrregiões Canavieiras do Estado de Pernambuco considerando as variáveis toneladas de pol por hectare (TPH t.ha ⁻¹), toneladas de cana por hectare (TCH t.ha ⁻¹), fibra (FIB %), pol% corrigida (PCC %), teor de sólidos solúveis (BRIX %), açúcar total recuperável (ATR kg/t) e toneladas de açúcares totais recuperáveis por hectare (ATR t.ha ⁻¹) de genótipos de cana-de-açúcar da série 95.	68
--	----

Tabela 17: Agrupamento de médias referentes aos caracteres toneladas de pol por hectare (TPH t.ha ⁻¹), toneladas de cana por hectare (TCH t.ha ⁻¹), fibra (FIB %), pol% corrigida (PCC %), teor de sólidos solúveis (BRIX %), açúcar total recuperável (ATR kg/t) e toneladas de açúcares totais recuperáveis por hectare (ATR t.ha ⁻¹) de genótipos de cana-de-açúcar da série 95 avaliados em experimentos conduzidos nas Microrregiões Canavieiras do Estado de Pernambuco.	70
--	----

Tabela 18: Parâmetros Genéticos referentes aos caracteres toneladas de pol por hectare (TPH t.ha ⁻¹), toneladas de cana por hectare (TCH t.ha ⁻¹), fibra (FIB %), pol% corrigida (PCC %), teor de sólidos solúveis (BRIX %), açúcar total recuperável (ATR	72
--	----

kg/t) e toneladas de açúcares totais recuperáveis por hectare (ATR t.ha⁻¹) de genótipos de cana-de-açúcar da série 95 avaliados em experimentos conduzidos nas Microrregiões Canavieiras do Estado de Pernambuco.

Tabela 19: Estimativa dos coeficientes de repetibilidade referentes aos caracteres toneladas de pol por hectare (TPH t.ha⁻¹), toneladas de cana por hectare (TCH t.ha⁻¹), fibra (FIB %), pol% corrigida (PCC %), teor de sólidos solúveis (BRIX %), açúcar total recuperável (ATR kg/t) e toneladas de açúcares totais recuperáveis por hectare (ATR t.ha⁻¹) de genótipos de cana-de-açúcar da série 95 avaliados em experimentos conduzidos nas Microrregiões Canavieiras do Estado de Pernambuco. **75**

Tabela 20: Número de medições necessárias para a seleção de genótipos superiores de cana-de-açúcar em relação aos caracteres toneladas de pol por hectare (TPH t.ha⁻¹), toneladas de cana por hectare (TCH t.ha⁻¹), fibra (FIB %), pol% corrigida (PCC %), teor de sólidos solúveis (BRIX %), açúcar total recuperável (ATR kg/t) e toneladas de açúcares totais recuperáveis por hectare (ATR t.ha⁻¹) de genótipos da série 95 avaliados em experimentos conduzidos nas Microrregiões Canavieiras do Estado de Pernambuco. **76**

Tabela 21. Estabilização Genotípica de genótipos de cana-de-açúcar dos caracteres toneladas de pol por hectare (TPH t.ha⁻¹), toneladas de cana por hectare (TCH t.ha⁻¹), fibra (FIB%), pol% corrigida (PCC%), teor de sólidos solúveis (BRIX %), açúcar total recuperável (ATR kg/t) e toneladas de açúcares totais recuperáveis por hectare (ATR t.ha⁻¹) **78**

Tabela 22. Análise bioquímica do cultivar RB867515 e do clone RB061047 avaliados em condições de sequeiro na fase de multiplicação (FM) na área agrícola da usina Santa Teresa, engenho Japumin durante o ano agrícola 2012/2013. **80**

Tabela 23. Análise do teor de clorofila e carotenoides do cultivar RB867515 e do clone RB061047 avaliados em condições de sequeiro na fase de multiplicação (FM) na área agrícola da usina Santa Teresa, engenho Japumin durante o ano agrícola 2012/2013. **80**

Tabela 24. Análise da fluorescência inicial, fluorescência máxima e eficiência quântica do fotosistema II do cultivar RB867515 e do clone RB061047 avaliados em condições de sequeiro na fase de multiplicação (FM) na área agrícola da usina Santa Teresa, **81**

engenho Japumin durante o ano agrícola 2012/2013.

Tabela 25. Análise da transpiração foliar (E), condutância estomática (gs), fotossíntese líquida (A) e eficiência do uso de água (A/E) do cultivar RB867515 e do clone RB061047 avaliados em condições de sequeiro na fase de multiplicação (FM) na área agrícola da usina Santa Teresa, engenho Japumin durante o ano agrícola 2012/2013. **81**

Tabela 26. Número de spots comuns e exclusivos identificados no programa Image Master 2D Platinum v7.05 (GE Life Sciences) em três réplicas biológicas em condições de estresse por déficit hídrico em cana-de-açúcar no cultivar RB867515 (tolerante) e no clone oriundo de autofecundação RB061047. **86**

Tabela 27. Peptídeos expressos em cana-de-açúcar em condições de estresse por déficit hídrico no cultivar RB867515 (tolerante) e no clone oriundo de autofecundação RB061047. **87**

Lista de Abreviaturas, Siglas e Símbolos

'MS'	Epectrometria de massas
A	Fotossíntese
A/E	Eficiência do uso da água
ATR	Açúcares totais recuperáveis
ATR t.ha⁻¹	Toneladas de açúcares totais recuperáveis
BRIX	Teor de sólidos solúveis
BSA	Albumina de soro bovino
CONAB	Companhia nacional de abastecimento
CTC	Centro de Tecnologia Canavieira
CTNBio	Comissão Técnica Nacional de Biotecnologia
CV	Coeficiente de variação
CVECCM	Competição de variedades em épocas de corte com curvas de maturação
DNA	Ácido desoxirribonucleico
E	Transpiração
EDTA	Ácido etilnodiamino tetra-acético
F	Teste F
F0	Fluorescência inicial
FAO	Organização de Agricultura e Alimentação
FE	Fase experimental
FIB	Fibra
FM	Fase de multiplicação
Fm	Fluorescência máxima

FMA	Fase de multiplicação ampliada
FV	Fonte de variação
G	Gramas
G x A	Interação genótipo x ambiente
Gs	Condutância estomática
IAC	Instituto Agronômico de Campinas
IEF	Focalização isoeletrica
LN	Litoral Norte
LS	Litoral Sul
MAPA	Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento
min	Minutos
MN	Mata Norte
MS	Mata Sul
PCC	Pol % corrigida (Percentual de sacarose)
pH	Potencial de hidrogênio
Pi	Adaptabilidade Geral (método de Lin e Bins)
Pid	Adaptabilidade específica a ambientes desfavoráveis
Pif	Adaptabilidade específica a ambientes favoráveis
PMGCA	Programa de Melhoramento Genético da Cana-de-açúcar
PZA	Pureza
R²	Coeficiente de determinação
RB	República do Brasil
RC	Região Centro
RIDESA	Rede Interuniversitária para o Desenvolvimento do Setor Sucroenergético

RNA_m	Ácido Ribonucléico mensageiro
RPM	Rotações por minutos
SDS-PAGE	Gel de poliacrilamida dodecil sulfato de sódio
T1	Primeira fase de seleção
T2	Segunda fase de seleção
T3	Terceira fase de seleção
TCH	Toneladas de cana por hectare
TPH	Toneladas de pol por hectare
UFAL	Universidade Federal de Alagoas
UFG	Universidade Federal de Goiás
UFMT	Universidade Federal do Mato Grosso
UFPI	Universidade Federal do Piauí
UFPR	Universidade Federal do Paraná
UFRPE	Universidade Federal Rural de Pernambuco
UFRRJ	Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
UFS	Universidade Federa de Sergipe
UFSCAR	Universidade Federal de São Carlos
UFV	Universidade Federal de Viçosa
UNICA	União da Indústria de Cana-de-açúcar
β_i	Coeficiente de regressão
$\mu\text{g/ml}$	Microgramas por mililitros
σ^2_{di}	Variância dos desvios de regressão
ω_i	Índice de recomendação (método de Annichiarico)
$\omega_{i(d)}$	Índice de recomendação à ambientes desfavoráveis
$\omega_{i(f)}$	Índice de recomendação à ambientes favoráveis

IPG	pH imobilizado em gradiente
IAA	Iodoacetamida
MM	Massa molecular
ANOVA	Análise de variância
ATPA	ATP Sintase subunidade alfa
FBA	Frutose bifosfato aldolase
YAB	Proteína YAB 2
NDPK 1	Nucleosídeo Difosfato Kinase
MatK	Maturase

Sumário

Resumo	viii
Abstract	ix
Lista de Ilustrações	x
1. Introdução	1
2. Revisão Bibliográfica	3
2.1. Botânica Sistemática	3
2.2. Origem e evolução da cana-de-açúcar	4
2.3. Constituição cromossômica dos cultivares comerciais	6
2.4. Importância econômica da cana-de-açúcar no cenário nacional brasileiro	9
2.5. Objetivos do Melhoramento Genético da Cana-de-açúcar no Brasil	11
2.6. O Melhoramento Genético da cana-de-açúcar no Estado de Pernambuco	12
2.6.1. Etapa dos cruzamentos e obtenção das cariopses	13
2.6.2. Etapa de seleção	14
2.6.2.1. Primeira fase de seleção (Fase T1)	14
2.6.2.2. Segunda fase de seleção (Fase T2)	15
2.6.2.3. Terceira fase de seleção (Fase T3)	15
2.6.2.4. Fases de multiplicação (FM) e multiplicação ampliada	16

(FMA)

2.6.3. Etapa de experimentação	16
2.6.3.1. Fase de experimentação (FE)	17
2.6.3.2. Fase de competição de variedades em épocas de corte com curvas de maturação (CVEC+CM)	18
2.6.3.3. Liberação comercial	19
2.7. Cenário atual do setor sucroenergético em Pernambuco e desafios do melhoramento genético da cana-de-açúcar	19
2.8. Adaptabilidade e Estabilidade	22
2.8.1. Metodologia de análise de adaptabilidade e estabilidade proposta por Eberhart e Russel (1966)	24
2.8.2. Metodologia de análise de adaptabilidade e estabilidade proposta por Lin e Bins (1988)	25
2.8.3. Metodologia de análise de adaptabilidade e estabilidade proposta por Annicchiarico (1992)	26
2.9. Outras considerações importantes na seleção de genótipos de cana-de-açúcar para as condições edafoclimáticas da Região Canavieira do Estado de Pernambuco	27
2.10. Melhoramento visando tolerância as estresse hídrico	29
2.11. Biotecnologia aplicada ao melhoramento genético da cana-de-açúcar: análise proteômica	34
2.12. Autofecundação em cana-de-açúcar	36

3. Objetivos	39
3.1. Objetivo geral	39
3.2. Objetivos específicos	39
4. Material e Métodos	40
4.1. Experimentos de campo (Série 94)	40
4.2. Experimentos de campo (Série 95)	42
4.3. Análises bioquímicas e fisiológicas	44
4.3.1. Determinação de solutos orgânicos	44
4.3.2. Determinação de pigmentos fotossintetizantes	45
4.3.3. Trocas Gasosas: fotossíntese líquida, transpiração, condutância estomática e eficiência do uso da água	46
4.3.4. Eficiência quântica do fotossistema II	46
4.4. Análise proteômica	47
4.4.1. Extração de proteínas	47
4.4.2. Quantificação de proteínas	48
4.4.3. Eletroforese bidimensional de proteínas (2D – Page)	49
4.4.3.1. Focalização isoeletrica (IEF) – 1ª dimensão	49
4.4.3.2. Eletroforese 2D Page – 2ª dimensão	50
4.4.4. Coloração dos géis	50
4.4.5. Obtenção e análise das imagens	51
4.4.5.1. Obtenção das imagens	51

4.4.5.2. Análise das imagens para obtenção dos spots	51
4.4.6. Digestão com Tripsina	54
4.4.7. Sequenciamento das proteínas	55
4.4.8. Identificação das proteínas	55
5. Resultados	56
5.1. Série 94	56
5.2. Série 95	67
5.3. Análises Bioquímicas e Fisiológicas	79
5.4. Análise Proteômica	81
6. Discussão	88
7. Conclusões	112
8. Referências Bibliográficas	113
9. Anexos	130
9.1. Artigo aceito para publicação	130
9.2. Análises genético-estatísticas	131
9.2.1. Análise de variância conjunta de experimentos	131
9.2.3. Parâmetros genéticos	131
9.2.4. Agrupamento de médias	132
9.2.5. Decomposição da interação genótipo x ambiente	134
9.2.6. Estratificação de ambientes	134

9.2.7. Adaptabilidade e Estabilidade	135
9.2.8. Estimativa dos coeficientes de repetibilidade e dos graus de previsibilidade dos valores reais dos genótipos	140
9.2.9. Dados suplementares	142
10. Curriculum vitae (Lattes)	144

1. Introdução

A cana-de-açúcar é um produto de destaque no cenário econômico nacional e internacional. Cada vez mais é explorado o seu potencial na produção de diversos produtos de grande benefício para o homem tais como: açúcar, etanol, produção de energia e tantos outros. Nesse contexto, o Brasil se destaca como o maior produtor mundial e o Estado de Pernambuco como segundo maior produtor do Nordeste. Dados estatísticos recentes demonstram que apesar de ter havido um grande desenvolvimento no setor sucroenergético nos últimos 30 anos, devido ao grande desenvolvimento de novos cultivares, a produtividade média, na região canavieira desse Estado ainda é relativamente baixa, aproximadamente 60 toneladas por hectare.

Entre os principais fatores que dificultam o incremento na produtividade estão a elevada interação genótipo x ambiente que se expressa na heterogeneidade dos solos, com solos de baixa fertilidade, relevos acidentados e irregularidade das chuvas com longos períodos de estiagem. Justifica-se então a importância de estudar novos genótipos identificando aqueles que se destacam quanto aos caracteres de interesse à agroindústria canavieira, principalmente no que se refere à adaptabilidade e estabilidade fenotípica.

Nesse contexto, a biotecnologia tem se revelado como uma ferramenta de grande importância no melhoramento vegetal com destaque, nos últimos anos, para a genômica funcional. Como as proteínas são efetores diretos da resposta ao estresse e por estarem mais próximas da resposta fenotípica, é justificada a importância do estudo proteômico de plantas submetidas ao estresse por déficit hídrico. A análise proteômica permite o estudo em larga escala da expressão

gênica no nível traducional, permitindo a identificação de proteínas e peptídeos candidatos ao desenvolvimento de marcadores moleculares funcionais (proteômicos) em cana-de-açúcar, que poderão auxiliar o melhoramento genético no desenvolvimento de novos cultivares.

Objetivou-se com este trabalho avaliar o desempenho agroindustrial de genótipos de cana-de-açúcar nas condições edafoclimáticas da região canavieira do Estado de Pernambuco, identificar genótipos adaptáveis ao cultivo comercial e identificar peptídeos diferencialmente expressos em cultivar comercial e clone oriundo de autofecundação, submetidos ao estresse por déficit hídrico, possibilitando o desenvolvimento de marcadores proteômicos aplicáveis ao melhoramento genético no desenvolvimento contínuo de novos cultivares.

2. Revisão da Literatura

2.1. Botânica Sistemática e Morfologia da Cana-de-açúcar

A cana-de-açúcar é uma gramínea perene que se reproduz sexualmente por alogamia, pertence à família Poaceae e ao gênero *Saccharum* (Matsuoka *et al.*, 2005). A classificação botânica, citada por Almeida *et al.* (1995), encontra-se identificada na tabela 1:

Tabela 1: Classificação botânica da cana-de-açúcar.

Reino	Plantae
Divisão	Embryophyta siphonogama
Subdivisão	Angiospermae
Classe	Monocotyledoneae
Ordem	Glumiflorae
Família	Poaceae
Tribo	Andropogoneae
Subtribo	Sacchareae
Gênero	<i>Saccharum</i>

De acordo com Bacchi (1983), em seu cultivo comercial, a cana-de-açúcar é semiperene, requerendo um novo plantio a cada quatro ou cinco colheitas. Apresenta a capacidade de formar touceiras, suas raízes são fasciculadas, o que é característico das gramíneas, e podem ser de dois tipos: adventícias e permanentes. A primeira tem a função de absorver água e a segunda de sustentação, fixação e suporte.

Outra característica é a capacidade de formar perfilhos, estes quando se desenvolvem são transformados em colmos que são órgãos de reserva

destinados ao armazenamento da sacarose, podendo ser decumbentes ou eretos (Aranha e Yahn 1987). O colmo apresenta vários internódios e cada internódio possui uma gema, a partir dela surgem novos brotos (perfilhos) via multiplicação celular mitótica, o primeiro que surge é chamado de primário, destes originam-se os secundários e dos secundários surgem os terciários (Matsuoka *et al.*, 2009). Todo este processo é chamado de perfilhamento que é uma característica desejável pelos produtores. As folhas são lanceoladas se dispendo de maneira alternada ao longo do colmo, variando de meio metro a mais de um metro e meio (Bacchi, 1983). As flores são hermafroditas e as sementes provenientes dos cruzamentos são chamadas de cariopses.

2.2. Origem e evolução da cana-de-açúcar

De acordo com Daniels e Roach (1987), os gêneros *Saccharum*, *Erianthus* *sect.*, *Ripidium*, *Sclerostachya* e *Narenga* formaram um grupo de intercruzamentos muito próximos, denominados de Complexo *Saccharum* que estaria envolvido na origem da cana-de-açúcar. Posteriormente, esses mesmos autores sustentaram a hipótese de que se deveria acrescentar os gêneros *Miscanthus* *sect.* e *Diandra* *Keng*, visto que, sem a inclusão destes dois gêneros, este complexo *Saccharum*, não apresentaria todas as características botânicas que permitiriam o aparecimento das espécies que compõem o gênero *Saccharum* e conseqüentemente os cultivares comerciais de cana-de-açúcar cultivados atualmente. D'Hont *et al.* (2008), estudando o genoma dos gêneros que compõem o complexo *Saccharum*, propuseram um esquema para melhor entendimento da

origem e evolução da cana-de-açúcar chegando até os híbridos interespecíficos cultivados atualmente (Figura 1).

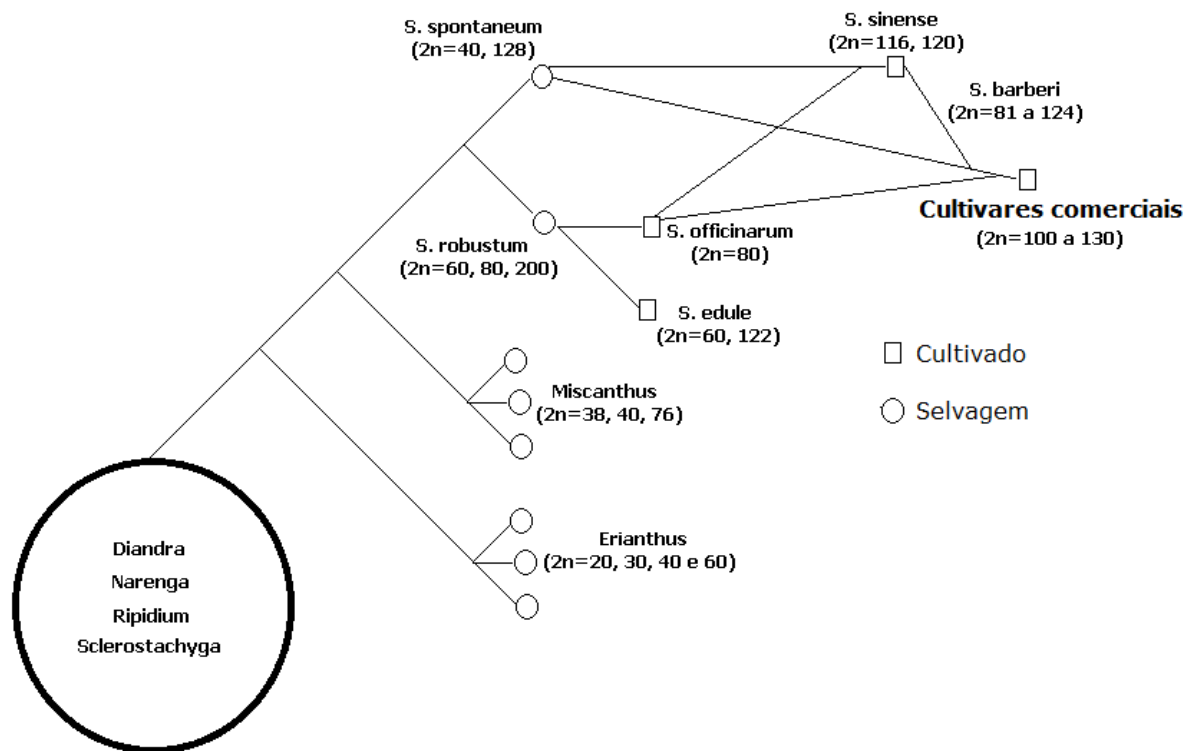


Figura 1. Diagrama representativo da origem e evolução da cana-de-açúcar a partir dos intercruzamentos dos gêneros que compõem o complexo Saccharum (Modificado de D' Hont *et al.*, 2008).

A domesticação, isto é, o primeiro contato com a cana-de-açúcar aconteceu nas regiões da Indonésia e da Nova Guiné a mais ou menos 2500 a.C. pelos nativos que ali habitavam e que utilizavam seus colmos para construção de cercados e também para consumir seu caldo açucarado (Brandes 1956). Observa-se que de maneira inconsciente os nativos dessa região praticavam a seleção massal, seleção baseada no fenótipo da planta, que contribuiu significativamente para a seleção e conservação de genes relacionados a caracteres favoráveis.

Com a migração desses povos, a cana-de-açúcar foi disseminada para as ilhas do Pacífico Sul, Índia e China. Na época das grandes navegações foi introduzida nas Américas por Cristovão Colombo em 1493 (Deer, 1921).

2.3. Constituição cromossômica dos cultivares comerciais

Segundo Daniels e Roach (1987), no gênero *Saccharum*, caracterizado por um alto grau de poliploidia e aneuploidia, ocorrem seis espécies: *Saccharum officinarum* L. ($2n = 80$), *Saccharum robustum* Brandes e Jeswiet ex Grassl ($2n = 60-205$), *Saccharum barberi* Jeswiet ($2n = 111-120$), *Saccharum sinense* Roxb. ($2n = 81-124$), *Saccharum spontaneum* L. ($2n = 40-128$) e *Saccharum edule* Hassk. ($2n = 60-80$). Os primeiros híbridos interespecíficos foram produzidos na Índia envolvendo *S. officinarum*, *S. spontaneum* e *S. barberi*. Até o final do século XIX, *S. officinarum* juntamente com *S. barberi* e *S. sinensis*, forneceram a maioria dos cultivares comerciais.

Os genomas de todas as espécies que compõem o gênero *Saccharum*, exceto o genoma de *S. edule*, podem participar, ainda que parcialmente, dos híbridos interespecíficos atualmente cultivados, classificados como *Saccharum spp.* (Matsuoka *et al.*, 2005). Na figura 2, é apresentado um diagrama representativo da composição do genoma dos cultivares comerciais cultivados atualmente.

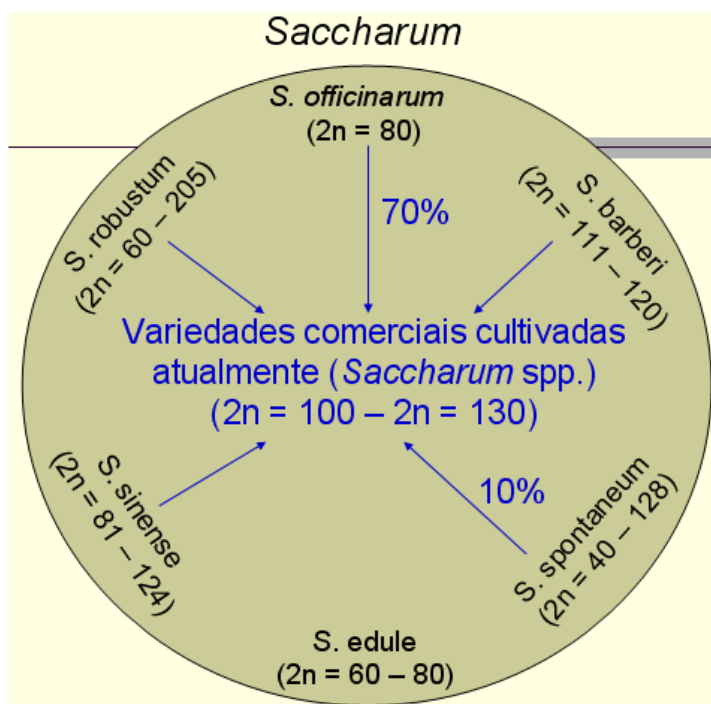


Figura 2. Diagrama representativo do gênero *saccharum*, esquematizando a composição do genoma dos cultivares (variedades) comerciais de cana-de-açúcar cultivados atualmente (Dutra Filho, 2010).

Citogeneticamente, estes cultivares ou híbridos, são derivados de cruzamentos naturais ou artificiais, e apresentam variação numérica entre $2n=100$ e $2n=130$ cromossomos com presença de aproximadamente 10% do genoma de *S. spontaneum*. Embora este número cromossômico seja questionado por vários autores.

No final do século XIX e início do século XX, foram realizados pelos programas de melhoramento diversos cruzamentos de *S. officinarum* com *S. spontaneum* para a obtenção de novos cultivares resistentes as doenças que afetavam a produtividade dos canaviais, entretanto observou-se que apesar dos novos híbridos apresentarem resistência a determinado patógeno sua produtividade declinava em virtude da perda de metade do genoma quando cruzados com *S. spontaneum*. A recuperação de híbridos produtores de grande

quantidade de açúcar só foi conseguida após vários ciclos de retrocruzamentos com *S. officinarum*, sendo esta utilizada como parental feminina (Brown, 1969). Tal procedimento ficou conhecido como nobilitação.

Além de *S. spontaneum*, *S. officinarum* é reconhecidamente a espécie que tem contribuído com a maior porção do genoma presente nos cultivares, atualmente utilizados na produção de açúcar. De acordo com Gheller *et al.* (1995), *Saccharum spontaneum* possui ampla variabilidade de números cromossômicos apresentando desde $2n=40$ até $2n=128$, tendo como possível número básico $x=8$. *Saccharum officinarum* apresenta cariótipo com $2n=80$ e número básico $x=10$. A constituição cromossômica dos cultivares comerciais é de 70% de *S. officinarum*, 10% de *S. spontaneum*, 10% de *S. sinense*, *S. barberi*, *S. robustum* e 10% de cromossomos recombinantes dos seus ancestrais (Figura 3).

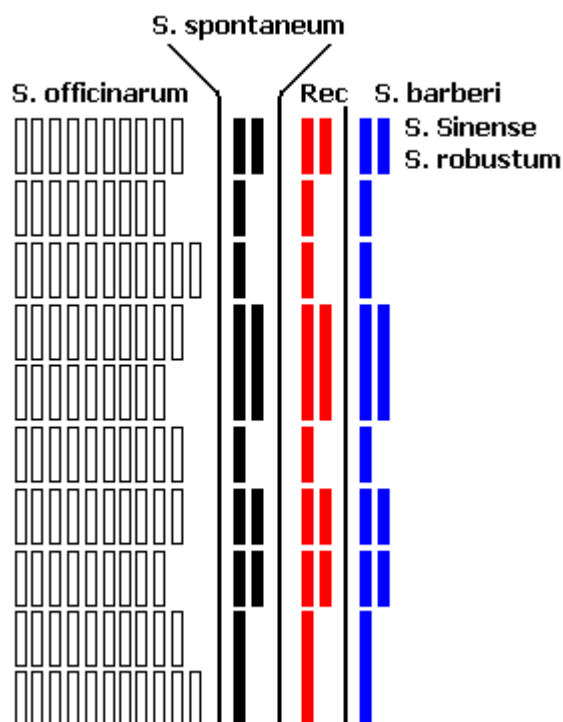


Figura 3. Constituição cromossômica dos cultivares comerciais de cana-de-açúcar cultivadas atualmente (Modificado de D'Hont *et al.*, 2008).

Os cultivares comerciais são propagados vegetativamente através da reprodução assexuada, por meio da brotação de suas gemas. Já o processo de reprodução sexuada, que se dá por meio da germinação de suas sementes, é uma estratégia utilizada pelos programas de melhoramento com o intuito de obter variabilidade genética em potencial e, conseqüentemente, desenvolver novos cultivares (Cesnik e Mioque, 2004).

2.4. Importância econômica da cana-de-açúcar no cenário nacional brasileiro

A cana-de-açúcar é utilizada como matéria prima para a fabricação de diversos compostos como: aguardente, fermento, produtos farmacêuticos, açúcar e etanol, além de ser usada também na produção de forragem para alimentação de bovinos (Mendonça *et al.*, 2004). Nesse contexto, é importante salientar que o Brasil se destaca como o maior produtor mundial há mais de 30 anos (FAO, 2013).

De acordo com o ministério da agricultura pecuária e abastecimento, o Brasil é responsável por mais da metade do açúcar comercializado no mundo. O país deve alcançar uma taxa média de aumento da produção de 3,25%, até 2018/19, e produzir 47,34 milhões de toneladas do produto, o que corresponde a um acréscimo de 14,6 milhões de toneladas em relação ao período 2007/2008. Para as exportações, o volume previsto para 2019 é de 32,6 milhões de toneladas. O etanol, produzido no Brasil, a partir da cana-de-açúcar, também conta com projeções positivas para os próximos anos, devidas principalmente, ao crescimento do consumo interno. A produção projetada para 2019 é de 58,8

bilhões de litros, mais que o dobro da registrada em 2008. O consumo interno está projetado em 50 bilhões de litros e as exportações em 8,8 bilhões (MAPA, 2013).

Outra aplicação, é que recentemente a empresa Braskem iniciou a comercialização do bioplástico produzido a partir do etanol da cana-de-açúcar, com a vantagem de ser biodegradável favorecendo o combate ao efeito estufa. Em 2014 serão produzidos mais de 30mil toneladas da nova resina colocando o Brasil em competitividade no mercado internacional (UNICA, 2013).

Com o advento da biotecnologia o potencial biológico desta cultura é cada vez mais explorado, recentemente a Comissão Técnica Nacional de Biossegurança (CTNBio) aprovou o uso comercial de uma levedura geneticamente modificada para produção de diesel com utilização de cana-de-açúcar. A utilização desta levedura é um relevante avanço para o setor sucroenergético, cujo desdobramento será potencialmente a abertura de uma nova fronteira de expansão para o setor sucroenergético brasileiro. Um desses projetos de biotecnologia é uma parceria entre a Usina Boa Vista, em Quirinópolis (GO), parte do Grupo São Martinho, e a Amyris, empresa com sede na Califórnia que vem pesquisando a produção de diesel, querosene de aviação e gasolina a partir da cana (UNICA 2013).

Além de tudo isso, Coelho *et al.* (2002) produziram um biopolímero, em cana-de-açúcar, por via microbiológica, e concluíram que o mesmo contribuiu positivamente para o processo cicatricial podendo ser utilizado em animais domésticos portadores de feridas cutâneas. Pesquisas recentes testificam que o biopolímero já vem sendo usado também na medicina humana em processos cirúrgicos.

2.5. Objetivos do Melhoramento Genético da Cana-de-açúcar no Brasil

Em virtude da relevância que assume a cana-de-açúcar no cenário econômico nacional, a contribuição do melhoramento genético, no desenvolvimento de novos cultivares, como matéria prima, é de fundamental importância para atender basicamente dois objetivos principais:

1º- A permanente demanda de novos e mais produtivos cultivares para substituir, total ou parcialmente, aqueles que, por problemas fitossanitários, estresses abióticos ou por declínio de produção devido a degenerescência varietal, devam ser reduzidos ou eliminados de suas áreas de cultivo. Para Silva (2008a), esse problema ainda persiste e a vida útil de alguns cultivares comerciais tem sido cada vez menor. Para superar esta limitação, clones promissores são cruzados anualmente visando à produção de grandes populações de seedlings ou plântulas.

2º- A obtenção de aumentos significativos no rendimento e na qualidade para atender à crescente demanda interna do açúcar e do etanol, em decorrência do aumento expressivo da população e do sucesso dos veículos flex fuel, bem como as exportações desses produtos e também ao desenvolvimento das novas tecnologias. De acordo com Mamede *et al.* (2002), a base de sustentação do setor sucroenergético é o desenvolvimento do cultivar melhorado de cana-de-açúcar num processo contínuo de substituição.

Com o melhoramento clássico da cana-de-açúcar leva-se em média 12 a 15 anos para obtenção de novos cultivares (Barbosa *et al.*, 2005), tempo este correspondente a três etapas distintas: a etapa dos cruzamentos e obtenção das cariopses, a etapa de seleção que necessitam cerca de oito anos, e por fim, a

etapa de experimentação e validação do material a ser liberado comercialmente que requer sete anos.

Objetivando atender as necessidades supracitadas, existem no Brasil diversos programas de melhoramento entre eles: o Instituto Agrônomo de Campinas que desenvolve cultivares de sigla IAC, o programa do Centro de Tecnologia Canavieira que desenvolve cultivares de sigla CTC, o da CANAVIALIS-MONSANTO, que desenvolve cultivares de sigla CV. E ainda, o Programa da RIDESA ao qual está vinculada esta pesquisa, que desenvolve cultivares de sigla RB.

2.6. O Melhoramento Genético da cana-de-açúcar no Estado de Pernambuco

Em Pernambuco, o programa de melhoramento da cana-de-açúcar tem sido conduzido pela Rede Interuniversitária de Desenvolvimento do Setor Sucroenergético (RIDESA), que congrega atualmente dez universidades brasileiras, entre elas a Universidade Federal Rural de Pernambuco, cujas pesquisas são conduzidas e coordenadas pela Estação Experimental da Cana-de-açúcar do Carpina (EECAC) que desenvolve cultivares comerciais de sigla RB, além da UFRPE, compõem a Rede RIDESA, as seguintes instituições Universidade Federal de Alagoas (UFAL), Universidade Federal de Sergipe (UFS), Universidade Federal de Viçosa (UFV), Universidade Federal Rural de Rio de Janeiro (UFRRJ), Universidade Federal de São Carlos (UFScar), Universidade Federal do Paraná (UFPR), Universidade Federal de Goiás (UFG) e Universidade Federal do Piauí (UFPI).

A seleção de novos cultivares para o Nordeste, particularmente para a Zona da Mata de Pernambuco, se mostra de grande importância face à globalização da economia, dos mercados altamente competitivos e dos incrementos na produtividade. De acordo com Barbosa e Silveira (2012), o cultivar é a tecnologia mais importante e de menor custo para o produtor, pois ele é a base que sustenta todas as demais tecnologias de produção. O sucesso na produção de energia, etanol, açúcar e tantos outros derivados passam necessariamente pela produção da matéria-prima de qualidade, e, nesse aspecto, o cultivar assume papel decisivo para sucesso do empreendimento.

2.6.1. Etapa dos cruzamentos e obtenção das cariopses

Todo o sucesso do programa de melhoramento depende inicialmente da elaboração de uma excelente campanha de cruzamentos, selecionando genitores potenciais com base no distanciamento genético evidenciado através de técnicas multivariadas e, principalmente, usando marcadores moleculares que não são influenciados por variações ambientais (Dutra Filho *et al.*, 2013; Pereira *et al.*, 2008; Shimoya *et al.* 2002). Desta forma, através dos cruzamentos realizados, espera-se obter variabilidade genética em potencial para a seleção de indivíduos promissores a serem introduzidos nas fases clonais. Esta variabilidade genética que é essencial para a seleção de clones promissores pode ser obtida através de cruzamentos realizados entre genitores de interesse que já apresentam em sua constituição um conjunto de genes relacionados a caracteres tidos como importantes componentes de produção, de interesse a agroindústria canvieira. Basicamente os tipos realizados são: cruzamentos biparentais, onde dois

genitores elites, de caracteres de interesse, são selecionados e intercruzados; o policruzamento, onde um grande número de genitores são selecionados e intercruzados, porém, não se sabe a fonte de origem do pólen, a polinização livre coletando-se panículas de plantas que cruzam livremente e a autofecundação (Matsuoka *et al.*, 2005).

As cariopses obtidas a partir desses cruzamentos são guardadas em sacos de papel, identificadas e armazenadas em câmara fria. Em seguida, após os testes de germinação, são plantadas, em casa de vegetação, 3g dessas sementes em caixas de polietileno contendo substrato de torta de filtro e cinza na proporção de 3:1. Após germinação e desenvolvimento dos seedlings faz-se o processo de repicagem, onde um total de 350 seedlings que irão constituir as progênies de cada cruzamento são distribuídos em 10 caixas com 35 seedlings. Anualmente são produzidos uma população de 250 mil seedlings.

2.6.2. Etapa de seleção

A etapa de seleção é constituída pelas fases T1, T2, T3, FM e FMA.

2.6.2.1. Primeira fase de seleção (Fase T1).

A fase T1 cana planta tem início 90 dias após a repicagem quando os seedlings que constituem as progênies de cada cruzamento são empacotados em sacos plásticos (cerca de 17 a 18 por sacos), identificados e transportados para o plantio em condições de campo, os seedlings são plantados em sulcos de 11,5 m

com distanciamento de 0,5 cm entre si e espaçamento entre sulcos de 1,0 a 1,4 m.

De doze a dezesseis meses após o plantio, efetua-se o corte de cana planta e tem início fase a fase T1 cana soca onde procede-se a seleção massal entre e dentro das progênies (famílias) tomando-se como referência os padrões varietais. Os melhoristas recomendam a seleção em cana soca por haver uma seleção natural para capacidade de rebrota (Matsuoka *et al.*, 2005). De acordo com Skinner *et al.*, (1987), os caracteres considerados no processo de seleção são: teor de sólidos solúveis (BRIX), altura, diâmetro, número de colmos e caracteres morfológicos gerais.

2.6.2.2. Segunda fase de seleção (Fase T2)

Os clones selecionados na fase T1 cana soca são plantados em 2 sulcos de 5 m de comprimento constituindo a fase de T2. Nesta fase, a seleção é feita em cana planta e levam-se em consideração os mesmos caracteres utilizados na fase anterior, sendo aqueles selecionados, observados em cana soca.

2.6.2.3. Terceira fase de seleção (Fase T3)

Nesta fase os clones selecionados em T2 são plantados em 5 sulcos de 10 m de comprimento. A seleção é feita com base nos mesmos caracteres das fases T1 e T2. Uma alternativa bastante viável nas fases clonais (Fases T2 e T3) é a utilização do DBA (delineamento estatístico de blocos aumentados) desenvolvido por Federer (1956), para melhorar a eficiência da seleção visto que, devido a

escassez de material propagativo, ainda não é possível estabelecer experimentos que obedeçam aos princípios básicos da experimentação agrícola.

Um ponto importante que também deve ser levado em consideração nesta fase é a nomenclatura dos genótipos selecionados. Em se tratando do programa de melhoramento da RIDESA que desenvolve cultivares de sigla RB, a nomenclatura será efetuada conforme o exemplo a seguir: cultivar RB92579 (RB = sigla utilizada pela RIDESA, 92 = Ano de cruzamento dos genitores que deram origem ao respectivo cultivar e 579 = número de ordem de seleção distribuído entre as universidades que compõem a RIDESA).

2.6.2.4. Fases de multiplicação (FM) e multiplicação ampliada (FMA).

Estas fases têm como objetivo, além de continuar com a seleção dos melhores clones, a multiplicação em larga escala desses materiais para a instalação de experimentos com repetições, casualização e controle local nas microrregiões canavieiras do estado de Pernambuco. É também nesta fase que ocorre o intercâmbio de clones promissores entre as universidades que compõem a RIDESA explorando a resposta desses materiais em ambientes distintos daqueles que foram desenvolvidos.

2.6.3. Etapa de experimentação

A etapa de experimentação é dividida em duas fases distintas: a fase de experimentação (FE) e a fase de competição de variedades (cultivares) em épocas de corte com curvas de maturação (CVEC+CM).

2.6.3.1. Fase de experimentação (FE)

Nesta fase os materiais de uma única série (do mesmo ano de cruzamento), multiplicados e selecionados nas fases de multiplicação e multiplicação ampliada (FM e FMA), serão plantados em experimentos delineados em blocos ao acaso com 4 repetições, sendo cada clone representado numa parcela experimental de 5 sulcos de 8 m. Geralmente nessa fase, os experimentos são constituídos por 12 clones e 4 cultivares padrões e são colhidos em 4 cortes (cana planta, cana soca, cana ressoça e cana ressoça 2) para avaliar também a longevidade das soqueiras. São considerados no processo de seleção os seguintes caracteres agrônômicos e industriais: toneladas de cana por hectare (TCH), toneladas de pol por hectare (TPH), fibra (FIB), pol% corrigida (PCC), pureza (PZA), teor de sólidos solúveis (BRIX) e açúcar total recuperável (ATR).

Os experimentos são plantados nas usinas parceiras do PMGCA/UFRPE/RIDESA, nas unidades representativas das microrregiões canavieiras do Estado de Pernambuco. É nesta fase que os melhoristas utilizam modelos biométricos e métodos estatísticos mais elaborados para obtenção de parâmetros genéticos como variância fenotípica, genotípica e ambiental; herdabilidade, coeficiente de variação genético, índice b, repetibilidade, adaptabilidade e estabilidade fenotípica. Tudo isso com o objetivo de selecionar e identificar os melhores materiais a serem cultivados comercialmente nos ambientes adequados.

2.6.3.2. Fase de competição de variedades em épocas de corte com curvas de maturação (CVEC+CM)

Esta é a fase final de validação dos materiais selecionados na fase de experimentação. Os experimentos são plantados obedecendo aos mesmos padrões da fase anterior com as seguintes modificações:

1. Nesta fase, os experimentos são constituídos por clones promissores de várias séries (anos de cruzamentos), incluindo materiais provenientes de outras universidades que compõem a RIDESA;
2. Os experimentos são colhidos em três cortes (cana planta, cana soca e cana ressoca);
3. Utiliza-se maior número de cultivares comerciais como padrões varietais;
4. A safra agrícola de cana-de-açúcar é muito longa não havendo possibilidade de processamento, na indústria, de toda a cana colhida em um único mês. Por este motivo, na fase de competição de variedades, experimentos são montados para colheita em três épocas distintas. Início de safra (Setembro e Outubro), meio de safra (Novembro e Dezembro) e final de safra (Janeiro e Fevereiro). Nesta fase são montados também os ensaios de curva de maturação objetivando identificar em qual época de colheita os clones apresentam maior teor de sacarose (Figura 4).

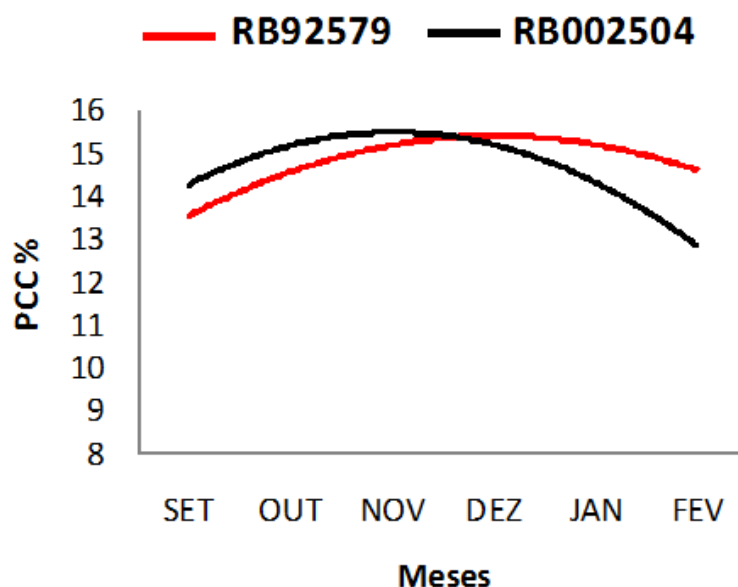


Figura 4. Curva de maturação do cultivar comercial de cana-de-açúcar RB002504 liberado comercialmente pelo PMGCA/UFRPE/RIDESA em 2010, com destaque para precocidade, maior teor de sacarose para colheita em início de safra (Fonte PMGCA/UFRPE/RIDESA).

2.6.3.3. Liberação comercial

Todas as informações obtidas a respeito do cultivar a ser liberado comercialmente incluindo seus genitores, descritores morfológicos, parâmetros de adaptabilidade e estabilidade fenotípica entre outros, são cuidadosamente documentados e enviados ao Ministério da Agricultura para proteção do cultivar.

Finalmente as sementes (rebolos) do novo cultivar são distribuídos aos pequenos, médios e grandes produtores.

2.7. Cenário atual do setor sucroenergético em Pernambuco e desafios do melhoramento genético da cana-de-açúcar

O Estado de Pernambuco se destaca, no cenário econômico nacional, como um dos tradicionais produtores de cana-de-açúcar da região Nordeste com uma produção de aproximadamente 14, 90 milhões de toneladas destinadas à indústria sucroenergética (CONAB, 2013).

Pesquisas recentes demonstram ter havido um grande desenvolvimento no setor sucroenergético nos últimos 30 anos devido ao grande desenvolvimento de novos cultivares.

Entretanto, a produtividade média, na região canavieira desse estado ainda é relativamente baixa, aproximadamente 60 toneladas por hectare. Entre, os principais problemas que dificultam o aumento da produtividade estão a interação genótipo-ambiente que se expressa, sobretudo, na heterogeneidade dos solos (ocorrência de solos de baixa fertilidade), relevos acidentados e variações climáticas severas (irregularidade das chuvas) com longos períodos de estiagem.

Em virtude desses problemas, diversos fatores contribuem para o aumento da produtividade, tais como: técnicas de manejo, planejamento e implantação de uma moderna tecnologia agrícola. Entretanto, novos cultivares mais produtivos, resistentes a pragas e doenças, e com caracteres agronômicos favoráveis, desenvolvidos pelos programas de melhoramento genético, são determinantes para se alcançar maiores respostas com baixo custo e ganhos acentuados na qualidade e na produtividade (Melo *et al.*, 2009).

Koffler et al. (1986) foram os primeiros pesquisadores a caracterizarem a região canavieira do Estado de Pernambuco. Em seu trabalho, eles reuniram de forma sistemática um conjunto de informações ambientais disponíveis, de modo que os pesquisadores envolvidos com o melhoramento genético desta cultura pudessem ter uma visão ampla de suas áreas de atuação. Estes pesquisadores

dividiram a região canavieira deste estado em cinco microrregiões distintas: Mata Norte (MN), Mata Sul (MS), Região Central (RC), Litoral Norte (LN) e Litoral Sul (LS), apresentando para cada uma delas descrições de geologia, geomorfologia, clima, hidrologia, vegetação natural, solos e zoneamentos ecológicos.

Cada uma das unidades regionais foram estudadas isoladamente a partir de uma série de parâmetros edáficos e climáticos para a cultura da cana-de-açúcar como matéria-prima. A partir disto constatou-se que os distintos ambientes faz com que cada microrregião tenha facilidades e limitações específicas quanto à interação do solo e do clima com a cultura da cana-de-açúcar. Em termos práticos de melhoramento concluiu-se que o desempenho agroindustrial de determinado cultivar em uma microrregião específica pode não o ser em outra. E que o meio ambiente pode facilitar ou não, a expressão de determinadas características de interesse.

Desta forma, o desenvolvimento de novos cultivares que apresentem um excelente potencial para responderem vantajosamente à melhoria do ambiente (adaptabilidade) e apresentarem somente pequenas variações no seu comportamento geral quando submetidos a diferentes ambientes (estabilidade), é essencial para o incremento na produtividade. Consequentemente, estratégias devem ser desenvolvidas ou aprimoradas visando à obtenção de novos cultivares geneticamente superiores cuja expressão de caracteres de maior interesse à agroindústria canavieira sejam devidos, em sua maior parte, a efeitos genéticos e não ambientais.

2.8. Adaptabilidade e Estabilidade

O termo ambiente, isto é, épocas de colheita, anos agrícolas distintos, locais de cultivo, pode ser definido como o resultado dos componentes biofísicos que influenciam no crescimento e desenvolvimento dos cultivares (SILVA *et al.*, 2011). Portanto, a manifestação fenotípica de um caráter sob seleção é função do genótipo, do ambiente e da interação genótipo x ambiente (Rocha *et al.*, 2010). Sendo assim, um genótipo que apresente desempenho agrônômico superior em dado ambiente, pode não apresentar desempenho satisfatório quando cultivado em outras condições, podendo gerar prejuízos na atividade a qual está inserido (Botelho *et al.*, 2010).

Nos programas de melhoramento, especificamente, na etapa de recomendação dos cultivares, o conhecimento do componente da interação genótipo x ambiente é de fundamental importância, pois permite a identificação de genótipos estáveis e adaptados às diversas condições ambientais (Perina *et al.*, 2010).

De acordo com Pereira *et al.* (2010), a interação G x A pode ser composta de duas partes. A primeira, denominada de interação simples, representa a resposta diferencial dos genótipos aos ambientes sem que ocorra alteração na classificação desses mesmos genótipos. A interação de natureza simples não confere dificuldades aos trabalhos dos melhoristas. Já a segunda parte da interação, denominada de interação complexa, representa um grande trabalho para os melhoristas e é dada pela baixa correlação entre o desempenho dos genótipos nos ambientes em que estão sendo avaliados, alterando consequentemente a classificação do material genético em questão (Cruz *et al.*,

2012). Em caso de interações de natureza complexa, não basta apenas quantificar o efeito da interação G x A sob os caracteres que se deseja praticar a seleção, sendo necessário proceder as análises de estratificação de ambientes, adaptabilidade e estabilidade fenotípica.

Mariotti *et al.* (1976) definem adaptabilidade como a capacidade que o genótipo possui em responder positivamente a melhoria do ambiente e a estabilidade como a capacidade que os genótipos possuem em apresentar somente poucas variações em seu comportamento geral quando submetido a diversas condições ambientais.

Dessa forma, é imprescindível, aos programas de melhoramento voltarem-se constantemente a exploração de genótipos de ampla adaptabilidade e alta estabilidade oferecendo ao setor produtivo cultivares que se sobressaíam num amplo espectro de ambientes e/ou adaptadas a condições específicas adversas ou extremamente favoráveis (Felipe *et al.*, 2010).

Existem atualmente a disposição do melhorista vários métodos estatísticos para avaliação da adaptabilidade e estabilidade dos genótipos em diferentes ambientes, dentre os quais se podem citar: metodologias baseadas em análise de variância (Yates e Cochran, 1938; Plaisted e Peterson, 1959; Wricke, 1965; Annicchiarico, 1992), análises não paramétricas (Lin e Binns, 1988; Huehn, 1990; Nascimento *et al.*, 2010), análise de regressão linear simples (Theil, 1950; Finlay e Wilkinson, 1963; Eberhart e Russel, 1966; Tai, 1971) entre outras. De acordo com Cruz (2006a), a escolha do método a ser usado pelos melhoristas depende do número de ambientes disponíveis, do tipo de informação necessária, e da precisão experimental que se deseja alcançar.

Em cana-de-açúcar são diversos os estudos envolvendo a avaliação da interação genótipo x ambiente, da adaptabilidade e da estabilidade fenotípica visando a seleção de cultivares superiores que contribuam significativamente para o incremento na produtividade a exemplo dos trabalhos de Bastos *et al.* (2007), kumar *et al.* (2004), Rea *et al.* (2002) e Verissimo *et al.* (2012). Para o setor sucroenergético em Pernambuco estes estudos assumem fundamental importância visto que não existem na literatura artigos científicos de trabalhos desenvolvidos com essa finalidade.

2.8.1. Metodologia de análise de adaptabilidade e estabilidade proposta por Eberhart e Russel (1966)

A metodologia proposta por Eberhart e Russel está entre as mais utilizadas no melhoramento vegetal. É um método estatístico baseado na análise de regressão linear simples, com dados não transformados e o índice ambiental refere-se à diferença entre a média de todos os cultivares em cada local e a média geral (Cruz e Carneiro, 2006).

A adaptabilidade do genótipo é estimada por meio do coeficiente de regressão (β_i) e pela média do caráter e, a estabilidade, por sua vez, é estimada a partir da variância dos desvios de regressão (σ^2_{di}). Conforme Cruz (2006a), em relação ao parâmetro de adaptabilidade, a metodologia classifica os genótipos da seguinte maneira: 1º Genótipos com adaptabilidade geral ou ampla: aqueles que apresentam $\beta_i = 1$; 2º Genótipos com adaptabilidade específica a ambientes favoráveis: aqueles que apresentam $\beta_i > 1$ e 3º Genótipos com adaptabilidade específica a ambientes desfavoráveis: aqueles que apresentam $\beta_i < 1$. Em relação

ao parâmetro de estabilidade: 1º Genótipos com estabilidade alta: aqueles com $\sigma^2_{di} = 0$; 2º Genótipos com estabilidade baixa: aqueles com $\sigma^2_{di} > 0$.

É importante ainda salientar que Eberhart e Russel (1966) consideram como genótipo ideal aquele que apresenta elevada produção média, coeficiente de regressão igual a 1 e variância dos desvios de regressão igual a 0.

O ajuste dessas equações de regressão é verificado por meio da estimativa dos coeficientes de determinação (R^2), o qual é o obtido por meio da razão entre a soma de quadrados da regressão linear e a soma de quadrados da interação G x A. Dessa forma, quanto maior o coeficiente de determinação, mais ajustada é a equação de regressão (Silveira 2011). Miranda et al. (1998) recomendam a metodologia de Eberhart e Russel pela simplicidade de interpretação dos resultados.

2.8.2. Metodologia de análise de adaptabilidade e estabilidade proposta por Lin e Bins (1988)

O método de Lin e Bins (1988) utiliza o quadrado médio da distância entre a média do cultivar em relação a resposta máxima obtida em cada ambiente. Trata-se de um método de análise estatística não paramétrica, onde o parâmetro P_i é adotado como medida de estabilidade fenotípica ponderando de maneira eficiente os desvios de comportamento dos cultivares ao longo dos ambientes (Cruz e Carneiro, 2006; Silveira 2011).

Apesar desta metodologia se mostrar bastante promissora na recomendação dos cultivares, a mesma não distingue os genótipos quanto à adaptação específica. Diante disso, Carneiro (1998) sugeriu a decomposição do parâmetro

P_i , em ambientes favoráveis (P_{if}) e desfavoráveis (P_{id}). Sendo então possível identificar os genótipos de melhor performance geral e alocá-los nos ambientes específicos, favoráveis ou desfavoráveis, de acordo com as condições edafoclimáticas, manejo e tecnologia utilizada pelos produtores (Silveira 2011).

Com base nessas considerações, Bortrel (2005) ressalta que a fácil aplicação da metodologia de Lin e Bins (1988), modificada por Carneiro (1998), faz com que a mesma seja amplamente utilizada pelos melhoristas.

2.8.3. Metodologia de análise de adaptabilidade e estabilidade proposta por Annicchiarico (1992)

Neste método, a estabilidade é medida pela superioridade do genótipo em relação à média de cada ambiente. É um método estatístico cujos procedimentos são baseados na análise de variância e as estimativas do parâmetro de estabilidade são expressas em componentes quadráticos, quadrados médios ou componentes da variância (Almeida Filho *et al.*, 2010).

Através dessa metodologia é estimado um índice de confiança ω_i (índice de recomendação, considerando ambientes favoráveis e desfavoráveis) de um determinado genótipo mostrar comportamento relativamente superior. O índice de recomendação refere-se a um parâmetro de avaliação da estabilidade fenotípica. A proposta é que se considere um índice de confiança de 75% e que as médias genotípicas sejam expressas em termos da porcentagem dos valores médios dos ambientes (Almeida Filho *et al.*, 2010). Quanto maior o valor do índice de recomendação mais estável será o genótipo (Abreu *et al.*, 2004).

Diante do exposto, na análise de adaptabilidade e estabilidade fenotípica o melhorista deve considerar que alguns métodos são alternativos, enquanto que outros são complementares, podendo ser utilizados conjuntamente (Cruz, 2006a). Os que são utilizados conjuntamente tem a vantagem de fornecer ao melhorista maior consistência nos resultados e maior segurança na recomendação dos cultivares.

2.9. Outras considerações importantes na seleção de genótipos de cana-de-açúcar para as condições edafoclimáticas da Região Canavieira do Estado de Pernambuco

Sendo a interação genótipo x ambiente muito acentuada na região canavieira do Estado de Pernambuco, principalmente no que diz respeito às variações climáticas, as condições de um ano agrícola são diferentes de outro afetando o desempenho agrônomo dos cultivares, reduzindo inclusive, a longevidade das soqueiras. Consequentemente, os canaviais são renovados mais cedo ocasionando consideráveis perdas na produtividade.

Por este motivo, ensaios de avaliação dos cultivares, nas fases finais de experimentação são colhidos considerando uma média de três a quatro cortes (Souza *et al.*, 2012). Os experimentos visam comparar o desempenho de novos clones com aqueles de amplo cultivo comercial (Ferreira *et al.*, 2005), identificando genótipos com elevada produtividade e longevidade nas soqueiras a exemplo dos trabalhos realizados por Melo *et al.* (2009). Esses autores avaliaram o desempenho agrônomo de genótipos de cana-de-açúcar, no Litoral Sul Pernambucano, através da análise de variância individual e conjunta de

experimentos juntamente com importantes parâmetros genéticos e conseguiram identificar genótipos de maior produtividade agroindustrial. Entretanto, somente com essas análises, não é possível identificar quais genótipos apresentam elevado potencial de longevidade nas soqueiras.

Ao se selecionar um genótipo espera-se que o seu elevado desempenho agroindustrial perdure por toda a sua vida e que o bom desempenho manifestado em certos caracteres do indivíduo reflita o potencial genético do cultivar (Cruz *et al.*, 2012).

No caso específico da cana-de-açúcar, espera-se maior longevidade nas soqueiras, isto é, elevada produtividade nos cultivos de cana planta, soca, ressoca e ressoca 2. Nesse contexto, uma alternativa bastante viável para identificar genótipos de maior longevidade é a utilização do coeficiente de repetibilidade. Através de sua estimativa, o melhorista pode determinar o número de colheitas necessárias para selecionar os melhores genótipos economizando significativamente custos e mão de obra já que a instalação de ensaios de avaliação de cultivares é onerosa e demorada, e, além disso, reduzindo o tempo de liberação de novos cultivares, que é um dos objetivos atuais do melhoramento, pois leva-se em média 12 a 15 anos para o desenvolvimento de novos materiais (Barbosa *et al.*, 2005).

Atualmente, existem várias metodologias para estimativa do coeficiente de repetibilidade dentre as quais se podem citar: metodologia da análise de variância, metodologia dos componentes principais (Abeywardena, 1972), metodologia da análise estrutural (Mansour *et al.*, 1981).

Ferreira *et al.* (2005), avaliando genótipos de cana-de-açúcar nas regiões canavieiras dos Estados de São Paulo, Minas Gerais e Goiás, determinaram,

através da estimativa do coeficiente de repetibilidade, que o emprego de três cortes é suficiente para selecionar novos genótipos com previsibilidade do valor real acima de 80%. Santos et al. (2004), avaliando genótipos de cana-de-açúcar no Estado de Alagoas, concluíram que a utilização de cinco cortes é suficiente para a seleção de genótipos com previsibilidade real acima de 80%.

Em Pernambuco, esses estudos assumem fundamental importância, visto que não existem registros na literatura de artigos científicos dessa natureza abrangendo toda a região canavieira desse Estado.

2.10. Melhoramento visando tolerância as estresse hídrico

Estresses ambientais ou abióticos representam um dos principais fatores limitantes para a produtividade agrícola no mundo inteiro (Nogueira *et al.* 2004). O termo estresse é entendido como qualquer fator que promove uma situação desvantajosa para o organismo (Nogueira *et al.* 2004). Os estresses abióticos mais comuns são: salinidade, déficit hídrico, deficiência ou excesso de nutrientes, altas e baixas temperaturas (Bray, 1997; Cambraia, 2005).

O déficit hídrico pode ser definido como o conteúdo de água de uma célula ou tecido que está abaixo daquele exigido pela planta para realizar suas funções vitais. Segundo Silva *et al.* (2008b), o déficit hídrico é um dos fatores mais importantes que limitam a produção da cana-de-açúcar especialmente nas áreas onde existe um período prolongado de seca.

Pesquisadores do Programa de Melhoramento Genético da Cana-de-açúcar da Universidade Federal Rural de Pernambuco da Rede Interuniversitária para o Desenvolvimento do Setor Sucroenergético (PMGCA/UFRPE/RIDESA) avaliaram

a precipitação pluviométrica na região canavieira do Estado de Pernambuco ao longo de quinze anos agrícolas e obtiveram os resultados apresentados na Figura 5.

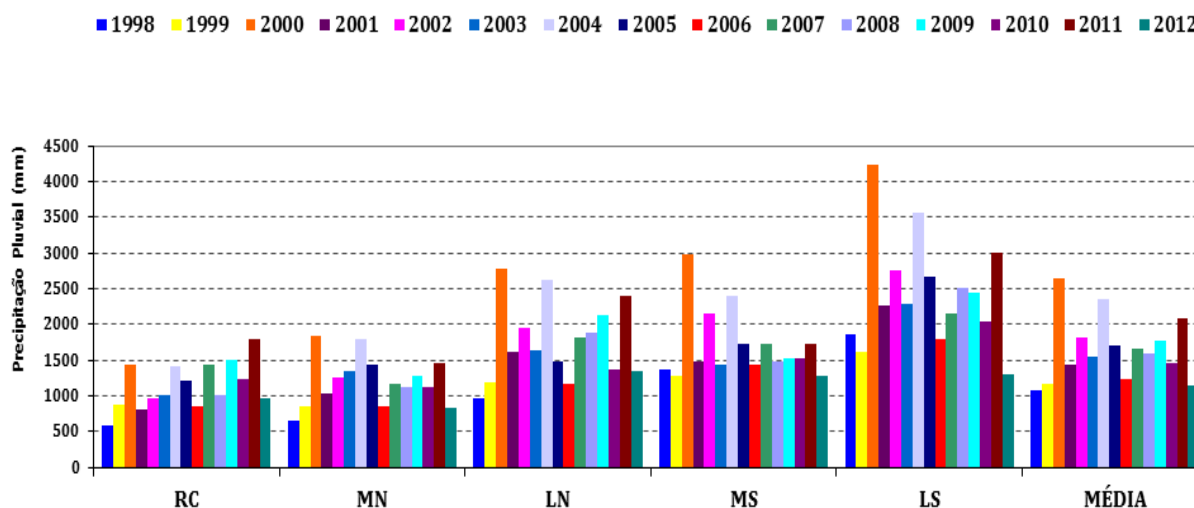


Figura 5. Precipitação pluviométrica nas microrregiões canavieiras do Estado de Pernambuco ao longo de quinze anos agrícolas (Fonte: PMGCA/UFRPE/RIDESA).

O consumo anual de água pela cana-de-açúcar varia de 1.500 a 2.500 mm (Doorenbos e Kassam, 1994). No entanto, a distribuição irregular e a redução dos volumes de chuvas, no Estado de Pernambuco, durante o crescimento vegetativo da cultura causam enormes prejuízos, com declínio acentuado de produtividade e mortalidade das soqueiras, forçando a renovação precoce do canavial (Dantas Neto *et al.*, 2006).

Constata-se então que a prática agrícola da irrigação, para atenuar o efeito do déficit hídrico, no setor sucroenergético em Pernambuco é imprescindível (Inman-Bamber, 2004), entretanto a disponibilidade de água é bastante limitada nas microrregiões canavieiras especialmente na Região Centro e Mata Norte.

Além disso, a utilização e custos de equipamentos para irrigação são muito dispendiosos.

Arelado a isso, sabe-se que atualmente um dos grandes desafios no cenário mundial é o aumento das temperaturas em decorrência do aquecimento global que tende a provocar um grande impacto na agricultura. Espera-se que o aumento da temperatura eleve a evapotranspiração resultando no aumento na deficiência hídrica, o que vai provocar um aumento de áreas com alto risco climático. No Brasil, estimativas da Embrapa mostram que o aumento das temperaturas e do déficit hídrico, em decorrência do aquecimento global, pode provocar perdas nas safras agrícolas de várias culturas. Nesse contexto, a tendência do cultivo da cana-de-açúcar é migrar e ocupar novas áreas como o cerrado brasileiro. As mudanças decorrentes do aquecimento global vão alterar profundamente a geografia da produção agrícola no Brasil (Assad e Pinto, 2008). E, portanto, os programas de melhoramento terão pela frente um grande desafio no desenvolvimento de novos cultivares que além de apresentarem caracteres de interesse a agroindústria canavieira devam apresentar tolerância ao estresse por déficit hídrico.

A tolerância ao estresse por déficit hídrico pode ser definida como a capacidade das plantas de aclimatarem-se as condições desfavoráveis referentes a disponibilidade de água (Taiz e Zeiger, 2009). Não podendo se locomover as plantas necessitam aclimatar-se às condições desfavoráveis impostas pelo ambiente, isto é, clima, solo e temperatura (Nogueira *et al.*, 2004). Nesse contexto, a aclimação é entendida como alterações inerentes a expressão gênica e a produção de compostos específicos durante a exposição do organismo as condições de estresse. De acordo com Keegstra e Thomashow (2002), esses

mecanismos fisiológicos e moleculares são altamente complexos. O entendimento deles é de fundamental importância no que diz respeito ao desenvolvimento de novos cultivares.

O processo de aclimação nas plantas submetidas ao estresse por déficit hídrico inicia-se com a percepção do estresse seguida de uma complexa via de sequências de eventos de ordem molecular, finalizando com várias respostas fisiológicas, metabólicas e de desenvolvimento (Knight e Knight, 2001; Silva 2010).

Em condições de estresse por déficit hídrico, as respostas morfofisiológicas, de maneira geral, incluem: fechamento dos estômatos (Lopez, *et al.*, 2008), aumento da síntese de osmoprotetores (Molinari *et al.*, 2007; McCormick *et al.*, 2008), diminuição na eficiência quântica do fotossistema II (Angelopoulos *et al.*, 1996), decréscimo na condutância estomática e taxa fotossintética (Miyashita *et al.*, 2005). Além disso, de acordo com Silva *et al.* (2013), o déficit hídrico também se caracteriza como um dos estresses ambientais responsáveis por alterações dos pigmentos nas folhas. Sendo assim, a avaliação desses parâmetros fisiológicos e estimativa de tais pigmentos devem ser utilizados na seleção de genótipos tolerantes a seca (Silva *et al.*, 2007; Tezara *et al.*, 2008).

Em relação às respostas moleculares, estas envolvem a expressão de genes específicos ativados durante a percepção do estresse (Bray, 1997). As proteínas produzidas atuam direta ou indiretamente na eficiência da resposta da planta ao estresse ambiental no qual ela está submetida, alguns exemplos são apresentados na tabela 2.

Tabela 2. Classes e exemplos de proteínas relacionadas com a resposta a estresses ambientais (Cushman e Bohnert, 2000).

Classe dos compostos / proteínas	Exemplos	Possível modo de ação
Osmoprotetores	Prolina, glicina betaína, manitol, sorbitol, sacarose, trealose, frutanas	Ajustamento osmótico, proteção contra espécies reativas de oxigênio.
Protetores contra espécies reativas de oxigênio	Enzimas (catalase, superóxido dismutase, ascobarto peroxidase, glutathione S-transferase, glutathione peroxidase, oxidase alternativa, proteína desaclopadora mitocondrial); compostos não-enzimáticos (ascobarto, flavonas, carotenoides, antocianinas).	Detoxificação celular
Proteínas de estresse	Late embryogenesis abundant (LEA), aquaporinas	Estabilização de proteínas, estabilização da membrana celular, redução do estresse hídrico.
Heat shock proteins (HSP)	Várias HSPs presentes em diferentes compartimentos intracelulares	Prevenção do desdobramento incorreto de proteínas, modulação traducional.
Transportadores de prótons	Transportadores de K^+ , H^+ , ATPases, Na^+/H^+ antiporters.	Estabelecimento do gradiente de prótons, remoção de ions tóxicos do citoplasma e de organelas.
Proteínas de metabolismo específico	Desaturases de ácidos graxos	Aumento da fluidez da membrana plasmática
Componentes da sinalização celular	Histidine kinases, MAP kinases, Ca^{2+} -dependent protein kinases, phosphatases, Ca^{2+} -sensors (SOS3), inositol kinases.	Transdução de sinais celulares
Fatores de transcrição	Proteínas pertencentes a várias famílias gênicas (EREBP/AP2, zinc finger, Myb)	Ativação da transcrição gênica
Reguladores de crescimento	Ácido abscísico, citocininas,	Alteração do metabolismo e da

brassinosteróides, poliaminas, expressão gênica.
etileno, etc.

Considerando que o mecanismo de tolerância ao estresse por déficit hídrico é controlado por vários genes, fortemente influenciados pelas variações ambientais, é um mecanismo difícil de ser trabalhado no melhoramento genético clássico, portanto a utilização da biologia molecular buscando a compreensão de como esses eventos fisiológicos e moleculares interagem entre si, será de fundamental importância para os programas de melhoramento genético no desenvolvimento de novos cultivares tolerantes ao estresse por déficit hídrico (Beever, 2000; Casagrande *et al.*, 2001).

2.11. Biotecnologia aplicada ao melhoramento genético da cana-de-açúcar: análise proteômica.

Atualmente, a tendência do melhoramento genético é integrar aos métodos tradicionais às modernas técnicas biotecnológicas com o objetivo de ampliar o conhecimento a respeito do genoma, auxiliando na obtenção de materiais genéticos superiores. Apesar de possuir uma complexa constituição genético-cromossômica não há como negar que o genoma da cana-de-açúcar é um vasto território a ser explorado e que o desenvolvimento de pesquisas visando um maior conhecimento a respeito do seu potencial poderá contribuir significativamente para se alcançar os objetivos dos programas de melhoramento em curto prazo.

A Proteômica, entendida como a análise em larga escala da expressão gênica em nível traducional e pós-traducional, é atualmente considerada uma das

áreas centrais da Genômica Funcional (Bisch, 2004). A implementação da espectrometria de massa (MS) para a identificação de peptídeos (MS e MS/MS) torna possível associar centenas de proteínas em experimentos únicos. Dessa forma, a proteômica vem abrindo novas perspectivas na biologia molecular de plantas com ênfase nos estudos de variabilidade genética, estresses fisiológicos e desenvolvimento de plantas (Salvato e Carvalho, 2010).

No contexto da genética em geral, o fenótipo pode ser observado a partir dos pontos de vista morfológico, fisiológico, bioquímico e molecular. Do ponto de vista molecular, ele pode ser descrito em termos de RNAm e proteínas, associados ao genoma e influenciados por variações ambientais. Sendo assim, a relação entre genótipo e fenótipo é bastante complexa ainda mais quando se trata de caracteres quantitativos (Mattick, 2003).

Os melhoristas, sejam eles de animais ou vegetais, estão interessados em obter os melhores fenótipos. E em nível molecular o RNAm é marcador mais informativo funcionalmente quando comparado com aqueles obtidos por marcadores de DNA. Já a atividade das proteínas está mais proximamente associada a função do gene e a sua efetiva expressão, uma vez que geralmente é o produto final da regulação da atividade gênica (Xiao et al., 2009).

Nesse sentido, a proteômica, que visa caracterizar o conjunto de proteínas expressas em um dado momento, surge como mais uma ramificação entre as ômicas para complementar os estudos sobre a biologia molecular das células (Wilkins *et al.*, 1996). A proteômica é também uma poderosa ferramenta no melhoramento genético, pois, diferentemente do que ocorre quando são utilizados marcadores baseados em DNA, a proteômica fornece informação em nível

molecular da variabilidade genética que é efetivamente expressa do genoma (Pennington e Dunn, 2001).

Nesse contexto, a análise proteômica assume papel-chave na identificação de peptídeos envolvidos nas respostas ao déficit hídrico, o que permitirá futuramente a compreensão de rotas metabólicas envolvidas nas respostas fisiológicas à seca. Isso permitirá também o uso desses peptídeos no desenvolvimento de marcadores moleculares funcionais em programas de melhoramento que busquem a identificação de genótipos e expressem maior tolerância às condições de deficiência hídrica. Existe também a possibilidade, através da engenharia genética, de se transferir genes de interesse para outros genótipos, assim como, entre espécies incompatíveis (Beever, 2000; Casagrande *et al.*, 2001).

2.12. Autofecundação em cana-de-açúcar.

A rigor, como se trata de uma espécie predominantemente alógama deve-se evitar os efeitos da endogamia, sobretudo, na sua forma mais extrema, a autofecundação. Tal procedimento promove a depressão por endogamia e consequente perda do vigor e produtividade, tornando o indivíduo susceptível as variações ambientais e inviáveis para cultivo comercial (Bueno *et al.*, 2006).

Tem se constatado, todavia, que a autofecundação da cana-de-açúcar nem sempre conduz a uma queda de vigor em seus descendentes. A grande prova disto é a cultivar argentina NA 56-79, proveniente da autofecundação da Co 419. Ela foi largamente cultivada no Brasil durante a década de 70/80 e obteve a maior produtividade, em toneladas de açúcar por hectare, entre as demais cultivares

cultivadas no Estado de São Paulo. Inúmeros outros casos em que a autofecundação não ocasionou a depressão endogâmica, produzindo cultivares com boa performance, são conhecidos (Cesnik e Miocque 2004).

A principal teoria para explicar este fenômeno reside no fato dessa espécie apresentar um elevado número e complexo arranjo cromossômico (Cesnik e Mioque, 2004). Acrescente-se ainda a elevada existência de poliploidia e aneuploidia, muito comum nesta cultura.

Walker et al. (1977) efetuando cruzamentos de *Saccharum officinarum* com *Saccharum spontaneum*, obtiveram na geração F1 7% de indivíduos $n+n$ e 93% de indivíduos $2n+n$. Batcha e Palanichany (1977) obtiveram indivíduos do tipo $2n+n$ quando cruzaram *Saccharum officinarum* com *Saccharum spontaneum*, em seguida retrocruzando os indivíduos provenientes desse cruzamento com *Saccharum officinarum* obtendo uma progênie de constituição do tipo $n+n$.

Este aumento e diminuição no número de cromossomos também foi observado nos trabalhos de Bremer (1961) que efetuou polinização cruzada envolvendo *Saccharum spontaneum* com cultivares comerciais. Stenvenson (1953), por sua vez, observando uma progênie obtida pela autopolinização de *Saccharum officinarum* notou a presença do mesmo número de cromossomos nos seus descendentes, $2n=80$. Quando observou os descendentes da autofecundação da variedade B43-62 verificou uma redução no número de cromossomos de 118 para 87 e, por fim, analisando indivíduos resultantes da autopolinização da variedade B37161 concluiu que o número de cromossomos havia aumentado. Obviamente os indivíduos que durante a meiose, na formação dos gametas, receberam um maior número cromossômico, conseqüentemente receberam um maior número de genes. E caso se tratem de genes relacionados à

produtividade e maior tolerância ao estresse por déficit hídrico, possivelmente, esses indivíduos oriundos da autofecundação apresentaram um excelente desempenho agroindustrial.

Em virtude dos fatos mencionados, conclui-se que: a aplicação da biometria experimental visando a identificação de genótipos altamente produtivos e adaptados as condições edafoclimáticas das microrregiões canavieiras do estado de Pernambuco e a análise proteômica, em genótipo de cana-de-açúcar oriundo de autofecundação, submetido ao estresse hídrico para obtenção de peptídeos efetivamente expressos, poderá contribuir com os programas de melhoramento genético de cana-de-açúcar no desenvolvimento de novas estratégias para a obtenção de cultivares melhorados, com caracteres de interesse da agroindústria canavieira e tolerantes ao estresse por déficit hídrico.

3. Objetivos

3.1. Objetivo geral: Avaliar o desempenho agroindustrial e proteoma de genótipos RB de cana-de-açúcar associado ao estresse por déficit hídrico nas microrregiões canavieiras do Estado de Pernambuco.

3.2. Objetivos específicos:

- Identificar genótipos de cana-de-açúcar adaptados às condições edafoclimáticas da região canavieira do Estado de Pernambuco;
- Determinar o número ótimo de colheitas para a seleção de genótipos superiores na região canavieira do Estado de Pernambuco reduzindo possivelmente o tempo de liberação de novos cultivares;
- Identificar peptídeos diferencialmente expressos, em cultivar comercial e clone oriundo de autofecundação potencialmente associados à resposta ao estresse por déficit hídrico em condições de campo;
- Possibilitar, através da seleção de proteínas candidatas, o desenvolvimento de marcadores proteômicos, associados ao estresse hídrico, aplicáveis ao melhoramento genético no desenvolvimento de novos cultivares.

4. Material e Métodos

4.1. Experimentos de campo (Série 94)

Os experimentos foram realizados nas áreas agrícolas das usinas parceiras do Programa de Melhoramento Genético da Cana-de-açúcar da Universidade Federal Rural de Pernambuco integrante da Rede Interuniversitária para o Desenvolvimento do Setor Sucroenergético (PMGCA/UFRPE/RIDESA): Usina Santa Tereza (Goiana – PE), Usina Una Açúcar e Energia (Tamandaré – PE), Usina Petribú (Lagoa de Itaenga – PE), Usina União e Indústria (Primavera – PE) e Usina Central Olho d'água (Camutanga – PE) unidades representativas das microrregiões canavieiras 1. Litoral Norte, 2. Litoral Sul, 3. Região Centro, 4. Mata Sul e 5. Mata Norte de Pernambuco respectivamente de acordo com a classificação proposta por Koffler et al. (1986). Foram obtidos dados experimentais das médias de dois cortes, cana planta e cana soca.

Os seguintes genótipos foram avaliados: RB92579, SP81-3250, RB867515, RB953180, RB863129, RB942520, RB75126, RB892700, RB943365, SP79-1011, Q138, RB943538, SP78-4764, RB953281, RB943066, RB928064, RB93509, RB72454, RB952675, RB942991, RB943161, RB942898, RB872552, RB952900 e RB942849. Foi utilizado o delineamento experimental de blocos casualizados com quatro repetições. Cada parcela experimental foi representada por 5 linhas de 8 m, com espaçamento de 1 m entre linhas com plantio tradicional pé com ponta (Stolf, 1986). As correções de pH do solo e adubações dos campos foram realizadas conforme o sistema de produção canavieira das empresas agroindustriais.

As variáveis analisadas foram: toneladas de pol por hectare (TPH), toneladas de cana por hectare (TCH), fibra (FIB) e toneladas de açúcar total recuperável por hectare (ATR t.ha⁻¹). Na estimativa de TCH, TPH e ATR t.ha⁻¹ seguiu-se a metodologia utilizada por Dutra Filho et al. (2012). Para calcular a variável FIB, seguiu-se a metodologia apresentada por Fernandes (2003).

Foram realizadas a análise de variância conjunta de experimentos e estimativa de parâmetros genéticos (Cruz 2006a) e as médias foram agrupadas pelo teste de Scott & Knott (1974) a nível de 5% de probabilidade. Antes de efetuar a análise de variância conjunta de experimentos, foi realizado o teste F máximo de Hartley para verificar a homogeneidade de variâncias residuais. Sendo realizado para as variáveis que apresentaram um valor superior a 7 para a razão entre a maior e a menor variância do erro, um ajuste dos graus de liberdade do resíduo do erro médio (n) e da interação entre os fatores (n') da análise conjunta conforme a metodologia proposta por Cochran (1954). As variáveis que, após o teste, apresentaram heterogeneidade de variâncias residuais muito discrepantes foram descartadas.

A decomposição da interação genótipo x ambiente foi realizada conforme a metodologia de Cruz e Castoldi (1991). Os ambientes foram estratificados aplicando-se a metodologia da soma dos quadrados entre genótipos e pares de ambientes apresentada por Cruz et al. (2012). Os métodos de Annicchiarico (1992), Lin e Binns (1988) e Eberhart e Russel (1966), foram utilizados para análise de adaptabilidade e estabilidade fenotípica.

4.2. Experimentos de campo (Série 95)

Os experimentos foram conduzidos nas áreas agrícolas das usinas parceiras do Programa de Melhoramento Genético da Cana-de-açúcar da Universidade Federal Rural de Pernambuco integrante da Rede Interuniversitária para o Desenvolvimento do Setor Sucroenergético (PMGCA/UFRPE/RIDESA): Usina São José (Igarassu – PE), Usina Trapiche (Sirinhanhém – PE), Usina Central Olho d'gua (Camutanga – PE), Usina Pumaty (Joaquim Nabuco – PE) e Usina Petribú (Lagoa de Itaenga – PE). Essas usinas, de acordo com a classificação proposta por Koffler et al. (1986), são unidades representativas das Microrregiões Canavieiras do Litoral Norte (LN), Litoral Sul (LS), Mata Norte (MN), Mata Sul (MS) e Região Centro (RC) de Pernambuco, respectivamente.

Foi utilizado o delineamento experimental de blocos casualizados com quatro repetições. Cada parcela experimental foi representada por 5 linhas de 8 m, com espaçamento de 1 m entre linhas com plantio tradicional pé com ponta Stolf (1986). As correções de pH do solo e adubações do campo foram realizadas conforme o sistema de produção canavieira das empresas agroindustriais. As variáveis analisadas foram: toneladas de pol por hectare (TPH), toneladas de cana por hectare (TCH), fibra (FIB), pol% corrigida (PCC), teor de sólidos solúveis (BRIX), açúcar total recuperável (ATR) e toneladas de açúcar total recuperável por hectare ($ATR\ t.ha^{-1}$).

Em relação ao experimento instalado na Microrregião Canavieira do Litoral Norte de Pernambuco foram realizadas 4 medições (cana planta, soca, ressoca e ressoca 2) e os genótipos avaliados foram: RB72454, RB763710, RB813804, RB952517, RB952522, RB952571, RB952675, RB952681, RB952692,

RB952749, RB952754, RB952796, RB952826 e SP79-1011. Para o experimento instalado na Microrregião Canavieira do Litoral Sul de Pernambuco foram realizadas 4 medições e os genótipos avaliados foram: RB813804, RB952517, RB952522, RB952692, RB952754, RB952796, SP79-1011, RB952511, RB952904, RB953002, RB953133, RB953265 e SP78-4764. Para o experimento instalado na Microrregião Canavieira da Mata Norte de Pernambuco foram realizadas 4 medições e os genótipos avaliados foram: RB72454, RB763710, RB813804, RB952517, CP85-1491, RB942898, RB952675, RB952514, RB952609, RB952875, RB952884, RB953155 e SP79-1011. No experimento instalado na Microrregião Canavieira da Mata Sul de Pernambuco também foram realizadas 4 medições e os genótipos avaliados foram: RB952692, RB952597, RB952517, RB952522, RB952571, RB952675, RB952681, RB952609, RB952749, RB952754, SP79-1011, RB952511, SP78-4764 e SP80-1816. E finalmente para o experimento instalado na Microrregião Canavieira da Região Centro de Pernambuco foram realizadas 3 medições (cana planta, soca e ressoca) e os genótipos avaliados foram: IAC851491, RB763710, RB813804, RB892575, CP85-1491, RB953214, RB953270, RB953245, SP79-1011, RB953265, RB943339 e RB953206.

Foram realizadas a análise de variância conjunta de experimentos e estimativa de parâmetros genéticos (Cruz 2006a) e as médias foram agrupadas pelo teste de Scott & Knott (1974) a nível de 5% de probabilidade. Para a estimativa do coeficiente de repetibilidade, utilizou-se metodologia da análise de variância com dois fatores de variação, metodologia dos componentes principais (Abeywardena, 1972) e a metodologia da análise estrutural (Mansour *et al.*, 1981).

Todas as análises genético-estatísticas foram realizadas com o auxílio do programa GENES (Cruz, 2006c).

4.3. Análises bioquímicas e fisiológicas

As análises bioquímicas e fisiológicas foram realizadas em dois genótipos: o cultivar comercial RB867515 (tolerante a seca) e o clone RB061047 já codificado pelo PMGCA/UFRPE/RIDESA oriundo da autofecundação do cultivar RB867515 aos 8 meses de idade. Os genótipos foram avaliados na fase de multiplicação (FM) em condições de sequeiro, na área agrícola da Usina Santa Teresa Goiana – PE. Engenho Japumin.

4.3.1. Determinação de solutos orgânicos

Para esta avaliação foi coletado, aproximadamente 1g de folhas envolvidas em papel alumínio e acondicionados em freezer -20°C, até o preparo dos extratos.

Para o preparo dos extratos, as amostras foram descongeladas e maceradas em solução tampão de fosfato de potássio monobásico 0,1M de pH 7,0 e armazenados em tubos eppendorfs. Os extratos foram centrifugados a 10000 RPM por 10 minutos e transferidos para outros tubos eppendorfs. A partir desses extratos, os solutos orgânicos foram quantificados em leituras de absorbância no espectrofotômetro.

Os carboidratos livres totais foram determinados pelo método de fenol-ácido sulfúrico (Dubois *et al.*, 1956); teores de proteínas solúveis pela metodologia da ligação ao corante coomassie brilliant blue (Bradford, 1976), os

aminoácidos, pelo método da ninhidrina (Yemm e Cocking, 1955), a concentração de prolina livre foi determinada aplicando-se a metodologia da ninhidrina e ácido fosfórico proposta por Bates *et al.* (1973), com as seguintes leituras de absorbância: 490, 595, 570 e 520, respectivamente para cada metodologia aplicada. As concentrações foram expressas em $\mu\text{mol.g}^{-1}$ MF.

4.3.2. Determinação de pigmentos fotossintetizantes

As leituras de clorofila foram realizadas com o auxílio de um aparelho portátil, SPAD-502 (Minolta, Japão). O valor obtido foi o resultado de uma média de 10 leituras realizadas em folhas espalhadas na planta, nos horários entre 11h e 12h para cada tratamento.

A determinação do teor de clorofilas e carotenoides foi realizado com 0,1g de matéria fresca de folhas de cada repetição, que foram, em seguida colocadas em tubos de ensaio rosqueados, coberto com papel alumínio para evitar a passagem de luz e adicionados 10 mL de álcool etílico a 95%. Após um período de 48h foram quantificados o teor de clorofila a, b, clorofila total e carotenóides, de acordo com a metodologia de Lichtenthaler; Buschmann (2001) nos comprimentos de onda 664 nm, 649 nm e 470 nm, com o uso do espectrofotômetro Biospectro, modelo SP-220. Os dados foram calculados pelas fórmulas descritas abaixo e, os resultados expressos em miligrama de clorofila por grama de tecido fresco (mg.g^{-1}):

$$\text{Cla } (\mu\text{g/ml}) = 13,36 \times A_{663,1} - 5,19 \times A_{648,6}$$

$$\text{Clb } (\mu\text{g/ml}) = 27,43 \times A_{648,6} - 8,12 \times A_{664,1}$$

$Cl_{total} (\mu g/ml) = Clor\ a + Clor\ b$

$Carotenóides (\mu g/ml) = [1000 \times A_{470} - 2,13 (Cl\ a) - 97,64 (Cl\ b) / 209]$.

4.3.3. Trocas Gasosas: fotossíntese líquida, transpiração, condutância estomática e eficiência do uso da água

As trocas gasosas foram medidas após a diferenciação dos tratamentos, nos horários entre 11:00 e 13:00. A fotossíntese (A), transpiração (E) e condutância estomática (gs) foram mensurados com um analisador de gás à infravermelho, ADC, modelo LcPro. Com esses resultados foi possível calcular a eficiência do uso da água pela fórmula: $EUA = A/E$. Foram utilizadas folhas +1 completamente expandidas localizadas no terço médio superior das plantas.

4.3.4. Eficiência quântica do fotossistema II

A eficiência quântica do fotossistema II foi determinada com a utilização de um fluorômetro portátil de luz (Opti- Sciences, Hudson, USA), a partir da relação entre a fluorescência inicial (F_0) e a fluorescência máxima (F_m), após a adaptação das folhas ao escuro por 30 minutos. Os dados bioquímicos fisiológicos obtidos foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade através do programa estatístico Assistat 7.5 Beta. Todas essas análises bioquímicas e fisiológicas foram executadas no Laboratório de Fisiologia Vegetal do Departamento de Biologia da UFRPE.

4.4. Análise Proteômica

Para a análise proteômica, foram coletadas as folhas +1, conforme Dillewijn (1952) a primeira folha de cima para baixo que apresenta bainha visível, e raízes. As amostras de folhas coletadas foram lavadas com água destilada e cortadas em frações menores com tesoura, previamente limpa com álcool 70% e colocadas em tubos cônicos de 50 mL (Falcon), em seguida foram imediatamente imersas em nitrogênio líquido e transportadas para o Laboratório de Genômica e Proteômica de Plantas da UFPE, onde foram armazenadas a -80 °C.

4.4.1. Extração de proteínas

As proteínas totais dos genótipos de cana-de-açúcar foram extraídas pelo método de Hurkman e Tanaka (1986) que utiliza o fenol como principal reagente de extração. As amostras do material vegetal foram maceradas em um cadinho de porcelana com pistilo, em nitrogênio líquido, até a obtenção de pó fino e depois armazenado em tubos falcon de 50 mL. Aproximadamente 1g do material vegetal macerado foram utilizados para extração, que foi realizada através da adição de 500 µL de tampão de extração composto por Tris HCl pH 8,5 (0,1 M), EDTA (10 mM), sacarose (0,9 M), 2-β mercaptoetanol (0,4%) e 500 µL de fenol. As amostras foram agitadas vigorosamente, por 1 min, sem aquecimento, e depois mantidas em agitação constante por mais 30 min a 4 °C. Após essa etapa foi realizada uma centrifugação a 5.000 g por 10 min a 4 °C, onde foi removido o sobrenadante para um novo tubo.

Foi feita uma re-extração onde o processo anterior foi repetido, porém sem a etapa da agitação por 30 min e a centrifugação passou a ser por 12.000 *g* por 20 min. As proteínas foram precipitadas através da adição de 5 volumes de acetato de amônio em metanol (0,1 M) gelado e incubados a -20 °C por 24 h. As amostras foram centrifugadas a 15.000 *g* por 20 min a 4 °C, o sobrenadante foi descartado e seguiram-se duas lavagens do *pellet* com 1 mL de acetato de amônio em metanol (0,1 M) e acetona a 80% e uma única vez com etanol a 70%, intercaladas com as etapas de incubação por 30 min a -20 °C e centrifugação (15000 *g*, 10 min a 4 °C). Após as lavagens, o *pellet* foi seco em temperatura ambiente e as proteínas foram solubilizadas em uma solução de ureia e tiourea (8 M:2 M) e, finalmente incubadas a -20 °C para posterior análise 2D.

4.4.2. Quantificação de proteínas

As proteínas solúveis totais foram quantificadas através do protocolo de quantificação pelo método de Bradford (1976), que utiliza o Coomassie Brilliant Blue G-250 como reagente de coloração e a albumina de soro bovino (BSA) para estabelecimento da curva padrão. A partir de 20 µL das amostras proteicas, foi adicionado água deionizada e o reagente de coloração alcançando um volume final de 2 mL da solução que foi analisada em espectrofotômetro de luz visível (Biospectro SP-220) a 595 nm. A integridade das proteínas foi visualizada através da imagem após SDS-PAGE a 12,5% (Figura 6).

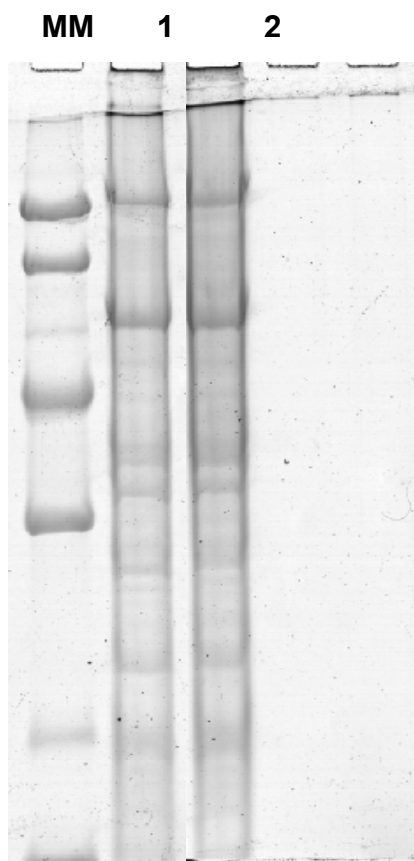


Figura 6. Gel-SDS-PAGE (12,5%) de genótipos RB de cana-de-açúcar. MM – Marcador molecular, 1 proteínas totais extraídas da folha +1 do genótipo RB061047 e 2 proteínas totais extraídas da folha +1 do cultivar comercial RB867515.

4.4.3. Eletroforese bidimensional de proteínas (2D)

4.4.3.1. Focalização isoeletrica (IEF) – 1ª dimensão

A IEF foi realizada com fita IPG de 11 cm e pH de 3-10 para cada uma das três réplicas biológicas. Foram aplicadas 60 µg de proteínas totais das amostras de folha nas fitas de acrilamida desidratada (IPG 11 cm, gradiente de pH 3-10 não linear; GE Life Sciences) dissolvidas em solução de ureia 7 M, tioureia 2 M, CHAPS 2% (m/v), 19,4 mM de DTT, anfolinas 0,5% (v/v) (IPG buffer, pH 3-10 não

linear; GE Life Sciences) e azul de bromofenol 0,005% (m/v). A etapa de reidratação das fitas foi realizada no dispositivo para focalização isoelétrica (IPGphor, GE Life Sciences) à temperatura ambiente por 16 h. As fitas foram focalizadas em gradiente de pH imobilizado, em três etapas, nas seguintes condições: 300 V – 30 V/h, 3500 V – 2900 V/h, 3500V- 6170 V/h. Durante toda a focalização, foram mantidas condições constantes de corrente (2 mA) e potência (5 W). Após a focalização, as fitas foram armazenadas a -20 °C até a realização da segunda dimensão.

4.4.3.2. Eletroforese 2D – 2ª dimensão

Após a focalização, as fitas IPG, foram equilibradas com solução contendo Tris-HCl 50 mM (pH 8,8), uréia 6 M, glicerol 30% (v/v) e SDS 2% (m/v), em duas etapas: adicionou-se DTT 1% (m/v) e foi submetido a agitação por 20 min; adicionou-se IAA 2,5% (m/v) e foi submetido a agitação por 20 min. A segunda dimensão da eletroforese foi realizada no aparelho Multiphor II Electrophoresis Unit (GE Life Sciences), em gel de poliacrilamida 12,5%, ExcelGel homogêneo (GE Life Sciences) de 24 cm a 15 °C. A primeira etapa da eletroforese ocorreu a 120 V, 20 mA e 30 W , em condições constantes, com duração de aproximadamente 40 min. Esta etapa encerra-se quando a amostra se difunde da fita IPG para o gel. A segunda etapa da corrida foi realizada a 600 V, 50 mA e 30 W, constantes.

4.4.4. Coloração dos géis

Após a eletroforese, os géis foram colocados em solução fixadora (etanol 40%, ácido acético 10%) por 30 min, seguido da solução de coloração (corante *azul de Coomassie PhastGel blue R*, GE Life Sciences) 0,02% em metanol, ácido acético 49% e água deionizada na proporção de 3:1:6, respectivamente, por 1,5 h. O gel foi descorado após quatro lavagens seguidas com solução descorante (etanol 20%, ácido acético 5%) por 15 min, 45 min e duas vezes por 2 h. Após as lavagens os géis foram armazenados em solução de preservação (ácido acético 5%).

4.4.5. Obtenção e análise das imagens

4.4.5.1. Obtenção das imagens

Depois de descorados, os géis foram digitalizados no ImageScanner III (GE Life Sciences) com uso do programa LabScan 6.0 (GE Life Sciences). Para a digitalização foram utilizados os seguintes parâmetros: modo de transparência, resolução de 150 dpi e filtro vermelho, ideal para coloração de géis com *azul de Coomassie*. Para a captura da imagem foi realizada previamente uma etapa de calibração do *scanner*, com a fita de calibração Kodak 3, que apresenta valores de densidade ótica ou difusa definidos, conforme procedimentos recomendados pelo fabricante.

4.4.5.2. Análise das imagens para obtenção dos spots

As análises das imagens dos géis foram realizadas através do programa Image Master 2D Platinum v7.05 (GE Life Sciences). Essas imagens foram

processadas no próprio programa onde foram realizados ajustes quanto ao tamanho e redução de interferências de contrastes. Foram criados projetos nos quais os géis foram agrupados em pastas obedecendo às hierarquias recomendadas pelo programa, dentro das quais foram realizadas as comparações (*matches*).

Para que o programa fizesse as inferências estatísticas, foram cadastrados os valores do gradiente de pH da DryStrip e dos valores da massa molecular das bandas geradas pelo marcador utilizado. Foram utilizadas três réplicas biológicas para a condição de seca e realização das análises, onde primeiramente, foi observado o coeficiente de correlação entre as réplicas biológicas para verificar a reprodutibilidade dos géis e, portanto, só foi possível realizar a análise se as réplicas biológicas apresentassem alto coeficiente de correlação.

Com base na normalização e nas análises estatísticas realizadas no programa Image Master 2D Platinum v7.05 (GE Life Sciences), foi possível verificar expressão diferencial de proteínas, assim como *spots* exclusivos entre tratamentos e variedades, que podem estar associados a mecanismos de resposta ao estresse hídrico, permitindo a escolha destes para posterior digestão e identificação no espectrômetro de massas.

Essa análise foi apresentada no programa em forma de vários relatórios de análises dos géis e das comparações (*matches*) entre os mesmos. Esses relatórios apresentaram informações importantes sobre os *spots*, como sua localização no gel, o ponto isoeletrico (pI), o peso molecular (MW), porcentagem de volume (%), além de informar as comparações (*matches*) e inferências estatísticas, como a razão da % de volume (*Ratio*), referente a razão entre dois *spots* correspondentes em um *match*, e o valor da ANOVA (Figura 7).



	Match ID	Max	Match Count	auto	7515	Anova	MS
1	0	1.2795	2	1.2795	-1.2795	0.753834	
2	1	12.0236	2	12.0236	-12.0236	0.412578	
3	2	1.7604	2	1.7604	-1.7604	0.566528	
4	3	5.83332	2	-5.83332	5.83332	0.100277	
5	4	1.8666	2	1.8666	-1.8666	0.325899	
6	5	1.87833	2	1.87833	-1.87833	0.415081	
7	6	1.61216	2	-1.61216	1.61216	0.666565	
8	7	1.42162	2	-1.42162	1.42162	0.668273	
9	8	1.22911	2	1.22911	-1.22911	0.552181	
10	9	1.13415	2	-1.13415	1.13415	0.831589	
11	10	1.20645	2	-1.20645	1.20645	0.730564	
12	11	1.10959	2	-1.10959	1.10959	0.64627	
13	12	3.28953	2	3.28953	-3.28953	0.458091	
14	13	4.75497	2	4.75497	-4.75497	0.133938	
15	14	1.25339	2	-1.25339	1.25339	0.669129	
16	15	4.30752	2	-4.30752	4.30752	0.102405	
17	16	1.18669	2	1.18669	-1.18669	0.833773	
18	17	2.34666	2	-2.34666	2.34666	0.327129	
19	18	1.56252	2	-1.56252	1.56252	0.487612	
20	19	2.16964	2	-2.16964	2.16964	0.402259	
21	20	1.77504	2	1.77504	-1.77504	0.373021	
22	21	1.40563	2	1.40563	-1.40563	0.584916	
23	22	5.26561	2	5.26561	-5.26561	0.470671	

Figura 7. Representação da tabela de análises de classes no programa Image Master 2D Platinum v7.05 (GE Life Sciences) onde: *Match ID* é um número atribuído a cada *spot* na comparação nos géis contrastantes (*Match*); *Ratio* corresponde à razão de variação entre a %Vol dos dois *spots* correspondentes em um *match*, indicado na coluna *Max*; o sinal de “-” representa que a proteína é menos expressa nessa condição e o Anova a percentagem de erro para cada comparação dos *spots* diferencialmente expressos.

Foram selecionados os *spots* que apresentaram valor do *Ratio* $\geq 1,5$ e ANOVA $\leq 0,05$ para essa análise o que representa a confiabilidade estatística dos dados. Estes critérios foram aplicados aos *spots* comuns, considerando as comparações. Já aos *spots* exclusivos aplicou-se apenas ANOVA $\leq 0,05$.

4.4.6. Digestão com Tripsina

Para digestão dos *spots*, seguiu-se a metodologia utilizada por Pacheco et al. (2013), os mesmos foram excisados manualmente dos géis, devidamente identificados por gel e *match* de origem, e estocados a -20 °C em água deionizada estéril. Primeiramente, os fragmentos de géis foram descorados por incubação em metanol 50%/ácido acético 2,5% por 3 h em temperatura ambiente. Depois de desidratados com acetonitrila 100%, as proteínas sofreram redução com a solução de DTT (Dithiothreitol) a 10 mM e em seguida uma aquilação com IAA (50 mM). O gel foi lavado com bicarbonato de amônio a 100 mM e desidratado com acetonitrila a 100%, esse processo foi repetido mais uma vez. Após essas etapas, foi adicionada a solução com 20 µg de tripsina para digestão da proteína onde ficou incubada em banho de gelo por 30 min. O excesso de tripsina foi removido e foi adicionado a solução de bicarbonato de amônio 50 mM cobrindo o gel incubando por 16 h a 37°C. No dia seguinte, sem remover a solução anterior, foi acrescentada a solução de extração 1 (ácido fórmico 5%) onde foi incubada por 10 min a temperatura ambiente após ser dado um *spin* rápido o sobrenadante foi transferido para outro tubo. O mesmo foi feito para a solução de extração 2 (ácido fórmico 5% em acetonitrila 50%), porém esse foi repetido duas vezes. Finalmente, as amostras foram totalmente evaporadas em evaporadores centrífugos tipo *speed-vac* (eppendorf) e armazenadas a -20°C até a realização das análises via espectrometria de massa.

4.4.7. Sequenciamento das proteínas

As proteínas foram sequenciadas em espectrômetro de massas AutoFlex III TOF/TOF (Bruker Daltonics, Bremen, Germany), baseado na ionização por dessorção a laser assistida por matriz. Para tanto, os peptídeos após concentrados e secados foram eluídos em Solução de Matriz 1% ácido α -ciano-4-hidrocínâmico. Os espectros MS foram obtidos de acordo com os parâmetros do método refletido, RP_Proteomics calibrado no próprio equipamento, excluindo da análise íons com m/z menor que 700 Da. Após a obtenção dos MS, os picos de maior intensidade (superior a 3000) foram fragmentados pelo método LIFT, na presença de Argônio.

Os espectros obtidos foram analisados e sequenciados no Software FlexAnalysis, considerando a tabela de massas de m/z .

4.4.8. Identificação das proteínas

Com os peptídeos sequenciados foi realizado BLASTp (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi?PAGE=Proteins>) contra o banco de dados e sequências UniProtKB (<http://www.uniprot.org/>), sendo considerado identificação significativa, as sequências que apresentaram alinhamento com $E\ value < 0,05$ e $Max\ ident = 100\%$.

5. Resultados

5.1. Série 94

A análise de variância detectou diferenças significativas entre as médias dos genótipos para todas as variáveis em questão (Tabela 3).

Tabela 3. Resumo da análise de variância conjunta avaliada em grupos de experimentos conduzidos na fase de competição de variedades na primeira época de colheita (início de safra) na região canavieira do Estado de Pernambuco dos genótipos de cana-de-açúcar da série 94.

F.V.	G.L.	Quadrados médios			
		TPH	TCH	FIB	ATR t.ha ⁻¹
Genótipos	24	24,35**	1250,43**	1,87*	24,63**
Ambientes	4	580,81**	17012,59**	17,21**	614,15**
G x A	96	7,99**	315,96**	1,10*	8,91**
Resíduo	360	2,62	94,67	0,79	2,88
Médias		11,51	88,32	13,60	11,78
C.V (%)		14,06	11,01	6,53	14,40
>QMR / <QMR		2,30	2,76	6,51	2,81

** e * Significativo a 1 e 5% de probabilidade respectivamente, pelo teste F

^{ns}, não significativo, pelo teste F

G x A Interação genótipos x ambientes

Em relação aos parâmetros genéticos estimados (Tabela 4), observa-se predominância da interação genótipos x ambientes sobre o componente de variância genética, corroborando que na região canavieira do estado de Pernambuco a interação é bastante acentuada. A determinação genotípica foi de média magnitude para todos os caracteres em apreço.

Tabela 4. Parâmetros genéticos estimados dos caracteres TPH, TCH, FIB e ATR/tha dos genótipos da série 94, avaliados na fase de competição de variedades na primeira época de colheita (início de safra) em experimento conduzido na região canavieira do estado de Pernambuco, anos agrícolas 2005/2006, 2006/2007.

Parâmetros Genéticos					
Caracteres	σ_g^2	$\hat{\sigma}_{ga}^2$	h^2	CV_g	CVg / CVe
TPH	0,82	1,28	67	7,85	0,55
TCH	46,72	53,10	75	7,73	0,70
FIB	0,03	0,07	41	1,43	0,22
ATR t.ha ⁻¹	0,79	1,45	65	7,52	0,52

σ_g^2 : Componente de variância genética $\hat{\sigma}_{ga}^2$: Componente de variância da interação genótipo

ambiente

h^2 : Determinação genotípica em nível de média. CVg : coeficiente de variação genético. CVg/CVe : índice b

Através do agrupamento de médias de Scott & Knott (Tabela 5) foi possível alocar os genótipos de melhor desempenho em grupos superiores.

Tabela 5. Agrupamento de médias dos caracteres dos genótipos de cana-de-açúcar da série 94 avaliados na fase de competição de variedades na primeira época de colheita (início de safra) avaliados em grupos de experimentos conduzidos na região canavieira do estado de Pernambuco usina, anos agrícolas 2005/2006, 2006/2007.

Variedades	Variáveis			
	TPH (t.ha ⁻¹)	TCH (t.ha ⁻¹)	FIB(%)	ATR(t.ha ⁻¹)
RB92579	14.45a	106.45a	13.48a	14.69a
SP81-3250	14.10a	105.80a	13.55a	14.32a
RB867515	13.10a	98.05a	13.97a	13.55a
RB953180	12.29b	94.40a	13.44a	12.48b
RB863129	12.18b	96.95a	13.33a	12.42b
RB942520	11.92b	89.25a	13.31a	12.21b
RB75126	11.89b	97.80a	12.71a	12.20b
RB892700	11.83b	86.05b	14.17a	12.05b
RB943365	11.78b	86.25b	13.41a	12.00b
SP79-1011	11.55b	85.85b	13.13a	11.96b
Q138	11.47b	86.05b	13.55a	11.68b
RB943538	11.41b	85.60b	13.81a	11.67b
SP78-4764	11.41b	88.30b	13.68a	11.67b
RB953281	11.28b	85.65b	13.87a	11.54b
RB943066	11.27b	82.00b	13.64a	11.56b
RB928064	11.11b	86.45b	13.52a	11.36b
RB93509	10.90b	96.05b	13.64a	11.27b
RB72454	10.84b	84.10b	13.33a	11.14b
RB952675	10.69b	83.05b	13.75a	10.88b
RB952991	10.67b	84.65b	13.49a	10.85b
RB943161	10.59b	80.90b	13.72a	10.82b
RB942898	10.57b	81.40b	13.96a	10.85b
RB872552	10.56b	80,20b	13.65a	10.81b
RB952900	10.14b	76,75b	13.88a	10.37b
RB942849	9.816b	80.20b	13.84a	10.15b

Médias seguidas da mesma letra na coluna pertencem ao mesmo grupo pelo teste de Scott & Knott a 5% de probabilidade

Observa-se através da decomposição da interação genótipo x ambiente, que as interações dos genótipos com as microrregiões canavieiras do estado de

Pernambuco são de natureza complexa para todas as variáveis em questão (Tabelas 6 e 7).

Tabela 6. Coeficientes da interação G x A (%CI) entre pares de ambientes segundo metodologia de Cruz e Castoldi (1991) para as variáveis TPH (diagonal superior) e TCH (diagonal inferior) de 25 genótipos de cana-de-açúcar da série 94 avaliados em cinco ambientes, em Pernambuco, nos anos agrícolas 2005/2006 e 2006/2007.

Ambientes					
	LN	LS	RC	MN	MS
LN		88,12	77,04	88,93	82,75
LS	83,31		61,54	62,90	82,48
RC	77,16	61,14		58,83	77,76
MN	90,13	68,26	72,17		87,55
MS	73,33	69,86	59,78	81,86	

Tabela 7. Coeficientes da interação G x A (%CI) entre pares de ambientes segundo metodologia de Cruz e Castoldi (1991) para as variáveis FIB (diagonal superior) e ATR t.ha⁻¹ (diagonal inferior) de 25 genótipos de cana-de-açúcar da série 94 avaliados em cinco ambientes, em Pernambuco, nos anos agrícolas 2005/2006 e 2006/2007.

Ambientes					
	LN	LS	RC	MN	MS
LN		69,10	77,29	97,15	95,48
LS	88,59		61,29	69,44	75,79
RC	79,13	62,46		96,59	90,04
MN	90,60	66,81	62,23		93,31
MS	81,03	78,43	73,48	85,10	

Através da estratificação de ambientes (Tabela 8), observa-se padrão de similaridade de resposta dos genótipos às microrregiões Centro e Mata Sul para as variáveis TPH, TCH e ATR t.ha⁻¹, respectivamente.

Tabela 8. Estratificação das microrregiões canavieiras do Estado de Pernambuco baseada no padrão de similaridade de resposta dos genótipos em relação aos ambientes avaliados

Variáveis	QMI/r	F calculado	F tabelado (5%)	AMBIENTES
TPH	0.97	1.47	1.54	3 e 5
TCH	32.77	1.38	1.54	3 e 5
FIB	0.20	1.00	1.32	2, 3, 1 e 4
ATR t.ha ⁻¹	0,85	1,18	1.54	3 e 5

Foi possível pelos métodos de Annichiarico (1992), Lin e Bins (1988) e Eberhart e Russel (1966), identificar genótipos adaptáveis a microrregiões específicas na Região Canavieira do Estado de Pernambuco (Tabelas 9, 10, 11, 12, 13 e 14).

Tabela 9. Estimativas de adaptabilidade Wi geral (g) a ambientes favoráveis Wi(+) e desfavoráveis Wi(-) pelo método de Annichiarico (1992) para as variáveis TPH e TCH de 25 genótipos de cana-de-açúcar da série 94 avaliados na região canavieira do Estado de Pernambuco.

Genótipo	Variáveis / Adaptabilidade					
	TPH/Wi(g)	TPH/Wi(+)	TPH/Wi(-)	TCH/Wi(g)	TCH/Wi(+)	TCH/Wi(-)
Q138	95.91	101.2	88.61	93.94	100	86.91
RB72454	91.94	92.79	90.29	93.33	93.04	93.375
RB75126	98.23	104.8	89.46	108.7	111.1	105.5
RB863129	104.92	104.7	105.3	108.6	106.1	113.5
RB867515	108.7	110.1	107.3	107.7	107.5	109.3
RB872552	90.66	91.69	88.94	89.27	90.92	86.7
RB892700	100.9	99.52	102.2	96.08	97.91	93.55
RB92579	119.2	126.3	108.6	116.4	119.4	111
RB928064	94.18	92.77	96.01	95.58	97.31	93.9
RB93509	92.98	89.95	98.69	105.8	97.78	122
RB942520	98.94	101.3	94.3	97.85	95.56	101.5
RB942849	84.1	79.16	95.2	88.98	84.74	97.27
RB942898	90.85	89.22	93.48	90.79	89.97	91.74
RB942991	91.81	88.83	98.67	94.78	92.04	99.5
RB943066	93.8	93.6	95.4	89.55	90.43	89.1
RB943161	89.91	82.97	102.4	89.47	85.12	96.31
RB943365	99.08	88.35	119.8	94.26	85.78	109.5
RB943538	95.75	97.01	93.72	93.72	96.81	90
RB952675	89.62	92.27	84.92	92.04	93.52	89.14
RB952900	83.61	90.22	76.67	83.86	88.6	78.68
RB953180	104.5	100.1	113.7	104.3	103	106.1
RB953281	94.12	95.12	92.17	93.85	96.31	90.9
SP784764	94.44	100.1	88.45	96.63	99.54	92.46
SP791011	95.92	98.83	91.15	94.09	96.29	91.3
SP813250	120.6	118.4	125.2	118.3	117.2	119.8

Tabela 10. Estimativas de adaptabilidade W_i geral (g) a ambientes favoráveis $W_i(+)$ e desfavoráveis $W_i(-)$ pelo método de Annicchiarico (1992) para as variáveis FIB e ATR t.ha⁻¹ de 25 genótipos de cana-de-açúcar da série 94, avaliados na região canavieira do estado de Pernambuco.

Genótipo	Variáveis / Adaptabilidade					
	FIB/ W_i (g)	FIB/ $W_i(+)$	FIB/ $W_i(-)$	ATR t.ha ⁻¹ W_i (g)	ATR t.ha ⁻¹ $W_i(+)$	ATR t.ha ⁻¹ $W_i(-)$
Q138	99.45	99.22	99.75	95.39	100.6	88.2
RB72454	96.74	97.76	95.6	92.21	93.51	90.03
RB75126	92.78	92.21	93.52	98.77	104.6	91.07
RB863129	97.72	98.01	97.29	104.3	104.3	104.3
RB867515	102.2	101.2	104	109	111.2	106.8
RB872552	99.93	99.39	100.8	90.7	92.06	88.65
RB892700	103.3	104.6	101.4	100.4	98.84	102
RB92579	98.61	97.62	100.3	118.7	125.4	108.8
RB928064	98.84	99.35	97.9	94.06	92.72	95.9
RB93509	98.5	97.44	100.2	94.24	90.31	101.9
RB942520	96.77	95.61	98.74	99.73	100.4	97.41
RB942849	100	103	96.99	85.06	79.7	98.06
RB942898	101.9	100.5	104.5	90.93	89.66	92.79
RB942991	98.45	100.3	96.13	91.14	87.97	98.14
RB943066	98.57	96.33	101.7	93.55	93.8	94.68
RB943161	100.4	100.5	100	89.72	82.64	102.5
RB943365	97.39	99.27	94.82	98.81	88.16	119.7
RB943538	100.9	100.7	101.1	95.48	96.95	93.33
RB952675	100.1	101	98.52	89.4	91.72	85.23
RB952900	101.6	101.1	102.3	83.46	90.05	76.63
RB953180	97.13	101.7	92.35	103.7	99.12	112.8
RB953281	101	99.47	103.9	94.01	95.49	91.48
SP784764	99.72	98.88	101.6	94.47	99.94	88.68
SP791011	95.49	94.26	97.17	96.37	99.88	90.91
SP813250	98.8	97.05	102.3	119.7	117	124.9

Tabela 11. Estimativas de adaptabilidade geral $Pi(g)$ pelo método de Lin e Binns (1988), modificado por Carneiro (1998) a ambientes favoráveis $Pi(f)$ e desfavoráveis $Pi(d)$ para as variáveis TPH e TCH de 25 genótipos de cana-de-açúcar da série 94, avaliados na região canavieira do Estado de Pernambuco.

Genótipo	Variáveis / Adaptabilidade					
	TPH/ $Pi(g)$	TPH/ $Pi(f)$	TPH/ $Pi(d)$	TCH/ $Pi(g)$	TCH/ $Pi(f)$	TCH/ $Pi(d)$
Q138	10.26	11.15	8.93	379.1	357.0	412.1
RB72454	11.69	14.24	7.85	386.1	457.3	279.2
RB75126	8.82	9.64	7.58	124.4	137.3	105.1
RB863129	6.97	9.03	3.88	142.7	206.2	47.45
RB867515	4.61	5.47	3.32	130.2	163.2	80.65
RB872552	13.86	17.16	8.92	530.8	611.5	409.9
RB892700	9.13	12.15	4.60	354.1	399.2	286.5
RB92579	1.07	0.32	2.19	32.47	15.30	58.14
RB928064	11.79	15.35	6.44	350.5	391.5	289.1
RB93509	13.42	18.57	5.69	239.1	393.5	7.57
RB942520	7.20	8.45	5.33	282.3	361.9	162.8
RB942849	19.45	27.96	6.68	574.9	827.3	196.2
RB942898	13.91	18.38	7.20	491.8	611.3	312.5
RB942991	13.49	18.92	5.34	414.8	572.4	178.5
RB943066	9.71	11.65	6.79	447.8	492.2	381.2
RB943161	16.62	24.68	4.54	584.7	820.3	231.2
RB943365	12.84	20.67	1.11	516.6	810.6	75.62
RB943538	8.99	10.20	7.17	344	337.1	354.3
RB952675	13.21	16.14	8.81	447	522.3	334.1
RB952900	15.97	17.21	14.11	640.7	653.8	621.0
RB953180	7.14	10.19	2.55	190.6	233.3	126.5
RB953281	10.18	11.86	7.67	352.5	362.4	337.6
SP784764	11.22	12.53	9.24	359.6	401.8	296.3
SP791011	8.40	9.37	6.95	335.3	344.2	321.9
SP813250	1.88	2.92	0.32	26.2	39.04	6.95

Tabela 12. Estimativas de adaptabilidade geral $Pi(g)$ pelo método de Lin e Binns (1988), modificado por Carneiro (1998) a ambientes favoráveis $Pi(f)$ e desfavoráveis $Pi(d)$ para as variáveis FIB e ATR $t.ha^{-1}$ de 25 genótipos de cana-de-açúcar da série 94, avaliados na região canavieira do Estado de Pernambuco.

Genótipo	Variáveis / Adaptabilidade					
	FIB/ $Pi(g)$	FIB/ $Pi(f)$	FIB/ $Pi(d)$	ATR $t.ha^{-1}$ $Pi(g)$	ATR $t.ha^{-1}$ $Pi(f)$	ATR $t.ha^{-1}$ $Pi(d)$
Q138	0.71	0.84	0.51	117.8	13.47	9.23
RB72454	1.08	0.99	1.20	130.0	16.28	8.08
RB75126	2.16	2.60	1.50	101.7	12.08	7.31
RB863129	1.04	1.14	0.89	84.81	11.38	4.12
RB867515	0.35	0.53	0.08	4.84	5.77	3.46
RB872552	0.69	0.90	0.38	155.9	19.86	9.19
RB892700	0.22	0.14	0.33	109.8	15.18	4.68
RB92579	0.91	1.22	0.43	1.46	1.00	2.14
RB928064	0.75	0.76	0.75	138.1	18.65	6.56
RB93509	1.09	1.55	0.40	146.8	21.27	4.78
RB942520	1.29	1.72	0.63	84.04	10.92	4.62
RB942849	0.54	0.26	0.97	211.4	31.30	5.89
RB942898	0.44	0.68	0.06	153.9	20.71	7.40
RB942991	0.80	0.67	0.99	15.81	22.67	5.51
RB943066	0.85	1.24	0.27	111.0	13.74	7.15
RB943161	0.58	0.67	0.45	191.2	28.85	4.54
RB943365	0.97	0.74	1.31	150.9	24.41	1.10
RB943538	0.47	0.58	0.31	102.6	12.17	7.41
RB952675	0.61	0.62	0.59	150.7	19.17	8.91
RB952900	0.37	0.47	0.22	182.4	20.74	14.49
RB953180	1.00	0.41	1.88	86.85	12.64	2.74
RB953281	0.61	0.95	0.10	118.5	14.40	8.02
SP784764	0.7	0.94	0.34	128.1	15.17	9.28
SP791011	1.54	1.99	0.86	88.54	10.02	7.10
SP813250	0.87	1.29	0.23	2.86	4.55	0.32

Tabela 13. Estimativas de parâmetros de adaptabilidade e estabilidade fenotípica (β_1 : coeficiente de regressão linear; σ^2_{di} : variância dos desvios de regressão, R^2 : coeficiente de determinação) obtidas pelo método de Eberhart e Russel para as variáveis TPH e TCH de 25 genótipos avaliados na região canavieira do estado de Pernambuco.

Genótipos	TPH			TCH		
	β_1	σ^2_{di}	$R^2(\%)$	β_1	σ^2_{di}	$R^2(\%)$
Q138	1.12NS	1.64*	80.88	1.22NS	75.86**	77.39
RB72454	1.09NS	-0.06NS	94.03	1.13NS	11.07NS	89.29
RB75126	1.37*	1.22*	88.62	1.22NS	12.23NS	90.5
RB863129	1.03NS	-0.43NS	97.38	0.84NS	-7.36NS	90.8
RB867515	1.09NS	6.17**	57.43	1.14NS	135.81**	65.09
RB872552	0.95NS	-0.48NS	97.66	0.95NS	-8.33NS	93.1
RB892700	0.89NS	0.38NS	85.57	1.06NS	-8.91NS	94.57
RB92579	1.72**	1.54*	91.33	1.56**	102.0**	81.62
RB928064	1.02NS	0.77NS	84.99	1.20NS	24.20NS	87.26
RB93509	0.59*	-0.02NS	81.39	0.23**	109.3**	8.74
RB942520	1.26NS	1.60*	84.56	1.25NS	102.5**	73.94
RB942849	0.43**	-0.55NS	93.72	0.35**	2.43NS	52.58
RB942898	0.76NS	-0.16NS	90.28	0.77NS	14.54NS	78.29
RB942991	0.73NS	-0.40NS	94.32	0.61*	-13.29NS	89.18
RB943066	1.18NS	2.70**	76.5	1.33NS	49.89*	84.57
RB943161	0.44**	1.32*	43.22	0.39**	46.59*	33.98
RB943365	0.39**	3.90**	20.79	0.13**	160.4**	2.25
RB943538	1.17NS	1.32*	84.37	1.46*	7.92NS	93.88
RB952675	0.96NS	0.94NS	81.93	0.86NS	32.06NS	75.27
RB952900	1.30NS	-0.07NS	95.8	1.27NS	15.46NS	90.36
RB953180	0.63*	0.45NS	73.75	0.92NS	58.70*	70.42
RB953281	1.25NS	1.75*	83.61	1.44*	17.20NS	92.09
SP784764	1.24NS	2.03**	81.75	1.00NS	123.8**	60.53
SP791011	1.18NS	2.09**	79.85	1.39*	25.77NS	89.95
SP813250	1.07NS	0.22NS	90.98	1.14NS	5.25NS	91.15

**,* : significativo a 1% e 5% de probabilidade do erro, respectivamente, pelo teste t. ($H_0: \beta_{1i} = 1,0$)

e pelo teste F ($H_0: \sigma^2_{di} = 0$). NS: não significativo

Tabela 14. Estimativas de parâmetros de adaptabilidade e estabilidade fenotípica (β_1 : coeficiente de regressão linear; σ^2_{di} : variância dos desvios de regressão, R^2 : coeficiente de determinação) obtidas pelo método de Eberhart e Russel para as variáveis FIB e ATR t.ha⁻¹ de 25 genótipos avaliados na região canavieira do estado de Pernambuco.

Genótipos	FIB			ATR t.ha ⁻¹		
	β_1	σ^2_{di}	$R^2(\%)$	β_1	σ^2_{di}	$R^2(\%)$
Q138	0.80NS	-0.18NS	93.31	1.12NS	1.58*	81.79
RB72454	1.18NS	0.34*	37.24	1.11NS	-0.14NS	94.61
RB75126	1.15NS	-0.04NS	66.44	1.33NS	1.43*	87.05
RB863129	1.14NS	-0.16NS	90.00	1.03NS	-0.34NS	95.86
RB867515	0.75NS	-0.100NS	57.98	1.19NS	8.82**	55.08
RB872552	1.05NS	-0.12NS	78.80	0.96NS	-0.57NS	98.12
RB892700	0.86NS	0.03NS	42.91	0.87NS	0.51NS	83.49
RB92579	0.70NS	-0.10NS	56.30	1.72**	1.20*	92.66
RB928064	0.75NS	-0.07NS	52.10	1.00NS	0.84NS	83.99
RB93509	1.37NS	0.88**	28.63	0.56*	-0.33NS	87.34
RB942520	1.13NS	0.22NS	41.12	1.19NS	1.49*	84.1
RB942849	1.62NS	0.79**	38.01	0.40**	-0.70NS	98.83
RB942898	0.76NS	0.00NS	40.61	0.80NS	-0.05NS	88.79
RB942991	1.72NS	-0.16NS	95.20	0.72NS	-0.40NS	93.15
RB943066	0.51NS	0.85**	5.39	1.25NS	3.13**	77.09
RB943161	0.82NS	-0.12NS	67.12	0.41**	1.43*	39.88
RB943365	1.23NS	0.29NS	41.40	0.35**	3.41**	19.82
RB943538	1.01NS	-0.04NS	60.78	1.20NS	1.38*	85.04
RB952675	1.70NS	0.00NS	76.78	0.96NS	0.65NS	84.66
RB952900	0.66NS	-0.14NS	66.47	1.29NS	0.13NS	94.13
RB953180	2.29*	0.28NS	71.36	0.65*	0.51NS	73.91
RB953281	0.91NS	0.16NS	35.08	1.26NS	1.74*	84.29
SP784764	-0.05*	-0.14NS	1.02	1.22NS	2.13**	81.09
SP791011	0.33NS	0.11NS	7.55	1.24NS	3.23**	76.3
SP813250	0.49NS	0.01NS	20.92	1.04NS	0.25NS	90.11

**, *: significativo a 1% e 5% de probabilidade do erro, respectivamente, pelo teste t. ($H_0: \beta_{1i} = 1,0$)

e pelo teste F ($H_0: \sigma^2_{di} = 0$). NS: não significativo

Foi possível ainda classificar as microrregiões avaliadas em ambientes favoráveis e desfavoráveis pelas três metodologias empregadas (Tabela 15).

Tabela 15. Classificação das microrregiões canavieiras do estado de Pernambuco em ambientes favoráveis e desfavoráveis quanto a metodologia de Annichiarico (1992), Lin e Binns (1988) e Eberhart e Russel (1966).

Microrregiões	Variável	Média	Índice	Classe
Litoral Norte	TPH	12.70	1.19	Favorável
	TCH	90.19	1.87	Favorável
	FIB	13.55	-0.03	Desfavorável
	ATR t.ha ⁻¹	12.89	1.11	Favorável
Litoral Sul	TPH	12.40	0.88	Favorável
	TCH	95.84	7.52	Favorável
	FIB	14.04	0.42	Favorável
	ATR t.ha ⁻¹	12.95	1.16	Favorável
Região Centro	TPH	9.61	-1.90	Desfavorável
	TCH	73.67	-14.65	Desfavorável
	FIB	12.92	-0.67	Desfavorável
	ATR t.ha ⁻¹	9.76	-2.02	Desfavorável
Mata Norte	TPH	14.37	2.86	Favorável
	TCH	104.9	16.63	Favorável
	FIB	13.80	0.20	Favorável
	ATR t.ha ⁻¹	14.64	2.85	Favorável
Mata Sul	TPH	8.48	-3.03	Desfavorável
	TCH	76.95	-11.37	Desfavorável
	FIB	13.60	0.08	Favorável
	ATR t.ha ⁻¹	8.66	-3.11	Desfavorável

5.2. Série 95

De acordo com as análises de variância conjunta de experimentos foram observadas diferenças significativas para as variáveis toneladas de pol por hectare (TPH), toneladas de cana por hectare (TCH), Fibra (FIB), teor de sólidos solúveis (BRIX) e toneladas de açúcares totais recuperáveis por hectare (ATR t.ha⁻¹) entre todos os genótipos da série 95 avaliados nas cinco Microrregiões Canavieiras do Estado de Pernambuco (Tabela 16).

Tabela 16: Análise de variância conjunta de experimentos conduzidos nas Microrregiões Canavieiras do Estado de Pernambuco considerando as variáveis toneladas de pol por hectare (TPH t.ha⁻¹), toneladas de cana por hectare (TCH t.ha⁻¹), fibra (FIB %), pol% corrigida (PCC %), teor de sólidos solúveis (BRIX %), açúcar total recuperável (ATR kg/t) e toneladas de açúcares totais recuperáveis por hectare (ATR t.ha⁻¹) de genótipos de cana-de-açúcar da série 95.

Ambiente	Variáveis	Quadrados Médios			Resíduo	Média	CV(%)	H
		Genótipo	Cortes	G x C				
LN	TPH	78,27**	332,7**	4,83**	1,22	11,00	10,07	2,22
	TCH	2413,4**	17883,5**	152,5**	27,27	74,71	6,98	2,62
	FIB	12,82**	33,10**	1,75**	1,03	14,05	7,24	2,08
	PCC	11,75**	24,42**	1,88*	1,09	14,71	7,09	3,61
	BRIX	14,64**	75,66**	2,08 ^{ns}	1,47	20,36	5,95	2,96
	ATR	1289,3**	2639,6**	224,0**	126,87	150,87	7,46	3,70
	ATR t.ha ⁻¹	82,33**	366,94**	5,28**	1,35	11,30	10,30	2,19
LS	TPH	72,00**	280,59**	5,58**	1,69	9,57	13,58	6,76
	TCH	2710,58**	12386,51**	167,6**	45,57	65,20	10,35	4,65
	FIB	3,44*	75,40**	1,46 ^{ns}	1,05	13,29	7,73	1,68
	PCC	3,50 ^{ns}	150,81**	2,19**	1,21	14,75	7,47	3,08
	BRIX	3,07*	119,60**	1,55*	0,99	20,37	4,87	2,50
	ATR	431,77 ^{ns}	17540,72**	262,0**	150,03	150,74	8,12	3,33
	ATR t.ha ⁻¹	76,50**	292,0**	7,98**	2,80	9,80	17,08	7,00
MN	TPH	128,48**	409,70**	5,21**	1,16	11,61	9,30	2,12
	TCH	5986,09**	10161,67**	224,0**	45,99	92,12	7,36	2,32
	FIB	30,92**	10,25**	2,63**	1,27	13,86	8,15	2,95
	PCC	10,96**	111,07**	1,70**	0,90	12,45	7,62	2,54
	BRIX	9,79**	184,02**	1,94**	1,10	17,56	5,98	2,15
	ATR	1170,11**	10697,89**	167,14*	97,86	127,76	7,74	2,42
	ATR t.ha ⁻¹	135,82**	411,57**	5,36**	1,26	11,95	9,40	2,27
MS	TPH	38,41**	648,77**	6,56**	0,90	9,10	10,47	5,77
	TCH	1640**	35908,43**	244,1**	32,04	64,18	8,81	4,13
	FIB	25,00**	90,14**	1,88*	1,27	14,86	7,60	3,93
	PCC	3,94**	17,04**	1,13*	0,72	14,25	5,97	4,00
	BRIX	5,37**	30,16**	0,71*	0,46	19,76	3,44	1,28
	ATR	452,11**	1622,93**	113,16*	69,67	147,17	5,67	2,40
	ATR t.ha ⁻¹	41,80**	694,0**	7,04**	0,95	9,42	10,38	5,79

Tabela 16. Continuação...

RC	TPH	42,98**	253,00**	9,39**	0,72	7,85	10,68	3,99
	TCH	1974,43**	10565,58**	403,2**	44,23	61,83	10,75	8,09
	FIB	11,08*	2,94 ^{ns}	4,63**	0,99	14,50	6,88	1,54
	PCC	5,40*	68,99**	2,26**	0,55	12,54	5,93	1,96
	BRIX	6,51*	50,93**	2,87**	0,82	18,73	4,83	1,82
	ATR	525,73*	7509,30**	212,3**	56,16	127,00	5,90	1,64
	ATR t.ha ⁻¹	43,20**	254,10**	9,38**	0,73	7,96	10,68	4,41

LN: Litoral Norte, LS: Litoral Sul, MN: Mata Norte, MS: Mata Sul e RC: Região Centro

G x C: Interação genótipo x corte

CV(%): Coeficiente de variação experimental

H: Teste F máximo de Hartley

**, * significativo a 1 e 5% de probabilidade respectivamente pelo teste F

Em relação as variáveis pol% corrigida (PCC) e açúcares totais recuperáveis (ATR) só não houve diferenças significativas entre os genótipos avaliados no Litoral Sul de Pernambuco. Para os ciclos de colheita considerados, isto é, cortes de cana planta, soca, ressoca e ressoca 2 (Tabela 16), observou-se diferenças significativas para todas as variáveis em questão, com exceção da variável FIB na Microrregião Centro de Pernambuco. Em relação a interação genótipo x corte (ciclos de colheita), foi observado diferenças significativas para todas as variáveis entre os genótipos avaliados nas cinco Microrregiões Canavieiras, já para as variáveis BRIX, no Litoral Norte e FIB no Litoral Sul, os genótipos não se mostraram influenciados pelos ciclos de colheita.

Através do Teste de Scott e Knott aplicado (Tabela 17), observa-se a formação de grupos de genótipos superiores em toda a Região Canavieira do Estado de Pernambuco.

Tabela 17: Agrupamento de médias referentes aos caracteres toneladas de pol por hectare (TPH t.ha⁻¹), toneladas de cana por hectare (TCH t.ha⁻¹), fibra (FIB %), pol% corrigida (PCC %), teor de sólidos solúveis (BRIX %), açúcar total recuperável (ATR kg/t) e toneladas de açúcares totais recuperáveis por hectare (ATR t.ha⁻¹) de genótipos de cana-de-açúcar da série 95 avaliados em experimentos conduzidos nas Microrregiões Canavieiras do Estado de Pernambuco.

	Genótipos	Variáveis						
		TPH t.ha ⁻¹	TCH t.ha ⁻¹	FIB%	PCC%	BRIX%	ATR kg/t	ATR t.ha ⁻¹
LN	SP79-1011	14,46a	95,62a	13,91b	15,15a	20,69a	155,97a	14,92a
	RB952692	13,44a	87,37a	12,54b	15,42a	20,64a	158,14a	13,81a
	RB952675	13,17a	89,43a	13,70b	14,83a	20,53a	151,52a	13,48a
	RB813804	12,74b	81,31b	14,55a	15,71a	21,39a	162,32a	13,18a
	RB763710	12,01b	83,81b	12,98b	14,51a	19,87a	148,27a	12,29b
	RB952571	11,64b	78,68b	14,09b	14,98a	21,07a	152,27a	11,87b
	RB952522	11,07c	73,31c	13,95b	15,14a	21,23a	154,21a	11,32c
	RB952749	10,64c	72,25c	15,18a	14,84a	20,95a	151,91a	10,90c
	RB952681	10,30c	68,62c	14,91a	15,07a	20,95a	154,95a	10,64c
	RB72454	10,23c	68,06c	12,85b	15,25a	20,37a	156,97a	10,55c
	RB952796	10,10c	67,68c	14,60a	14,90a	20,50a	153,60a	10,45c
	RB952826	10,09c	70,43c	15,10a	14,30a	20,04a	147,24a	10,44c
	RB952517	7,86d	59,62d	13,70b	13,59b	19,03b	137,84b	8,05d
	RB952754	6,12e	49,81e	15,12a	12,36b	17,81b	126,95b	6,33e
LS	RB813804	12,96a	83,12a	13,64a	15,72a	21,28a	161,90a	13,36a
	SP78-4764	11,77a	81,06a	13,77a	14,64a	20,48a	149,18a	12,02a
	RB962675	11,69a	76,81a	12,50a	15,19a	20,52a	155,28a	11,96a
	RB952522	10,53a	72,81b	13,14a	14,56a	20,35a	148,67a	10,74a
	RB952692	10,34a	71,15b	13,08a	14,68a	20,23a	149,94a	10,57a
	SP79-1011	10,32a	70,37b	13,22a	14,84a	20,33a	152,31a	10,61a
	RB952511	10,30a	68,81b	12,31a	15,00a	20,36a	152,99a	10,52a
	RB953265	10,23a	66,50b	13,60a	15,42a	21,08a	158,26a	10,50a
	RB952754	10,07a	69,50c	13,42a	14,63a	20,32a	149,29a	10,29a
	RB952796	8,75a	61,00c	13,60a	14,52a	20,20a	148,36a	8,97b
	RB952904	7,58a	52,43c	13,21a	14,64a	20,43a	149,04a	7,72b
	RB952517	7,36a	53,25c	12,98a	14,03a	19,60a	142,83a	7,52b
	RB953002	6,54a	46,93d	13,88a	14,02a	19,68a	143,09a	6,70b
	RB953133	5,60a	39,02d	13,66a	14,62a	20,38a	149,18 ^a	5,72b

Tabela 17. Continuação...

MN	RB952675	15,71a	117,31a	13,06b	13,44a	18,35a	138,01a	16,16a
	RB813804	14,60a	102,50b	13,97b	14,21a	19,46a	146,25a	15,03a
	RB952875	14,58a	108,68b	11,84b	13,38a	17,97a	137,18a	14,98a
	SP79-1011	13,47b	102,87b	13,31b	13,05a	18,10a	133,89a	13,84b
	RB763710	13,47b	108,87b	12,65b	12,31b	17,21a	125,81b	13,76b
	RB942898	12,52c	102,18b	13,80b	12,17b	17,10a	125,14b	12,89b
	RB953155	12,50c	105,68c	12,77b	11,72b	16,34a	120,70b	12,88b
	RB72454	11,47c	88,75c	12,78b	12,96b	17,75a	132,89b	11,77c
	RB952884	11,29c	92,50c	16,14a	12,19b	17,66a	125,60b	11,67c
	RB952514	10,24d	84,12c	15,33a	12,05b	17,65a	123,26b	10,49d
	RB952517	10,23d	86,31c	12,48b	11,72b	16,59a	119,83b	10,48d
	RB952609	89,59e	78,18d	16,00a	11,33b	17,26a	116,23b	9,20e
	RB953245	79,93e	66,56e	14,60a	11,70b	17,01a	120,90b	8,22e
	CP851491	55,13f	45,12f	15,24a	11,98b	17,39a	122,97b	5,67f
MS	SP78-4764	11,60a	82,37a	15,25b	13,92a	20,11a	145,24b	12,09a
	SP80-1816	10,64a	69,75b	14,99b	15,37a	21,01a	159,19a	11,03a
	RB952511	10,44a	76,50a	14,89b	13,74a	19,24b	141,33b	10,75a
	SP79-1011	10,23a	67,68b	14,46b	15,06a	20,47a	155,74a	10,62a
	RB952749	9,75b	68,62b	15,83a	14,26a	19,92b	147,42b	10,11b
	RB952692	9,73b	70,06b	12,71c	14,13a	18,89b	145,54b	10,04b
	RB952571	9,44b	67,12b	15,00b	14,17a	19,77b	145,84b	9,74b
	RB952681	9,20b	62,68b	15,01b	14,82a	20,29a	153,54a	9,55b
	RB952522	9,05b	64,18b	13,72c	14,19a	19,35b	146,09b	9,34b
	RB952675	8,69b	61,37b	14,52b	14,27a	19,58b	147,20b	9,01b
	RB952517	8,64b	61,75b	12,72c	14,13a	19,05b	145,01b	8,91b
	RB952609	6,93c	51,00c	17,37a	13,73a	19,86b	141,75b	7,17c
	RB952754	6,83c	50,37c	16,19a	13,79a	19,42b	142,67b	7,06c
	RB952597	6,21c	45,12c	15,42b	13,97a	19,64b	143,82b	6,41c
RC	RB813804	9,85a	71,33b	15,23b	13,46a	19,94 ^a	136,25a	9,98a
	RB763710	9,82a	78,41a	13,31c	12,46b	18,37b	125,84b	9,91a
	RB892575	9,71a	76,83a	14,54b	12,42b	18,53b	126,16b	9,87a
	RB953265	9,51a	70,66b	14,16c	13,30a	19,92a	133,26a	9,54a
	SP79-1011	9,19a	68,58b	13,71c	13,21a	19,19a	133,65a	9,33a
	RB943365	8,02b	63,41c	14,93b	12,70a	18,92a	128,61a	8,13b
	RB953270	7,84b	62,83c	13,45b	12,45b	18,30b	125,86b	7,96b
	RB953206	7,64b	57,41c	14,66b	13,18a	19,33a	133,57a	7,76b
	IAC893143	7,42b	62,83c	13,60c	11,71b	17,62b	118,49b	7,51b
	RB953245	5,31c	47,75d	16,73a	11,21b	18,00b	113,75b	5,39c
	RB953214	5,05c	42,00d	14,64b	12,20b	18,20b	123,71b	5,15c

CP851491	4,86c	39,91d	15,09b	12,31b	17,62b	124,79b	4,97c
----------	-------	--------	--------	--------	--------	---------	-------

LN: Litoral Norte, LS: Litoral Sul, MN: Mata Norte, MS: Mata Sul e RC: Região Centro

Médias seguidas da mesma letra na coluna pertencem ao mesmo grupo pelo teste de Scott e Knott a nível de 5% de probabilidade

Em relação aos parâmetros genéticos avaliados (Tabela 18), constata-se para as variáveis TPH, TCH e ATR t.ha⁻¹ variância genética elevada e superior a variância da interação genótipo x corte em todas as Microrregiões avaliadas.

Tabela 18: Parâmetros Genéticos referentes aos caracteres toneladas de pol por hectare (TPH t.ha⁻¹), toneladas de cana por hectare (TCH t.ha⁻¹), fibra (FIB %), pol% corrigida (PCC %), teor de sólidos solúveis (BRIX %), açúcar total recuperável (ATR kg/t) e toneladas de açúcares totais recuperáveis por hectare (ATR t.ha⁻¹) de genótipos de cana-de-açúcar da série 95 avaliados em experimentos conduzidos nas Microrregiões Canavieiras do Estado de Pernambuco.

Ambientes	Variáveis	Parâmetros Genéticos				
		ϕ_g^2	$\hat{\sigma}_{gc}^2$	H ²	CVg	CVg / CVe
LN	TPH	4,59	0,83	94	19,48	2,0
	TCH	141,32	29,08	94	16,00	2,27
	FIB	0,69	0,16	86	5,92	0,82
	PCC	0,61	0,18	84	5,33	0,75
	BRIX	0,78	0,14	86	5,33	0,75
	ATR	68,0	23,0	82	5,40	0,72
	ATR t.ha ⁻¹	4,82	0,91	94	19,40	1,88
LS	TPH	4,15	0,90	92	21,27	1,56
	TCH	158,94	28,33	94	19,33	1,86
	FIB	0,12	0,09	57	2,64	0,34
	PCC	0,08	0,23	38	1,94	0,26
	BRIX	0,09	0,13	50	1,51	0,31
	ATR	10,60	26,0	30	2,16	0,26
	ATR t.ha ⁻¹	4,28	1,20	90	21,10	1,23

Tabela 18:Continuação...

MN	TPH	7,70	0,94	95	23,89	2,57
	TCH	360,12	41,33	96	20,60	2,79
	FIB	1,76	0,31	91	9,59	1,17
	PCC	0,57	0,18	84	6,10	0,80
	BRIX	0,49	0,19	80	3,98	0,66
	ATR	62,68	16,08	85	6,19	0,80
	ATR t.ha ⁻¹	8,15	0,95	96	23,92	2,54
MS	TPH	1,99	1,31	83	15,49	1,47
	TCH	87,24	49,24	85	14,55	1,65
	FIB	1,44	0,14	92	8,08	1,06
	PCC	0,17	0,09	71	2,93	0,49
	BRIX	0,29	0,05	86	2,73	0,79
	ATR	21,18	10,09	75	3,12	0,55
	ATR t.ha ⁻¹	2,17	1,14	83	15,64	1,50
RC	TPH	2,79	1,98	78	21,29	1,96
	TCH	130,88	82,4	80	18,50	1,72
	FIB	0,53	0,83	58	5,05	0,73
	PCC	0,26	0,39	58	4,06	0,69
	BRIX	0,30	0,47	56	2,93	0,61
	ATR	26,11	35,79	56	4,02	0,68
	ATR t.ha ⁻¹	2,81	1,98	78	21,08	1,97

LN: Litoral Norte, LS: Litoral Sul, MN: Mata Norte, MS: Mata Sul e RC: Região Centro

σ_g^2 : Componente de variância genética $\hat{\sigma}_{gc}^2$: Componente de variância da interação genótipo

corte

h^2 : Determinação genotípica em nível de média

CV_g : Coeficiente de variação genético.

CV_g / CV_e : Índice b

Para as variáveis PCC, BRIX e ATR, a variância genética foi de magnitude superior a variância da interação genótipo x corte. Para as Microrregiões do Litoral Norte, Mata Norte e Mata Sul, pois nessas com relação a variável FIB, somente para a Microrregião Centro não é possível selecionar genótipos superiores (Tabela 18). Os valores dos coeficientes de herdabilidade média foram

elevados para as variáveis TPH, TCH e ATR t.ha⁻¹ em todas as microrregiões avaliadas (> 75%).

Ainda em relação aos coeficientes de herdabilidade média, observa-se valores elevados para as variáveis FIB, PCC, BRIX e ATR nas condições edafoclimáticas do Litoral Norte, Mata Norte e Mata Sul de Pernambuco.

Também para os caracteres TPH, TCH e ATR t.ha⁻¹ foi verificado que os valores dos coeficientes de variação genético foram estimados acima de 10% e os valores do índice b acima da unidade em todas as Microrregiões avaliadas.

Os coeficientes de repetibilidade (Tabela 19) apresentaram-se superiores a 0,5 para as variáveis TPH, TCH e ATR t.ha⁻¹ em toda a Região Canavieira do Estado de Pernambuco com as três metodologias empregadas. Entretanto, nas Microrregiões Litoral Norte e Litoral Sul, os valores foram superiores a 0,75. E na microrregião da Mata Norte as estimativas do coeficiente de repetibilidade foram excelentes pelas três metodologias empregadas com valores acima de 0,85.

Tabela 19: Estimativa dos coeficientes de repetibilidade referentes aos caracteres toneladas de pol por hectare (TPH t.ha⁻¹), toneladas de cana por hectare (TCH t.ha⁻¹), fibra (FIB %), pol% corrigida (PCC %), teor de sólidos solúveis (BRIX %), açúcar total recuperável (ATR kg/t) e toneladas de açúcares totais recuperáveis por hectare (ATR t.ha⁻¹) de genótipos de cana-de-açúcar da série 95 avaliados em experimentos conduzidos nas Microrregiões Canavieiras do Estado de Pernambuco.

Ambientes	Variáveis	ANOVA		CP		AE	
		R	R ²	r	R ²	r	R ²
LN	TPH	0,79	94,00	0,82	95,00	0,80	94,34
	TCH	0,79	93,67	0,83	95,01	0,79	94,00
	FIB	0,61	86,34	0,63	87,00	0,62	87,00
	PCC	0,57	84,00	0,63	87,00	0,62	87,00
	BRIX	0,60	86,00	0,69	90,00	0,63	87,00
	ATR	0,54	82,00	0,58	84,00	0,56	84,00
	ATR t.ha ⁻¹	0,78	94,00	0,81	95,00	0,80	94,00
LS	TPH	0,75	92,00	0,79	94,00	0,79	94,00
	TCH	0,79	94,00	0,81	95,00	0,82	95,00
	FIB	0,25	57,00	0,27	61,00	0,28	61,10
	PCC	0,13	38,00	0,18	48,00	0,14	39,00
	BRIX	0,19	49,00	0,28	61,00	0,18	47,00
	ATR	0,13	39,00	0,21	52,00	0,14	40,00
	ATR t.ha ⁻¹	0,74	92,00	0,79	94,00	0,79	93,00
MN	TPH	0,85	96,00	0,86	96,00	0,86	96,00
	TCH	0,86	96,00	0,87	96,00	0,87	96,00
	FIB	0,73	91,00	0,75	92,00	0,74	92,00
	PCC	0,58	84,00	0,65	88,00	0,61	86,00
	BRIX	0,50	80,00	0,61	86,00	0,56	84,00
	ATR	0,60	86,00	0,65	88,00	0,63	87,00
	ATR t.ha ⁻¹	0,86	96,00	0,87	96,00	0,87	96,00
MS	TPH	0,55	82,00	0,61	86,00	0,62	87,00
	TCH	0,59	85,00	0,62	87,00	0,65	88,00
	FIB	0,75	92,00	0,85	96,00	0,81	94,00
	PCC	0,38	71,00	0,40	72,00	0,43	76,00
	BRIX	0,62	87,00	0,72	91,00	0,62	87,00
	ATR	0,43	75,00	0,47	78,00	0,46	77,00
	ATR t.ha ⁻¹	0,55	83,00	0,61	86,00	0,63	87,00
	TPH	0,54	78,00	0,93	97,00	0,59	78,00
	TCH	0,62	83,00	0,90	96,00	0,70	87,00
	FIB	0,31	58,00	0,40	67,00	0,36	63,00

RC	PCC	0,31	58,00	0,63	84,00	0,26	52,00
	BRIX	0,30	56,00	0,57	80,00	0,26	51,00
	ATR	0,33	60,00	0,64	84,00	0,27	53,00
	ATR t.ha ⁻¹	0,55	78,00	0,93	97,00	0,60	78,00

LN: Litoral Norte, LS: Litoral Sul, MN: Mata Norte, MS: Mata Sul e RC: Região Centro

r: Coeficiente de repetibilidade

R²: Coeficiente de determinação

As estimativas dos números de medições necessárias para a seleção de genótipos com 80%, 90% e 95% de previsibilidade dos seus valores reais estão apresentados na tabela 20.

Tabela 20: Número de medições necessárias para a seleção de genótipos superiores de cana-de-açúcar em relação aos caracteres toneladas de pol por hectare (TPH t.ha⁻¹), toneladas de cana por hectare (TCH t.ha⁻¹), fibra (FIB %), pol% corrigida (PCC %), teor de sólidos solúveis (BRIX %), açúcar total recuperável (ATR kg/t) e toneladas de açúcares totais recuperáveis por hectare (ATR t.ha⁻¹) de genótipos da série 95 avaliados em experimentos conduzidos nas Microrregiões Canavieiras do Estado de Pernambuco.

		ANOVA			CP			AE		
	Variáveis	R ² =0,8	R ² =0,9	R ² =0,95	R ² =0,8	R ² =0,9	R ² =0,95	R ² =0,8	R ² =0,9	R ² =0,95
LN	TPH	1,05	2,36	5,0	0,87	1,97	4,1	0,96	2,15	4,5
	TCH	1,08	2,42	5,0	0,84	1,88	3,9	1,01	2,33	4,9
	FIB	2,53	5,69	12,0	2,39	5,39	11,39	2,51	5,62	11,88
	PCC	3,06	6,99	14,0	2,41	5,42	11,45	2,77	6,23	13,15
	BRIX	2,66	5,98	12,64	1,83	2,60	8,73	2,30	5,18	1,00
	ATR	3,36	7,57	16,00	2,78	6,26	13,21	3,12	7,02	14,83
	ATR t.ha ⁻¹	1,10	2,46	5,20	0,90	2,04	4,31	0,99	2,24	4,73
LS	TPH	1,34	3,02	6,39	1,02	2,31	4,89	1,03	2,33	4,91
	TCH	1,05	2,37	5,01	0,88	1,98	4,18	0,88	1,99	4,20
	FIB	11,89	26,76	56,50	8,87	19,96	42,13	10,18	22,91	48,37
	PCC	26,61	59,18	126,41	17,39	39,14	82,00	24,79	55,79	117,78
	BRIX	16,32	36,72	77,52	10,10	22,73	48,00	17,67	39,77	84,00
	ATR	24,70	55,58	117,35	14,92	33,57	71,00	23,67	53,27	112,00
	ATR t.ha ⁻¹	1,39	3,14	6,63	1,06	2,39	5,06	1,07	2,41	5,09

Tabela 20: Continuação...

MN	TPH	0,68	1,52	3,21	0,63	1,42	3,01	0,63	1,43	3,01
	TCH	0,62	1,40	2,96	0,59	1,34	2,84	0,60	1,35	2,86
	FIB	1,48	3,34	7,06	1,32	2,97	6,26	1,40	3,16	6,69
	PCC	2,93	6,61	13,95	2,19	4,93	10,40	2,54	5,73	12,10
	BRIX	3,96	9,91	18,81	2,53	5,70	12,40	3,13	7,04	14,87
	ATR	2,66	6,00	12,66	2,10	2,97	9,98	2,34	5,27	11,26
	ATR t.ha ⁻¹	0,65	1,48	3,12	0,60	1,37	2,88	0,60	1,36	2,89
MS	TPH	3,33	7,42	15,67	2,55	5,75	12,15	2,42	5,45	11,50
	TCH	2,79	6,29	13,29	2,14	4,81	10,16	2,19	4,93	10,41
	FIB	1,30	2,93	6,19	0,73	1,64	3,48	0,96	2,17	4,59
	PCC	6,46	14,54	30,70	3,43	8,87	18,76	5,15	11,60	24,48
	BRIX	2,46	5,54	11,70	1,58	3,57	7,54	2,46	5,54	11,70
	ATR	5,34	12,02	25,37	3,81	8,57	18,10	4,70	10,58	22,34
	ATR t.ha ⁻¹	3,24	7,30	15,41	2,28	5,14	10,85	2,35	5,29	11,7
RC	TPH	3,35	7,55	15,94	0,32	0,72	1,53	2,74	6,16	13,02
	TCH	2,41	5,42	11,45	0,44	1,00	2,12	1,66	3,74	7,91
	FIB	8,63	19,42	41,00	5,97	13,43	28,36	7,09	15,95	33,68
	PCC	8,68	19,54	41,00	2,35	5,29	11,18	11,10	24,77	52,73
	BRIX	9,48	21,35	45,04	3,06	6,90	14,57	11,59	26,09	55,09
	ATR	8,13	18,29	38,62	2,27	5,12	10,82	10,85	24,42	51,55
	ATR t.ha ⁻¹	3,33	7,49	15,81	0,32	0,72	1,53	2,65	5,97	12,60

LN: Litoral Norte, LS: Litoral Sul, MN: Mata Norte, MS: Mata Sul e RC: Região Centro

ANOVA: Análise de variância CP: Componentes principais AE: Análise estrutural

Na estimativa do número de medições, o método dos componentes principais mostrou-se superior aos métodos da anova e da análise estrutural para a seleção de genótipos superiores em relação a variável PCC nas Microrregiões Mata Sul e Região Centro, mostrou-se superior também em relação a variável BRIX nas Microrregiões Mata Norte e Região Centro e ainda em relação a ATR nas Microrregiões Mata Sul e Região Centro.

Houve também regularidade na repetição dos caracteres FIB, PCC, BRIX e ATR nos genótipos avaliados no Litoral Norte e na Mata Norte de Pernambuco

pelas três metodologias empregadas. Na Mata Sul, houve também regularidade na repetição dos caracteres FIB e BRIX pelas três metodologias. Já na microrregião Centro, somente foi detectada regularidade na repetição dos caracteres PCC, BRIX e ATR pela metodologia dos componentes principais.

A estabilização genotípica demonstrou haver correlação satisfatória entre as medições para os caracteres TPH, TCH e ATR t.ha⁻¹. (Tabela 21).

Tabela 21. Estabilização Genotípica de genótipos de cana-de-açúcar em relação aos caracteres toneladas de pol por hectare (TPH t.ha⁻¹), toneladas de cana por hectare (TCH t.ha⁻¹), fibra (FIB %), pol% corrigida (PCC %), teor de sólidos solúveis (BRIX %), açúcar total recuperável (ATR kg/t) e toneladas de açúcares totais recuperáveis por hectare (ATR t.ha⁻¹) avaliados em experimento conduzido na Microrregião Canavieira do Litoral Sul de Pernambuco.

Variável	Correlação / N° Medições	ANOVA	R ²	CP	R ²
TPH	1-2	0,82	89,91	0,88	93,47
	2-3	0,64	78,39	0,66	79,62
	3-4	0,85	92,15	0,89	94,26
	1-3	0,72	88,41	0,75	89,97
	2-4	0,73	89,23	0,81	92,57
	1-4	0,75	92,24	0,80	93,95
TCH	1-2	0,87	93,22	0,88	93,64
	2-3	0,72	83,92	0,73	84,11
	3-4	0,84	91,23	0,88	93,77
	1-3	0,78	91,37	0,78	91,56
	2-4	0,78	91,35	0,83	93,42
	1-4	0,79	93,81	0,82	94,78
FIB	1-2	-0,07	0	0,07	13,69
	2-3	0,26	41,00	0,26	41,38
	3-4	0,34	51,20	0,35	51,74
	1-3	0,13	31,16	0,16	36,97
	2-4	0,27	52,60	0,28	54,20
	1-4	0,25	57,35	0,31	64,33

Tabela 21: Continuação...

PCC	1-2	0,16	27,72	0,16	2,77
	2-3	-0,08	0	0,08	1,40
	3-4	0,04	7,58	0,04	7,71
	1-3	0,06	15,12	0,08	20,84
	2-4	0,10	23,96	0,18	39,62
	1-4	0,13	37,54	0,18	46,87
BRIX	1-2	0,20	32,91	0,20	3,29
	2-3	0,07	13,17	0,07	13,55
	3-4	0,02	3,71	0,02	3,75
	1-3	0,09	23,65	0,10	25,65
	2-4	0,23	46,57	0,27	52,23
	1-4	0,20	49,50	0,24	55,32
ATR	1-2	0,22	35,65	0,22	35,74
	2-3	-0,09	0	0,09	17,08
	3-4	0,00	0	0,00	0,07
	1-3	0,07	19,42	0,11	26,81
	2-4	0,09	22,87	0,20	42,99
	1-4	0,14	3,93	0,19	49,20
ATR t.ha ⁻¹	1-2	0,81	89,34	0,87	93,28
	2-3	0,63	77,61	0,65	79,01
	3-4	0,85	91,72	0,88	93,69
	1-3	0,71	87,99	0,74	89,73
	2-4	0,73	88,87	0,80	92,29
	1-4	0,74	91,97	0,79	93,75

5.3. Análises Bioquímicas e Fisiológicas

Em relação à análise bioquímica (Tabela 22), verifica-se que os tratamentos RB867515 e RB061047 submetidos ao estresse hídrico apresentaram comportamentos distintos quanto ao acúmulo de carboidratos e prolina.

Tabela 22. Análise bioquímica do cultivar RB867515 e do clone RB061047 avaliados em condições de sequeiro na fase de multiplicação (FM) na área agrícola da usina Santa Teresa, engenho Japumin durante o ano agrícola 2012/2013.

	Aminoácidos	Carboidratos	Prolina	Proteína
RB867515	9,47510 ab	128,92190 a	0,09795 b	332,49250 ab
RB061047	7,75352 b	94,77950 b	0,13070 a	201,69760 b

Médias seguidas das mesmas letras na coluna não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade do erro.

Quanto a análise do teor de clorofila e carotenoides (Tabela 23), não houve diferenças significativas entre os tratamentos, indicando que apresentaram basicamente o mesmo comportamento no acúmulo de pigmentos fotossintetizantes.

Tabela 23. Análise do teor de clorofila e carotenoides do cultivar RB867515 e do clone RB061047 avaliados em condições de sequeiro na fase de multiplicação (FM) na área agrícola da usina Santa Teresa, engenho Japumin durante o ano agrícola 2012/2013.

Tratamentos	Clorofila a	Clorofila b	Clorofila Total	Carotenóides	SPAD pi	SPAD folha +1
RB061047	1.91a	1.79a	3.72a	0.70a	32.74a	32.90a
RB867515	1.97a	1.75a	3.73a	0.74a	36.18a	33.78a

Medias seguidas da mesma letra na coluna não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade do erro. pi: planta inteira

Na análise das variáveis observadas nas medições da fluorescência da clorofila *a* foi observada diferenças significativas para a fluorescência inicial e fluorescência máxima (Tabela 24).

Tabela 24. Análise da fluorescência inicial, fluorescência máxima e eficiência quântica do fotossistema II do cultivar RB867515 e do clone RB061047 avaliados em condições de sequeiro na fase de multiplicação (FM) na área agrícola da usina Santa Teresa, engenho Japumin durante o ano agrícola 2012/2013.

Tratamentos	Fo	Fm	Fv/m
RB061047	48,00b	221,22b	0,78a
RB867515	57,00a	253,00a	0,77a

Medias seguidas da mesma letra na coluna não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade do erro. pi: planta inteira

Na análise das trocas gasosas (Tabela 25), observa-se diferenças significativas entre os tratamentos quanto a fotossíntese e eficiência no uso de água.

Tabela 25. Análise da transpiração foliar (E), condutância estomática (gs), fotossíntese líquida (A) e eficiência do uso de água (A/E) do cultivar RB867515 e do clone RB061047 avaliados em condições de sequeiro na fase de multiplicação (FM) na área agrícola da usina Santa Teresa, engenho Japumin durante o ano agrícola 2012/2013.

Tratamentos	E	gs	A	A/E
RB061047	5.27 ^a	0.36a	24.01a	4.65a
RB867515	5.80 ^a	0.22a	16.30b	2.84b

Medias seguidas da mesma letra na coluna não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade do erro. pi: planta inteira

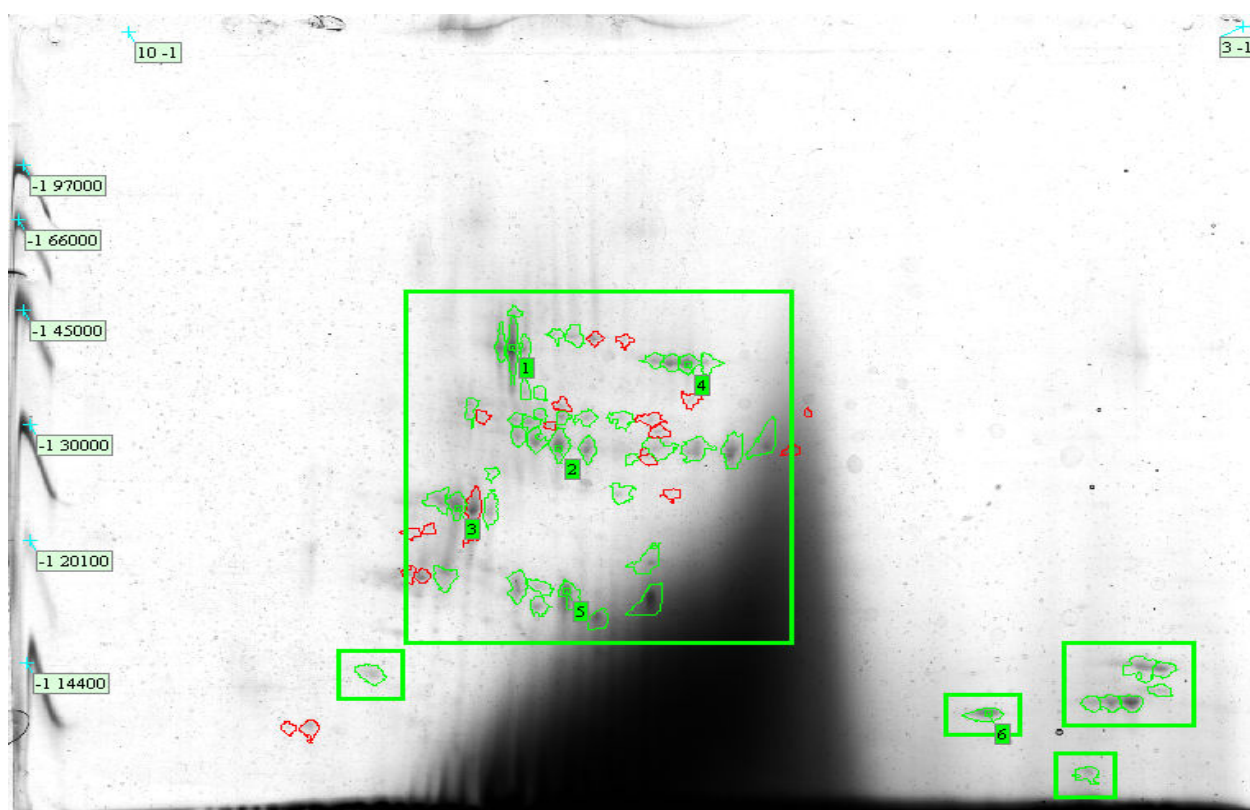
5.4. Análise Proteômica

A extração pelo método de Hurkman e Tanaka (1986) se mostrou eficiente, pois conseguiu extrair quantidade satisfatória de proteínas em ambos os tratamentos para posterior análise 2D. Os valores médios da concentração de proteínas das três réplicas biológicas variaram de 0,400 µg/µL a 0,814 µg/µL.

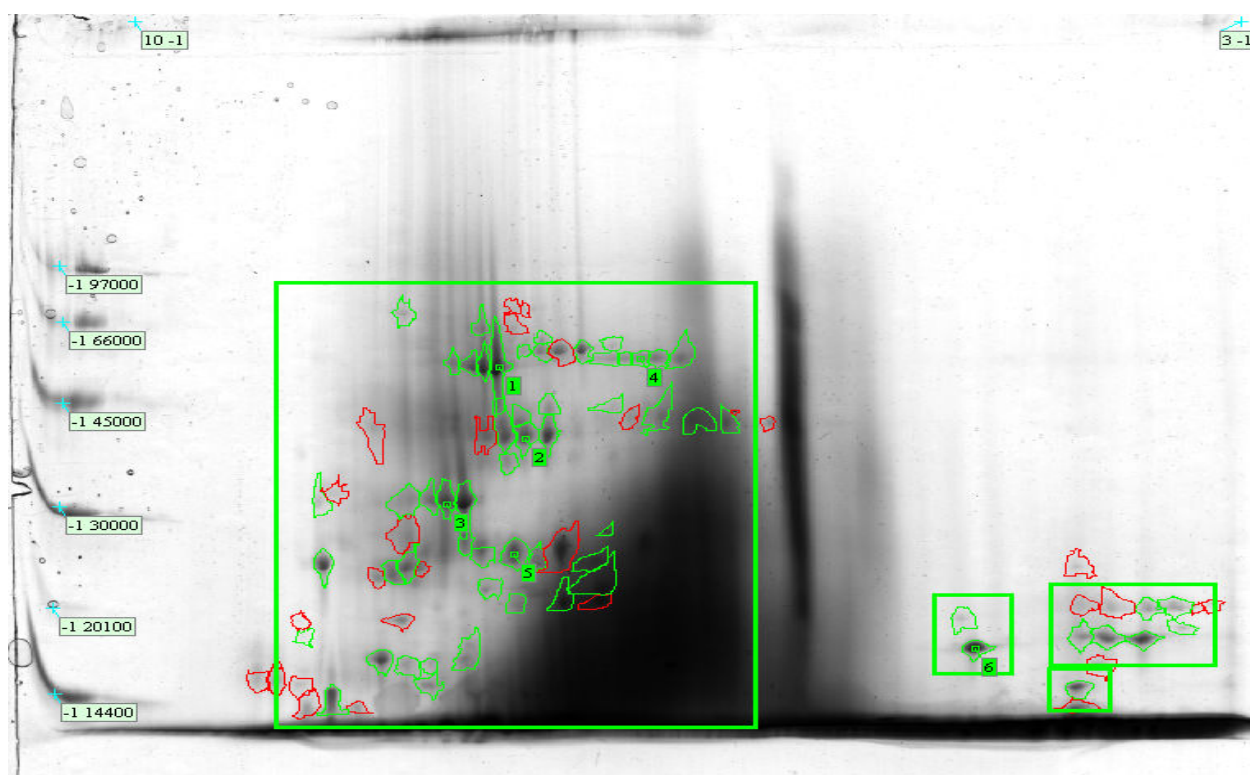
As proteínas extraídas mostraram-se íntegras e de excelente qualidade sendo feito em seguida géis 2D de três réplicas biológicas de cada tratamento considerado (Figura 8).



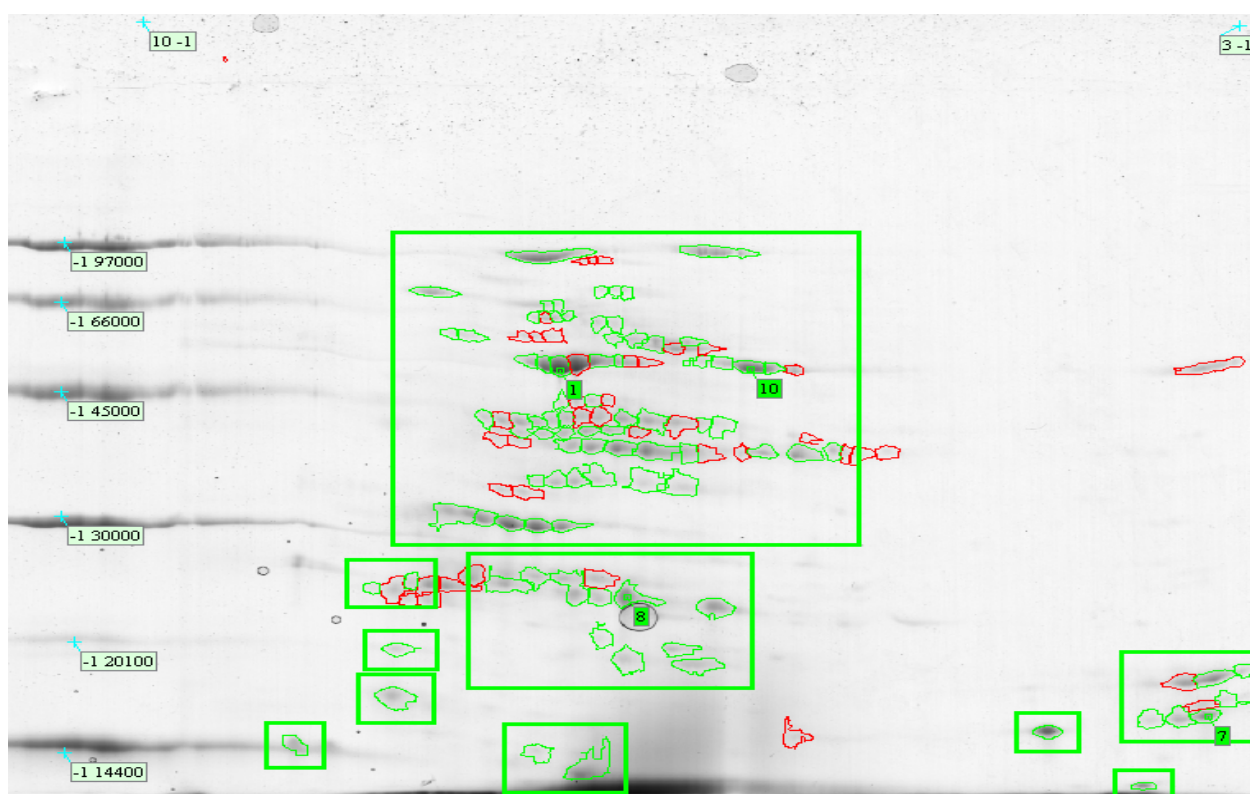
A



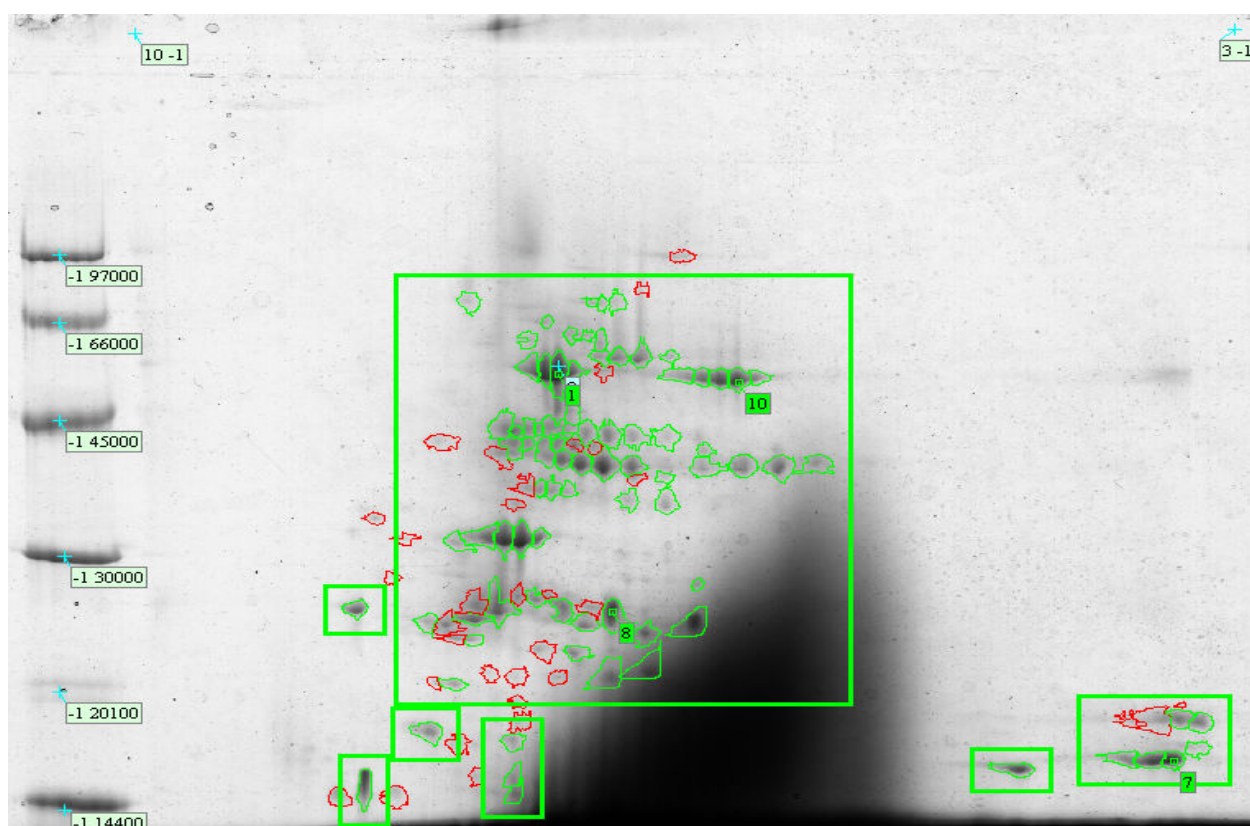
B



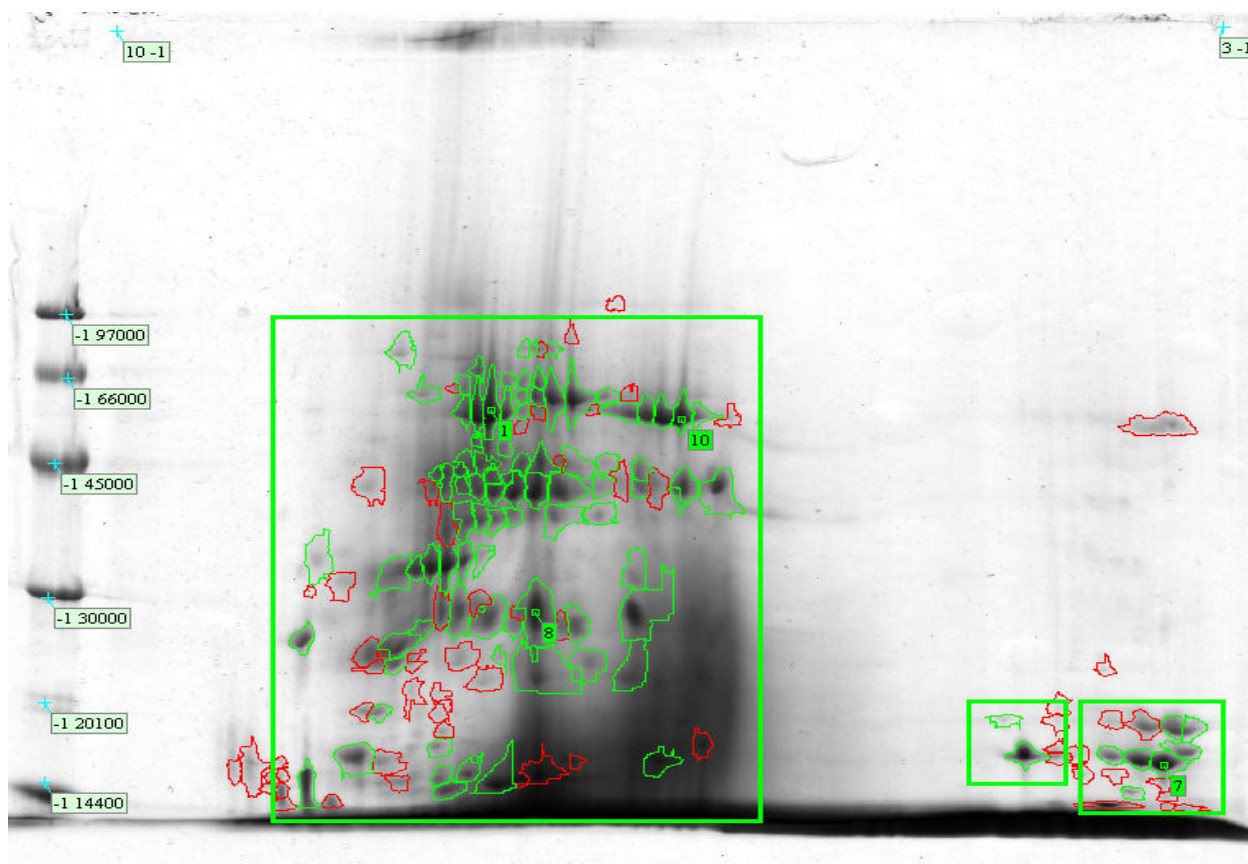
C



D



E



F

Figura 8. Géis 2D-PAGE (poliacrilamida 12,5%) de proteínas totais da folha +1 de cana-de-açúcar em condições de campo cultivadas sob estresse por déficit hídrico corados com *Coomassie blue*. As proteínas foram separadas em fitas IPG de 11cm com pH de 3 a 10. Em A, B e C três réplicas biológicas do clone oriundo de autofecundação RB061047. Em D, E e F três réplicas biológicas do cultivar comercial RB867515 (tolerante as estresse hídrico).

Nesses géis 2D foi observado um perfil proteômico semelhante entre os genótipos avaliados.

Foram identificados um total de 689 spots, sendo 281 do clone oriundo de autofecundação e 408 do cultivar comercial RB867515. Desses, foram selecionados para identificação um total de sete spots com a razão de variação da porcentagem de volume $\geq 1,5$ e ANOVA $\leq 0,05$. Nessa condição, verificou-se a

expressão de três spots comuns em ambos os tratamentos e de quatro spots exclusivos no cultivar comercial RB867515 (Tabela 26).

Tabela 26. Número de spots comuns e exclusivos identificados no programa Image Master 2D Platinum v7.05 (GE Life Sciences) em três réplicas biológicas em condições de estresse por déficit hídrico em cana-de-açúcar no cultivar RB867515 (tolerante) e no clone oriundo de autofecundação RB061047.

Match ID	Ratio	Match Count	RB061047	RB867515	Anova	MS
24	1.65	2(comum)	1.64674	-1.64674	0.0230351	1
51	5.61	2(comum)	-5.61119	5.61119	0.0149588	1
81	6.45	2(comum)	-6.44668	6.44668	0.0423149	1
113	1.00E+06	1*	1.00E+06	1.00E+06	0.00749339	1
114	1.00E+06	1*	1.00E+06	1.00E+06	4.34E-04	1
130	1.00E+06	1*	1.00E+06	1.00E+06	0.0253144	1
131	1.00E+06	1*	1.00E+06	1.00E+06	0.034568	1

*Spots exclusivos do clone RB867515 oriundo de autofecundação

Dentre os sete spots selecionados para digestão e identificação via espectrometria de massas, todos foram identificados com êxito. A sequência de aminoácidos desses peptídeos identificados foram confrontadas no banco de dados e apresentam elevada correlação com peptídeos de plantas (Tabela 27).

Tabela 27. Peptídeos expressos em cana-de-açúcar em condições de estresse por déficit hídrico no cultivar RB867515 (tolerante) e no clone oriundo de autofecundação RB061047.

Spot ID	Match ID	Peptídeo	Abreviatura	Score	Espécie	Anova
244	51	ATP sintase subunidade alfa	ATPA	118	<i>Zea mays</i>	0.032
222	24	Frutose bifosfato aldolase	FBA	74	<i>Zea mays</i>	0.035
*228	130	Proteína YAB 2	YAB 2	63	<i>Oryza sativa</i> subsp. <i>japonica</i>	0.014
*338	113	DNA-directed RNA polymerase subunit beta	PEP	58	<i>Gossypium</i> <i>hirsutum</i>	0.051
*330	114	hypothetical protein	HP	75	<i>Volvox</i> <i>carteri f.</i> <i>nagariensis</i>	0,035
350	81	Nucleosídeo difosfato kinase 1	NDPK I	Acesso P93554	<i>Saccharum</i> <i>officinarum</i>	X
*159	131	Maturase K	MatK	Acesso Q6ENX8	<i>Saccharum</i> <i>officinarum</i>	X

X: proteínas identificadas utilizando a ferramenta TagIdent do Expasy (<http://web.expasy.org/cgi-bin/tagident/tagident0.pl>)

*** Proteínas expressas exclusivamente no cultivar comercial RB867515**

6. Discussão

Conhecer os processos de predição de médias, variâncias, assim como os parâmetros genéticos de um caráter quantitativo, auxilia o fitomelhorista na seleção de bons genótipos, além de proporcionar economia de tempo, trabalho e recursos financeiros (Ferreira, 2006).

Diferenças significativas entre as médias dos genótipos é um indicativo de variabilidade genética entre os caracteres considerados no processo de seleção, principalmente para TPH, TCH e ATR t.ha⁻¹, que de acordo com Bastos *et al.* (2003), são considerados os mais importantes componentes de produção em cana-de-açúcar. A ocorrência de variabilidade genética assegura medidas de proteção contra problemas futuros como pragas, doenças, estresses abióticos e fornece uma base segura para ganhos genéticos significativos na exploração de novos genótipos (Vieira *et al.*, 2009). Além disso, a existência de variabilidade genética assegura ao programa de melhoramento, informações úteis, na escolha de genitores divergentes para a exploração da heterose e desenvolver genótipos superiores (Amorim *et al.*, 2008).

Diferenças significativas entre os ciclos de colheita considerados e entre os locais avaliados, é um indicativo, de acordo com Rosse *et al.*, (2002), de que estes ciclos de colheita, bem como as microrregiões canavieiras são ambientes contrastantes, por causa dos fatores edafo-climáticos, e conseqüentemente podem exercer influência sobre os caracteres que estão sendo considerados no processo de seleção. Silva (2008a), ao estudar a interação genótipo x ambiente em cana-de-açúcar no Estado de São Paulo, ressaltaram que os maiores valores dos quadrados médios para local, em relação aos demais quadrados médios, é

um indicativo de haver grande diferença no potencial produtivo dos genótipos nos locais de avaliação.

No presente trabalho, foi observado, uma grande diferença nos valores do quadrado médio para os ciclos de colheita e para os locais avaliados em relação aos quadrados médios de genótipo, da interação genótipo x cortes e da interação genótipo x locais. Sendo assim, pode-se afirmar que existe diferença no potencial produtivo dos genótipos entre os ciclos de colheita, indicando aos melhoristas a necessidade de desenvolver continuamente materiais genéticos superiores que apresentem longevidade, isto é, poucas variações no seu comportamento durante os ciclos de colheita de cana planta, soca, ressoca e ressoca 2.

Souza *et al.* (2012), avaliando genótipos de cana-de-açúcar para cultivo na Microrregião Centro de Pernambuco observaram diferenças significativas para as variáveis TPH, TCH e ATR com relação a interação genótipo x cortes. Reforça-se então, no presente trabalho, principalmente entre os genótipos da série 1995 onde foram estimados parâmetros de repetibilidade, a possibilidade de se identificar genótipos que se destacam quanto a longevidade, isto é, elevada produtividade nas soqueiras, nos diferentes ciclos de colheita.

A parte aproveitável, durante um processo de seleção é a variância genética, ela determinará o quanto do caráter em observação é de origem genética, visto que ela origina-se da segregação e interação dos genes, facilitando assim a identificação de indivíduos geneticamente superiores com base nos caracteres morfológicos, agrônômicos e industriais (Brewbaker, 1969; Ramalho *et al.*, 2001). No presente trabalho foi possível observar entre os genótipos, com relação aos caracteres TPH, TCH e ATR $t.ha^{-1}$, variância genética elevada e superior a variância da interação genótipo x corte e a variância da interação genótipo x

locais. Este resultado é altamente satisfatório, pois de acordo com Dutra Filho *et al.* (2011a), é um indicativo de que a expressão destes importantes componentes de produção são devidos, em sua maior parte, aos efeitos genéticos sugerindo assim possibilidade de sucesso na seleção de genótipos superiores para a Região Canavieira do Estado de Pernambuco. E para a variável toneladas de açúcares totais recuperáveis por hectare (ATR t.ha⁻¹), é importante destacar que esses resultados, bastante expressivos, implicam a possibilidade de aumento considerável da produtividade dos canaviais pernambucanos e consequentemente de um maior retorno econômico, visto que, essa é a variável considerada no processo de pagamento na produção de cana-de-açúcar no Brasil.

Ainda com relação a variância genética, foi constatado que nos genótipos das séries 1995 observou-se experimentos em que a variância genética foi superior a variância da interação genótipo x corte (ciclos de colheita da cana-de-açúcar). Lima Neto *et al.* (2012) ressaltam que nesse caso a expressão dos caracteres é devido em sua maior parte aos efeitos genéticos e não aos efeitos da interação desses caracteres com os respectivos ciclos de colheita. Isso é um forte indicativo de que os genótipos de melhor desempenho apresentam regularidade na repetição de caracteres.

Em se tratando de regularidade na repetição de caracteres, utilizou-se os experimentos com os genótipos da série 1995 como fora destacado para estimar os coeficientes de repetibilidade, em virtude das excelentes precisões experimentais, a fim de determinar o número ótimo de colheitas para a seleção de genótipos superiores de cana-de-açúcar para a Região Canaveira do Estado de Pernambuco.

Resende (2002) afirma que valores a partir de 80% dos coeficientes de determinação são adequados para prever o valor real do indivíduo e consequentemente, o número de medições necessárias para selecioná-los. Sendo assim, constata-se que para as variáveis TPH, TCH e ATR t.ha⁻¹ duas avaliações são suficientes para a seleção de genótipos superiores para cultivo comercial em toda a Região Canavieira do Estado de Pernambuco com previsibilidade de 90% de seus valores reais nas Microrregiões Litoral Norte e Mata Norte pelas três metodologias utilizadas, com previsibilidade de 80% na Microrregião Litoral Sul também pelas três metodologias utilizadas e com 80% de previsibilidade nas Microrregiões Mata Sul e Região Centro pelos métodos dos componentes principais e da análise estrutural.

Para a variável FIB, é possível, a partir de duas avaliações, selecionar genótipos superiores com 80% de previsibilidade do seu valor real para cultivo nas Microrregiões Litoral Norte, Mata Norte e Mata Sul pelas três metodologias utilizadas. Nas Microrregiões Litoral Sul e Região Centro são necessários acima de quatro avaliações (4 cortes) para selecionar genótipos com 80% de previsibilidade do seu valor real, o que é economicamente inviável.

Em relação a PCC, constata-se que duas avaliações são suficientes para selecionar genótipos com 80% de previsibilidade do seu valor real pelos métodos dos componentes principais e da análise estrutural nas Microrregiões Litoral Norte e Mata Norte respectivamente. Para a Microrregião Centro duas avaliações são necessárias para selecionar com 80% de previsibilidade somente pelo método dos componentes principais. E para a microrregião Litoral Sul são necessárias acima de quatro avaliações.

No que diz respeito a variável BRIX, duas avaliações são suficientes para a seleção de genótipos com 80% de previsibilidade nas Microrregiões Litoral Norte e Mata Sul. Para as Microrregiões Mata Norte e Região Centro são necessárias duas e três avaliações, respectivamente, para se selecionar genótipos com 80% de previsibilidade pelo método dos componentes principais.

Finalmente, para a variável ATR, três avaliações devem ser realizadas com 80% de previsibilidade do seu valor real para a seleção de genótipos superiores a serem cultivados comercialmente na Microrregião Litoral Norte pelas três metodologias utilizadas. Duas avaliações com 80% de previsibilidade para a seleção e cultivo na Mata Norte com base nas três metodologias. Três avaliações com 80% de previsibilidade para a Mata Sul pelo método dos componentes principais. E duas avaliações com 80% para a Microrregião Centro pelo método dos componentes principais.

Na estimativa do número de medições, o método dos componentes principais mostrou-se superior aos métodos da anova e da análise estrutural para a seleção de genótipos superiores em relação a variável PCC nas Microrregiões Mata Sul e Região Centro, mostrou-se superior também em relação a variável BRIX nas Microrregiões Mata Norte e Região Centro e ainda em relação a ATR nas Microrregiões Mata Sul e Região Centro.

A respeito desta questão, Cruz *et al.* (2012), ressaltam que no método dos componentes principais o componente adicional do erro experimental é eliminado mais eficientemente do que no método da análise de variância. Mesmo assim, na estimativa do número de medições para a seleção de genótipos para cultivo no Litoral Sul de Pernambuco, constata-se que a partir das três metodologias utilizadas são necessárias muito acima de quatro avaliações para selecionar

genótipos com 80% de previsibilidade dos seus valores reais. Nesse contexto é importante observar a estabilização genotípica dos materiais avaliados nas condições edafoclimáticas dessa Microrregião.

A estabilização genotípica é obtida a partir das correlações entre todas as medições efetuadas. Em relação a variável FIB, por exemplo, a correlação entre os valores obtidos para essa variável em cana planta e cana soca (1ª e 2ª medição) foi negativa pelo método da anova e baixíssima pelo método dos componentes principais contribuindo para a baixa estimativa do coeficiente de determinação (R^2), sendo o mesmo nulo pelo método da anova e de apenas 13,69 pelo método dos componentes principais, o que proporcionou aumento significativo do número de medições necessárias para predizer o valor real dos genótipos. A baixa correlação entre as medições efetuadas é reflexo das variações climáticas severas de um ano agrícola para o outro, influenciando negativamente na regularidade da expressão dessas variáveis na Microrregião Litoral Sul. Observa-se que o mesmo não se pode afirmar com relação a TPH onde as altas correlações entre as medições efetuadas para esta variável, tanto pelos métodos da anova quanto dos componentes principais foram de alta magnitude contribuindo para obter-se valores elevados dos coeficientes de determinação reduzindo então o número de medições necessárias para predizer o valor real dos genótipos.

Todavia, já fora comprovado anteriormente com a estimação dos parâmetros genéticos, que a seleção de genótipos superiores da série 1995, para cultivo comercial em todas as microrregiões canavieiras do Estado de Pernambuco deveria ser realizada com base nos caracteres TPH, TCH e ATR t.ha⁻¹ e que, através da obtenção dos coeficientes de repetibilidade, os genótipos avaliados,

também apresentaram regularidade na expressão desses caracteres, sendo suficiente duas avaliações, para selecionar os melhores genótipos com 80% de previsibilidade dos seus valores reais. Pedrozo *et al.* (2011), avaliando famílias de cana-de-açúcar no Estado de Minas Gerais obtiveram altas estimativas de repetibilidade e concluíram que a seleção dessas famílias a partir de duas colheitas combinadas com a seleção de clones na fase de cana soca podem ser eficientes aos programas de melhoramento aumentando a eficiência na obtenção de cultivares. Sendo assim, espera-se, com os resultados obtidos no presente trabalho, reduzir em três anos agrícolas o tempo de liberação de novos cultivares de cana-de-açúcar para as condições edafoclimáticas da Região Canavieira do Estado de Pernambuco.

Dando continuidade a discussão dos parâmetros genéticos, destaca-se agora a importância do coeficiente de herdabilidade média (determinação genotípica) na identificação de genótipos superiores de cana-de-açúcar. Valores elevados, isto é, acima de 75%, dos mesmos, em relação aos caracteres avaliados, indicam uma situação muito favorável para o melhoramento genético. De acordo com Falconer (1987), trata-se de uma situação muito favorável para a prática da seleção de genótipos superiores, pois expressam confiabilidade do valor fenotípico como indicador do valor genético. Estes resultados corroboram com aqueles obtidos por Dutra Filho (2011b), quando avaliaram progênies de cana-de-açúcar no Litoral Norte de Pernambuco na fase inicial do melhoramento e com aqueles obtidos por Melo *et al.* (2006), quando avaliaram genótipos de cana-de-açúcar na Mata Norte de Pernambuco. Para Melo *et al.* (2009), esses resultados expressivos dos coeficientes de herdabilidade assumem fundamental importância para o melhorista, pois demonstram claramente a obtenção de

ganhos genéticos significativos na seleção de genótipos superiores para estas variáveis. Sendo a herdabilidade conceituada como a proporção herdável da variabilidade genética total, Gonçalves *et al.* (2007), ressaltam a possibilidade de se obter uma população melhorada, com genótipos de desempenho superior nestas variáveis, a partir do cruzamento entre os materiais genéticos em avaliação.

Em relação ao desempenho agroindustrial, para a Microrregião Canavieira do Litoral Sul de Pernambuco, os genótipos RB813804, SP78-4764 e RB962675 se destacaram quanto a TPH e TCH. Para as variáveis FIB, PCC, BRIX e ATR os genótipos apresentaram basicamente o mesmo potencial não sendo enquadrados em grupos distintos. Já em relação a ATR t.ha⁻¹, RB813804, SP78-4764, RB952522, RB952692, SP79-1011, RB952511, RB953265 e RB952754, apresentaram elevado potencial para esta variável sendo enquadrados no grupo 'a'.

Para a Microrregião Canavieira do Litoral Norte, os genótipos SP79-1011, RB952692 e RB952675 se destacaram quanto a TPH e TCH. Os genótipos RB813804, RB952749, RB952796, RB952754, RB952826 e RB952681 destacaram-se quanto a FIB. Para a variável PCC, com exceção dos genótipos RB952517 e RB952754, todos os outros foram enquadrados no grupo 'a' apresentando elevado potencial para fins de melhoramento neste caráter de riqueza. O mesmo se pode afirmar com relação as variáveis BRIX e ATR. Finalmente para a variável ATR t.ha⁻¹, SP79-1011, RB952692, RB952675 e RB813804 apresentaram melhor desempenho, formando um grupo superior.

Na Microrregião Canavieira da Mata Norte de Pernambuco, os genótipos RB952875, RB813804 e RB952875 apresentaram melhor desempenho e

ocuparam o grupo 'a' em relação a TCH e ATR t.ha⁻¹. Para esta Microrregião, o melhorista deve direcionar seus esforços para exploração comercial do genótipo RB952675, pois o mesmo apresentou resultado bastante expressivo em TPH. Resultados expressivos, para utilização na geração de bioenergia, podem ser observados nos genótipos RB952884, RB952609, RB952514 e CP85-1491 que foram enquadrados no grupo 'a' quanto ao teor de FIB com valores acima de 15%. Com esses valores recomenda-se a exploração desses materiais no melhoramento vegetal, especificamente, na produção de bioenergia. Quanto ao teor de BRIX, os genótipos não foram enquadrados em grupos distintos indicando que apresentam semelhante potencial.

Na Microrregião Canavieira da Mata Sul de Pernambuco, os genótipos SP78-4764, SP80-1816, RB952511 e SP79-1011 apresentaram melhor desempenho e ocuparam o grupo 'a' em TCH e ATR t.ha⁻¹. SP78-4764 e RB952511 expressaram maior TPH sendo enquadrados no grupo 'a'. RB952609 merece destaque quanto ao altíssimo teor de FIB, sendo o genótipo mais indicado, no presente trabalho, para o melhoramento visando produção de biomassa e de bioenergia. Para PCC, não houve a formação de grupos superiores em relação a esta variável. Em relação ao teor de BRIX, SP78-4764, SP80-1816, SP79-1011 e RB952681 se destacaram e foram enquadrados no grupo 'a'. Quanto a variável ATR, SP79-1011, SP80-1816 e RB952681 formaram o grupo 'a' sendo superiores aos demais genótipos avaliados.

Na Microrregião Centro, RB813804, RB763710, RB892575, RB953265 e SP7910-11 foram enquadrados no grupo 'a' apresentando melhor desempenho para TCH e ATR t.ha⁻¹. RB763710 e RB892575 foram enquadrados no grupo 'a' em relação a TPH. Para o teor de FIB o genótipo RB953245 foi o de melhor

desempenho. Para PCC e BRIX, RB813804, RB953265, SP79-1011, RB943365 e RB953206 foram enquadrados no grupo 'a' sendo superiores aos demais genótipos. Finalmente para a variável ATR, RB813804, RB953265, SP79-1011, RB943365 e RB953206 apresentaram melhor desempenho em relação aos demais genótipos avaliados sendo enquadrados no grupo 'a'.

Nos genótipos da série 1994. As interações G x A entre pares de ambientes, revelaram ser de natureza complexa nas quatro variáveis analisadas. Quando são de natureza complexa, tais interações impõem dificuldades no trabalho dos melhoristas. Segundo Cruz *et al.* (2012), a interação complexa é dada pela falta de correlação entre genótipos e indica inconsistência da superioridade de genótipos com a variação ambiental, isto é, há genótipos com desempenho agrônômico superior em um local, mas não em outro tornando difícil a identificação dos genótipos superiores, por este motivo, recomenda-se a realização das análises de estratificação de ambientes, de adaptabilidade e estabilidade fenotípica.

Sendo possível através das análises da estratificação de ambientes agrupar os genótipos em ambientes cuja interação não se apresentou significativa, Oliveira *et al.* (2004), recomenda aos melhoristas escolher os ambientes, para cultivo comercial dos genótipos, que mais se encaixe nas necessidades de seus programas. Esses autores ainda afirmam que critérios de proximidade dos centros de pesquisa, facilidade de acesso e representatividade de centros produtivos (microrregiões) podem ser adotados.

Nas análises de adaptabilidade e estabilidade fenotípica, objetivando identificar genótipos adaptáveis as microrregiões específicas, é importante considerar a seguinte observação: a discussão dos genótipos que se destacam

quanto adaptabilidade geral, quanto a adaptabilidade específica a ambientes favoráveis ou desfavoráveis deve ser realizada juntamente com o teste de médias empregado, isto por que, é necessário que o genótipo que se destaca quanto a adaptabilidade ou estabilidade apresente o melhor desempenho, de nada adiantaria ao melhorista recomendar o cultivo comercial de um genótipo adaptável, porém de baixa produtividade.

Nos genótipos da série 1994, em relação a variável TPH, RB92579, SP81-3250 e RB867515 destacaram-se formando o grupo a. Para TCH, os genótipos RB92579, SP81-3250 e RB867515 também se destacaram juntamente com RB953180, RB863129, RB942520 e RB75126 sendo enquadrados no grupo a. Para a variável FIB não houve a formação de grupo superiores, os genótipos basicamente apresentaram o mesmo potencial. E finalmente, em relação a ATR $t.ha^{-1}$, destacaram-se os genótipos RB92579, SP81-3250 e RB867515 que foram enquadrados no grupo a.

Através do método de Annichiarico (1992), constata-se que para a variável TPH, os genótipos RB863129, RB867515, RB92579, RB953180 e SP81-3250 apresentam maior adaptabilidade geral, sendo recomendados para cultivo comercial nos cinco ambientes considerados. Já os genótipos Q138, RB75126, RB942520 e SP78-4764 apresentam adaptabilidade específica à ambientes favoráveis, que pela presente metodologia foram identificadas como sendo as microrregiões Litoral Norte, Litoral Sul e Mata Norte. Os genótipos RB943161 e RB943365 foram identificados como adaptáveis a ambientes desfavoráveis, nesse caso as microrregiões Centro e Mata Sul respectivamente. Observa-se que para a variável TCH, os genótipos RB75126, RB863129, RB867515, RB92579, RB93509, RB953180 e SP81-3250 apresentaram maior adaptabilidade geral. O

genótipo Q138 foi identificado como adaptável a ambientes favoráveis. Os genótipos RB942520 e RB943365 identificados como os adaptáveis a ambientes desfavoráveis. Em relação a ATR t.ha⁻¹, os genótipos RB863129, RB867515, RB892700, RB92579, RB953180 e SP81-3250 apresentaram maior adaptabilidade geral. Foram identificados como adaptáveis à ambientes favoráveis os genótipos Q138, RB75126 e RB942520. Os genótipos RB93509, RB943161 e RB943365 foram identificados como adaptáveis a ambientes desfavoráveis.

Através do método de Lin e Bins (1988), constata-se que para a variável TPH, foram identificados como responsivos e de adaptabilidade geral os genótipos RB92579, SP81-3250, RB867515, RB863129 e RB953180 respectivamente. Foi identificado como adaptável à ambientes favoráveis o genótipo RB942520. E para ambientes desfavoráveis foi identificado o genótipo RB943365. Para TCH, apresentaram adaptabilidade geral os genótipos SP81-3250, RB92579, RB75126, RB867515, RB863129 e RB953180. Apresentou adaptabilidade a ambientes desfavoráveis RB943365 e para ambientes favoráveis o genótipo RB943538 pode ser recomendado. Finalmente, para ATR t.ha⁻¹ RB92579, SP81-3250, RB867515, RB942520 e RB863129 apresentam adaptabilidade geral. SP79-1011 apresenta adaptabilidade específica a ambientes favoráveis e RB953180 adaptabilidade específica a ambientes desfavoráveis.

Através do método de Eberhart e Russel (1966), constata-se que para a variável TPH somente os genótipos SP81-3250 e RB863129 podem ser classificados como ideais, além de coeficientes de determinação iguais a 91.15 e 90.8 respectivamente, revelando excelente ajuste dos dados ao modelo de regressão linear utilizado. O genótipo RB92579 e RB942520 devem ser

direcionados à ambientes favoráveis. Já os genótipos RB867515 e RB953180 também devem ser alocados em ambientes favoráveis, porém com rigorosa observação do melhorista devido a sua baixa estabilidade e coeficiente de determinação não muito favorável.

Para TCH, SP81-3250, RB863129 e RB75126 são classificados como ideais para cultivo nas microrregiões canavieiras do estado de Pernambuco. RB92579, RB867515, RB953180 e RB942520 devem ser alocados em ambientes favoráveis, isto é, Litoral Norte, Litoral Sul e Mata Norte, também observa-se um bom ajuste dos dados ao modelo de regressão nesta variável proporcionando ao melhorista maior segurança em suas tomadas de decisões.

Em relação a $ATR\ t.ha^{-1}$, SP81-3250 é o genótipo ideal para cultivo nas microrregiões canavieiras do estado de Pernambuco com perspectivas favoráveis de um bom desempenho agroindustrial, pois apresenta elevado coeficiente de determinação. Para o genótipo RB92579, recomenda-se o cultivo, para bom desempenho nesta variável, em ambientes favoráveis. Já RB867515 também é recomendada para cultivo em ambientes favoráveis para bom desempenho, porém, como sugerido para TPH, com rigorosa observação do melhorista devido à sua baixa estabilidade e coeficiente de determinação não muito favorável.

Constata-se ainda que as metodologias aplicadas foram concordantes na classificação das microrregiões canavieiras do Estado de Pernambuco em ambientes favoráveis e desfavoráveis. E, de maneira geral, na identificação de genótipos adaptáveis as condições edafo-climáticas da região canavieira do Estado de Pernambuco. Silva et al. (2008c), testando metodologias de adaptabilidade e estabilidade, baseadas em análise de regressão, análise de variância e análise não- paramétrica chegaram à conclusão de que o método de

Annicchiarico (1992) está entre as melhores metodologias, pois englobam em um único parâmetro os conceitos de adaptação, adaptabilidade e estabilidade, facilitando a interpretação dos resultados.

Também a metodologia de Lin e Binns (1988), de acordo com Fransceschi et al. (2010), foi enquadrada entre as melhores, pois além de contemplar o genótipo desejado, classifica os de média alta e constante em ambientes desfavoráveis e com capacidade de resposta à melhoria da condição ambiental. Já a metodologia de Eberhart e Russel (1966), apesar de não ter identificado genótipos adaptados especificamente à ambientes desfavoráveis, não deve ser descartada, pois a mesma indica genótipos com maior rendimento e associado a adaptabilidade e estabilidade (Fransceschi et al. 2010).

Esses resultados demonstram que qualquer uma das metodologias podem ser utilizadas conferindo ao melhorista maior segurança na recomendação dos genótipos RB863129, RB867515, RB92579, RB953180, SP81-3250, RB75126 e RB942520 para plantio comercial nas microrregiões avaliadas, pois além de se destacarem nos parâmetros de adaptabilidade e estabilidade fenotípica, apresentaram o melhor desempenho agroindustrial. Demonstram ainda que os esforços empreendidos na busca de novos genótipos mais produtivos e adaptados as condições edafo-climáticas do Estado de Pernambuco têm produzido resultados expressivos no PMGCA/UFRPE/RIDESA contribuindo significativamente na produção de cana-de-açúcar em Pernambuco, apesar de todas as dificuldades apresentadas. Estes resultados, todavia, não excluem a responsabilidade e o esforço dos melhoristas no desenvolvimento e incorporação de novas técnicas visando a obtenção cada vez maior de novos genótipos e elevação da produtividade agroindustrial antes os empenham ainda mais nessas

atividades. É importante ainda a estratificação nos ambientes de produção das unidades produtoras, cujas informações obtidas contribuirão ainda mais no manejo varietal com ganhos acentuados na produtividade.

Quanto à análise bioquímica, o cultivar RB867515 acumulou maior quantidade de carboidratos em relação ao clone RB061047. O cultivar RB867515 apresenta como uma de suas características rápido crescimento quando cultivada sob condições de estresse hídrico (Hoffmann *et al.*, 2008). O acúmulo de carboidratos apresentado por este cultivar possivelmente justificaria a necessidade de utilizar energia para o seu rápido desenvolvimento. De acordo com Bray (1997), os carboidratos (glicose e frutose) estão entre os osmorreguladores mais importantes e as enzimas envolvidas na síntese desses solutos compatíveis permitem ajustamento osmótico ou acumulação líquida desses solutos, resultando em decréscimo do potencial osmótico, mantendo um fluxo de água a favor de um gradiente de potencial hídrico, protegendo contra a turgescência foliar. Corroborando este entendimento, Pimentel (2004) afirma que o ajustamento osmótico, em virtude do trabalho desses osmorreguladores, promoverá o turgor necessário para o crescimento da planta nas condições de estresse em que foram avaliadas.

O clone oriundo de autofecundação RB061047, ao contrário do cultivar RB867515, apresentou maior teor de prolina. De acordo com Queiroz *et al.* (2008), a prolina é um osmoprotetor que pode ser utilizado como marcador bioquímico quando identificado nos cultivares submetidos ao estresse hídrico. Sob a influência do estresse hídrico, a síntese de proteínas é inibida e a degradação é rapidamente acelerada levando a um aumento considerável de aminoácidos e também de aminas livres, ocasionando, consequentemente um

severo distúrbio no metabolismo das proteínas. Uma mudança nas proporções de aminoácidos e um aumento elevado na concentração de prolina resulta numa resposta adaptativa das plantas ao estresse hídrico (Larcher 2004; Mittler 2002). Bray (1997) e Mittler (2002) ainda ressaltam que o papel da prolina em plantas também é o de servir como reserva de nitrogênio orgânico, podendo ser utilizado, inclusive, durante a reidratação e síntese de proteínas específicas para aclimação em condições de estresse.

Além disso, segundo Kavi Kishor *et al.* (2005), o aumento dos teores de prolina está atrelado a um incremento de biossíntese deste aminoácido e seria um mecanismo de proteção contra a deficiência de água. Esses autores ainda afirmam que este aminoácido promove a redução do potencial hídrico dos tecidos mantendo sua integridade e retendo água. Isto pode ser constatado na análise das trocas gasosas, onde, o clone RB061047 apresentou maior eficiência no uso da água e maior atividade fotossintética, pois não apresentou degradação das clorofilas e carotenóides.

As clorofilas *a* e *b* e também os carotenoides, de acordo com Streit *et al.* (2005), são os pigmentos biológicos mais abundantes no planeta e por sua estrutura química ser instável, as clorofilas são facilmente degradadas, principalmente se os vegetais se encontram sob estresses ambientais, resultando em produtos de decomposição que modificam a percepção e qualidade dos vegetais. Uma das consequências da depressão endogâmica, além da perda de vigor e declínio de produtividade, é o surgimento de plantas albinas, isto é, com drástica diminuição de pigmentos fotossintéticos e consequentemente elevada diminuição da taxa de fotossíntese. Os resultados desse trabalho, porém, demonstram claramente que a autofecundação não parece ter ocasionado

alterações indesejáveis nos processos fisiológicos do clone RB061047, onde a maior taxa fotossintética e o decorrente uso mais eficiente de água sugerem ganho significativo em biomassa e produtividade (Inman-Banber 2004; Singels *et al.*, 2005).

Com relação a eficiência quântica do fotossistema II, tanto o cultivar comercial RB867515 e o clone oriundo de autofecundação RB061047 mantiveram valores elevados, não diferindo estatisticamente. Para Silva *et al.* (2007), isto é um indicativo de eficiência no uso da radiação e uma resposta relativamente rápida ao estresse hídrico sendo um traço importante na seleção de novos genótipos de cana-de-açúcar tolerantes a seca a serem utilizados no melhoramento. Por outro lado, Maxwell e Johnson (2000) afirmam que estes resultados, durante o período de estresse, indicam que os genótipos apresentam uma elevada recuperação de danos temporários de fotoinibição no fotossistema II.

Todos esses resultados demonstram claramente que do ponto de vista bioquímico e fisiológico o clone oriundo de autofecundação até o presente momento mostrou-se superior ao cultivar comercial em características importantes para a seleção de materiais genéticos superiores em relação à tolerância ao estresse por déficit hídrico. A análise proteômica, por sua vez, forneceu informações complementares e relevantes para a compreensão dessas respostas bioquímicas e fisiológicas, podendo contribuir ainda mais com os programas de melhoramento no desenvolvimento de cultivares melhorados e tolerantes ao estresse por déficit hídrico.

Na análise proteômica, a identificação de uma pequena quantidade de proteínas, isto é, de apenas sete spots era perfeitamente esperado. A anova não

significativa, quando aplicada em análise proteômica, não deve ser entendida simplesmente como influência do acaso, ou erro experimental e sim como um forte indicativo de que o nível de expressão de muitas proteínas comuns e exclusivas nos tratamentos considerados não foi significativo. Isto é decorrente do fato de que ao se realizar uma autofecundação, a variabilidade genética gerada é menor do que aquela gerada a partir de cruzamentos biparentais e de policruzamentos, ou seja, as diferenças provenientes na constituição genética do clone oriundo de autofecundação não é devida a um embaralhamento cromossômico (metáfase I e Anáfase I da meiose I) de dois genitores distintos, mas sim provenientes de rearranjos cromossômicos do mesmo indivíduo, nesse caso o cultivar RB867515, que sendo autofecundado foi ao mesmo tempo genitor masculino e feminino para originar o clone oriundo de autofecundação. Logo a diferença no nível de expressão das proteínas e o número de proteínas exclusivas deveriam ser bastante reduzidos em virtude dessa semelhança genética entre os tratamentos.

Mesmo assim, os resultados obtidos foram relevantes e muito interessantes para o melhoramento, sendo identificadas proteínas que desempenham importante papel no mecanismo de tolerância ao estresse por déficit hídrico. Vale ainda salientar que mesmo em condições de estresse por déficit hídrico as plantas expressam não apenas proteínas relacionadas a esse mecanismo.

A autofecundação por promover um aumento no número de locos em homozigose, gera conseqüentemente, menor variabilidade genética e alélica, donde se conclui ser uma alternativa bastante viável, pois proporcionou conforme os resultados e a discussão apresentada, a expressão de proteínas que persistentemente se expressam em condições de estresse. Todavia, é

fundamental avaliar a autofecundação em outros genótipos com seus respectivos genitores submetidos a novos experimentos.

Tanto a subunidade α da ATP sintase quanto a frutose-bifosfato aldolase foram identificadas por Pacheco *et al.* (2013), quando avaliaram cultivares comerciais de cana-de-açúcar submetidas a estresse por salinidade, indicando que, além dos tratamentos avaliados no presente trabalho estarem submetidos ao estresse hídrico, possivelmente estão plantados em solos com teores de salinidade consideráveis.

A ATP sintase subunidade alfa (ATPA) é codificada pelo gene *atpA* localizado no plastoma e está presente nos cloroplastos, especificamente na membrana dos tilacóides, e tem por função produzir ATP a partir de ADP na presença de um gradiente de prótons através da membrana (Cushman e Bohnert, 2000). Esses autores ainda ressaltam a importância da ATPA na remoção de íons tóxicos do citoplasma e das organelas quando as plantas estão sob condições de estresse.

Os prótons produzidos pela oxidação da água junto aos prótons transferidos pela plastoquinona geram, de acordo com Taiz e Zeiger, (2009), um potencial eletroquímico no interior dos tilacóides que são utilizados na síntese de ATP. Desta forma, o fotossistema II depende de água para a geração de energia química, requerida inclusive para a fixação de CO₂, havendo menor disponibilidade hídrica é formado menos ATP e NADPH e menos CO₂ é fixado (Lu e Zhang, 1999; Souza *et al.*, 2004). Conclui-se então que menor quantidade de água ocasiona uma menor eficiência do fotossistema II e sendo assim, a maior expressão da ATP sintase produzida pelo clone oriundo de autofecundação significa que o mesmo está aproveitando muito mais eficientemente, como

demonstra os dados fisiológicos, a pouca disponibilidade de água no ambiente em que está sendo cultivada e produzindo mais energia para o seu metabolismo e desenvolvimento.

A presença dessa proteína (ATP sintase) indica fornecimento de energia para a planta que se encontra sob condições de estresse. Janpromma *et al.* (2010), analisando o proteoma de cultivares comerciais de cana-de-açúcar sob estresse por déficit hídrico, identificaram a presença da ATP sintase e afirmaram que a mesma desempenha um papel importante na manutenção da função do cloroplasto. Eles ainda afirmaram que a ATP sintase é uma proteína que responde persistentemente as condições de estresse por déficit hídrico, logo o nível de expressão mais elevado dessa proteína no clone de autofecundação é também um indicativo de que o mesmo está utilizando mais eficientemente a energia disponível para crescer e desenvolver-se em condições de estresse hídrico e salino. A ATPA mostra-se ainda como uma marca molecular altamente promissora no desenvolvimento de marcadores moleculares funcionais.

A frutose bifosfato aldolase (FBA) é uma proteína que está presente nos cloroplastos, parede celular e citosol. De acordo com Bray *et al.* (2000), essa enzima converte a frutose 1,6 bifosfato em gliceraldeído 3 fosfato e dihidroxiacetona.

A expressão da FBA já foi relacionada com estresses ambientais em plantas (Reis, 2009). E é um indicativo de variações no ciclo de Calvin ou na glicólise/gluconeogênese, que podem contribuir para um aumento na síntese de sacarose fornecendo, desta forma, maior quantidade de energia para o metabolismo da planta o que contribuiria para tolerância ao estresse por sal e déficit hídrico (Tada e Kashimura, 2009).

A RNA polimerase subunidade beta é uma enzima que está presente nos cloroplastos. Segundo Lee et al. (2006), sua função é realizar a transcrição do DNA em RNA utilizando ribonucleosídeos trifosfatos como substratos. Já a proteína Maturase K é componente dos cloroplastos e está envolvida no processo biológico do splicing de RNA e no processamento do mRNA e do tRNA.

A proteína YAB 2, expressa exclusivamente pelo cultivar comercial RB867515, está presente no núcleo celular. É uma proteína que se expressa em lâminas e bainha foliares e também nas flores. Através de uma busca no banco de dados público do Uniprot (<http://www.uniprot.org/uniprot/Q10FZ7>), foi observado que essa proteína é expressa pelo gene YAB2. Siegfried *et al.* (1999), que estudaram a família de genes YABBY em *Arabidopsis*, relataram que a sua expressão está intrinsicamente relacionada com a estruturação de órgãos florais.

Por outro lado, Toriba *et al.* (2007), também estudaram os genes da família YABBY em *Arabidopsis*, a partir do isolamento desses genes em arroz (*Oryza sativa*) e concluíram, que na flor, a expressão desses genes estão relacionadas com a regulação da diferenciação de alguns tipos de células específicas.

No caso específico da cana-de-açúcar o florescimento é extremamente prejudicial em plantios comerciais em virtude da isoporização, este fenômeno caracteriza-se pela desidratação dos colmos, gerando perda de peso e, concomitantemente, de produtividade agrícola e industrial; além disso, a isoporização provoca o aumento do teor de fibra e diminuição da eficácia de extração de açúcar pelas moendas (Araldi *et al.*, 2010). O florescimento em cana-de-açúcar ocorre em períodos prolongados de seca, trata-se de uma estratégia do vegetal emitir o florescimento para garantir a perpetuação da sua espécie quando se sente ameaçada por algum estresse ambiental. A ausência dessa proteína no

clone oriundo de autofecundação pode vir a ser um indicativo de que o mesmo está apresentando maior tolerância ao estresse por déficit hídrico.

Deve-se ainda salientar que a presença dessa proteína poderá servir como outra excelente marca molecular no desenvolvimento de marcadores moleculares funcionais para a seleção de genótipos com baixos índices de florescimento nos programas de melhoramento. A importância de estudar proteínas relacionadas ao florescimento em cana-de-açúcar que na região nordeste é intenso e prejudicial, seria identificar tais proteínas e desenvolver técnicas que proporcionem a inibição de sua atividade que será de grande contribuição para os programas de melhoramento e para elevar a produtividade dos canaviais.

Uma das proteínas identificadas via espectrometria de massas foi a Hypothetical Protein. Realizada uma busca no banco de dados do uniprot foi observado que se trata de uma proteína predita cuja função não se encontra descrita no banco de dados. Desta forma, é uma proteína alvo para novos estudos e caracterização.

A proteína nucleosídeo difosfato kinase 1, de acordo com o banco de dados do uniprot, está envolvida diretamente com o metabolismo de nucleotídeos, especificamente com a biossíntese de CTP, GTP e UTP. Essa proteína foi identificada por Moisyadi *et al.* (1994), sendo a mesma expressa pelo gene NDPK I. Esses autores, através de seus experimentos, aumentaram a atividade dessa proteína em extratos de células expostas ao calor e concluíram que a resposta ao choque térmico envolve grandes alterações na transcrição gênica, tradução do mRNA, síntese de proteínas, bem como outros eventos metabólicos que conduzem ao desenvolvimento da termotolerância. Sendo assim, a presença dessa proteína no cultivar comercial RB867515 e no clone oriundo de

autofecundação RB061047, explica o motivo pelo qual, mesmo nas condições climáticas adversas da região canavieira do Estado de Pernambuco, onde a temperatura e o calor são elevados; os tratamentos avaliados, de maneira especial o clone oriundo de autofecundação, apresenta metabolismo acelerado, melhor atividade fotossintética e melhor eficiência no uso da água em condições desfavoráveis de cultivo. Além de tudo isso, a presença dessa proteína revela-se como outra marca bastante promissora para o desenvolvimento de marcadores moleculares funcionais aplicáveis ao melhoramento genético no desenvolvimento de novos genótipos tolerantes ao estresse hídrico e também a elevadas temperaturas.

Chegando ao final da discussão do presente trabalho, algumas considerações de relevada importância devem ser mencionadas, respondendo basicamente ao seguinte questionamento: o que mais se pode afirmar a respeito do mecanismo de tolerância ao estresse por déficit hídrico, depois de todos os resultados obtidos e das proteínas identificadas?

É um mecanismo altamente complexo que envolve várias etapas, várias enzimas e proteínas estão envolvidas nesse processo e, do ponto de vista do melhoramento genético de plantas, a tolerância ao estresse hídrico é uma característica controlada por vários genes trazendo desta maneira várias dificuldades que ainda precisam ser contornadas.

Essas várias enzimas e proteínas se expressam nessas diversas etapas do estresse, respondendo aos diversos “estímulos” do ambiente em que a planta está sendo cultivada e sendo uma característica controlada por QTL's a expressão desses genes são fortemente influenciados pelas mais simples variações ambientais, podendo haver ainda diferenças significativas na expressão

das proteínas em cultivares geneticamente distintos, sendo muito difícil identificar um padrão de expressão de determinadas proteínas, e no caso específico da cana-de-açúcar, essa realidade é ainda mais difícil de trabalhar em virtude da complexidade do seu genoma.

Os vários experimentos, até o presente momento, em sua grande maioria, foram desenvolvidos em casa de vegetação com um alto nível de controle da temperatura, irrigação e de outros fatores que constituem o ambiente. Além disso, a coleta de dados, delineamento experimental, a periodicidade de obtenção das informações a cerca dos tratamentos e o tempo de exposição ao estresse obedecem a uma rigorosa metodologia. Pergunta-se então se os resultados obtidos nessas condições reproduzem fielmente o comportamento dos genótipos em condições de cultivo comercial onde as variações ambientais, nível de exposição ao estresse são muito mais complexas e variadas?

Desta forma, é interessante que novos experimentos sejam desenvolvidos nas microrregiões canavieiras do Estado de Pernambuco em seus respectivos ambientes de produção, condições de relevo e que os resultados alcançados sejam confrontados com aqueles já obtidos a partir de experimentos desenvolvidos em casas de vegetação. Tais procedimentos com certeza enriquecerão ainda mais o conhecimento a respeito desse mecanismo deveras complexo, contribuindo significativamente no desenvolvimento de genótipos adaptados não somente ao estresse hídrico como também aos diversos tipos de estresses que afetam significativamente a produtividade agrícola e industrial dos canaviais.

7. Conclusões

1. Foram identificados genótipos com elevado desempenho agroindustrial adaptados às condições edafo-climáticas da região canavieira do Estado de Pernambuco;
2. A seleção de genótipos superiores será eficiente e proporcionará maior ganho genético se baseada nos caracteres TCH, TPH e ATR t.ha⁻¹;
3. Duas avaliações são indicativas para selecionar com segurança os melhores genótipos nas fases finais de experimentação;
4. Não foram verificados efeitos indesejáveis da depressão endogâmica nos processos fisiológicos do clone RB061047. Ao contrário, o mesmo mostrou taxa fotossintética e eficiência no uso da água significativamente maior que o híbrido comercial com sinais evidentes de tolerância ao estresse hídrico;
5. As proteínas ATPA, YAB2, FBA e NDPK 1 se revelam como promissoras para o desenvolvimento de marcadores moleculares funcionais para a identificação e desenvolvimento de genótipos tolerantes ao estresse hídrico.

8. Referências Bibliográficas

- Abeywardena V (1972) An application of principal component analysis in genetics. *J Genet* 16: 27-51.
- Abreu SCA, Ferreira DF, Gurgel FL and Abreu AFB (2004) Extensão bivariada do índice de confiabilidade univariado para avaliação da estabilidade fenotípica. *Ciênc Agrotec* 28: 1047-1052.
- Almeida M, Rochelle LA and Crocomo OJ (1995) Chave analítica para determinação de dez variedades de cana-de-açúcar (*Saccharum spp.*). *Sci Agric* 52: 16-19.
- Almeida Filho JE, Tardin FD, Souza AS, Godinho VPC and Cardoso MJ (2010) Desempenho Agronômico e Estabilidade Fenotípica de Híbridos de Sorgo Granífero. *Rev bras milho e sorgo* 9: 51-64.
- Amorim EP, Reis RV, Santos-Serejo JA, Amorim VBO, Silva SO (2008) Variabilidade genética estimada entre diplóides de banana por meio de marcadores microssatélites. *Pesq Agrop Bras* 43: 1045-1052
- Angelopoulos K, Dichio B and Xiloyannis C (1996) Inhibition of photosynthesis in olive trees (*Olea europaea* L.) during water stress and rewatering. *Journal of Experimental Botany* 47: 1093-1100.
- Annicchiarico P (1992). Cultivar adaptation and recommendation from alfalfa trials in northern Italy. *J. Genet. Breed.* 46: 269-278.
- Aranha C and Yahn CA (1987) Botânica da cana-de-açúcar. In: PARANHOS SB (Ed.). *Cana-de-açúcar cultivo e utilização*. Fundação Cargil, p 3-19.
- Araldi R, Silva FML, Ono EO and Rodrigues JD (2010) Florescimento em cana-de-açúcar. *Ciência Rural* 40: 694-702.

- Assad E and Pinto HSC (2008) Embrapa: Aquecimento Global e Cenários Futuros da Agricultura. Unicamp, São Paulo, 84 pp.
- Bacchi OOS (1983) Botânica da cana-de-açúcar. In: FILHO JO (Ed.). Nutrição e adubação da cana-de-açúcar no Brasil. Instituto do açúcar e do álcool, p. 25-37.
- Barbosa MHP, Resende MD, Silveira LCI and Peternelli LA (2005) Estratégias de melhoramento genético da cana-de-açúcar em universidades. In: IX Simpósio sobre seleção recorrente. UFLA, Lavras.
- Barbosa MHP and Silveira LCI (2012) Melhoramento Genético e Recomendação de cultivares. In: Santos, F; Borém, A; Caldas C (ed.) *Cana-de-açúcar Bioenergia, Açúcar e Etanol – Tecnologias e Perspectivas*. Editora UFV, p 313-353.
- Bastos IT, Barbosa MHP, Resende MDV, Peternelli LA, Silveira LCI, Donda LR, Fortunato AA, Costa PMA and Figueiredo ICR (2003) Análise dialélica em clones de cana-de-açúcar. *Bragantia* 62: 199-206.
- Bastos IT, Barbosa MHP, Resende MDV, Peternelli LA, Silveira LCI, Donda LR, Fortunato AA, Costa PMA and Figueiredo ICR (2007) Avaliação da interação genótipo x ambiente em cana-de-açúcar via modelos mistos. *Pesqui agropecu trop* 37: 195-203.
- Batcha MBGR and Palanichamy K (1977) Studies on the inheritance of ligular process in the interspecific cross *S. officinarum* (var. *greenn sport*) x *S. spontaneum*. In: Proceedings of International Society of Sugarcane Technologist Congress 16: 227-231.
- Bates L, Waldren RP and Teare ID (1973) Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant and Soil* 39: 205-207.

- Beever D. (2000) Os transgênicos e o futuro da agricultura. *Biotecnologia e Desenvolvimento*. 15: 4-7, 2000.
- Bisch PM (2004) Genômica Funcional: Proteômica. In: Mir L. (ed). *Genômica*. Editora Atheneu, São Paulo, pp 139-163.
- Botelho CE, Rezende JC, Carvalho GR, Carvalho AM, Andrade VT and Barbosa CR (2010) Adaptabilidade e estabilidade fenotípica de cultivares de café arábica em Minas Gerais. *Pesq Agrop Bras* 45:1404-1411.
- Botrel MA, Léo FJS, Evangelista AR, Viana MCMV, Pereira AV, Souza Sobrinho F, Oliveira JS, Xavier DF and Heinemann AB (2005) Adaptabilidade e estabilidade de cultivares de alfafa avaliadas em Minas Gerais. *Ciênc Agrotec* 29: 409 - 414.
- Bradford MM (1976) A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem* 7: 248-254.
- Brandes EW (1956) Original, dispersal and use in breeding of the Melanesian garden sugarcane and their derivatives *Saccharum officinarum* L. In: PROCEEDINGS OF INTERNATIONAL SOCIETY OF SUGARCANE TECHNOLOGIST CONGRESS. Proceedings 9: 709-756.
- Bray EA (1997) Plant responses to water deficit. *Trends in Plant Sci* 2: 48-54.
- Brewbaker JL (1969) *Genética na agricultura*. Polígono, 217pp.
- Bremer G (1961) Problems in breeding and cytology of sugarcane. III the cytological crossing research of sugarcane. *Euphytica* 10: 229-243.
- Brown AHD, Daniels J and Latter BDH (1969) Quantitative genetics of sugarcane. II. Correlation analysis of continuous characters in relation to hybrid sugarcane breeding. *Theoretical and Applied Genetics* 39: 1-10.

- Bueno LCS, Mendes ANG and Carvalho SP (2006) Melhoramento genético de plantas: princípios e procedimentos. Editora UFLA, Lavras, 319pp.
- Cambráia J (2005) Aspectos bioquímicos, celulares e fisiológicos dos estresses nutricionais em plantas. In: Nogueira, RJMC, Araújo EL, Willadino LG, Cavalcante UMT (eds.). Estresses ambientais: danos e benefícios em plantas. Editora UFRPE, p 95-104.
- Casagrande EC, Faria JRB, Neumaier N, Oya T, Pedrozo J, Martins PK, Breton MC and Nepomuceno AL (2001) Differential gene expression in soybean during water deficit. Rev Bras Fisiol Veg 13: 168-184.
- Carneiro PCS (1998) Novas metodologias de análise da adaptabilidade e estabilidade de comportamento. 1998. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas) - Universidade Federal de Viçosa, 168p.
- Cesnik R and Miocque J (2004) Melhoramento da cana-de-açúcar. Embrapa Informação Tecnológica, Brasília, 307pp.
- Coelho MCOC, Carrazoni PG, Monteiro VLC, Melo FAD, Mota RA and Filho FT (2002). Biopolímero produzido a partir da cana-de-açúcar para cicatrização cutânea. Acta Cir. Bras. 117: 11-13.
- Companhia Nacional de Abastecimento, <http://www.conab.gov.br/conabweb> (March 6, 2013).
- Cochran WG (1954) The combination of Estimates form Different Experiments. Biometrics 10: 101-129.
- Cruz CD (2006a) Programa Genes: Estatística experimental e matrizes. Editora UFV, Viçosa, 285pp.
- Cruz CD (2006b) Programa Genes: Biometria. Editora UFV, Viçosa, 285pp
- Cruz CD (2006c) Princípios de Genética Quantitativa. Editora UFV, Viçosa, 394pp

- Cruz CD and Castoldi FL (1991) Decomposição da interação genótipos x ambientes em partes simples e complexa. *Revista Ceres* 38: 422-430.
- Cruz CD and Carneiro PCS (2006) Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético. Editora UFV, Viçosa, 585pp.
- Cruz CD, [Regazzi AJ and Carneiro PCS](#) (2012) Modelos Biométricos Aplicados ao Melhoramento Genético. Editora UFV, 514pp.
- Cushman JC and Bohnert HJ (2000) Genomic approaches to plant stress tolerance. *Cur. Op. Plant Biol.* 3: 117-124.
- Daniels J and Roach BT (1987) Taxonomy and evolution. In: Heinz DJ (ed). Sugarcane improvement through breeding. Elsevier, Amsterdam, pp. 7-84.
- Dantas Neto J, Figueredo JLC, Farias CHA, Azevedo HM and Azevedo CAV (2006) Resposta da cana-de-açúcar, primeira soca, a níveis de irrigação e adubação de cobertura. *Rev bras eng agri ambiente* 10: 283-288.
- Deer, N (1921) Sugarcane. Norman Rodger, 644p.
- De Franceschi L, Benin G, Marchioro VS, Martin TN, Silva RR and Silva CL (2010). Métodos para análise de adaptabilidade e estabilidade em cultivares de trigo no estado do Paraná. *Bragantia, Campinas*. 69: 797-805.
- D'hont A, Souza GM, Menossi M, Vincentz M, Vansluys MA, Glaszman JC and Ulian E (2008) Sugarcane: a major source of sweetness, alcohol, and bio-energy. In: Moore P and Ming R (Eds) *Genomics of tropical crop plants*. Springer, p. 483-513.
- Doorenbos J and Kassam AK (1994) Efeito da água no rendimento das culturas. Campina Grande: Universidade Federal da Paraíba, 306pp
- Van Dillewinj C (1952) Botany of sugarcane. Waltham: The Chronica Botanica, 372 pp

- Dubois M, Gilles JK, Hamilton PA and Smith F (1956) Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Anal Chem* 28: 350-356.
- Dutra Filho (2010) Avaliação da variabilidade fenotípica e genética utilizando marcadores moleculares RAPD e SSR. Dissertação (Mestrado em Agronomia: Melhoramento Genético de Plantas) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, 153p.
- Dutra Filho JA, Melo LJOT, Resende LV, Anunciação Filho CJ and Bastos GQ (2011a) Aplicação de técnicas multivariadas no estudo da divergência genética em cana-de-açúcar. *Rev Cienc Agron* 42:185-192.
- Dutra Filho JA, Melo LJOT, Simões Neto DE, Anunciação Filho CJ, Bastos GQ and Daros E (2011b) Seleção de progênes e correlação de componentes de produção em cana-de-açúcar. *Rev bras cien agra* 6: 432-439.
- Dutra Filho JA, Bastos GQ, Machado PR, Silva LJ, Simões Neto DE, Chaves A and Silva FSG (2012) Estimativa do ganho de seleção para a produtividade em famílias de cana-de-açúcar. *Comunicata Scientiae* 3: 35-40.
- Dutra Filho JA, Vilela Resende L, Bastos GQ, Simões Neto DE et al. (2013). Utilização de marcadores moleculares RAPD e EST's SSR para estudo da variabilidade genética em cana-de-açúcar. *Rev Cienc Agron* 44: 141-149.
- Eberhart SA and Russell WA (1966) Stability parameters for comparing varieties. *Crop Sci* 6: 36-40.
- Falconer DS (1987) Introdução a genética quantitativa. Editora UFV, 279p.
- Federer WT (1956) Experimental Design – theory and application, New York, 544pp.

- Felipe CRP, Duarte JB and Camarano LF (2010) Estratificação ambiental para avaliação e recomendação de variedades de milho no Estado de Goiás. *Pesqui agropecu trop* 40: 186-199.
- Fernandes AC (2003) Cálculos na agroindústria da cana-de-açúcar. 2nd edition. Piracicaba: EME, São Paulo, 240pp.
- Ferreira A, Barbosa MHP, Cruz CD, Hoffmann HP, Vieira MAS Bassinello AI and Silva MF (2005) Repetibilidade e número de colheitas para a seleção de clones de cana-de-açúcar. *Pesq Agrop Bras* 40: 761-767.
- Ferreira PV (2006) Melhoramento de Plantas 3: estimacão de parâmetros genéticos. EDUFAL, p.191-279.
- Finlay KW and Wilkinson GN (1963) The analysis of adaptation in a plant breeding programme. *Aust. J. Agr. Res.* 14: 742-754.
- Gheller ACA, Garcia AAF and Mendes JM (1995) Variedades RB: Comportamento de variedades comerciais e clones promissores na Região Norte do Estado de São Paulo, em três épocas de colheita. In: CONGRESSO NACIONAL DA SOCIEDADE DOS TÉCNICOS AÇUCAREIRO E ALCOOLEIROS DO BRASIL. Anais do VI CONGRESSO NACIONAL DA SOCIEDADE DOS TÉCNICOS AÇUCAREIRO E ALCOOLEIROS DO BRASIL.
- Gonçalves GM, Viana AP, Bezeera Neto FV, Pereira MG and Pereira TNS (2007) Seleção e herdabilidade na produção de ganhos genéticos em maracujá amarelo. *Pesq Agrop Bras* 42: 193-198.
- Hoffmann HP et al. (2008) Variedades RB de cana-de-açúcar. Universidade Federal de São Carlos, Araras, 30pp.
- Huehn M (1990) Nonparametric measures of phenotypic stability. Part 1: theory. *Euphytica*. 47: 189-194.

- Hurkman WJ and Tanaka CK (1986) Solubilization of Plant Membrane Proteins for Analysis by Two-Dimensional Gel Electrophoresis. *Plant Physiol* 81: 802-806.
- Inman-Bamber NG (2004) Sugarcane water stress criteria for irrigation and drying off. *Field Crop Res* 89: 107-122.
- Janpromma N, Kitthaisong S, Lomthaisong K, Daduang S, Jaisil P and Thammasirirak S (2010) A Proteomics Analysis of Drought Stress-Responsive Proteins as Biomarker for Drought-Tolerant Sugarcane Cultivars. *Am J Biochem Biotechnol* 6:89-102.
- Kavi Kishor PB, Sangam S, Amrutha RN, Sri Laxmi P, Naidu KR, Rao KRSS, Sreenath Rao, Reddy KJ, Theriappan P and Sreenivasulu N (2005) Regulation of proline biosynthesis, degradation, uptake and transport in higher plants: Its implications in plant growth and abiotic stress tolerance. *Curr Sci* 88: 424-438.
- Keegstra K and Thomashow M (2002) Adapting physiology and metabolism to changes in the environment. *Cur Opin Plant Biol* 5: 191-192.
- Knight H. and Knight MR (2001) Abiotic stress signalling pathways: specificity and cross-talk. *Trends Plant Sci* 6: 262–267.
- Koffler NF, Lima JFWF, Lacerda MF, Santana JF and SILVA MA (1986). Caracterização edafo-climática das regiões canavieiras do Brasil: Pernambuco. Piracicaba: Editora. Planalsucar, São Paulo, 78pp.
- Kumar S, Singh PK, Singh J, Swapna M (2004) Genotypes x environment interaction analysis for quantitative traits in sugarcane. *Indian Sugar* 53: 813-818.
- Larcher W (2004) *Ecofisiologia vegetal*. SP: RiMa, 531 pp.

- Lee TI, Jenner RG, Boyer LA, Guenther MG, Levine SS, Kumar RM, Chevalier B, Johnstone SE, Cole MF and Isono K (2006) Control of developmental regulators by polycomb in human embryonic stem cells. *Cell* 125: 301–313.
- Lichtenthaler KH and Buschmann C (2001) Chlorophylls and carotenoids: Measurement and characterization by UV-VIS spectroscopy. *Curr Protoc Food Anal Chem* 10.1002/0471142913.faf0403s01.
- Lima Neto JF, Dutra Filho JA, Simões Neto DE, Silva AEP, Silva LJ, Ferreira GE (2012) Avaliação agroindustrial e parâmetros genéticos de clones UFRPE de cana-de-açúcar no litoral norte de Pernambuco. *Pesq. Agroc. Pernamb.* 17:1-6.
- Lin CS and Binns MR (1988). A superiority measure of cultivar performance for cultivar x location data. *Can. J. Plant. Sci.* 68: 193-198.
- Lopez FB, Chauhan YS and Johansen C (2008) Effects of Timing of Drought Stress on Leaf Area Development and Canopy Light Interception of Short-duration Pigeonpea. *Journal of Agronomy and Crop Science.* 178: 1-7.
- Lu D and Zhang J (1999) Effects of water stress on photosystem II photochemistry and its thermostability in wheat plants. *J Exp Bot* 50: 1199-1206.
- Mamede RQ, Bassinelo AI, Casa Grande AA and Mioque JYJ (2002) Potencial produtivo de clones RB de cana-de-açúcar no município de Nova Europa – SP. *STAB* 20: 32-35.
- Mansour H, Nordheim EV and Ruedge JJ (1981) Estimators of repeatability. *Theoretical and Applied Genetics* 60: 151-156.
- Matsuoka S, Garcia AAF and Arizono H (2005). Melhoramento da cana-de-açúcar. In: Borém A. (ed). *Melhoramento de espécies cultivadas*. Editora UFV, Viçosa, pp.225-274.

- Mattick JS (2003) Challenging the dogma: the hidden layer of non-protein-coding RNAs in complex organisms. *BioEssays* 25: 930-939.
- Matsuoka S, Garcia AAF, Bressiani J and Maccheroni W (2009) Hibridação da cana-de-açúcar. In: Borém A. (Ed.). Hibridação artificial de plantas. Editora UFV, p. 251-304.
- Mariotti IA, Oyarzabal ES, Osa JM, Bulacio ANR and Almada GH (1976) Análisis de estabilidad y adaptabilidad de genotipos de caña de azúcar. I. Interacciones dentro de una localidad experimental. *Revista Agronómica del Nordeste Argentino* 13: 105-127.
- Maxwell K and Johnson G (2000) Chlorophyll fluorescence-a practical guide. *J exp Bot* 51: 659-668.
- Mccormick AJ, Cramer MD and Watt DA (2008) Culm sucrose accumulation promotes physiological decline of mature leaves in ripening sugarcane. *Field Crops res* 108: 250-258.
- Melo LJOT, Oliveira FJ, Bastos GQ, Anunciação Filho CJ and Reis OV (2006) Interação genótipo x ciclos de colheita de cana-de-açúcar da Zona da mata Norte de Pernambuco. *Bragantia* 65: 197-205.
- Melo LJOT, Oliveira FJ, Bastos GQ, Anunciação Filho CJ and Reis OV (2009) Desempenho agroindustrial de cultivares de cana-de-açúcar na zona da mata litoral sul de Pernambuco. *Ciênc Agrotec* 33: 684-691.
- Mendonça SS, Campos JMS, Valadares Filho SC, Valadares RFD, Soares CA, Lana RP, Queiroz AC, Assis AJ and Pereira MLA (2004) Consumo, Digestibilidade Aparente, Produção e Composição do Leite e Variáveis Ruminais em Vacas Leiteiras Alimentadas com Dietas à Base de Cana-de-Açúcar. *Revista Brasileira de Zootecnia* 33: 481-492.

- Miyashita K, Tanakamaru S, Maitani T and Kimura K (2005) Recovery responses of photosynthesis, transpiration, and stomatal conductance in kidney bean following drought stress. *Environmental and Experimental Botany* 53: 205-214.
- Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento, <http://www.agricultura.gov.br/> (March 12, 2013)
- Miranda GV, Vieira C, Cruz CD and Araújo GAA (1998) Comparação de métodos de avaliação da adaptabilidade e da estabilidade de cultivares de feijoeiro. *Acta Scientiarum* 20: 249-255.
- Mittler, R (2002). Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. *Trends Plant Sci* 7: 405-410.
- Moisyadi S, Dharmasiri S, Harrington HM, Lukas TJ (1994) Characterization of a low molecular mass autohosphorylated protein in cultured sugarcane cells and its identifications as a nucleoside diphosphate kinase. *Plant Physiol* 104: 1401-1409
- Nascimento M, Ferreira A, Ferrão RG and Campana ACM (2010). Adaptabilidade e estabilidade via regressão não paramétrica em genótipos de café. *Pesq Agrop Bras* 45: 41-48.
- Molinari HBC, Marur CJ, Daros E, Campos MKF, Carvalho JF, Bessalho-Filho JC, Pereira LFP and Vieira LGE (2007) Evaluation of the stress-inducible production of proline in transgenic sugarcane (*Saccharum* spp.): osmotic adjustment, chlorophyll fluorescence and oxidative stress. *Physiologia Plantarum* 130: 218-229.

- Nogueira RJMC, Aloufa MAI and Albuquerque MB (2004) Stomatic behaviour and leaf water potential in young plants of *Annona squamosa* submitted to saline stress. *Fruits* 59: 209-214.
- Oliveira JS, Sobrinho FS, Fernandes SBV, Wunsch JA, Lajus CA, Dufloth JH, Zanatta JC, Moletta JL, Pereira AV, Ledo, FJS, Botrel MA and Auad MV (2004) Estratificação de ambientes, adaptabilidade e estabilidade de híbridos comerciais de milho para silagem no sul do Brasil. *Ciencia Rural* 34: 997-1003.
- Organização Agricultura e Alimentação, <http://www.fao.org> (March 6, 2013)
- Pacheco CM, Pestana-Calsa MC, Gozzo FC, Nogueira RJMC, Menossi M, Junior TC (2013) Differentially Delayed Root Proteome Responses to Salt Stress in Sugar Cane Varieties. *J proteome res* 12: 131119131451005.
- Pedrozo CA, Barbosa MHP, Silva FL, Resende MDV and Peternelli LA (2011) Repeatability of full-sib sugarcane families across harvests and the efficiency of early selection. *Euphytica* 182: 423-430.
- Pennington SR and Dunn MJ (2001) *Proteomics: from protein sequence to function*. New York: Springer-Verlag e BIOS scientific Plubishers 1v.
- Pereira AV, Machado MA, Azevedo ALS, Nascimento CS, Campos AL and Lédo FJS (2008) Diversidade genética entre acessos de capim-elefante obtida com marcadores moleculares. *Rev Bras Zootec* 37: 1216-1221.
- Pereira HS, Melo LC, Faria LC, Del Peloso MJ, Díaz JLC and Wendland A (2010) Indicação de cultivares de feijoeiro-comum baseada na avaliação conjunta de diferentes épocas de semeadura. *Pesq Agrop Bras* 45: 571-578.
- Perina EF, Carvalho CRL, Chiorato AF, Gonçalves JGR and Carbonell SAM (2010) Avaliação da estabilidade e adaptabilidadede genótipos de feijoeiro

(*Phaseolus vulgaris* L.) baseada na análise multivariada da “performance” genotípica. Ciênc Agrotec 34: 398-406.

Pimentel C (2004) A relação da planta com a água. RJ: Edur, 191pp.

Plaisted RL and Peterson LC (1959) A technique for evaluation the ability of selection the yield consistently in different locations or seasons. *Am. Potato J.* 36: 381-385.

Queiroz RJB, Santos DMM, Carlin SD, MARIN A, BANZATTO DA and CAZETTA JO (2008) Osmoprotetores em cana-de-açúcar sob efeito da disponibilidade hídrica no solo. *Cientifica* 36:107-115.

Ramalho MAP, Santos JB and Pinto CABP (2001). *Genética na agropecuária*. Editora UFLA, 472pp.

Rea R and Sousa-Vieira O (2002) Genotype x environment interactions in sugarcane yield trials in the Central-Western region of Venezuela. *Interciencia* 27: 620-624.

Reis MBA (2009). Análise comparativa de proteínas expressadas sob estresse hídrico em palma forrageira (*Opuntia cochenillifera*). Dissertação (Mestrado em Ciências Genômicas e Biotecnologia) – Universidade Católica de Brasília, 70p.

Resende MDV (2002) *Genética biométrica e estatística no melhoramento de plantas perenes*. Embrapa Informação Tecnológica, 975pp.

Rocha VPC, Moda-Cirino V, Destro D, Fonseca Júnior NS and Prete CEC (2010) Adaptabilidade e estabilidade da característica produtividade de grãos dos grupos comerciais carioca e preto de feijão. *Semin Cienc Agra* 31: 39-54.

- Rosse LN, Vencovsky R and Ferreira DF (2002). Comparação de métodos de regressão para avaliar a estabilidade fenotípica em cana-de-açúcar. *Pesqui Agrop Bras* 37: 25-32.
- Salvato F, and Carvalho MCCG (2010). Métodos e estratégias em proteômica e suas aplicações na área vegetal. *Cienc. Rur* 40: 727-734.
- Santos MSM, Madalena JA, Soares L, Ferreira PV and Barbosa GVS (2004) Repetibilidade de características agroindustriais em cana-de-açúcar. *Pesq Agrop Bras* 39: 301-306.
- Scott AJ & Knott M (1974) A cluster analysis method for grouping means in the analysis of variance. *Biometrics*, 30: 507-512.
- Shimoya A, Cruz CD, Ferreira RP, Pereira AV and Carneiro PCS (2002) Divergência genética entre acessos de um banco de germoplasma de capim-elefante. *Pesq. Agropecu. Bras.* 37: 971-980.
- Singels A, Donaldson RA and Smit MA (2005) Improving biomass production and partitioning in sugarcane: theory and practice. *Field Crops res* 92: 291-303.
- Siegfried KR, Eshed Y, Baum SF, Otsuga D, Drews GN, Bowman JL (1999) Members of the *YABBY* gene family specify abaxial cell fate in *Arabidopsis*. *Development* 126:4117–4128.
- Silva MA, Jifon JL, Silva JAG and Sharma V (2007) Use of physiological parameters as fast tools to screen for drought tolerance in sugarcane. *Braz j plant physiol* 19: 193-201.
- Silva MA (2008a). Interação genótipo x ambiente e estabilidade fenotípica de cana-de-açúcar em ciclo de cana de ano. *Bragantia* 67: 109-117.

- Silva GS, Ramalho MAP, Abreu AFB, Silva FB (2008b) Genetic control of early grain darkening of carioca common bean. *Crop Breed Appl Biotech* 8: 299-304.
- Silva PB (2010) Aspectos fisiológicos de seis genótipos de cana-de-açúcar submetidos a estresse hídrico Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal e Produção de plantas) – Universidade Federal de Alagoas, 98p.
- Silva RR, Benin G, Silva GO, Marchioro VS, Almeida JL and Matei G (2011) Adaptabilidade e estabilidade de cultivares de trigo em diferentes épocas de semeadura, no Paraná. *Pesq Agrop Bras* 46:1439-1447.
- Silva MA, Santos CM, Arantes MT, Brunelli MC and Holanda LA (2013) Respostas fisiológicas de cultivares de cana-de-açúcar submetidas à deficiência hídrica e a reidratação. *Revista Caatinga* 26: 28-35.
- Silveira LCI (2011) Adaptabilidade e estabilidade de clones de cana-de açúcar no estado de minas gerais. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) – Universidade Federal do Paraná, 59p.
- Souza PHN, Bastos GQ, Anunciação Filho CJ, Dutra Filho JA and Machado PR (2012) Avaliação de genótipos de cana-de-açúcar para início de safra na Microrregião Centro de Pernambuco. *Rev Ceres* 59: 427-432.
- Souza RP, Machado EC, Silva JAB, Lagôa AMMA and Silveira JAG (2004) Photosynthetic gas exchange in cowpea (*Vigna unguiculata*) during water stress and recovery. *Environmental and Experimental Botany* 51: 45-56.
- Skinner JC, Hogarth DM and Wu KK (1987) Selection methods, criteria and indices. In: HEINZ, D. J. Sugarcane improvement through breeding. Elsevier, p. 409-453.

- Stevenson GC (1953) Use of selfing and inbreeding with sugarcane. In: Proceedings of International Society of Sugarcane Technologist Congress. 8: 509-521.
- Stolf R (1986) Metodologia de avaliação de falhas nas linhas de cana-de-açúcar. *STAB* 4: 22-36.
- Streit NM, Canterle LP, Canto MW and Hecktheuer LHH (2005) As clorofilas. *Cienc rural* 35: 748-755.
- Tada Y and Kashimura T (2009). Proteomic analysis of salt-responsive proteins in the mangrove plant, *Bruguiera gymnorhiza*. *Plant Cell Physiol* 50: 439-446.
- Tai GCC (1971). Genotypic stability analysis and its application to potato regional trials. *Crop Sci* 11: 184-190.
- Taiz, L and Zeiger, E (2009). Fisiologia vegetal. Artmed, 843 pp
- Tezara W, Driscoll S and Lawlor DW (2008) Partitioning of photosynthetic electron flow between CO₂ assimilation and O₂ reduction in sunflower plants under water deficit. *Photosynthetica* 46: 127-134.
- Theil H (1950). A rank-invariant method of linear and polynomial regression analysis. *Indag math* 12: 85-91.
- Toriba T, Harada K, Takamura A, Nakamura H, Ichikawa H, Suzaki T, Hirano HY (2007) Molecular characterization the YABBY gene family in *Oryza sativa* and expression analysis of OsYABBY1. *Mol genet genomics* 277: 457-468.
- União da Indústria de Cana-de-açúcar, 2009, <http://www.unica.com.br> (March 6. 2013).
- Verissimo MAA, Silva DAS, Aires RF, Daros E and Panzieira W (2012) Adaptabilidade e estabilidade de genótipos precoces de cana-de-açúcar no Rio Grande do Sul. *Pesq Agrop Bras.* 47:561-568.

- Vieira ESN, Shuster I, Silva RB, Oliveira MAR (2009) Variabilidade genética em cultivares de soja determinada com marcadores microssatélites em gel de agarose. *Pesq Agrop Bras* 44: 1460-1466.
- Walker DIT, MacColl D and Rao PS (1977) Aspects of the use of *Saccharum spontaneum* in the West Indies programme. *Proceedings International Society of Sugarcane Technologists*. 16: 291-303
- Wilkins MR, Sanches JC, Williams KL and Hochstrasser DF (1996) Current challenges and future applications for protein maps and posttranslational vector maps in proteome projects. *Electrophoresis* 17: 830-838.
- Wricke G (1965) Zurberechnung der ökovalenzbeisommerweizenundhafer. *Pflanzenzuchtung* 52: 127-138.
- Xiao X, Yang F, Zhang S, Korpelainen H and Li C (2009) Physiological and proteomic responses of two contrasting *Populus cathayana* populations to drought stress. *Physiol Plantarum* 136: 150-168.
- Yates F, Cochran WG (1938). The analysis of group of experiments. *J agric sci* 28: 556-80.
- Yemm EW and Cocking EC (1955) The determination of aminoacid with ninhydrin. *Analyst* 80: 209-213.

9. Anexos

9.1. Artigo aceito para publicação

GMR

Genetics and Molecular Research - Sistema para Gerenciamento de Publicações



Ribeirão Preto, 29 de Outubro de 2013

Prezados autores,

Informamos que o artigo "Phenotype adaptability and stability of sugarcane genotypes in the sugarcane belt in the state of Pernambuco, Brazil" GMR3735, de autoria João de Andrade Dutra Filho; Tercilio Calsa Junior; Djalma Euzébio Simões Neto, foi aceito para publicação na Genetics and Molecular Research (GMR).

Aproveitamos a oportunidade para informar que a GMR está indexada em 74 bases de dados, entre elas: Index Medicus, PubMed, Medline e ISI. E tem fator de impacto 1,184, segundo JCR - junho 2012.

Atenciosamente,

Francine Muniz
Coordenadora editorial (Mtb 44.300)
Genetics and Molecular Research
www.funpecrp.com.br/gmr

9.2. Análises genético-estatísticas

9.2.1. Análise de variância conjunta de experimentos

A análise de variância conjunta de experimentos foi realizada segundo o modelo estatístico: $Y_{ijk} = \mu + (b/c)_{jk} + g_i + c_k + gc_{ik} + \varepsilon_{ijk}$

Onde: Y_{ijk} : observação do i-ésimo genótipo, avaliado no j-ésimo bloco dentro do k-ésimo corte;

μ : média geral do ensaio;

$(b/c)_{jk}$: efeito do bloco k dentro do corte k;

g_i : efeito do tratamento (ou genótipo) i;

c_k : efeito do corte k;

gc_{ik} : efeito da interação entre o genótipo i e o corte k e;

ε_{ijk} : erro aleatório associado a observação ijk.

Foram determinados como fixos, os efeitos de médias (μ) e genótipos (g), e aleatórios os efeitos do bloco (b), corte (c), interação genótipo corte (gc) e o erro experimental (ε). Os resultados da análise de variância conjunta dos experimentos foram obtidos através do esquema apresentado na tabela 3.

9.2.3. Parâmetros genéticos

Foram estimados os seguintes parâmetros genéticos:

Componente de variância genética: $\hat{\sigma}_g^2 = \frac{QMG - QMGA}{cr}$

Componente de variância da interação genótipo x corte: $\sigma_{gc}^2 = \frac{QMGC - QMR}{r} \frac{g-1}{g}$

Determinação genotípica em nível de média: $h^2 = \frac{\hat{\sigma}_g^2}{(QMG / cr)}$

Coeficiente de variação genético: $CV_g = \frac{(100\sqrt{\hat{\sigma}_g^2})}{m}$

Índice b: $CV_g / CV_e = \sqrt{\frac{\hat{\sigma}_g^2}{\sigma^2}}$

9.2.4. Agrupamento de médias

As médias referentes aos caracteres considerados no processo de seleção que expressam desempenho agroindustrial dos genótipos avaliados foram agrupadas pelo teste de Scott e Knott por meio da expressão:

$$\lambda = \frac{\pi B_0}{2(\pi - 2) \hat{\sigma}_0^2}$$

Em que:

B_0 : valor máximo da soma de quadrados entre grupos, considerando-se todas as partições possíveis dos g (genótipos) em dois grupos. Considera-se $2^{g-1} - 1$ partições possíveis das g médias dos genótipos em dois grupos;

$\hat{\sigma}_0^2$: variância obtida por meio de:

$$\sigma_0^2 = \frac{1}{g + v} \left[\sum_{i=1}^g (\bar{y}_i - \bar{y})^2 + v s_y^2 \right] \text{ em que:}$$

$\bar{y}_i$: média do genótipo i (i = 1, 2, ...g);

$\bar{y}$: média geral dos genótipos a serem separados;

g: número de médias a serem separadas;

v: número de graus de liberdade do resíduo; e

$s_y^2 = \text{QMR}/r$, sendo QMR = quadrado médio do resíduo e r o número de

observações que deram origem às médias a serem agrupadas.

A decisão para estabelecer os grupos foi a seguinte:

Se $\lambda < \chi_{(\alpha, v_0)}^2$, todas as médias foram consideradas homogêneas, não havendo mais partições dentro do grupo considerado;

Se $\lambda \geq \chi_{(\alpha, v_0)}^2$, os dois grupos diferem significativamente. Estes dois grupos foram testados separadamente para novas divisões. O teste prosseguiu até ser encontrado grupos de médias homogêneas.

O valor do qui-quadrado referencial foi estabelecido em função do nível de significância α preestabelecido e do número de graus de liberdade, que foi dado por:

$$v_0 = \frac{g}{\pi - 2}$$

9.2.5. Decomposição da interação genótipo x ambiente

A decomposição da interação em partes simples ou complexa entre pares de ambientes foi efetuada conforme a expressão: $\sqrt{(1-r)^3 Q_1 Q_2}$

Onde: r = correlação entre médias de genótipos nos dois ambientes;

Q_1 e Q_2 = quadrados médios entre genótipos nos ambientes 1 e 2 respectivamente.

9.2.6. Estratificação de ambientes

A estratificação de ambientes foi realizada para identificar se existem, em relação as microrregiões canavieiras, padrões de similaridade de respostas de cultivares aplicando a metodologia da soma dos quadrados entre genótipos e pares de ambientes por meio da expressão:

$$SQGA_{jj'} = \theta_{jj'} = \frac{1}{2} \left[d_{jj'}^2 - \frac{1}{g} (Y_j - Y_{j'})^2 \right]$$

Em que:

$$\theta_{jj'} = \frac{2}{n} (\theta_{jj'} + \theta_{jk} + \theta_{j'k}) = \frac{2}{n} S_{jj'k}$$

n = número de ambientes considerados na interação;

$S_{jj'k}$ = somatório das somas de quadrados da interação entre genótipos e combinações, dois a dois, dos ambientes j , j' e k .

$$d_{jj'}^2 = \sum_i (Y_{ij} - Y_{ij'})^2 :$$

$d_{jj'}^2$: expressa o quadrado da distância Euclidiana entre os ambientes j e j' , com base no comportamento médio de g cultivares.

9.2.7. Adaptabilidade e Estabilidade

A análise de adaptabilidade e estabilidade foram realizadas através da utilização de três metodologias:

1º Método proposto por Eberhart e Russel (1966) que utiliza o seguinte modelo de regressão linear: $Y_{ij} = \beta_{0i} + \beta_{1i} + I_j + \delta_{ij} + \varepsilon_{ij}$

Onde:

Y_{ij} : média do genótipo i no ambiente j ;

β_{0i} : média geral do genótipo i ;

β_{1i} : coeficiente de regressão linear, que mede a resposta do i -ésimo genótipo à variação do ambiente;

I_j : índice ambiental codificado $\left[\sum_j I_j = 0 \right]$;

δ_{ij} : variância dos desvios da regressão;

ε_{ij} : erro experimental médio;

Baseando-se nesse modelo, os parâmetros de adaptabilidade e estabilidade foram estimados através das seguintes equações:

$$\hat{\beta}_{1i} = \frac{\sum_j Y_{ij} I_j}{\sum_j I_j^2} \text{ e } \hat{V}(\hat{\beta}_{1i}) = \frac{1}{\sum_j I_j^2} \hat{\sigma}_E^2 \text{ sendo: } \hat{\sigma}_E^2 = \frac{1}{r} \hat{\sigma}^2 = \frac{QMR}{r}$$

As hipóteses $H_0: \beta_{1i} = 1$ e $H_a: \beta_{1i} \neq 1$ foram avaliadas pela estatística t:

$$t = \frac{\hat{\beta}_{1i} - 1}{\sqrt{\hat{V}(\hat{\beta}_{1i})}}$$

Para estimativa da estabilidade utilizou-se $\hat{\sigma}_{di}^2 = \sum_j \hat{\delta}_{ij}^2 / (a - 2) = \frac{QMDi - QMR}{r}$

O coeficiente de determinação foi estimado por:

$$R_i^2 = \frac{SQ(\text{regressão linear})}{SQ(A/Gi)} \times 100$$

2º Método proposto por Lin e Bins (1988), modificado por Carneiro (1998) que utiliza o quadrado médio da distância entre a média do cultivar e a resposta média máxima obtida no ambiente através da seguinte equação:

$$P_i = \frac{\sum_{j=1}^n (X_{ij} - M_j)^2}{2n}$$

Em que: P_i = estimativa da estabilidade e adaptabilidade do cultivar i;

X_{ij} = produtividade do i-ésimo cultivar no j-ésimo local;

M_j = resposta máxima observada entre todos os cultivares no local

j;

n = número de locais.

Para estimativa de adaptabilidade a ambientes favoráveis e desfavoráveis utilizou-se a decomposição da estatística P_i em P_{if} (ambientes favoráveis) e P_{id} (ambientes desfavoráveis) a partir das seguintes equações:

$$P_{if} = \frac{\sum_{j=1}^f (X_{ij} - M_j)^2}{2f} \quad \text{e} \quad P_{id} = \frac{\sum_{j=1}^d (X_{ij} - M_j)^2}{2d}$$

Em que: P_{if} = estimativa de adaptabilidade à ambientes favoráveis;

f = número de ambientes favoráveis;

P_{id} = estimativa de adaptabilidade à ambientes desfavoráveis;

d = número de ambientes desfavoráveis;

X_{ij} = produtividade do i-ésimo cultivar no j-ésimo local;

M_j = resposta máxima observada entre todos os cultivares no local

j;

3º Método proposto por Annichiarico (1992) que utiliza a medida de superioridade do genótipo em relação a média de cada ambiente a partir da estimação de um índice de recomendação considerando-se:

Y_{ij} : média do i-ésimo genótipo no j-ésimo ambiente;

$\bar{Y}_j$: média do j-ésimo ambiente.

A partir dessas considerações obteve-se os valores percentuais para cada genótipo, conforme descrito a seguir:

$$Z_{ij} = \frac{100Y_{ij}}{\bar{Y}_j}$$

Com os valores percentuais obtiveram-se as medidas de adaptabilidade e estabilidade dadas por:

$$\omega_i = \hat{\mu}_i - Z_{(1-\alpha)} \hat{\sigma}_{zi}$$

em que: ω_i = representa o índice de recomendação;

$\hat{\mu}_i$ = média percentual;

$\hat{\sigma}_{zi}$ = desvio relativo.

Essas estatísticas foram obtidas a partir das seguintes equações:

$$\hat{\mu}_{i(g)} = \frac{\sum_{j=1}^a Z_{ij}}{a} : \text{refere-se a média do genótipo, considerando todos os}$$

ambientes (a = número de ambientes);

$$\hat{\mu}_{i(f)} = \frac{\sum_{j=1}^f Z_{ij}}{f} : \text{refere-se a média do genótipo, considerando apenas os}$$

ambientes favoráveis (f = número de ambientes favoráveis);

$$\hat{\mu}_{i(d)} = \frac{\sum_{j=1}^d Z_{ij}}{d} : \text{refere-se a média do genótipo, considerando apenas os}$$

ambientes desfavoráveis (d = número de ambientes favoráveis);

$\hat{\sigma}_{zi(g)}$ = desvio-padrão dos valores Z_{ij} , do i-ésimo genótipo, considerando seu comportamento em todos os ambientes;

$\hat{\sigma}_{zi(f)}$ = desvio-padrão dos valores Z_{ij} , do i-ésimo genótipo, considerando seu comportamento nos ambientes favoráveis;

$\hat{\sigma}_{zi(d)}$ = desvio-padrão dos valores Z_{ij} , do i-ésimo genótipo, considerando seu comportamento nos ambientes desfavoráveis;

Em posse desses dados foi calculado os parâmetros de adaptabilidade para ambientes favoráveis e desfavoráveis:

$$\omega_{i(g)} = \hat{\mu}_{i(g)} - Z_{(1-\alpha)} \hat{\sigma}_{zi(g)} : \text{considerando todos os ambientes};$$

$$\omega_{i(f)} = \hat{\mu}_{i(f)} - Z_{(1-\alpha)} \hat{\sigma}_{zi(f)} : \text{considerando os ambientes favoráveis};$$

$$\omega_{i(d)} = \hat{\mu}_{i(d)} - Z_{(1-\alpha)} \hat{\sigma}_{zi(d)} : \text{considerando os ambientes desfavoráveis}.$$

Sendo $Z_{(1-\alpha)}$: percentil da função de distribuição normal padrão.

9.2.8. Estimativa dos coeficientes de repetibilidade e dos graus de previsibilidade dos valores reais dos genótipos

A estimativa do coeficiente de repetibilidade a partir da análise de variância foi realizada de acordo com o modelo estatístico apresentado por Cruz *et al.* (2012): $Y_{ij} = \mu + g_i + a_j + \varepsilon_{ij}$ sendo:

Y_{ij} : observação referente ao i -ésimo genótipo no j -ésimo corte (tempo ou espaço);

μ : média geral

g_i : efeito do i -ésimo genótipo sob influência do corte permanente ($i=1, 2, \dots, p$);

a_j : efeito do corte temporário na j -ésima medição ($j=1, 2, \dots, \eta$);

ε_{ij} : erro experimental estabelecido pelos efeitos temporários do corte na j -ésima medição do i -ésimo genótipo.

Após a análise de variância o coeficiente de repetibilidade foi obtido por:

$$r = \frac{Cov(Y_{ij}, Y_{ij'})}{\sqrt{V(Y_{ij})V(Y_{ij'})}} = \frac{\sigma_g^2}{\sigma_y^2} = \frac{\sigma_g^2}{\sigma_y^2 + \sigma_g^2}$$

Logo o número de medições para predizer o valor real dos indivíduos foi obtido por:

$$\eta^2 = \frac{R^2(1-r)}{(1-R^2)r}$$

A estimativa do coeficiente de repetibilidade pela técnica dos componentes principais foi obtido a partir da matriz de variâncias e covariâncias fenotípicas de acordo com o modelo estatístico apresentado por Cruz *et al.* (2012): $Y_{ij} = \mu + g_i + a_j + \varepsilon_{ij}$. Entretanto nesse caso obteve-se a matriz de covariância:

$$r = \sigma_y^2 = \begin{bmatrix} 1 & \rho & \dots & \rho \\ \rho & 1 & \dots & \rho \\ \dots & \dots & \dots & \dots \\ \rho & \rho & \dots & 1 \end{bmatrix} \text{ em que:}$$

$$V(Y_{ij}) = V(Y_{ij}') = \hat{\sigma}_g^2 + \sigma_y^2 = \sigma_y^2$$

$$\text{Cov}(Y_{ij}, Y_{ij}') = ((\hat{\sigma}_g^2 + \sigma_y^2) \rho = \rho \sigma_y^2$$

O primeiro autovalor foi obtido por: $\lambda_1 = \sigma_y^2 [1 + (\eta - 1)\rho]$

O autovetor correspondente por: $\alpha'_1 = [1/\sqrt{\eta} \dots 1/\sqrt{\eta}]$

O estimador do coeficiente de repetibilidade foi obtido por:

$$r_{\rho}^{\wedge} = \frac{\lambda 1 - \sigma_y^2}{\sigma_y^2 (\eta - 1)}$$

Já a estimativa do coeficiente de repetibilidade pelo método da análise estrutural foi obtido considerando a matriz paramétrica de correlações entre os genótipos em cada par de avaliação e $\hat{R}$ o seu estimador obtido por:

$$r = \frac{\alpha' \hat{R} \alpha - 1}{\eta - 1} \text{ em que: } \alpha' = [1/\sqrt{\eta} \dots 1/\sqrt{\eta}]$$

$$\text{Neste caso verifica-se que: } \alpha' \hat{R} \alpha = 1 + \frac{2}{\eta} \sum_j \sum_{<j'} r_{jj'}$$

$$\text{Consequentemente: } r = \frac{2}{\eta(\eta - 1)} \sum_j \sum_{<j'} r_{jj'}$$

Sendo este estimador do coeficiente de repetibilidade a média aritmética das correlações fenotípicas entre os genótipos considerando cada par de medições. O coeficiente de determinação foi obtido por: $R^2 = \eta r / [1 + r(\eta - 1)]$. E o número de medições para prever o valor real do indivíduo: $\eta_0 = R^2(1 - r) / (1 - R^2)r$.

9.2.9. Dados suplementares

Para fins de informação, no presente trabalho além da análise genético estatística dos genótipos das séries 1994 e 1995, realizou-se análises biométricas dos genótipos oriundos dos cruzamentos das séries 1996, 1997, 1998, 1999, 2000, 2001, 2002, 2003 e 2004 seguida das análises do progresso genético de

dez anos de experimentação agrícola do PMGCA/UFRPE/RIDESA, todavia em virtude do volume das informações tornou-se inviável a apresentação dos mesmos na presente tese. Desta forma, esse grande volume de informações serão trabalhados como dados suplementares na produção de artigos científicos.

10. Curriculum vitae (Lattes)

João de Andrade Dutra Filho

Curriculum Vitae

Dados pessoais

Nome João de Andrade Dutra Filho

Filiação João de Andrade Dutra e Maria Braz de Almeida Dutra

Nascimento 07/01/1981 - Vitória de Santo Antão/PE - Brasil

Carteira de Identidade 6037501 SSP - PE - 23/01/1998

CPF 034.764.664-69

Endereço residencial Rua Agamenom Magalhães
Maues - Vitoria de Santo Antao
55604-070, PE - Brasil
Telefone: 081 96497833

Endereço profissional Universidade Federal Rural de Pernambuco
R. Dom Manuel Medeiros, s/n
Dois Irmãos - Recife
52171-900, PE - Brasil
Telefone: 081 33206011

Endereço eletrônico

E-mail para contato : filho-dutra@ig.com.br

e-mail alternativo : joao.trovaoresgate@hotmail.com

Formação acadêmica/titulação

- 2011** Doutorado em Genética.
Universidade Federal de Pernambuco, UFPE, Recife, Brasil
Título: AVALIAÇÃO DE GENÓTIPOS RB DE CANA-DE-AÇÚCAR DE DEZ SÉRIES E PROTEÔMICA ASSOCIADA AO ESTRESSE HÍDRICO EM GENÓTIPOS ORIUNDOS DE AUTOFECUNDAÇÃO EM PERNAMBUCO
Orientador: Tercilio Calsa Junior
Áreas do conhecimento : Melhoramento Vegetal, Genética Biométrica, Genômica Funcional: Proteômica
- 2008 - 2010** Mestrado em Agronomia (Melhoramento Genético de Plantas).
Universidade Federal Rural de Pernambuco, UFRPE, Recife, Brasil
Título: Avaliação da variabilidade fenotípica e genética em genótipos de cana-de- açúcar utilizando marcadores moleculares SSR, Ano de obtenção: 2010
Orientador: Gerson Quirino Bastos
Bolsista do(a): Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico
Áreas do conhecimento : Melhoramento Vegetal
- 2000 - 2007** Graduação em Licenciatura Plena em Ciências Biológicas.
Universidade Federal Rural de Pernambuco, UFRPE, Recife, Brasil
Orientador: Luiza Suely Semen Martins

Bolsista do(a): Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico

Formação complementar

- 2011 - 2011** Curso de curta duração em SAM para Caracteres Quantitativos.
Sociedade Brasileira de Melhoramento de Plantas, SBMP, Campos Dos Goytacazes, Brasil
- 2011 - 2011** BIOINFORMÁTICA: ANÁLISE DE DADOS MOLECULARES.
Universidade Federal de Pernambuco, UFPE, Recife, Brasil
- 2009 - 2009** Genética Quantitativa.
UFRPE / UFLA (PROCAD - Novas Fronteiras)., UFRPE / UFLA, Brasil
Bolsista do(a): Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior
- 2009 - 2009** Curso de curta duração em Marcadores moleculares aplicados ao mel. plantas.
Sociedade Brasileira de Melhoramento de Plantas, SBMP, Campos Dos Goytacazes, Brasil
- 2008 - 2008** Genética de Populações.
UFRPE / UFLA (PROCAD - Novas Fronteiras)., UFRPE / UFLA, Brasil
Bolsista do(a): Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível

Superior

- 2008 - 2008** Extensão universitária em Identificação e caracterização da função gênica.
Universidade Federal Rural de Pernambuco, UFRPE, Recife, Brasil
- 2007 - 2007** Curso de curta duração em Uso de Marcadores Mol. no Melhoramento de Plantas.
Universidade Federal Rural de Pernambuco, UFRPE, Recife, Brasil
- 2006 - 2006** Curso de curta duração em Indução de mutação em plantas.
Encontro de Genética do Nordeste, ENGENE, Brasil
- 2006 - 2006** Curso de curta duração em Ecossistemas Fitais.
Universidade Federal Rural de Pernambuco, UFRPE, Recife, Brasil
- 2005 - 2005** Curso de curta duração em Biostatística (sem choro!) para biólogos.
Universidade Federal Rural de Pernambuco, UFRPE, Recife, Brasil
- 2005 - 2005** Immediate conversation in english Basic 01.
FISK, FISK, Brasil
- 2004 - 2004** Curso de curta duração em Atualidades sobre Briófitas.
Universidade Federal Rural de Pernambuco, UFRPE, Recife, Brasil

- 2001 - 2001** COREL DRAW.
SENAC, SENAC, Brasil
- 2001 - 2001** GERENCIADOR DE APLICATIVOS WINDOWS.
SENAC, SENAC, Brasil
- 2001 - 2001** Extensão universitária em Curso intensivo sobre Insetos Aquáticos.
Universidade Federal Rural de Pernambuco, UFRPE, Recife, Brasil
- 2001 - 2001** Curso de curta duração em Curso de Bioquímica Clínica.
Fundação de Hematologia e Hemoterapia de Pernambuco, HEMOPE,
Recife, Brasil

Atuação profissional

1. Universidade Federal de Pernambuco - UFPE

Vínculo institucional

2011 - Atual Vínculo: Aluno do PPGG , Enquadramento funcional:
Doutorando , Carga horária: 20, Regime: Parcial

2. Universidade Federal Rural de Pernambuco - UFRPE

Vínculo institucional

2010 - 2013 Vínculo: Pesquisador , Enquadramento funcional: Fitomelhorista-Bolsista DTI , Carga horária: 40, Regime: Dedicação exclusiva

Atividades

02/2007 - 02/2008 Pesquisa e Desenvolvimento, Conselho de Ensino a Pesquisa e Extensão, UFRPE

Linhas de pesquisa:

Melhoramento de milho ,

Melhoramento da cana-de-açúcar

Linhas de pesquisa

1. Melhoramento da cana-de-açúcar

Objetivos: Seleção de genitores com boa performance per se a serem utilizados em trabalhos de hibridação com o auxílio de técnicas biométricas e moleculares. Utilização de técnicas citogenéticas e moleculares (Marcadores) para estudo do genoma da cana-de-açúcar. Estudar a relação dos níveis de ploidia com a depressão por endogamia

Áreas do conhecimento : Melhoramento Vegetal

2. Melhoramento de milho

Objetivos: Avaliação de germoplasma. Obtenção de linhagens mais produtivas

Áreas do conhecimento : Melhoramento Vegetal

Áreas de atuação

1. Melhoramento Vegetal
2. Genética aplicada ao melhoramento vegetal
3. Genética molecular aplicada ao melhoramento vegetal
4. Marcadores moleculares
5. Genética Quantitativa

Projetos

Projetos de pesquisa

Atual Seleção Massal Estratificada, assistida por modelos biométricos, em milho Asteca original.

Descrição: O milho está entre as plantas cultivadas de maior valor econômico, devido a sua ampla utilização como fonte da alimentação humana e animal. Atualmente o melhoramento genético objetiva desenvolver novos híbridos mais produtivos, com caracteres agronômicos favoráveis e adaptados aos mais variados tipos de clima e solo. De acordo com Paterniani et. al. (2005), a espécie *Zea mays* L. apresenta uma grande diversidade de raças e variedades cujo verdadeiro potencial desse germoplasma ainda

não foi avaliado. Este trabalho teve por objetivo inicial aplicar o método de seleção massal estratificada no milho asteca original, em fase de pré-melhoramento, visando aumentar a frequência de alelos favoráveis. Após alguns ciclos de seleção será aplicado modelos biométricos mais eficazes visando a avaliação do desempenho per se das plantas selecionadas até a obtenção de uma população melhorada para a produção de novas linhagens.

Situação: Em andamento Natureza: Projetos de pesquisa

Alunos envolvidos: Mestrado acadêmico (2); Doutorado (2);

Integrantes: João de Andrade Dutra Filho (Responsável); ; Gerson Quirino Bastos; JÚLIO DA SILVA CORREA DE OLIVEIRA ANDRADE; Clodoaldo JOSé da Anunciação Filho

Financiador(es): Universidade Federal Rural de Pernambuco-UFRPE

2008 - 2010 Avaliação da variabilidade genética em genótipos de cana-de-açúcar utilizando marcadores moleculares SSR

Descrição: Em cana de açúcar, a variabilidade genética disponível para seleção provém de cruzamentos sexuais realizados entre genitores de interesse, com boa performance per se, o que é normalmente conseguido pelo uso de variedades comerciais ou pré-comerciais, por já apresentarem um conjunto de genes de interesse (Souza Jr., C.L. 1995). Tendo em vista que as variedades comerciais cultivadas atualmente apresentam, com o passar do tempo, seu potencial agrícola e industrial comprometido devido a um processo conhecido como degenerescência (ESPIRONELO, 1987). A seleção de genitores elites com caracteres agronômicos favoráveis a serem usados em programas de melhoramento, até a obtenção de novas variedades, assume fundamental importância para o desenvolvimento do setor sucroalcooleiro. No Brasil, os programas

de seleção de novas variedades se iniciam a partir de um número de “seedlings” que pode variar de 100 mil a 2 milhões, por local, por ano, levando-se em média de 13 a 15 anos para se obter novas variedades melhoradas, mais produtivas e com resistência à pragas e doenças. A seleção de novos genótipos é baseada em caracteres agronômicos e industriais da planta. Entretanto tais descritores classificados como morfo-agronômicos apresentam a limitação de serem facilmente influenciados pelo ambiente. Para maximizar a eficiência deste processo, deve-se fazer a escolha adequada dos genitores, quantificando a variabilidade genética do material e os efeitos ambientais na expressão de cada caráter sob seleção (Melo, 2005). Atualmente a tendência do melhoramento genético é integrar aos métodos tradicionais às modernas técnicas biotecnológicas, no intuito de aprimorar cada vez mais os indicativos da existência de diferenciação ou similaridade genética entre os genótipos avaliados. Assim, o objetivo deste trabalho é selecionar por meio de marcadores SSR, genitores elites, que apresentem divergência genética satisfatória a fim de serem usado em programas de melhoramento visando a o

Situação: Concluído Natureza: Projetos de pesquisa

Alunos envolvidos: Mestrado acadêmico (1);

Integrantes: João de Andrade Dutra Filho (Responsável); ; Gerson Quirino Bastos; LUCIANE VILELA RESENDE; LUIZ JOSÉ OLIVEIRA TAVARES DE MELO

Financiador(es): Rede Interuniversitária para o Desenvolvimento do Setor Sucroalcooleiro-RIDESA

2005 - 2011 Seleção e recomendação de variedades de cana-de-açúcar para cultivo na região canavieira do estado de Pernambuco

Descrição: O estado de Pernambuco se destaca no cenário sócio-econômico nacional como um dos tradicionais produtores de cana-de-açúcar. Entretanto, um dos

fatores que dificulta o aumento da produtividade seria a interação genótipo-ambiente, visto que, essa região apresenta, de acordo com Koffler et al. (1986), cinco ambientes distintos cada um apresentando facilidades e limitações da interação de clima e solo com a cultura da cana-de-açúcar. O presente projeto tem por finalidade avaliar o desempenho agroindustrial de variedades de cana-de-açúcar, de diferentes procedências, nas cinco microrregiões canavieiras do estado de Pernambuco e recomendar o plantio daquelas que se destacarem com relação a produtividade agrícola e industrial, retorno econômico, adaptabilidade e estabilidade e outras características de interesse a agroindustria canavieira.

Situação: Em andamento Natureza: Projetos de pesquisa

Alunos envolvidos: Graduação (1); Mestrado acadêmico (1);

Integrantes: João de Andrade Dutra Filho (Responsável); ; Gerson Quirino Bastos; LUIZ JOSÉ OLIVEIRA TAVARES DE MELO; Djalma Euzébio Simões Neto; Clodoaldo José da Anunciação Filho; Aurélia Pietrina da Costa Albuquerque; Leonam José da Silva; Paulo Rocha Machado

Financiador(es): Rede Interuniversitária para o Desenvolvimento do Setor Sucroalcooleiro-RIDESA

Idiomas

Inglês Compreende Razoavelmente , Fala Razoavelmente , Escreve Razoavelmente , Lê Razoavelmente

Espanhol Compreende Pouco , Fala Pouco , Escreve Pouco , Lê Razoavelmente

Português Compreende Bem , Fala Bem , Escreve Bem , Lê Bem

Produção

Produção bibliográfica

Artigos completos publicados em periódicos

1. LIMA NETO, J. F., **DUTRA FILHO, J. A.**, SIMÕES NETO, D.E., SILVA, A. E. P., SILVA, L.J., FERREIRA, G. E.

AVALIAÇÃO AGROINDUSTRIAL E PARÂMETROS GENÉTICOS DE CLONES RB DE CANA-DE-AÇÚCAR NO LITORAL NORTE DE PERNAMBUCO. Pesquisa Agropecuária Pernambucana. , v.18, p.8 - 13, 2013.

Áreas do conhecimento : Melhoramento Vegetal

Referências adicionais : Português. Meio de divulgação: Meio digital

2. CHAVES, A., SIMÕES NETO, D.E., **DUTRA FILHO, J. A.**, OLIVEIRA, A. C., RODRIGUES, W. D. L., PEDROSA, E. M. R., BORGES, V. J. L., FRANCA, P. R. P.

Presence of orange rust on sugarcane in Pernambuco State, Brazil.. Tropical Plant Pathology (Impresso). , v.38, p.443 - 446, 2013.

Áreas do conhecimento : Fitopatologia, Melhoramento Vegetal

Referências adicionais : Inglês.

3. **DUTRA FILHO, J. A.**, RESENDE, L. V., BASTOS, G. Q., SIMÕES NETO, D.E., MACHADO, P.R.

Utilização de marcadores moleculares RAPD e EST's SSR para estudo da variabilidade

genética em cana-de-açúcar. Revista Ciência Agronômica (UFC. Online). , v.44, p.141 - 149, 2013.

Áreas do conhecimento : Melhoramento Vegetal

Referências adicionais : Português.

4. SOUZA, P. H. N., BASTOS, G. Q., ANUNCIAÇÃO FILHO, C.J., **DUTRA FILHO, J. A.**, MACHADO, P.R.

AVALIAÇÃO DE GENÓTIPOS DE CANA-DE-AÇÚCAR PARA INÍCIO DE SAFRA NA MICRORREGIÃO CENTRO DE PERNAMBUCO. Revista Ceres. , v.59, p.677 - 683, 2012.

Áreas do conhecimento : Melhoramento Vegetal

Referências adicionais : Português.

5. **DUTRA FILHO, J. A.**, BASTOS, G. Q., MACHADO, P.R., SILVA, L.J., SIMÕES NETO, D.E., CHAVES, A., SILVA, Frank Sinatra Gomes

Estimativa do ganho por seleção para produtividade em famílias de cana-de-açúcar. Comunicata Scientiae (Online). , v.3, p.35 - 40, 2012.

Áreas do conhecimento : Melhoramento Vegetal, Genética Quantitativa

Referências adicionais : Português. Meio de divulgação: Vários

6. **DUTRA FILHO, J. A.**, MELO, L. J. O. T., RESENDE, L. V., ANUNCIAÇÃO FILHO, C.J., BASTOS, G. Q.

Aplicação de técnicas multivariadas no estudo da divergência genética em cana-de-açúcar. Revista Ciência Agronômica (UFC. Online). , v.42, p.185 - 192, 2011.

Áreas do conhecimento : Melhoramento Vegetal

Referências adicionais : Português. Meio de divulgação: Impresso

7. **DUTRA FILHO, J. A.**, BASTOS, G. Q., RESENDE, L. V., SIMÕES NETO, D.E., MELO, L. J. O. T., DAROS, E.

Avaliação agroindustrial e dissimilaridade genética em progênies e variedades RB de cana-de-açúcar. Agropecuária Técnica (UFPB). , v.32, p.55 - 61, 2011.

Áreas do conhecimento : Melhoramento Vegetal, Genética Quantitativa

Referências adicionais : Português.

8. **DUTRA FILHO, J. A.**, MELO, L. J. O. T., SIMÕES NETO, D.E., ANUNCIAÇÃO FILHO, C.J., BASTOS, G. Q., DAROS, E.

Seleção de progênies e correlação de componentes de produção em cana-de-açúcar. Agrária (Recife. Online). , v.6, p.432 - 439, 2011.

Áreas do conhecimento : Melhoramento Vegetal, Genética Quantitativa

Referências adicionais : Português.

Artigos aceitos para publicação

1. **DUTRA FILHO, J. A.**, CALSA JUNIOR, T., SIMÕES NETO, D.E.

Phenotype adaptability and stability of sugarcane genotypes in the sugarcane belt in the state of Pernambuco, Brazil. Genetics and Molecular Research. , 2014.

Áreas do conhecimento : Melhoramento Vegetal, Genética Biométrica, Genética Vegetal

Referências adicionais : Português.

Trabalhos publicados em anais de eventos (completo)

1. SIMÕES NETO, D.E., **DUTRA FILHO, J. A.**, SILVA, H. C., MACHADO, P.R., COSTA, I. G., SILVA, A. E. P., CALSA JUNIOR, T., CARVALHO, R.

Competición de genotipos de caña de azúcar para mitad de la zafra en el Litoral Norte de Pernambuco In: XIX Congreso de Técnicos azucareiros de Centroamérica, 2013, San José.

XIX ATACA. , 2013. v.2. p.383 - 387

Áreas do conhecimento : Melhoramento Vegetal

Referências adicionais : Brasil/Português. Meio de divulgação: Impresso

2. SIMÕES NETO, D.E., **DUTRA FILHO, J. A.**, SILVA, H. C., MACHADO, P.R., COSTA, I. G., SILVA, A. E. P., CALSA JUNIOR, T., CARVALHO, R.

Comportamiento agronómico de genótipos de caña de azúcar para finales de zafra en Litoral Norte de Pernambuco In: XIX Congreso de Técnicos azucareiros de Centroamérica, 2013, San José.

XIX ATACA. , 2013. v.2. p.389 - 393

Áreas do conhecimento : Melhoramento Vegetal

Referências adicionais : Brasil/Português. Meio de divulgação: Impresso

3. SIMÕES NETO, D.E., **DUTRA FILHO, J. A.**, SILVA, H. C., MACHADO, P.R., COSTA, I. G., SILVA, A. E. P., CALSA JUNIOR, T., CARVALHO, R.

Evaluación de genotipos de caña-de-azúcar para inicio de zafra en la Región Norte de Pernambuco In: XIX Congreso de Técnicos azucareiros de Centroamérica, 2013, San José.

XIX ATACA. , 2013. p.395 - 399

Áreas do conhecimento : Melhoramento Vegetal

Referências adicionais : Brasil/Português. Meio de divulgação: Impresso

4. **DUTRA FILHO, J. A.**, MACHADO, P.R., COSTA, I. G., SIMÕES NETO, D.E., SILVA, L.J., CALSA JUNIOR, T., CARVALHO, R.

Marcadores RAPD para determinar la divergencia genética en genótipos RB de caña de azúcar In: XIX Congreso de Técnicos azucareiros de Centroamérica, 2013, San José.

memoria XIX ATACA. , 2013. v.1. p.241 - 244

Áreas do conhecimento : Melhoramento Vegetal

Referências adicionais : Brasil/Português. Meio de divulgação: Impresso

5. **DUTRA FILHO, J. A.**, BORGES, D. H. A., SILVA, A. E. P., SIMÕES NETO, D.E., SILVA, L.J., COSTA, I. G., SOBRAL, N. M., BASTOS, G. Q.

Utilización de técnicas biométricas em la selección de clones RB de caña-de-azúcar de la série 00 In: XIX Congreso de Técnicos azucareiros de Centroamérica, 2013, San José.

XIX ATACA. , 2013. v.1. p.245 - 248

Áreas do conhecimento : Melhoramento Vegetal

Referências adicionais : Brasil/Português. Meio de divulgação: Impresso

Trabalhos publicados em anais de eventos (resumo)

1. **DUTRA FILHO, J. A.**, SILVA, L.J., SIMÕES NETO, D.E., CHAVES, A., BASTOS, G. Q., MELO, L. J. O. T., CARVALHO, R.

Functional Genetic Divergence of Clones and RB Varieties of Sugarcane by Microsatellite Markers In: 10 GERMOPLASM & BREEDING AND 7 MOLECULAR BIOLOGY WORKSHOP OF INTERNATIONAL SOCIETY OF SUGARCANE TECHNOLOGISTS,

2011, Maceió.

ABSTRACTS OF 10 GERMOPLASM & BREEDING AND 7 MOLECULAR BIOLOGY WORKSHOOF INTERNATIONAL SOCIETY OF SUGARCANE TECHNOLOGISTS.

Maceió: Editora Q Gráfica, 2011. p.01 - 89

Áreas do conhecimento : Melhoria Vegetal, Marcadores moleculares

Referências adicionais : Brasil/Inglês. Meio de divulgação: Impresso

2. SILVA, L.J., **DUTRA FILHO, J. A.**, SIMÕES NETO, D.E., ANUNCIAÇÃO FILHO, C.J.

Phenotypic Divergence in RB Varieties of Sugarcane through Multicategoric Descriptors

In: 10 GERMOPLASM & BREEDING AND 7 MOLECULAR BIOLOGY WORKSHOP OF INTERNATIONAL SOCIETY OF SUGARCANE TECHNOLOGISTS, 2011, Maceió.

ABSTRACTS OF 10 GERMOPLASM & BREEDING AND 7 MOLECULAR BIOLOGY WORKSHOOF INTERNATIONAL SOCIETY OF SUGARCANE TECHNOLOGISTS.

Maceió: Editora Q Gráfica, 2011. p.08 - 89

Áreas do conhecimento : Melhoria Vegetal

Referências adicionais : Brasil/Inglês. Meio de divulgação: Impresso

3. CHAVES, A., RODRIGUES, W. D. L., GUIMARAES, L. M. P., PEDROSA, E. M. R., **DUTRA FILHO, J. A.**, MARANHÃO, S. R. V. L.

Reação de genótipos RB à ferrugem da cana-de-açúcar em diferentes regiões edafoclimáticas de Pernambuco. In: XLIV Congresso Brasileiro de Fitopatologia., 2011, Bento Gonçalves.

Tropical Plant Pathology., 2011. v.Único. p.206 - 206

Áreas do conhecimento : Fitopatologia

Referências adicionais : Brasil/Português.

4. MELO, L. J. O. T., DAROS, E., WEBER, H., BASTOS, G. Q., SIMÕES NETO, D.E., Zambon, J.L.C., OLIVEIRA, R. A., BESPALHOK FILHO, J. C., **DUTRA FILHO, J. A.**

Simplifield Selection System - SSS, A new tool for Classic Sugarcane Breeding In: 10 GERMOPLASM & BREEDING AND 7 MOLECULAR BIOLOGY WORKSHOP OF INTERNATIONAL SOCIETY OF SUGARCANE TECHNOLOGISTS, 2011, Maceió.

ABSTRACTS OF 10 GERMOPLASM & BREEDING AND 7 MOLECULAR BIOLOGY WORKSHOOF INTERNATIONAL SOCIETY OF SUGARCANE TECHNOLOGISTS.

Maceió: Editora Q Gráfica, 2011. p.08 - 89

Áreas do conhecimento : Melhoramento Vegetal

Referências adicionais : Brasil/Inglês. Meio de divulgação: Impresso

Trabalhos publicados em anais de eventos (resumo expandido)

1. SILVA, L.J., **DUTRA FILHO, J. A.**, MACHADO, P.R., SILVA, A. E. P., SIMÕES NETO, D.E.

Aplicação de descritores multicategóricos para avaliação da divergência fenotípica em variedades RB de cana-de-açúcar In: 6º Congresso Brasileiro de Melhoramento de Plantas, 2011, Búzios-RJ.

Anais do 6º Congresso Brasileiro de Melhoramento de Plantas. , 2011.

Áreas do conhecimento : Melhoramento Vegetal, Genética Quantitativa

Referências adicionais : Brasil/Português. Meio de divulgação: Meio digital

2. SIMÕES NETO, D.E., **DUTRA FILHO, J. A.**, SILVA, L.J., SILVA, A. E. P., MACHADO, P.R., CARVALHO, R.

Avaliação de Clones e Variedades Comerciais de Cana-de-açúcar na Microrregião canavieira do Litoral Sul de Pernambuco: Seleção para Colheita em final de safra In: 6º Congresso Brasileiro de Melhoramento de Plantas, 2011, Búzios-RJ.

Anais do 6º Congresso Brasileiro de Melhoramento de Plantas. , 2011.

Áreas do conhecimento : Melhoramento Vegetal, Genética Quantitativa

Referências adicionais : Brasil/Português. Meio de divulgação: Meio digital

3. **DUTRA FILHO, J. A.**, SILVA, L.J., SILVA, A. E. P., MACHADO, P.R., SIMÕES NETO, D.E.

Avaliação de Clones e Variedades Comerciais de Cana-de-açúcar na Microrregião canavieira do Litoral Sul de Pernambuco: Seleção para Colheita em início de safra In: 6º Congresso Brasileiro de Melhoramento de Plantas, 2011, Búzios-RJ.

Anais do 6º Congresso Brasileiro de Melhoramento de Plantas. , 2011.

Áreas do conhecimento : Melhoramento Vegetal, Genética Quantitativa

Referências adicionais : Brasil/Português. Meio de divulgação: Meio digital

Apresentação de trabalho e palestra

1. **DUTRA FILHO, J. A.**, CARVALHO, R., CALSA JUNIOR, T.

AVALIAÇÃO AGROINDUSTRIAL, CITOGÉNÉTICA E MOLECULAR DE CLONES ORIUNDOS DE AUTOFECUNDAÇÃO, ESPÉCIES E CULTIVARES COMERCIAIS DE CANA-DE-AÇÚCAR ATRAVÉS DE TÉCNICAS BIOMÉTRICAS E BIOTECNOLÓGICAS., 2011. (Outra, Apresentação de Trabalho)

Referências adicionais : Brasil/Português; Local: UFPE; Cidade: RECIFE; Evento: I

*JORNADA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA; Inst.promotora/financiadora:
UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO*

2. **DUTRA FILHO, J. A.**, SILVA, L.J., SIMÕES NETO, D.E., CHAVES, A., MELO, L. J. O. T., CARVALHO, R.

Functional Genetic Divergence of Clones and RB Varieties of Sugarcane by Microsatellite Markers, 2011. (Congresso,Apresentação de Trabalho)

Áreas do conhecimento : Melhoria Vegetal

Referências adicionais : Brasil/Português. Meio de divulgação: Impresso; Local: Alagoas - Brasil; Cidade: Maceió; Evento: 10 GERMOPLASM & BREEDING AND 7 MOLECULAR BIOLOGY WORKSHOP; Inst.promotora/financiadora: INTERNATIONAL SOCIETY OF SUGARCANE TECHNOLOGISTS

Orientações e Supervisões

Orientações e supervisões

Orientações e supervisões concluídas

Dissertações de mestrado : co-orientador

1. Aurélia Pietrina da Costa Albuquerque. **ESTUDOS BIOMÉTRICOS EM CANA-DE-AÇÚCAR NAS MICRORREGIÕES MATA NORTE E LITORAL SUL DE PERNAMBUCO**. 2011. Dissertação (Agronomia (Melhoramento Genético de Plantas)) - Universidade Federal Rural de Pernambuco

Áreas do conhecimento : Melhoramento Vegetal

Referências adicionais : Brasil/Português.

Trabalhos de conclusão de curso de graduação

1. José Francisco de Lima Neto. **SELEÇÃO DE CLONES RB DE CANA-DE-AÇÚCAR DA SÉRIE 00, AVALIADOS NAS CONDIÇÕES EDAFO-CLIMÁTICAS DO LITORAL NORTE DE PERNAMBUCO**. 2011. Curso (Agronomia) - Universidade Federal da Paraíba

Áreas do conhecimento : Melhoramento Vegetal, Genética Quantitativa

Referências adicionais : Brasil/Português.

Eventos

Eventos

Participação em eventos

1. Apresentação de Poster / Painel no(a) **I JORNADA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA**, 2011. (Encontro)

AVALIAÇÃO AGROINDUSTRIAL, CITOGÊNÉTICA E MOLECULAR DE CLONES ORIUNDOS DE AUTOFECUNDAÇÃO, ESPÉCIES E CULTIVARES COMERCIAIS DE CANA-DE-AÇÚCAR ATRAVÉS DE TÉCNICAS BIOMÉTRICAS E BIOTECNOLÓGICAS..

2. Apresentação de Poster / Painel no(a) **6º Congresso Brasileiro de Melhoramento de Plantas**, 2011. (Congresso)

Avaliação de Clones e Variedades Comerciais de Cana-de-açúcar na Microrregião canavieira do Litoral Sul de Pernambuco: Seleção para Colheita em início de safra.

3. **10º Workshop sobre controle de Plantas Daninhas no Nordeste**, 2011. (Oficina)

.

Bancas

Bancas

Participação em banca de trabalhos de conclusão

Graduação

1. **DUTRA FILHO, J. A.**, COSTA, M. N., SANTOS, R. F.

Participação em banca de José Francisco de Lima Neto. **SELEÇÃO DE CLONES RB DE CANA-DE-AÇÚCAR DA SÉRIE 00, AVALIADOS NAS CONDIÇÕES EDAFOCLIMÁTICAS DO LITORAL NORTE DE PERNAMBUCO**, 2011

(Agronomia) Universidade Federal da Paraíba

Áreas do conhecimento : Melhoramento Vegetal, Genética Quantitativa

Referências adicionais : Brasil/Português.

Citações

Web of Science Total de citações : 1; Total de trabalhos : 1; Data : 11/08/2011; Fator H: 1;

Nome(s) do autor utilizado(s) na consulta para obter o total de citações:

DUTRA FILHO, J.A.

SciELO Total de citações : 1; Total de trabalhos : 1; Data : 11/08/2011

Nome(s) do autor utilizado(s) na consulta para obter o total de citações:

SOUZA, Amanda Emanuella Rocha de et al.

Totais de produção

Produção bibliográfica

Artigos completos publicados em periódico.....	8
Artigos aceitos para publicação.....	1
Trabalhos publicados em anais de eventos.....	36
Apresentações de trabalhos (Congresso).....	10
Apresentações de trabalhos (Seminário).....	1
Apresentações de trabalhos (Outra).....	1
Demais produções bibliográficas.....	1

Orientações

Orientação concluída (dissertação de mestrado - co-orientador).....	1
Orientação concluída (trabalho de conclusão de curso de graduação).....	1
Orientação em andamento (iniciação científica).....	1

Eventos

Participações em eventos (congresso).....	7
Participações em eventos (simpósio).....	1
Participações em eventos (oficina).....	2
Participações em eventos (encontro).....	1
Participações em eventos (outra).....	3
Participação em banca de trabalhos de conclusão (graduação).....	1

Outras informações relevantes

1 Participou como ouvinte das seguintes palestras: 1ª. APLICAÇÃO DA CITOGENETICA NO MELHORAMENTO DE PLANTAS; 2ª. MELHORAMENTO ASSISTIDO POR MARCADORES MOLECULARES; 3ª. APLICAÇÃO DA HIS NA ANÁLISE CROMOSSÔMICA; 4ª. APLICAÇÕES DA BIOTECNOLOGIA NA IMUNOLOGIA. Referentes ao II Encontro da Biociencia, realizado na Semana da Ciencia e Tecnologia em 07/10/2005, promovido pelo PET / BIOLOGIA / UFRPE, visando uma maior enfase na área de Genetica.

Participou na qualidade de monitor (colaborador) do evento promovido pela Empresa Pernambucana de pesquisa agropecuária - IPA, intitulado: IV - Semana nacional de ciência e tecnologia - IPA Portas abertas, de 1 a 5 de outubro de 2007.

Primeiro lugar para monitoria em genética ano 2006, disciplina genética básica e biotecnologia