

SELEÇÃO DE FAMÍLIAS DE IRMÃOS-COMPLETOS DE CANA-DE-
AÇÚCAR E ESTIMATIVA DA DIVERSIDADE GENÉTICA VIA
MARCADOR DE DNA (ISSR)

LÍVIA MARCON ALMEIDA

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO NORTE FLUMINENSE
DARCY RIBEIRO – UENF

CAMPOS DOS GOYTACAZES - RJ
DEZEMBRO – 2010

SELEÇÃO DE FAMÍLIAS DE IRMÃOS-COMPLETOS DE CANA-DE-
AÇÚCAR E ESTIMATIVA DA DIVERSIDADE GENÉTICA VIA
MARCADOR DE DNA (ISSR)

LÍVIA MARCON ALMEIDA

“Dissertação apresentada ao Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, como parte das exigências para obtenção do título de Mestre em Genética e Melhoramento de Plantas.”

Orientador: Prof. Alexandre Pio Viana

CAMPOS DOS GOYTACAZES - RJ
DEZEMBRO – 2010

SELEÇÃO DE FAMÍLIAS DE IRMÃOS-COMPLETOS DE CANA-DE-
AÇÚCAR E ESTIMATIVA DA DIVERSIDADE GENÉTICA VIA
MARCADOR DE DNA (ISSR)

LÍVIA MARCON ALMEIDA

“Dissertação apresentada ao Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, como parte das exigências para obtenção do título de Mestre em Genética e Melhoramento de Plantas.”

Aprovada em 10 de dezembro de 2010.

Comissão Examinadora:

Prof^a. Rosana Rodrigues (D. Sc., Produção Vegetal - UENF)

Prof. Antônio Teixeira do Amaral Júnior (D. Sc., Genética e Melhoramento - UENF)

Dr. Jair Felipe Garcia Pereira Ramalho (D. Sc., Agronomia - UFRRJ)

Prof. Alexandre Pio Viana (D. Sc., Produção Vegetal - UENF)
(Orientador)

A minha adorada mãe Marilza, pelo amor incondicional, exemplo de força e de mulher;

Aos meus amados e saudosos: Otávio (pai) e, ao meu avô e segundo pai, Gercílio (in memorian);

A minha avó Júlia, tia Angela, tia Graça, Renan e Mariana que sempre quiseram meu bem;

Ao meu amado irmão Charles e a minha querida cunhada Karina, que torcem pelo meu sucesso;

À minha princesa Ana Luisa e ao meu príncipe João Marcelo, por toda alegria e amor;

Ao Evandro, meu amor mais lindo do mundo, por todo companheirismo, carinho, respeito e incentivo;

A toda minha amada família e amigos mais que irmãos

Dedico

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço ao meu Deus todo poderoso pelo dom da vida, por todo o equilíbrio, por sua misericórdia infinita, proteção e amor de Pai;

À Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro e ao Programa de Pós-graduação da Genética e Melhoramento de Plantas (PGGMP), por proporcionarem um ensino gratuito e de qualidade;

À FAPERJ, pelo financiamento do projeto;

À UFRRJ, aos engenheiros agrônomos e a todos os técnicos do programa de melhoramento de cana-de-açúcar, por toda ajuda e ensinamentos no campo;

A todos os professores do PGGMP, por toda a formação e exemplo;

Ao professor Alexandre Pio Viana, pela orientação, atenção e apoio na condução desse trabalho;

Ao Professor Antônio Teixeira do Amaral e à Professora Rosana Rodrigues que, de certa forma, me “adotaram” na ausência do Professor . Alexandre;

Aos membros da banca, pelas suas contribuições;

A todos os colegas de curso, pelos bons e maus momentos que passamos juntos;

À minha amada família, mãe, irmão, avó, tias, primos, sobrinha e afilhado, por compreenderem a minha ausência, por todo amor e incentivos;

Ao meu namorado, por tudo de bom que ele representa na minha vida;

Aos meus sogros queridos, Maria José e Lineu, que me receberam tão carinhosamente no seio de sua família, agradeço por todo o carinho, amor e respeito;

Às minhas queridas amigas irmãs 'vucovucanas' que são parte de mim: Daniela, Gisely, Geyse, Anna Christina, Paula d' Ju, Paula Armani, Bruna, Cristina Longue, Ludmila, Brígida, Carol, Lara, Beatriz, e as não 'vucovucanas' também, Brunela, Bethânia, Gigi e Mariana. Amo vocês!!!!!!

Aos amigos que fiz ao longo dessa jornada: Tatiane, Luciane, Viviane, Gonzaga, Vanessa, Clarissa, Débora, Leonardo Dobbs, Kamila, Lívia, Leonardo Freitas, Roberta, Drieli, Geovana, Keila, Silvana, Ana Paula, Fernanda.

A todos que não foram citados, mas que contribuíram direta ou indiretamente para execução desse trabalho.

SUMÁRIO

RESUMO	vii
ABSTRACT	ix
1. INTRODUÇÃO	1
2. OBJETIVOS	3
3. REVISÃO DE LITERATURA.....	4
3.1. Origem	4
3.2. Classificação botânica	4
3.3. Importância econômica.....	6
3.4. Melhoramento da cultura	7
3.4.1. Geração de variabilidade para efetuar a seleção	11
3.5. Seleção de famílias	13
3.6. Metodologia REML/BLUP: aplicação em plantas perenes.....	15
3.7. Divergência genética via marcadores moleculares	19
3.8. Parâmetros genéticos	21
3.9. Índice de seleção	23
4. MATERIAL E MÉTODOS	26
4.1. Composição do experimento	26

4.2. Avaliação do experimento	29
4.3. Análise estatística	30
4.4. Estimacão dos parâmetros genéticos	31
4.5. Seleção baseada nos índices de seleção	32
4.5.1. Smith (1936) e Hazel (1943).....	32
4.5.2. Mulamba e Mock (1978)	33
4.5.3. Willians (1962).....	33
4.5.4. Pesek e Baker (1969)	33
4.6. Modelos mistos para avaliação de candidatos a seleção e parâmetros de estimacão para as famílias avaliadas	34
4.7. Avaliação da divergência genética.....	35
4.7.1. Extração de DNA	35
4.7.2. Quantificação de DNA	36
4.7.3. Análise dos dados	37
4.7.4. Método de agrupamento	37
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	38
5.1. Avaliação das famílias de irmãos-completos e análise de variância	38
5.2. Estimacão dos parâmetros genéticos	42
5.3. Ganhos percentuais preditos mediante dos índices de seleção	44
5.4. Aplicação da metodologia de modelos mistos (REML/BLUP) na estimacão de componentes de variância e predição de valores genéticos em famílias de irmãos-completos de cana-de-açúcar.....	46
5.5. Análise dos marcadores moleculares	51
5.6. Análise de agrupamento	52
6. RESUMO E CONCLUSOES	56
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	58

RESUMO

ALMEIDA, Livia Marcon; M. Sc.; Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro; Dezembro de 2010; Seleção de famílias em cana-de-açúcar e estudo da divergência genética via marcadores moleculares. Orientador: Prof. Alexandre Pio Viana. Conselheiros: Prof. Antônio Teixeira do Amaral Júnior e Dr. Jair Felipe Garcia Pereira Ramalho.

Foi instalado em 2006, na Usina Disa, Município de Conceição da Barra-ES, um ensaio de famílias pertencentes à primeira fase de seleção (T1) do Programa de Melhoramento Genético da Cana-de-Açúcar (PMGCA) da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ)/ Rede Interuniversitária para o Desenvolvimento do Setor Sucroalcooleiro (RIDESA), em parceria com a Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (UENF), com o objetivo de avaliar famílias e plantas dentro de famílias, visando à seleção de plantas superiores para as fases posteriores do programa de melhoramento genético da cultura. Foram avaliadas 68 famílias de irmãos-completos e mais três genótipos considerados padrões, com potencial de recomendação para a região avaliada. O delineamento estatístico utilizado foi em blocos ao acaso, no qual as progênies (tratamentos) foram agrupadas em quatro *sets*, que constituem grupos de tratamentos, cada qual com quatro repetições e cem *seedlings* por parcela, espaçadas a 0,5 metros entre plantas e 1,40 metros entre linhas. As avaliações foram efetuadas durante duas safras agrícolas, correspondentes à primeira e à segunda soca, 2008 e 2009, respectivamente, sendo avaliadas as características diâmetro médio do colmo (DMC), peso total da parcela (P), número de colmos

(NC), Brix da parte inferior do colmo (Brix PE) e Brix da parte superior do colmo (Brix PT). Todas as características foram significativas para genótipos pelo teste F ($P < 0,01$) nas análises conjuntas dos ambientes, demonstrando haver diferenças significativas entre os genótipos. O sucesso de qualquer programa de melhoramento depende, essencialmente, da quantidade de variabilidade genética existente na população-base a ser explorada, da herdabilidade do caráter que está sendo melhorado e da extensão do ganho genético possível para este caráter. Os valores encontrados, no presente estudo, para o parâmetro genético coeficiente de variação genético (CV_g), indicam grandes possibilidades de sucesso neste programa de melhoramento visando à seleção para as características avaliadas, sendo atribuídos os maiores ganhos genéticos quando utilizados os índices de Smith e Hazel e Mulamba e Mock, os quais permitiram ganhos simultâneos superiores em todas as características avaliadas. A seleção quando praticada em famílias com elevados valores genotípicos pode possibilitar maior probabilidade de clones superiores em suas respectivas progênes. Atualmente, para este estudo de famílias, tem-se adotado a metodologia dos modelos mistos REML/BLUP, que permite estimar os parâmetros genéticos e prever os valores genotípicos das famílias de cana-de-açúcar. A seleção das famílias com valores genotípicos acima da média experimental possibilitou ganhos significativos para as características Brix PE e PT. Sendo que as quatro melhores famílias para essas características selecionadas, mediante a metodologia REML/BLUP, foram: família 20 (RB 945961 X RB 957751), 60 (RB 855463 X SP 83-2847), 47 (L 60-14 X SP 80-3280) e 61 (RB 835486 X RB 955970). Tais famílias, depois de selecionadas, foram submetidas à genotipagem via marcadores ISSR, para que se pudesse avaliar a distância genética dos genótipos. Essa análise demonstrou uma significativa variabilidade genética na população, devido à segregação dos indivíduos.

Palavras-chave: cana-de-açúcar, seleção de famílias, índice de seleção, ISSR, REML/BLUP.

ABSTRACT

ALMEIDA, Livia Marcon; M. Sc.; Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro; December de 2010; Selection of Sugarcane families and genetic diversity study of means molecular markers. Adviser: Alexandre Pio Viana. Committee Members: Antônio Teixeira do Amaral Júnior e Dr. Jair Felipe Garcia Pereira Ramalho.

Was installed in 2006 in Disa Company, Municipality of Conceição da Barra-ES, a test of families belonging to the first selection stage (T1) of the Breeding Program of Sugarcane of the Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ)/Network for Development of Sugar and Ethanol (RIDESA), in partnership with the Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (UENF) to evaluate families and plant within families, for plant selection greater in the later stages of the breeding program of culture. We evaluated sixty-eight families of full sibs and three genotypes of patterns, with the potential recommendation for the region evaluated. The statistical design was randomized blocks, where the progenies (genotypes) were grouped into four sets, which are groups of treatments each with four replicates and one hundred seedlings per plot, spaced at 0.5 m between plants and 1.40 meters between lines. The evaluations were conducted during two growing seasons, corresponding to the first and second harvests, 2008 and 2009, respectively, whereas the characteristics of stem diameter (DMC), total weight of the portion (P), number of culms (NC), Brix PE and Brix PT. All were significant for genotypes by F test ($P < 0.01$) in the joint analysis of the environments, showing significant differences among genotypes.

The success of any breeding program depends essentially on the amount of genetic variability in the population base to be exploited, the heritability of the character being improved and the extent of genetic gain possible for this character. Genetic parameters for the present study indicate potential success in the breeding program in order to select for the traits and assigning the highest genetic gains when using the indexes Smith Hazel and Mulamba and Mock, which allowed simultaneous gains in all traits. The selection when practiced in families with high genotypic values can provide greater probability of finding superior clones in their progeny. Currently, families in this study has adopted the mixed models REML / BLUP, which allows estimating genetic parameters and predict the genotypic values of families of sugarcane. The selection of families with genotypic values above average gains for possible experimental features Brix PE and PT. Since the top four families selected for these characteristics using the methodology RELM / BLUP, were family 20 (RB 945961 X RB 957751), 60 (RB 855463 X SP 83-2847), 47 (L 60-14 X SP 80-3280) and 61 (RB 835486 X RB 955970). Such families, once selected, were subjected to genotyping via ISSR makers, so it could assess the genetic distance of genotypes; this analysis demonstrated a significant genetic variability in the population.

Keywords: sugarcane, family selection, selection index, ISSR, REML / BLUP.

1. INTRODUÇÃO

A cana-de-açúcar é uma das mais importantes espécies cultivadas nos trópicos e subtropicais (Bonneti et al., 2004). No Brasil, esta possui elevada importância econômica e ambiental, ocupando, na safra de 2008/2009, uma área total de 9 milhões de hectares, com volume total a ser processado pelo setor sucroalcooleiro de 612.211,20 milhões toneladas, e 74,83 milhões de toneladas na fabricação de cachaça, alimentação animal, obtenção de sementes e outros afins, segundo dados da Companhia Nacional de Abastecimento (Conab, 2009).

A cadeia produtiva da cana-de-açúcar e de seus produtos e subprodutos, tais como açúcar e principalmente álcool, contribuem na distribuição de riqueza, além de ser fonte de energia limpa e renovável, propiciando a redução da poluição ambiental (Matsuoka et al., 2005).

Nos programas de melhoramento de cana-de-açúcar, grande número de clones é avaliado todos os anos, em experimentos realizados em diferentes safras, épocas e regiões. E como é cada vez mais difícil selecionar os melhores genótipos fenotipicamente, o uso de métodos precisos de análise estatística é necessário, a fim de garantir maior confiabilidade ao processo seletivo. A avaliação genética, com base em modelos mistos do tipo REML/BLUP (máxima verossimilhança restrita, melhor predição linear não-viesada), tem merecido atenção especial dos pesquisadores.

Para garantir a rentabilidade do setor, é indispensável que se busquem alta produtividade e melhoria na qualidade da matéria-prima para a fabricação de

açúcar e álcool. Nesse contexto, o melhoramento genético com o lançamento de novas cultivares é o fator de maior expressão para o desenvolvimento do setor. A partir do melhoramento, são desenvolvidas cultivares melhor adaptadas aos diferentes tipos de solo, clima, e à incidência de pragas e doenças.

Com isso, para se obter ganhos genéticos em diversas características de forma eficiente, há algumas metodologias de seleção simultânea (Smith, 1936; Hazel, 1943; Willians, 1962; Pesek e Baker, 1969; Mulamba e Mock, 1978, citados por Cruz e Carneiro, 2003). Estes índices de seleção associam as informações referentes às diversas características de interesse agrônômico, fazendo uso de pesos econômicos, previamente estabelecidos, bem como de variâncias genotípicas e fenotípicas de cada característica, e as respectivas covariâncias entre cada par de características, permitindo, num mesmo programa de seleção, ganhos para diversas características.

O uso de marcadores de DNA, para avaliação da divergência genética que pode incrementar a escolha de indivíduos a serem utilizados como genitores nos cruzamentos, indica quais os cruzamentos são mais promissores. De acordo com Matsuoka (2000), a escolha das variedades a serem cultivadas é considerada o principal fator de produção e desenvolvimento tecnológico em uma usina sucroalcooleira.

2. OBJETIVOS

- Avaliar famílias de irmãos-completos e plantas dentro de famílias na primeira fase de seleção (T1) do Programa de Melhoramento Genético da RIDESA/UFRRJ, visando à seleção de plantas superiores para a fase seguinte de melhoramento da cultura (T2);
- Obter informações acerca do uso do BLUP na predição de valores genéticos e seleção de indivíduos;
- Estudar a diversidade genética das progênies envolvidas neste trabalho, via marcadores ISSR, como forma de incrementar a variabilidade genética do programa de melhoramento;
- Obter estimativas de parâmetros genéticos das principais características avaliadas no programa;
- Estimar o ganho genético esperado, utilizando-se índices de seleção;
- Disponibilizar novos genótipos para o programa de melhoramento;

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1. Origem

A origem da cana-de-açúcar é incerta. A maioria dos autores diverge quanto ao local exato onde se iniciou o seu cultivo. Cesnik e Miocque (2004) relatam que a cana-de-açúcar é uma planta nativa das regiões tropicais, cujo cultivo se estende aos dois hemisférios, e consideram sua origem nas ilhas do Arquipélago da Polinésia. No mundo, ela é cultivada predominantemente em áreas subtropicais entre 15° e 30° de latitude, podendo se estender até 35° de latitude tanto ao norte quanto ao sul.

De acordo com Ethirajan (1987), as cultivares de cana-de-açúcar se enquadram em duas categorias, segundo avaliações históricas e evidências taxonômicas. A primeira categoria se refere às canas “nobres” tropicais, tendo Nova Guiné como centro de origem primário. Essas canas apresentam colmos espessos, macios, suculentos e doces. A segunda categoria se refere às canas “indianas/chinesas” subtropicais, e tem como centro de origem o subcontinente indiano. Essas canas exibem colmos finos e médios, duros e pouco produtivos.

3.2. Classificação botânica

A cana-de-açúcar é uma planta alógama (Walker, 1987), com uma taxa de autofecundação que varia de 2,8 a 17,6% (Barbosa et al., 2005a). Pertence a

família Poaceae (Gramineae), tribo Andropogoneae e gênero *Saccharum*, com seis espécies conhecidas: *Saccharum officinarum*, *S. sinense*, *S. barberi*, *S. edule*, *S. spontaneum* e *S. robustum* (Matsuoka et al., 1999). Dessas, a que mais contribuiu com genes para as atuais variedades foi a *S. officinarum*, também conhecida por cana-nobre pelo seu elevado teor de açúcar, sendo que a única que não contribuiu com nenhum gene foi a *S. edule* (Roach e Daniels, 1987).

- *S. officinarum* ($2n = 80$): é a espécie que compreende as chamadas canas nobres ou canas tropicais, caracterizadas pelos seus altos teores de sacarose, porte elevado, colmos grossos, pouco teor de fibra. É uma das principais espécies que contribuíram com genes para as cultivares de cana-de-açúcar cultivadas no mundo. Essa espécie é considerada um aloploide (Ming et al., 1998).

- *S. sinensis* ($2n = 111-120$): espécie que compreende as variedades da China e Japão, caracterizadas por alto porte, colmos finos e fibrosos e teor regular de açúcar, raízes abundantes e fortes.

- *S. barberi* ($2n = 81-124$): as variedades dessa espécie têm, como características, baixo ou médio porte, colmos finos, fibrosos e pobres em açúcar. São muito rústicas, embora suscetíveis ao mosaico. São conhecidas como canas indianas.

- *S. spontaneum* ($2n = 40-128$): abrange plantas de colmos curtos e finos, fibrosos, praticamente sem açúcar, sistema radicular bem desenvolvido, perfilhamento vigoroso e abundante. São plantas muito rústicas, vegetando bem nas mais diversas condições de solo e clima e notável resistência ao mosaico.

Devido à sua resistência à seca, pragas e doenças foi cruzada com a *Saccharum officinarum*, resultando em um híbrido que aliava boa parte das qualidades de ambas. Embora *S. spontaneum* não seja cultivada, ela proporcionou, no início do século 20, a retomada do crescimento da indústria do açúcar e do álcool no mundo, após as severas epidemias de doenças ocorridas naquela época.

S. spontaneum é considerada um autopoliploide (Silva, 1993) e é uma espécie altamente polimórfica. Existem plantas pequenas e outras chegando a mais de 5 m de altura, e diâmetro de colmos variando de 3 a 15 mm. As principais contribuições dessa espécie para o melhoramento da cana-de-açúcar foram o

vigor, o perfilamento, a capacidade de rebrota da soqueira e tolerância a estresses.

- *S. robustum* ($2n = 60-205$): as canas dessa espécie têm colmos muito altos, de até 10 m, relativamente grossos, muito fibrosos e bastante pobres em açúcar. São variedades suscetíveis ao mosaico.

- *S. edule* ($2n = 60-80$), esta espécie é considerada um produto da introgressão de *S. officinarum* ou *S. robustum* com outro gênero, sendo uma série poliploide, com formas aneuploides. Possui uma inflorescência compacta e comestível, sendo considerada uma olerícola tradicional dos melanésios, cultivada nos jardins de vilas de Nova Guiné e Ilhas Fiji (Matsuoka et al., 1999).

O genoma da cana-de-açúcar é altamente complexo: poliploide, aneuploide, e com variável número de cromossomos (Grivet e Arruda, 2001). Além disso, trata-se de um genoma extremamente grande, o que dificulta a compreensão de sua arquitetura genética. Tal complexidade é mantida pela propagação vegetativa, comumente utilizada comercialmente para a obtenção de mudas em larga escala.

Algumas cultivares modernas foram analisadas sob o ponto de vista citogenético. Além de poliploides e aneuploides, elas possuem origem multiespecífica e seu genoma é constituído por, pelo menos, 100 cromossomos (D'Hont, 2005).

A cultura da cana-de-açúcar é bastante influenciada pelas condições edafoclimáticas, fatores como precipitação pluviométrica, temperatura, umidade relativa, insolação, relevo, solo e outros têm grande efeito sobre a resposta fisiológica da cultura em relação ao metabolismo de crescimento e ao desenvolvimento dos colmos, florescimento, maturação e produtividade (Melo et al., 1999). Para que ocorra a maturação dessa cultura, é necessário que haja uma deficiência térmica ou hídrica, caso contrário, a cana-de-açúcar permanece vegetando sem acumular alta quantidade de sacarose, sendo esta iniciada pelos internódios inferiores.

3.3. Importância econômica

Dada a sua importância econômica, a cana-de-açúcar (*Saccharum* spp.) ocupa lugar de destaque na agricultura, estando entre as espécies vegetais mais

cultivadas no mundo, alcançando mais de 70 países, sendo os maiores produtores o Brasil, Cuba, Índia, México, China, Filipinas, Austrália, África do Sul, Estados Unidos, República Dominicana e Formosa (Lucchesi, 2001).

Devido à grandeza dos números do setor sucroalcooleiro no Brasil, não se pode tratar a cana-de-açúcar apenas como mais um produto, mas sim como o principal tipo de biomassa energética, base para todo o agronegócio sucroalcooleiro, representado por 420 usinas e destilarias e 4,5 milhões de empregos diretos e indiretos em todo o país (Procana, 2010) e com produtividade média brasileira estimada em 81,29 kg/ha (Conab, 2009).

Segundo dados da Conab (2009), o total de cana moída foi 612.211,20 mil toneladas, volume superior em 7,1% na safra passada. Do total da cana esmagada, 276.007,1 mil toneladas (45,08%) foram destinadas à produção de açúcar, produzindo 33 milhões toneladas; 336.204,1 mil toneladas (54,99%) destinadas à produção de álcool, gerando um volume total de 26 bilhões de litros de álcool, sendo, deste total, 7.652,3 milhões de litros de álcool anidro, e 18.213,76 bilhões de litros de álcool hidratado, movimentando R\$ 56 bilhões (produção de cana, açúcar, etanol e bioeletricidade), o que representou 2,0% do PIB nacional (Conab, 2009).

A safra 2009/10 foi marcada pela volta das atenções à produção de açúcar. Houve quebra de safra nos principais países produtores. A Índia passou de exportador para importador, o que abriu oportunidade de novos negócios para o Brasil que exporta 65% da sua produção (Conab, 2009).

Em relação ao etanol, houve uma redução drástica das exportações nesta safra, aproximadamente 1,5 bilhões de litros em relação à safra anterior, quando foram exportados cerca de 4,9 bilhões de litros. Por outro lado, há uma latente demanda pelo etanol no mercado interno em função do aumento da frota de veículos *flex-fuel* que respondem por cerca de 90% das vendas de veículos leves.

3.4. Melhoramento da cultura

O principal objetivo de um programa de melhoramento de cana-de-açúcar é lançar novas cultivares que sejam mais rentáveis aos produtores, aumentando a produtividade e reduzindo as perdas econômicas, por um intervalo de tempo maior.

Sendo assim, a característica mais importante seria a elevada produção de açúcar por unidade de área, mensurada em toneladas de Pol por hectare (TPH). Os componentes envolvidos para a maximização desta característica são a tonelada de cana por hectare (TCH) e o teor de açúcar da cana (PCC – Pol % cana). Ambos são considerados de igual importância, sendo que, para se estimar a tonelada de cana, devem ser considerados ainda os componentes de rendimento: número de colmos por hectare e massa de colmo, sendo este último composto por componentes secundários, como diâmetro, estatura e densidade de colmos.

Outras características de importância agrônômica, para um genótipo de cana-de-açúcar, são a rápida brotação, vigorosa e prolongada soqueiras, a tolerância à seca e ao frio, o hábito de crescimento ereto, a ausência de florescimento, e o chochamento dos colmos e estabilidade e adaptabilidades aos diferentes ambientes de cultivo. Além dessas, possui ainda boa adaptabilidade para a colheita mecânica e ser resistente e/ou tolerante às principais doenças e pragas que incidem sobre a cultura (Bressiani, 2001; Matsuoka et al., 2005).

Para a indústria, caracteres como tipo e teor de fibra, quantidade e qualidade industrial do açúcar produzido e teor de pureza são características que inferem na qualidade da produtividade final e, conseqüentemente, na importância econômica destas cultivares (Fernandes, 2000).

Outra característica a ser levada em conta é a produção de energia renovável a partir do bagaço da cana-de-açúcar. As usinas utilizam a biomassa para cogeração de energia elétrica para consumo próprio, gerando uma produção de energia acima do utilizado. Portanto, a geração de energia a partir da biomassa da cana-de-açúcar é algo importante para a produção de álcool manter-se sustentável. Uma premissa é que novas cultivares com elevada produção de biomassa possam ser desenvolvidas pelos programas de melhoramento genético da cultura, conforme relata Barbosa et al. (2004).

Existem quatro programas de melhoramento de cana-de-açúcar no Brasil: 1) Programa Cana do Instituto Agrônômico de Campinas, iniciado em 1933; 2) Centro de Tecnologia Canavieira (CTC), que iniciou seus trabalhos em 1968 (como COPERSUCAR); 3) Programa de Melhoramento Genético da Cana-de-açúcar da RIDESA (Rede Interuniversitária para o Desenvolvimento do Setor

Sucroalcooleiro), formado por Universidades Federais e com início em 1971 como PLANALSUCAR; 4) CanaVialis, que iniciou suas atividades em março de 2003.

Apesar de existirem grandes diferenças nos detalhes sobre como os programas de melhoramento do Brasil (e do mundo) conduzem suas atividades, há alguns pontos em comum. Em essência, o melhoramento baseia-se na seleção e clonagem de genótipos superiores presentes em populações segregantes, que são obtidas por meio de cruzamentos sexuais entre indivíduos diferentes. O sucesso desses processos depende de vários fatores, dentre os quais, a escolha adequada dos genitores, de forma a maximizar a chance de obter ganhos com a seleção, a instalação de experimentos com boa precisão experimental, a escolha correta dos caracteres e épocas de avaliação.

A maioria das características consideradas na seleção é de natureza quantitativa e controlada por muitos locos (QTL's), tais como, teor de sólidos solúveis, teor de sacarose, diâmetro e número de colmos, teor de fibras, resistência ao acamamento e florescimento, precocidade, resistência a pragas e doenças (Oliveira, 2006).

Os programas de melhoramento geram populações segregantes formadas de milhares de plântulas, as quais serão posteriormente submetidas à seleção. O número de plântulas (ou *seedlings*) varia de acordo com o programa, e depende de fatores técnicos e econômicos.

Basicamente estes programas desenvolveram híbridos interespecíficos, principalmente entre *S. officinarum* e *S. spontaneum*, por meio de um processo denominado nobilitação (cruzamentos interespecíficos seguidos de retrocruzamentos com a espécie *S. officinarum*) (Teixeira, 2006).

O programa de melhoramento genético da cana-de-açúcar da RIDESA começa com a hibridação de genitores selecionados, com consequente obtenção de sementes sexuadas. Esses genitores são selecionados considerando-se a divergência genética, a capacidade de combinação, a associação de caracteres de importância agroindustrial e os valores genéticos preditos dos genitores (Barbosa, 2000). Esses cruzamentos são efetuados na Estação Experimental de Serra do Ouro, no município de Murici em Alagoas.

Em seguida, ocorrem os processos de seleção, que envolvem as fases denominadas T1, T2, T3, FE e FM, sendo a primeira, segunda e terceira fase de

seleção, fase de experimentação final e fase de multiplicação clonal, respectivamente.

A primeira seleção de campo em programas de melhoramento da cana-de-açúcar é realizada logo na população segregante (fase de seleção denominada T1 pela RIDESA), momento no qual cada genótipo é representado por uma única touceira. Nesta fase, milhares de genótipos precisam ser avaliados, podendo-se proceder à seleção no estágio de cana planta ou cana soca.

Segundo Lascano e Mariotti (1970), a seleção em cana soca é aconselhada por alguns programas de melhoramento, sob o argumento de que, aparentemente, as diferenças entre os genótipos, neste estágio, são mais evidentes.. Além do mais, essa estratégia permitiria uma seleção natural para a capacidade de rebrota.

Em T1, ocorre o plantio das sementes, em que cada semente possui potencial para se tornar uma variedade. A avaliação e seleção consistem na observação individual de cada touceira, sendo que, nessa fase, apenas 1 a 1,5% dos genótipos têm sido selecionados.

Na fase T2, é empregado o delineamento em blocos aumentados, quando se utilizam testemunhas. A proporção de clones selecionados normalmente varia entre 10 e 30%.

A fase T3 consiste na multiplicação e avaliação dos clones selecionados em T2, quando já é analisado um número maior de características, como resistência a doenças.

Os ensaios finais FE têm sido instalados em delineamento em blocos ao acaso, com quatro repetições e parcelas com quatro sulcos de 5 m cada, com o número de clones avaliados em torno de 20 a 30, analisando-se a produção de cana planta, primeira e segunda soca. Paralelamente a esse ensaio de competição, conduz-se outro ensaio para obtenção da curva de maturação. As variedades que sobressaem podem ir para a fase de multiplicação dos clones FM e então recomendadas aos produtores.

3.4.1. Geração de variabilidade para efetuar seleção

A variabilidade genética disponível para seleção provém de cruzamentos sexuais e pode ser realizada de diferentes maneiras (Matsuoka et al., 1999a; 1999b): a) cruzamentos biparentais, cujos cruzamentos são feitos usando-se dois genitores conhecidos, podendo algum deles ser usado exclusivamente como receptora de pólen; b) policruzamentos, quando um grande número de genótipos é intercruzado; nesse caso, colhem-se sementes nas panículas de todos genitores envolvidos, o que impede a identificação da fonte de pólen; c) polinização livre, quando as sementes são colhidas em plantas crescendo livremente.

Em termos genéticos, os cruzamentos devem ser planejados de tal maneira que seja maximizada a probabilidade de seleção de genótipos que podem ser liberados como cultivares comerciais.

Para tanto, uma alternativa bastante usada consiste em selecionar como genitores materiais os de boa performance para as características de interesse econômico (Matsuoka et al., 1999a), o que evidentemente ocorre para as cultivares usadas comercialmente. Vale ressaltar que isso pode levar a um estreitamento da base genética (Lima et al., 2001).

A razão pela qual os cruzamentos biparentais são preferidos pelos melhoristas, segundo Breaux (1987), é a possibilidade de estes serem reproduzidos. Este fato torna possível o teste de progênies de uma série de cruzamentos em pequena escala, repetição dos cruzamentos “elite”, e cultivo dos *seedlings* resultantes em grande escala. No entanto, o sucesso desta estratégia depende do tempo, facilidade e confiabilidade com que os cruzamentos “elite” podem ser identificados.

Os custos e limitações relacionados ao sistema de cruzamento e a importância da variância genética não-aditiva em cana-de-açúcar (Hogarth, 1977; Hogarth et al., 1981; Bastos et al., 2003) aumentam a necessidade de um modo eficiente e acurado de avaliação de cruzamentos para maximizar os ganhos genéticos do programa de melhoramento.

A maioria dos programas avalia os cruzamentos pela porcentagem de *seedlings* obtidos destes, que foram selecionados e avaliados em estádios mais

avançados do programa. No entanto, este método é inviável, uma vez que requer vários anos de avaliação (Kimbeng e Cox, 1992).

Sendo assim, uma estratégia mais rápida para detectar os cruzamentos potenciais é a concentração de esforços na seleção de famílias “elite”.

Dentre várias estatísticas, o procedimento REML/BLUP tem sido sugerido para uso na avaliação do potencial de genitores no melhoramento de plantas (Bridges, 1989). Barbosa et al. (2004) relataram pela primeira vez o emprego do método REML/BLUP na estimação dos componentes de variância e seleção de genitores e famílias de cana-de-açúcar no Brasil. Segundo estes autores, os componentes de média estimados via BLUP possibilitaram a seleção de famílias e de genitores superiores, especializados na produção de biomassa.

Uma vez que a cana-de-açúcar é uma espécie alógama, os cruzamentos devem ser planejados de forma a evitar a ocorrência de cruzamentos entre indivíduos aparentados. Isso pode ser conseguido principalmente com base nas genealogias dos materiais, bem como na divergência genética obtida com marcadores moleculares (Lima et al., 2001). Outros critérios, como complementariedade dos caracteres, capacidade de combinação dos materiais em cruzamentos, capacidade de cada material de gerar boas populações ao longo do tempo, também devem ser empregados.

No melhoramento de culturas alógamas e de propagação vegetativa, a exemplo da cana-de-açúcar, as cultivares ou clones utilizados como genitores são altamente heterozigóticos, o que faz com que uma ampla segregação ocorra logo na primeira geração após a hibridação.

Uma grande vantagem, neste caso, é que uma vez identificado um genótipo superior na primeira geração, este pode ser multiplicado assexualmente, permitindo, assim, que a seleção seja conduzida durante diferentes anos e ambientes, sem que ocorra a sua descaracterização genômica.

A possibilidade de propagação vegetativa simplifica alguns procedimentos de melhoramento, reduzindo, desse modo, o tempo gasto no desenvolvimento de uma nova cultivar, que, no caso da cana-de-açúcar, segundo Barbosa et al. (2005), tem ocorrido após 13 anos de inúmeras avaliações dos clones.

A possibilidade de propagação vegetativa em cana-de-açúcar permite que a seleção para esta cultura seja realizada em etapas. Sendo assim, as etapas iniciais são caracterizadas por avaliações pouco precisas, devido à escassez de

material propagativo, enquanto que, nas fases subsequentes, à medida que se aumenta a quantidade de material propagativo, aumenta-se também a precisão experimental e, conseqüentemente a possibilidade de se identificar com precisão o genótipo ou genótipos superiores (Souza Jr.,1995).

Alguns autores mencionam que o coeficiente de herdabilidade no sentido restrito, que leva em consideração a fase sexual, também pode ser considerado no planejamento de cruzamentos, uma vez que indicam como os caracteres de interesse são transmitidos aos descendentes.

Resultados de pesquisas indicam que a ação gênica predominante no teor de Brix é a aditiva, sendo que, para os demais componentes de produção, é a não-aditiva (Hogarth, 1980; Wu et al., 1980). Hogarth (1977) cita que, para produção de colmos, a variância dominante tem-se mostrado de mesma magnitude que a aditiva, sendo a variância epistática predominante para peso de colmos. Hogarth (1987) apresentou valores elevados de herdabilidade para o caráter teor de fibra. Já para volume e número de colmos, a variância dominante mostrou-se importante (Hogarth et al., 1981).

Bressiani (1993) reportou valores elevados de herdabilidade para comprimento dos colmos e Brix, nas condições brasileiras.

3.5. Seleção de famílias

Nas fases iniciais de seleção em cana-de-açúcar, é aplicada a seleção massal, em que as plantas (*seedlings*) são selecionadas somente pelo fenótipo. Este método é mais utilizado por ser de mais simples execução, mas é menos eficiente do que quando se utiliza seleção por famílias.

Os programas de melhoramento têm sido dinâmicos, com modificações propostas e testadas, procurando-se sempre melhorar a eficiência do processo seletivo e facilitar as avaliações. Desta forma, pesquisadores têm proposto novas metodologias de seleção, como a incorporação de seleção recorrente e seleção de famílias.

A seleção de famílias é uma alternativa para melhorar a eficiência da seleção massal em cana-de-açúcar. O uso de famílias aumenta a probabilidade de identificar clones superiores e, assim, melhorar a eficiência do uso dos

recursos disponíveis para condução do programa de melhoramento da cana-de-açúcar (Barbosa, 2000).

Neste tipo de avaliação, selecionam-se as famílias superiores e também indivíduos superiores dentro de cada família. Assim, avaliam-se as famílias em ensaios com repetição, cujas parcelas seriam constituídas de indivíduos ainda não clonados (*seedlings*), os quais, proporcionariam informações sobre o valor genético das famílias avaliadas.

A circunstância em que a seleção por famílias é mais recomendada é quando boa parte dos caracteres para a seleção apresentam coeficientes de herdabilidade de valores considerados baixos. Assim, a seleção por famílias tende a propiciar ganhos maiores, já que aumenta consideravelmente os valores dos coeficientes de herdabilidade.

A seleção de famílias pode ser adotada quando os caracteres de seleção são de baixa herdabilidade, como a seleção para produtividade de cana-de-açúcar. Este procedimento consiste em selecionar as melhores e rejeitar as piores famílias, visto que a seleção em famílias com valores genotípicos superiores tende a ser mais efetiva para indicar maior proporção de genótipos promissores.

A identificação de famílias capazes de produzir genótipos superiores é altamente desejável para o desenvolvimento de novas variedades de cana-de-açúcar, especialmente quando se considera um período relativamente longo, para a sua liberação.

Vantagem adicional com os estudos de famílias refere-se à possibilidade de inferir sobre os valores genéticos dos genitores utilizados nos cruzamentos, com base no desempenho de suas respectivas progênes. Com isso, os melhores genitores poderiam ser explorados em cruzamentos preferenciais.

Kimbeng e Cox (2003) relatam que a adoção da seleção de família tem efeitos positivos para um programa de melhoramento genético de cana-de-açúcar, porque gera informações importantes para se determinar o valor genotípico dos cruzamentos, identificando genótipos e clones-elite potenciais para novos cruzamentos.

Skinner et al. (1987) relatam ainda que o estudo de famílias pode contribuir para predizer cruzamentos superiores, podendo ser concentrado esforços nos cruzamentos mais promissores, que poderão aumentar substancialmente as chances de selecionar clones-elite.

Cox e Hogart (1993) relatam que, em cana-de-açúcar, o esquema de seleção entre e dentro famílias tende a ser mais eficiente que apenas a utilização do método de seleção de famílias.

3.6. Metodologia REML/BLUP: Aplicação em plantas perenes

Na descrição da metodologia REML/BLUP, faz-se necessária a descrição do modelo misto (constituído por efeitos fixos e aleatórios) associado aos dados experimentais.

Um modelo misto, cujo método foi desenvolvido por Henderson (1973), é aquele que apresenta tanto fatores de efeitos fixos como aleatórios, além do erro experimental.

A análise de variância no modelo misto apresenta algumas particularidades, como a composição das esperanças matemáticas dos quadrados médios, cujo conhecimento permite o estabelecimento correto dos testes de hipóteses (Hicks, 1973).

Outro motivo de se adotar um modelo linear misto é a possibilidade de se fazer a predição de efeitos aleatórios, na presença de efeitos fixos, que são de grande valia no melhoramento de plantas.

Um modelo linear misto generalizado tem a seguinte forma:

$y = X\beta + Z\tau + \varepsilon$, com as seguintes distribuições e estruturas de médias e variâncias:

$$\tau \sim N(\mathbf{0}, G) \quad E(Y) = X\beta$$

$$\varepsilon \sim N(\mathbf{0}, R) \quad \text{Var}(y) = V = ZGZ' + R$$

em que:

- y : vetor conhecido de observações.
- β : vetor paramétrico de efeitos fixos, com matriz de incidência X .
- τ : vetor paramétrico de efeitos aleatórios, com matriz de incidência Z .
- ε : vetor desconhecido de erros.
- G : matriz de variância-covariância dos efeitos aleatórios.
- R : matriz de variância-covariância dos erros.

- 0 : vetor nulo.

Assumindo G e R como conhecidas, a simultânea estimação de efeitos fixos e a predição dos efeitos aleatórios podem ser obtidas por meio das equações de modelo misto (método BLUP) dadas por:

$$\begin{bmatrix} X'R^{-1}X & X'R^{-1}Z \\ Z'R^{-1}X & Z'R^{-1}Z + G^{-1} \end{bmatrix} \begin{bmatrix} \tilde{\beta} \\ \tilde{\tau} \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} X'R^{-1}y \\ Z'R^{-1}y \end{bmatrix}$$

Quando G e R não são conhecidas, os componentes de variância associados aos efeitos aleatórios podem ser estimados de forma eficiente pelo método REML (Patterson e Thompson, 1971). Exceto por uma constante, a função de verossimilhança residual (em termos de seus log) a ser maximizada é dada por:

$$L = -\frac{1}{2} \left(\log|X'V^{-1}X| + \log|V| + v \log \sigma_s^2 + y'Py / \sigma_s^2 \right)$$

$$= -\frac{1}{2} \left(\log|C^*| + \log|R| + \log|G| + v \log \sigma_s^2 + y'Py / \sigma_s^2 \right), \text{ em que:}$$

$$V = R + ZGZ';$$

$$P = V^{-1} - V^{-1}X(X'V^{-1}X)^{-1}X'V^{-1}.$$

$v = N - r(x)$: graus de liberdade para os efeitos aleatórios, em que N é o número total de dados e $r(x)$ é o *rank* da matriz X .

C^* = Matriz dos coeficientes das equações de modelo misto.

Sendo geral, o modelo descrito engloba vários modelos peculiares a cada situação.

Nos modelos mistos, a importância das estimativas de parâmetros genéticos pelo Método da Máxima Verossimilhança Restrita - REML (*Restricted Maximum Likelihood*), é que essa metodologia gera estimativas não tendenciosas dos parâmetros (Schaeffer, 1999). Outra vantagem desses modelos é que eles levam em conta a covariância genética entre as observações e ponderam os genótipos com desigual número de informações, na mesma ou em diferentes gerações (Resende, 2002a). Isso faz da avaliação genética (predição de valores

genéticos), pelos modelos mistos, um instrumento mais eficaz que o da avaliação partindo de estimativas pelo método dos mínimos quadrados, segundo Kennedy e Sorensen (1988), na seleção de genitores, famílias e árvores, pelo uso da informação da própria entidade ou de aparentados, avaliadas no mesmo ou em diferentes locais, épocas ou gerações (Resende et al., 1999b). No modelo misto, os blocos, ambientes e tempo (anos avaliados) são efeitos fixos, constantes, mas interferem na predição dos efeitos genéticos ou aleatórios, tendo a necessidade de ajuste dos efeitos fixos no modelo.

A seleção de indivíduos ou de famílias de uma população pode ser fenotípica, quando o valor fenotípico do caráter é o referencial, ou genotípica quando baseada nos valores genéticos desses indivíduos. Valores genéticos aditivos são efeitos aleatórios. Estes podem ser obtidos pelo procedimento BLUP, que estima os efeitos fixos (médias de blocos) pelo método dos mínimos quadrados generalizados, considerando-se as variâncias, sendo esta a razão da maior acuidade (entendida como o quanto se confia que a estimativa seja próxima do valor verdadeiro). Ao mesmo tempo, o procedimento prediz os valores dos efeitos genéticos aleatórios e dos efeitos aleatórios não-correlacionados incluídos no modelo (Resende, 2002a).

O método de Máxima Verossimilhança Restrita (REML) possui propriedades estatísticas superiores, quando comparadas àquelas do método dos mínimos quadrados, para a estimação dos parâmetros genéticos, com dados não-balanceados (Searle et al., 1992). Devido às vantagens desse método, seu emprego, no melhoramento de plantas perenes, tem crescido expressivamente no exterior, como pode ser observado nos trabalhos de Dieters et al. (1995) e Dieters et al., (1996); e, no Brasil, por Resende et al. (1996), Bueno Filho (1997), Resende et al. (1999b), Resende (2001), Mora (2002), dentre outros.

Resende (2002b) reestruturou o programa computacional SELEGEN - Seleção Genética, elaborado pelo próprio autor e cooperadores, adequando-o para a análise de qualquer tipo de dado, pelo procedimento ótimo de Máxima Verossimilhança Restrita (REML) e Melhor Predição Linear Não-Viciada (BLUP), com aperfeiçoamentos contemplando mais de 150 diferentes estruturas experimentais, inclusive testes de progênies e procedências em vários locais, com estudo de interação genótipo x ambiente.

Com o surgimento dos modelos mistos ou BLUP individual, houve grande mudança na forma de estimação dos componentes de variância. Anteriormente, as covariâncias entre parentes eram estimadas e interpretadas em termos de suas esperanças matemáticas (igualando-as aos seus valores esperados), gerando os componentes de variância. Os componentes de variância podem ser estimados diretamente com as variâncias dos efeitos aleatórios do modelo linear misto (Resende, 2002a).

O SELEGEN-REML/BLUP atende às exigências de experimento balanceado e não-balanceado. Se adotados modelos em nível individual, o programa computacional fornece: (i) valores genéticos aditivos preditos; (ii) valores genotípicos preditos; (iii) estimativas de componentes de variância; (iv) ordenamento dos candidatos à seleção, segundo valores genéticos aditivos ou genotípicos; (v) estimativas de ganhos genéticos; (vi) estimativas do tamanho efetivo populacional; (vii) estimativas da interação genótipo x ambiente; e (viii) estimativas do valor genético de cruzamentos.

Este modelo abrange os delineamentos experimentais de blocos ao acaso e látice, os delineamentos de cruzamento para polinização aberta e controlada (progênies de meios-irmãos e irmãos-completos, cruzamentos dialéticos, fatoriais, hierárquicos, delineamentos não-balanceados, híbridos), bem como testes clonais, uma ou várias populações, experimentos repetidos em vários locais, uma ou várias plantas por parcela, presença ou ausência de medidas repetidas (Resende, 2002b).

O programa emprega modelos, estimadores e preditores apresentados por Resende et al. (1994) e Resende (1999b; 2000; 2002a), podendo ser aplicado às plantas alógamas, autógamas e com sistema reprodutivo misto. É direcionado às espécies perenes e semiperenes, podendo também ser aplicado às espécies anuais. Tem sido utilizado com sucesso, em algumas espécies, tais como, erva-mate (Resende et al., 2000), seringueira (Resende et al., 1996; Costa et al., 2000) e espécies frutíferas como a pupunheira (Farias Neto e Resende, 2001), cacau (Resende e Dias, 2000), aceroleira (Paiva et al., 2002), umbuzeiro (Oliveira et al., 2004), cupuaçu (Souza et al., 2002) e ainda cafeeiro (Resende et al., 2001) dendê (Purba et al., 2001) e cana-de-açúcar (Resende e Barbosa, 2006).

3.7. Divergência genética via marcadores moleculares

Pode-se definir diversidade genética como a distância genética entre populações, indivíduos ou organismos, baseada em características morfoagronômicas, fisiológicas, bioquímicas e moleculares (Cruz et al., 2004).

Segundo Falconer (1981), a diversidade genética é expressa pela diferença entre as frequências alélicas das populações, ou seja, é a diferença entre as contrapartes alélicas dando origem à divergência genética.

A importância da diversidade genética para o melhoramento está no fato de que cruzamentos que envolvem genitores geneticamente divergentes são mais apropriados para produzir alto efeito heterótico e maior variabilidade genética das populações segregantes (Rao et al., 1981; Cruz, 1990).

O sucesso de um programa de melhoramento genético depende da escolha de genitores que produzam indivíduos com a melhor combinação de alelos favoráveis e da seleção de genótipos superiores em populações segregantes.

Assim, técnicas de biologia molecular surgem como ferramentas para permitir a identificação precoce e precisa de indivíduos com uma melhor combinação de alelos favoráveis. A tendência geral do melhoramento genético de plantas é a interação das técnicas clássicas com aquelas mais modernas da biologia molecular, levando-se em consideração as vantagens e limitações de cada uma delas (Ferreira e Grattapaglia, 1998).

Os marcadores genéticos moleculares têm inúmeras vantagens, destacando-se o fato de não serem influenciados pelo ambiente e serem independentes do estágio da vida da planta, sendo uma poderosa ferramenta dos programas de melhoramento genético (Zietkiewicz et al., 1994). A escolha de uma técnica de marcador molecular depende de sua reprodutividade e simplicidade. Desde 1994, uma técnica de marcador molecular chamada amplificação inter-repetições de sequência simples (ISSR - *Inter Simple Sequence Repeats*) está disponível (Zietkiewicz et al., 1994). ISSRs são marcadores semiarbitrários, ampliados por PCR em presença de um oligonucleotídeo complementar para um microsatélite designado.

Este é um tipo de marcador molecular, usado pela comunidade científica, com diferentes aplicações no melhoramento de plantas (estudos de diversidade

genética, filogenia, mapeamento genético, *fingerprints*, entre outras) em várias culturas (Kantety et al., 1995; Bornet et al., 2001; Souza et al., 2005; Ajibade et al., 2000).

Os ISSRs são marcadores dominantes e seguem o padrão de herança mendeliana simples (Gupta et al., 1994). A metodologia do ISSR é baseada em PCR, envolvendo a amplificação de segmentos de DNA presentes a uma distância amplificável entre dois microssatélites idênticos, orientados em direções opostas (Reddy et al., 2002). Para tanto, são usados microssatélites, usualmente de 16 a 25 pb, como iniciadores capazes de, em uma única reação de PCR, reconhecer os loci múltiplos no genoma, para amplificar principalmente as sequências inter- e microssatélites de diferentes tamanhos (Zietkiewicz et al., 1994).

Estes podem ser di-, tri-, tetra- ou pentanucleotídeos, sendo ou não ancorados (Gupta et al., 1994; Meyer et al., 1993; Wu et al., 1994), ou mais usualmente ancorados nas extremidades 3' ou 5' com uma a quatro bases degeneradas.

Como um marcador com base em PCR, o ISSR tem algumas vantagens quando comparado aos outros marcadores. A amplificação não requer informações de sucessão do genoma e de padrões altamente polimórficos (Zietkiewicz et al., 1994). Cada faixa corresponde a uma sequência de DNA delimitada por dois microssatélites invertidos. Também, as sequências-alvo dos ISSRs são abundantes ao longo do genoma de eucariontes e evoluem rapidamente (Fang e Roose, 1997; Esselman et al., 1999). Então, ISSRs têm provado serem úteis dentro de populações de estudos genéticos, especialmente em detecção clonal, diversidade e revelação de indivíduos proximalmente relacionados (Salimath et al., 1995; Oliveira et al., 1996).

Conforme relata Kantety et al. (1995), as vantagens desta técnica são: sua capacidade *multiplex*, sua alta frequência de polimorfismo, rapidez, e simplicidade.

A escolha de genitores e o planejamento de cruzamentos constituem a etapa inicial de um programa de melhoramento. Avaliações da diversidade genética dos potenciais genitores por meio de marcadores moleculares são, muitas vezes, correlacionadas com resposta heterótica. A escolha de genitores mais divergentes pode aumentar o desempenho dos híbridos obtidos ou

simplesmente aumentar a chance de obter diferentes combinações gênicas de interesse.

Com o passar dos ciclos seletivos, é esperado que houvesse modificações no valor de alguns parâmetros populacionais, tais como, médias, variabilidade genética e correlações genéticas. Portanto, é preciso monitorar a variação desses parâmetros, visto que a redução da variabilidade genética pode reduzir a eficiência da seleção e comprometer o programa de melhoramento (Bosco, 2002).

3.8. Parâmetros genéticos

A estimação de parâmetros genéticos tem fundamental importância para os programas de melhoramento, porque permitem identificar a natureza da ação dos genes envolvidos no controle dos caracteres quantitativos e, assim, avaliar a eficiência das diferentes estratégias de melhoramento, pela obtenção de ganhos genéticos preditos e manutenção de uma base genética adequada. As variâncias genéticas aditivas e não-aditivas, as correlações e as herdabilidades são os parâmetros genéticos de maior importância (Cruz e Carneiro, 2003).

O termo parâmetro é utilizado para designar as constantes características de uma população, particularmente média, e variância. No caso de populações utilizadas em programas de melhoramento, os parâmetros de interesse são de duas naturezas: genética e não-genética. A estimação dos parâmetros genéticos é necessária para: (a) obter informações sobre a natureza da ação dos genes envolvidos na herança dos caracteres sob investigação; e (b) estabelecer a base para a escolha dos métodos de melhoramento aplicáveis à população (Morais et al., 1997).

A eficiência do melhoramento depende do conhecimento do controle genético dos caracteres a serem melhorados. Para um caráter quantitativo, o controle genético ou a base genética inclui todos os mecanismos genéticos responsáveis pela sua herança, tais como, herdabilidade, repetibilidade, associações genéticas com outros caracteres, interações genéticas com o ambiente, variação genética aditiva e de dominância (Resende et al.; 1995).

A herdabilidade (h^2) é um dos parâmetros genéticos mais informativos para o trabalho do melhorista. Este parâmetro fornece a proporção da variância

genética presente na variância fenotípica total. Dessa forma, ela infere sobre a confiabilidade do valor fenotípico, como indicador do valor genético, para espécies que se reproduzem sexuadamente e são propagadas pelo cultivo de sementes. A herdabilidade pode ser estimada em sentido amplo (h^2_g) e sentido restrito (h^2_a). No sentido amplo, considera toda a variação genética aditiva e não-aditiva (Ramalho et al., 1993) e, no sentido restrito, é determinada pela relação entre variância genética aditiva e a variância fenotípica (Resende, 2001).

O coeficiente de herdabilidade, tanto no sentido restrito como no amplo, pode variar de zero a um. No caso de $h^2 = 1$, as diferenças fenotípicas entre os indivíduos são causadas unicamente por diferenças genéticas entre os mesmos; quando $h^2 = 0$ significa que a variabilidade do caráter não tem origem genética. Neste caso, não existe correlação alguma entre valor genético e valor fenotípico da unidade de seleção (Allard, 1971).

Fisher (1918), citado por Allard (1971), foi o primeiro no emprego da variância no estudo de caracteres quantitativos. Em seus trabalhos, a variância genotípica foi subdividida em variância genética aditiva, atribuída aos efeitos médios dos genes; e a variância procedente dos efeitos de dominância, devido às interações entre alelos de um mesmo loco; e variância epistática em função das interações entre diferentes locos.

A variância aditiva é a variância dos valores genéticos aditivos, um dos fatores determinantes da covariância ou semelhança entre parentes e, por conseguinte, o principal determinante das propriedades genéticas da população e de sua resposta (Falconer, 1981).

Segundo Cruz e Regazzi (2001), a existência da variância aditiva constitui-se em um indicativo de maior facilidade na identificação de genótipos superiores com maior concentração de alelos favoráveis. Por sua vez, a variância atribuída à dominância é indicativa de dificuldades no processo de seleção, mas é importante quando se deseja explorar o vigor híbrido.

Com a intenção de se obter informações sobre o material estudado, para programas de melhoramento genético, a estimação de parâmetros genéticos tem sido amplamente estudada em diversas culturas, como nos trabalhos de Melo et al. (2009); Melo et al. (2006) e Silva et al. (2002) com cana-de-açúcar; Coimbra et al. (2002) com milho-pipoca; Mendonça et al. (2002) com feijão; Gravina et al.

(2003) com soja; Andrade et al. (2008) com milho; Andrade et al. (2008) com eucalipto, entre outros.

3.9. Índice de seleção

A indicação de cultivares, baseando-se em apenas uma ou em poucas características, pode não ser a melhor opção, visto que o produto final da seleção pode ser superior em relação aos caracteres selecionados e inferior em relação aos outros caracteres não considerados (Cruz et al., 2004).

Nesse contexto, para se obter um material genético realmente superior, é necessário que o material selecionado reúna, simultaneamente, uma série de atributos favoráveis que lhe confira não só rendimento comparativamente mais elevado, mas também satisfaça as exigências do consumidor (Cruz et al., 2004).

Para tanto, uma alternativa viável é o uso dos índices de seleção, que constituem técnicas multivariadas que associam as informações relativas a vários caracteres de interesse agrônomo com as propriedades genéticas da população avaliada. Com os índices de seleção, criam-se valores numéricos que funcionam como um caráter adicional, teórico, resultante da combinação de determinados caracteres selecionados pelo melhorista, sobre os quais se deseja manter seleção simultânea (Cruz e Regazzi, 2004).

Na cultura da cana-de-açúcar, poucos estudos empregando índices de seleção são encontrados na literatura (Miller et al., 1978; Singh & Khan, 1998; Pillai & Ethirajan, 1993), sendo os mesmos construídos a partir de parâmetros genéticos e médias fenotípicas obtidas pelo método da análise de variância.

Diferentes índices representam diferentes alternativas de seleção e, conseqüentemente, de ganhos. Eles indicam, de maneira rápida e eficiente, genótipos que podem ser mais ou menos adequados para o propósito do melhorista.

Smith (1936) propôs o uso de índice de seleção nos programas de melhoramento de plantas como critério de seleção simultânea de duas ou mais características correlacionadas. Este procedimento foi adaptado do melhoramento genético animal por Hazel (1943). Segundo esses autores, para se estabelecer o índice de seleção, são necessários o valor econômico relativo a cada característica, as variâncias genotípicas e fenotípicas de cada característica e as

covariâncias genóticas e fenotípicas entre cada par de características. Tal índice passou a ser reconhecido como Índice Clássico.

Devido às dificuldades de estabelecer pesos econômicos, Cruz (1990) propôs que os pesos econômicos poderiam ser estimados a partir de estatísticas dos próprios dados experimentais. O coeficiente de variação genético se constituiria num bom referencial, pelo fato de ser um caráter adimensional e diretamente proporcional à variância genética.

Pesek e Baker (1969) sugeriram o uso de 'ganhos genéticos desejados' de características individuais, num programa de seleção, para substituir os pesos econômicos relativos no cálculo dos índices de seleção. Para se usar a modificação proposta, necessita-se da matriz de variância e covariância genética e do vetor dos ganhos genéticos desejados para as características. Assim, é possível calcular os coeficientes dos índices, sem designar pesos econômicos relativos para as características, como requer a teoria convencional de índice de seleção.

Willians (1962) propôs o denominado índice-base, objetivando-se evitar a interferência de imprecisões das matrizes de variâncias e covariâncias fenotípicas e genóticas, na estimação dos coeficientes que constituem o índice. Esse método propõe o estabelecimento de índices, mediante a combinação linear dos valores fenotípicos médios das características, os quais são ponderados diretamente pelos seus respectivos pesos econômicos (Cruz e Carneiro, 2003).

Segundo Cruz e Carneiro (2003), este índice tem apresentado boa aceitação pelos melhoristas, por dispensar as estimativas de variâncias e covariâncias genóticas e fenotípicas e ter revelado resultados satisfatórios, quando utilizado com critério de seleção em vários trabalhos científicos.

Mulamba e Mock (1978) propuseram o índice com base na soma de postos (ou *ranks*), que consiste em classificar os genótipos em relação a cada uma das características, em ordem favorável ao melhoramento. Uma vez classificadas, são somadas as ordens de cada material genético referente a cada caráter, resultando em uma medida adicional, tomada como índice de seleção.

Os índices de seleção têm sido muito utilizados em culturas como milho pipoca (Daros et al., 2004 e Amaral Júnior, et al., 2010); milho comum (Granate, 2001); maracujazeiro amarelo (Silva et al., 2009) e mamoeiro (Silva et al., 2008). Em todas suas aplicações, os ganhos genéticos foram previstos com precisão

satisfatória, levando a uma condução apropriada dos programas de melhoramento genéticos para as culturas em questão.

De maneira geral, os índices de seleção proporcionam o ganho reduzido sobre um caráter, mas essa redução é compensada por uma melhor distribuição de ganhos favoráveis nos demais caracteres.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Composição do experimento

Em fevereiro de 2006, foi instalado na área da Usina Disa, Município de Conceição da Barra-ES, um ensaio de famílias pertencentes à primeira fase de seleção (T1) do Programa de Melhoramento Genético da Cana-de-Açúcar (PMGCA) da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ)/Rede Interuniversitária para o Desenvolvimento do Setor Sucroalcooleiro (RIDESA), em parceria com a Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro.

As famílias utilizadas nesta pesquisa foram amostradas dentre cruzamentos realizados na Estação Experimental de Serra do Ouro, no município de Murici em Alagoas, de onde foram retiradas amostras de 68 cruzamentos biparentais (irmãos-completos), (Tabela 1).

Tabela 1 – Genitores utilizados para a obtenção de famílias de irmãos-completos em cana-de-açúcar.

Famílias	Genitores/Cruzamentos	Origem
1	RB 855035 X Co 775	Ridesa X Coimbatore (Índia)
2	Co 775 X RB 855035	Coimbatore (Índia) X Ridesa
3	RB 92606 X SP 83-2847	Ridesa X Coopersucar
4	RB 863129 X SP 83-2847	Ridesa X Coopersucar
5	RB 855035 X SP 71-6949	Ridesa X Coopersucar

Cont. Tabela 1

6	RB 925211 X SP 70-1143	Ridesa X Coopersucar
7	RB 72454 X RB 855035	Ridesa X Ridesa
8	RB 915141 X RB 855322	Ridesa X Ridesa
9	SP 70-1244 X SP 80-1842	Coopersucar X Coopersucar
10	RB 945956 X IAC 873396	Ridesa X Instituto Agronômico de Campinas
11	RB 855035 X RB 945956	Ridesa X Ridesa
12	RB 91514 X IAC 862210	Ridesa X Instituto Agronômico de Campinas
13	IAC 873396 X RB 855063	Instituto Agronômico de Campinas X Ridesa
14	SP 80-3280 X SP 70-1284	Coopersucar X Coopersucar
15	SP 80-3280 X RB 965911	Coopersucar X Ridesa
16	SP 83-2847 X L 60-14	Coopersucar X Louisiana (USA)
17	SP 80-3280 X SP 70-1284	Coopersucar X Coopersucar
18	RB 96 5911 X SP 83-2847	Ridesa X Coopersucar
19	LAICA 98208 X RB 855035	Costa Rica X Ridesa
20	RB 945961 X RB 957751	Ridesa X Ridesa
21	SP 80-3280 X RB 947501	Coopersucar X Ridesa
22	RB 925345 X RB 91514	Ridesa X Ridesa
23	RB 945957 X RB 925211	Ridesa X Ridesa
24	RB 946022 X RB 925211	Ridesa X Ridesa
25	RB 945964 X SP 91-1049	Ridesa X Coopersucar
26	RB 947501 X RB 9572	Ridesa X Ridesa
27	RB 92606 X RB 971537	Ridesa X Ridesa
28	RB 947501 X RB 947506	Ridesa X Ridesa
29	RB 945956 X RB 947501	Ridesa X Ridesa
30	BJ 7015 X RB 72454	- X Ridesa
31	SP 89-1115 X RB 825336	Coopersucar X Ridesa
32	RB 925345 X RB 915121	Ridesa X Ridesa
33	CP 716949 X CB 45-155	Canal Point (Florida) X Campos – Brasil/Pesagro RJ

Cont. Tabela 1

34	RB 936001 X RB 9965586	Ridesa X Ridesa
35	RB 957712 X RB 993522	Ridesa X Ridesa
36	RB 957089 X RB912669	Ridesa X Ridesa
37	RB 951015 X RB 957712	Ridesa X Ridesa
38	RB 945954 X RB 957712	Ridesa X Ridesa
39	SP 724928 X CB 45-155	Coopersucar X Campos – Brasil/Pesagro RJ
40	RB 957712 X RB 945954	Ridesa X Ridesa
41	SP 85-3877 X RB 961005	Coopersucar X Ridesa
42	RB 896342 X RB 961527	Ridesa X Ridesa
43	RB 945962 X RB 9620	Ridesa X Ridesa
44	SP 80-3280 X L 60-14	Coopersucar X Louisiana (USA)
45	RB 957610 X RB 93522	Ridesa X Ridesa
46	RB 896342 X RB 92508	Ridesa X Ridesa
47	L 60-14 X SP 80-3280	Louisiana (USA) X Coopersucar
48	SP 71-6949 X RB 83102	Coopersucar X Ridesa
49	SP 83-2847 X RB 855206	Coopersucar X Ridesa
50	RB 93522 X RB957689	Ridesa X Ridesa
51	RB 9557 X RB 72454	Ridesa X Ridesa
52	Co 434 X RB 946915	Coimbatore (Índia) X Ridesa
53	RB 947501 X RB 945956	Ridesa X Ridesa
54	SP 71 X Co775	Coopersucar X Coimbatore (Índia)
55	RB 971537 X RB 943339	Ridesa X Ridesa
56	RB 855511 X RB 855156	Ridesa X Ridesa
57	RB 91537 X SP 91-1049	Ridesa X Coopersucar
58	RB 945065 X RB 912695	Ridesa X Ridesa
59	RB 845486 X RB 855127	Ridesa X Ridesa
60	RB 855463 X SP 83-2847	Ridesa X Coopersucar
61	RB 835486 X RB 955970	Ridesa X Ridesa
62	RB 926920 X SP 89-1115	Ridesa X Coopersucar
63	RB 945065 X RB 945956	Ridesa X Ridesa
64	RB 935686 X RB 955970	Ridesa X Ridesa

Cont. Tabela 1

65	RB 943339 X RB 911537	Ridesa X Ridesa
66	RB 915141 X SP 89-1115	Ridesa X Coopersucar
67	RB 945956 X RB 945065	Ridesa X Ridesa
68	RB835486 X IAC 86-2210	Ridesa X Instituto Agronômico de Campinas
69	RB 867515	Ridesa
70	RB 72454	Ridesa
71	RB 835486	Ridesa

Este ensaio foi composto por 68 famílias e três cultivares-padrão e seguiu o delineamento em blocos ao acaso, em que as progênies (tratamentos) foram agrupadas em quatro *sets*, que constituem grupos de tratamentos, cada qual com quatro repetições e cem *seedlings* por parcela, espaçadas a 0,50 m entre plantas e 1,40 m entres linhas.

4.2. Avaliação do experimento

O corte de cana-planta foi realizado em 2007, sem que tenham sido realizadas avaliações. Todas as avaliações das famílias e plantas dentro de famílias foram efetuadas durante a primeira e segunda soca, nos anos de 2008 e 2009, sendo feita entre e dentro de famílias (fenotipando os indivíduos de cada família).

As seguintes características foram avaliadas na época da colheita:

- Diâmetro médio dos colmos (DMC): foi aferido com o auxílio de um paquímetro. As leituras foram efetuadas no centro do entrenó, localizado no comprimento médio do colmo, foram realizadas cinco leituras ao acaso por observação (*seedling*) e considerando o valor médio. O DMC foi aferido nos dois anos agrícolas (2008 e 2009);

- Teor de sólidos solúveis totais - Brix (%): determinado com o auxílio de um refratômetro de campo com cinco medições ao acaso, considerando o valor médio. Foram feitas medições na parte inferior do colmo (Brix PE) e na parte

superior do colmo (Brix PT). Ambas as características foram aferidas nos dois anos agrícolas (2008 e 2009);

- Peso de colmos (P): medida pela pesagem, em Kg, de todos os colmos constantes em todas as linhas da parcela, com o auxílio de dinamômetro. Essa característica foi mensurada somente no primeiro ano agrícola (2008);

- Número de colmos (NC): contagem do número total de colmos das touceiras analisadas. Essa característica foi mensurada somente no segundo ano agrícola (2009);

4.3. Análise estatística

A análise de variância dos dados foi realizada empregando-se os recursos computacionais do Programa SAS (SAS,1985). Foram realizadas análises de variância para cada uma das características analisadas. Obtendo-se, assim, os valores dos quadrados médios das fontes de variação envolvidas e a significância de cada um deles, além dos coeficientes de variação, seguindo-se o modelo estatístico em blocos ao acaso:

$$Y_{ijkl} = \mu + E_i + S_j + ES_{ij} + R/ES_{ijk} + G/S_{jl} + EG/S_{ijl} + e_{ijkl}$$

onde:

μ : média experimental;

E_i : efeito fixo do i-ésimo ambiente;

S_j : efeito do j-ésimo 'set', NID $(0, \sigma^2)$;

ES_{ij} : efeito da interação de ambientes e 'sets' NID $(0, \sigma^2)$;

R/ES_{ijk} : efeito da k-ésima repetição dentro da interação entre o i-ésimo ambiente e o j-ésimo 'set';

G/S_{jl} : efeito do l-ésimo genótipo dentro do j-ésimo 'set';

EG/S_{ijl} : efeito da interação de ambientes e genótipos dentro do j-ésimo 'set';

e_{ijkl} : erro experimental NID $(0, \sigma^2)$.

Na Tabela 2, é apresentado o esquema da análise de variância conjunta, com as respectivas esperanças de quadrados médios, sendo que, com exceção de ambientes, as demais fontes de variação foram consideradas aleatórias.

Tabela 2: Análise de variância e esperança de quadrados médios

FV	GL	QM	E (QM)	F
Ambientes(E)	e - 1	QME	$\sigma^2 + rg\sigma_{ES}^2 + g\sigma_{R/ES}^2 + r\sigma_{EG/S}^2 + grs\theta_E^2$	QME/QMES
Sets (S)	s - 1	QMS	$\sigma^2 + er\sigma_{G/S}^2 + egr\sigma_S^2$	QMS/QMG
ExS	(e - 1)(s - 1)	QMES	$\sigma^2 + r\sigma_{EG/S}^2 + g\sigma_{R/ES}^2 + gr\sigma_{ES}^2$	QMES+QMR/ QMB+QMEG
Repetições (R) / ExS	es (r - 1)	QMB	$\sigma^2 + g\sigma_{R/ES}^2$	QMB/QMR
Genótipos (G) / S	s (g - 1)	QMG	$\sigma^2 + er\sigma_{G/S}^2$	QMG/QMR
ExG / S	s (g - 1)(e - 1)	QMEG	$\sigma^2 + r\sigma_{EG/S}^2$	QMEG/ QMR
Resíduo	es (g - 1)(r - 1)	QMR	σ^2	-
Total	egrs - 1			

4.4. Estimação de parâmetros genéticos.

A partir dos valores de esperanças e quadrados médios (Tabela 2), foram estimados os componentes de variância :

- Variância genotípica: $\sigma_g^2 = (QMG - QMR)/er$
- Variância fenotípica: $\sigma_f^2 = QMR/er$
- Herdabilidade com base na média das famílias: $h^2 = \sigma_g^2/\sigma_f^2$
- Coeficiente de variação genético: $CV_g(\%) = 100 \left(\sqrt{\sigma_g^2/\bar{X}} \right)$
- Índice de variação: $I_v(\%) = 100 (CV_g/CV_e)$

Onde: QMG = quadrado médio dos genótipos;

QMR = quadrado médio do resíduo;

r = repetição;

e = ambiente.

4.5. Seleção Baseada nos Índices de Seleção

Foram testados diferentes índices de seleção, os quais se encontram relacionados abaixo, para seleção das 21 famílias superiores. Nas análises computacionais, foram dados pesos para cada característica analisada, o que demonstrou diferenças significativas entre os genótipos, pelo teste F, na análise de variância. Estes pesos foram escolhidos ao acaso, mediante tentativas, atentando-se, porém, para os ganhos mais favoráveis para cada característica em questão.

Os pesos econômicos utilizados nos índices de seleção foram: o desvio-padrão genotípico, coeficiente de variação genotípico, índice de variação, herdabilidade e pesos atribuídos por tentativas.

4.5.1. Índice de seleção de Smith (1936) e Hazel (1943) – Índice Clássico

Esse índice de seleção foi concebido como uma função linear dos valores fenotípicos observados nas várias características. O valor observado de cada característica é ponderado por um dos coeficientes do índice (Baker, 1986; Cruz e Regazzi, 2006), obtendo-se o seguinte agregado fenotípico:

$$I = b_1 P_1 + \dots + b_i P_i + b_n P_n,$$

em que:

I = índice de seleção;

b_i = o peso atribuído à característica P_i no índice de seleção; e

n = número de características avaliadas.

O valor genético total é representado por uma combinação linear dos valores genéticos de cada característica, ponderados por pesos econômicos conhecidos, definidos pelo pesquisador (Cruz e Regazzi, 2001).

4.5.2. Índice Clássico de Mulamba e Mock (1978)

O índice de Mulamba e Mock (1978) hierarquiza os genótipos, inicialmente, para cada característica, por meio da atribuição de valores absolutos mais elevados do que aqueles de melhor desempenho. Por fim, os valores atribuídos a cada característica são somados, obtendo-se a soma dos *ranks*, que assinala a classificação dos genótipos (Cruz e Regazzi, 2004).

4.5.3. Índice de seleção de Williams (1962)

Este índice de seleção, em geral denominado Índice Base, é uma combinação linear das características de interesse no melhoramento, em que os pesos econômicos são os coeficientes de ponderação do índice, o que dispensa o uso de matrizes de variância e covariâncias (Baker, 1986; Cruz e Regazzi, 2004).

Representa-se do seguinte modo:

$$I = a_1x_1 + a_2x_2 + \dots + a_nx_n = a' X,$$

em que:

I = índice de seleção;

a_i = peso econômico atribuído à característica i , sendo $i = 1, \dots, n$;

a' = vetor dos pesos econômicos;

x_i = média da característica, sendo $i = 1, \dots, n$; e

X = vetor das médias das n características que entram no índice.

4.5.4. Índice de seleção de Pesek e Baker (1969)

Os pesos econômicos constituem uma das dificuldades da aplicação do Índice Clássico de Smith (1936) e Hazel (1943) e, por essa razão, foi proposto por Pesek e Baker, em 1969, um índice de seleção baseado nos ganhos desejados, os quais são mais fáceis de definir. Segundo Cruz e Regazzi (2004), a partir da expressão fornecida pelo Índice Clássico de Smith (1936) e Hazel (1943), obtém-se a expressão dos ganhos esperados:

$$\Delta g = G b_i / \sigma_i ,$$

em que:

Δg = vetor de ganhos esperados;

G = matriz das variâncias e covariâncias genotípicas;

b_i = vetor $n \times 1$ de coeficientes do índice ;

i = intensidade de seleção; e

σ_i = desvio-padrão do índice.

Por substituição do vetor dos ganhos esperados por um vetor com os ganhos desejados, Δg_d , é possível estimar o vetor b dos coeficientes do índice:

$$b = G^{-1} \Delta g_d \sigma_i / i ,$$

em que:

σ_i / i = um escalar que não influi na proporcionalidade dos coeficientes e pode ser eliminado.

4.6. Modelo misto para avaliação de candidatos à seleção e parâmetros de estimação para as famílias avaliadas e indivíduos dentro de famílias

As avaliações fenotípicas foram trabalhadas com o *software* Selegen-Reml/Blup, utilizando-se o procedimento BLUP individual e o modelo 147 - Um Local e uma Safra, Blocos Completos: $y = Xr + Zg + Wp + e$

Em que:

y = vetor de dados;

r = vetor dos efeitos de repetição (assumidos como fixos) somados à média geral;

g = vetor dos efeitos genotípicos individuais (assumidos como aleatórios);

p = vetor dos efeitos de parcela;

e = vetor de erros ou resíduos (aleatórios).

As letras maiúsculas representam as matrizes de incidência para os referidos efeitos.

i) Componentes de Variância (REML Individual):

- V_g : variância genotípica entre progênes de irmãos germanos, equivalendo a (1/2) da variância genética aditiva mais (1/4) da variância genética de dominância, ignorando-se a epistasia;
- V_{parc} : variância ambiental entre parcelas;
- V_{dentro} : variância residual dentro de parcela;
- V_f : variância fenotípica individual;
- $h_a^2 = h^2$: herdabilidade individual no sentido restrito, obtida ignorando-se a fração (1/4) da variância genética de dominância;
- $c_{\text{parc}}^2 = c^2$: coeficiente de determinação dos efeitos de parcela;
- h_{mp}^2 : herdabilidade da média de progênes, assumindo sobrevivência completa;
- Ac_{prog} : acurácia da seleção de progênes, assumindo sobrevivência completa;
- h_{ad}^2 : herdabilidade aditiva dentro de parcela, obtida ignorando-se a fração (1/4) da variância genética de dominância e Média geral do experimento.

4.7. Avaliação da divergência genética

Foi realizado um estudo da diversidade genética entre famílias, com o intuito de estudar o grau de diversidade em que se encontram os materiais de cana-de-açúcar que, rotineiramente, são utilizados nos cruzamentos pelo Programa de Melhoramento Genético da Cana-de-Açúcar da Rede Interuniversitária para o Desenvolvimento do Setor Sucroalcooleiro (RIDESA), visando à indicação de cruzamentos entre parentais distantes geneticamente, buscando o aumento da heterose e a identificação de clones superiores.

Ao todo, 39 indivíduos dentro de 14 famílias foram selecionados para a composição do lote a ser utilizado para o estudo da divergência genética, via marcadores moleculares ISSR.

4.7.1. Extração do DNA

Cerca de 100 mg de tecido macerado foi transferido para tubos de 1,5 mL e imersos em N_2 líquido para a extração de DNA, de acordo com o protocolo PLANT GENOMIC DNA MINI KIT, com as etapas descritas a seguir:

Foram adicionados aos tubos, contendo as amostras, 400 μ L de tampão de extração 1 (GP1 “Buffer”) e 5 μ L RNase (10mg/mL) e agitados com o uso do vortex. Este material foi incubado a 65°C por 10 minutos. Durante a incubação, o tubo foi invertido a cada 5 minutos. Em seguida, foram adicionados 100 μ L de tampão 2 (GP2 buffer) e os tubos foram agitados por vórtice para a obtenção de uma mistura homogênea. Logo após, os microtubos foram incubados em gelo por 3 minutos. Essa mistura (cerca de 500 μ L) foi transferida para um novo tubo, com uma coluna de filtro posicionada em um tubo coletor de 2 mL. Esse material foi centrifugado por 3 minutos a 13000 rpm. A coluna de filtro foi descartada e, cuidadosamente, o sobrenadante foi transferido para um novo tubo. Foram adicionados 750 μ L de tampão 3 (GP3 *buffer* com isopropanol) ao filtrado (produto da lise celular) e misturado imediatamente por vórtice por 5 segundos. Logo em seguida, toda a mistura foi transferida para uma coluna matriz posicionada em um tubo coletor. Foi feita uma nova centrifugação a 13000 rpm por 2 minutos. O material filtrado que continuou no tubo coletor foi descartado.

Foram adicionados 500 μ L de tampão de lavagem, contendo etanol na coluna, e centrifugados novamente a 13000 rpm por 30 segundos. Foi feito o descarte do filtrado, repetindo-se a etapa. A coluna matriz foi transferida para um tubo limpo de 1,5 mL e adicionando-se 100 μ L do tampão de eluição pré-aquecido no centro da coluna matriz. O material ficou em descanso por 5 minutos até o tampão de eluição ser absorvido pela matriz. Foi feita uma última centrifugação a 13000 rpm por 30 segundos para eluir o DNA purificado.

4.7.2. Quantificação do DNA

Para avaliação da concentração de DNA, as amostras foram avaliadas em gel de agarose a 1,0 % e coradas com a mistura de *Blue Juice* 6X com *Gel Red*, na proporção de 1:1. Como padrão, foi utilizada a amostra de DNA, com a concentração conhecida de DNA de fago λ (10, 20, 30, 50 e 100 ng).

A visualização foi feita por meio de luz ultravioleta (Fotodocumentador MiniBis Pro – Bio-imaging Systems). A concentração das bandas foi determinada pelo Programa *Image*, utilizando-se, como padrão, um marcador de 250 pb. Posteriormente, o DNA foi diluído e padronizado na concentração de 5 ng. μ L⁻¹ para as reações de polimerase em cadeia (PCR) e mantido a -20°C.

4.7.3. Análise dos dados

Foi realizada a análise de agrupamento entre os genótipos, adotando-se, como medida de dissimilaridade, o Complemento Aritmético do Índice de Jaccard e, como técnica de agrupamento, o método de Ward.

O Complemento Aritmético do Índice de Jaccard é dado por:

$$C_{ij} = 1 - \frac{a}{a+b+c}, \text{ onde:}$$

a= 1 - 1 : número de coincidência do tipo 1 e 1.

b= 1 - 0 : número de discordância do tipo 1 e 0.

c= 0 - 1 : número de discordância do tipo 0 e 1.

Sendo; 1 presença de banda e 0 a ausência de banda.

4.7.4. Método de Agrupamento

A análise de agrupamento consiste no uso de técnicas que permitem reunir, por algum critério de classificação, unidades amostrais em grupos de maneira que as unidades sejam similares dentro do grupo e com heterogeneidade entre os grupos (Cruz e Regazzi, 2004).

Para a análise dos resultados, foram utilizados os recursos computacionais do programa Genes (Cruz, 2006).

A matriz de distâncias com base no Complemento Aritmético do Índice de Jaccard foi utilizada para o agrupamento dos genótipos pelo método Ward.

Este método foi utilizado originalmente para variáveis quantitativas, mas passou posteriormente a ser utilizado também para variáveis qualitativas. O método minimiza a soma de quadrados dentro dos grupos e maximiza a soma entre grupos. A estratégia de Ward é um algoritmo que procura partições dos grupos próximos àqueles ótimos, sendo que a estratégia não conduz necessariamente à partição ótima, mas, em muitos casos, a aproximação será considerada satisfatória na prática (Asensio, 1989).

A aplicação dos métodos hierárquicos permite a apresentação dos resultados sob forma de dendrograma. Este é um diagrama em forma de árvore que mostra a subdivisão dos grupos formados, buscando máxima homogeneidade entre os indivíduos no grupo e máxima heterogeneidade entre os grupos (Sneath e Sokal, 1973).

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Avaliação das famílias de irmãos-completos e análise de variância

Observam-se, nas Tabelas 3 e 4, as estimativas dos valores e as significâncias dos quadrados médios, bem como as médias e os coeficientes de variação experimental, com base na média das quatro características avaliadas, em 68 famílias de irmãos-completos e mais três cultivares-padrão, nos dois anos avaliados (2008 e 2009), respectivamente.

Tabela 3: Resumo da análise de variância com os respectivos quadrados médios e graus de liberdade (GL), estimativas dos coeficientes de variação experimental (CV%) e das médias para as características avaliadas, no ensaio em delineamento em blocos ao acaso, agrupados em sets, no primeiro ano agrícola, 2008.

FV	GL	QM			
		DMC	P	BRIX PE	BRIX PT
Set	03				
Rep (set)	12				
Genot	70	16,4995**	5657,5666**	8,3014 ^{NS}	6,7244**
Resíduo	231	5,5962	907,5040	6,8888	2,0314
CV%		31,2312	9,7933	13,5270	8,7210
Média		96,4571	24,1555	19,4031	16,3428

**Significativo a 1% de probabilidade pelo teste F.

Pode-se verificar que, no primeiro ano agrícola, não houve efeito significativo em nível de 1% de probabilidade pelo teste F ($P>0,01$) para a característica Brix PE, as demais características analisadas foram significativas (Tabela 3).

Tabela 4: Resumo da análise de variância com os respectivos quadrados médios e graus de liberdade (GL), estimativas dos coeficientes de variação experimental (CV%) e das médias para as características avaliadas, no ensaio em delineamento em blocos ao acaso, agrupados em sets, no segundo ano agrícola, 2009.

FV	GL	QM			
		DMC	NC	BRIX PE	BRIX PT
Set	03				
Rep (set)	08				
Genot	70	6,2941 ^{NS}	27,30*	2,414*	3,719*
Resíduo	119	4,9624	14,748	1,486	2,269
CV%		9,063	26,518	5,818	7,90
Média		24,579	14,482	20,95	19,06

*Significativo a 5% de probabilidade pelo teste F

As características NC, Brix PE e Brix PT tiveram efeito significativo em nível de 5% de probabilidade pelo teste F ($P>0,05$), e a característica DMC não apresentou efeito significativo em nível de 5% de probabilidade pelo teste F ($P>0,05$) (Tabela 4). Desse modo, a obtenção de ganhos por seleção é possível, sobretudo com a utilização da potencialidade de índices de seleção.

A característica que teve o menor valor de coeficiente de variação (CV%) foi observada em Brix PT, com valor de 8,72% (Tabela 3), no primeiro ano, e em Brix PT com 5,82% (Tabela 4), no segundo ano. A característica que apresentou maior coeficiente de variação foi observada em DMC, com o valor de 31,23% (Tabela 3) e NC com valor de 26,52% (Tabela 4). Quanto menor o coeficiente de variação de uma característica, maior é a precisão experimental. E os coeficientes de variação altos podem ser interpretados com baixa precisão experimental, prejudicando as inferências que podem ser feitas em relação às características observadas (Marques, 2000).

A Tabela 5 ressalta o resumo da análise de variância com os respectivos quadrados médios e graus de liberdade (GL), estimativas dos coeficientes de variação experimental (CV%) e das médias para as três características avaliadas, no ensaio em delineamento, em blocos ao acaso agrupados em *sets*, em dois anos agrícolas, 2008/2009.

Na análise conjunta dos dados (Tabela 5), para a fonte de variação ano, verifica-se que houve diferença significativa em nível de 1% de probabilidade pelo teste F ($P > 0,01$) para as três características analisadas, mostrando que os ambientes (anos agrícolas) foram considerados satisfatoriamente distintos para gerarem diferenças entre as características avaliadas.

As características Brix PE e Brix PT apresentaram diferenças significativas para *sets* (Tabela 5), demonstrando a eficiência e a necessidade do uso de delineamento em blocos, com divisão em *sets*, em experimento com grande número de tratamentos. A ausência dessa divisão poderia produzir variações, resultando em perda de precisão dos experimentos.

Considerando a interação ano x *sets* (AxS), nota-se que a característica Brix PE revelou diferença significativa (Tabela 5), denotando que os genótipos, aleatoriamente distribuídos nos *sets*, mostraram modificações fenotípicas estimuladas pelas mudanças edafoclimáticas dos ambientes.

Para a fonte de variação genótipo dentro de *set* (Genot/*set*), as características DMC, Brix PE e Brix PT apresentaram significâncias em nível de 1% de probabilidade pelo teste F (Tabela 5), demonstrando haver variabilidade genética a ser explorada, em fases futuras do programa de melhoramento genético da cultura, possibilitando progressos com a seleção.

Houve valor significativo para a interação ambiente x genótipo dentro de *set* (ExG/S) para a característica Brix PT, demonstrando que as famílias não mantiveram a mesma resposta fenotípica para tal característica nos dois ambientes (anos de plantio), devido a alterações climatológicas ocorridas nos dois anos de plantio (2008 e 2009).

A presença de interação significativa entre os genótipos e os locais avaliados indica que, além dos efeitos genéticos e ambientais, outro fator também está influenciando nos resultados, que é o efeito da interação genótipo x local. Isso significa que a resposta de um determinado genótipo nos vários locais pode

não ser a mesma de outro, dificultando tanto na seleção quanto na recomendação para plantio, Santos (2008).

A variabilidade genética, o método de seleção adotado, o tamanho da população e a influência do ambiente são fatores que interferem na taxa de elevação das frequências gênicas favoráveis, como efeito da seleção (Paterniani, 1980).

A característica que apresentou o menor valor de coeficiente de variação (CV%) foi observada em Brix PE, com valor de 6,67%. A característica que apresentou maior coeficiente de variação foi DMC com 9,50% (Tabela 5). O experimento de campo apresentou estabilidade e boa confiabilidade na aferição dos dados, visto os valores dos coeficientes de variação ficarem abaixo dos 20%, como sugerido por Gomes (1963).

Tabela 5: Resumo da análise de variância com os respectivos quadrados médios e graus de liberdade (GL), estimativas dos coeficientes de variação experimental (CV%) e das médias para as características avaliadas, no ensaio em delineamento em blocos ao acaso, agrupados em sets, em dois anos agrícolas, 2008/2009.

FV	GL	QM		
		DMC	BRIX PE	BRIX PT
Ano	1	152,03**	261,15**	853,31**
Ano*set	3	4,54 ^{NS}	5,86*	5,21 ^{NS}
Set	3	0,67 ^{NS}	35,65**	33,71**
Ano*rep(set)	8	6,73 ^{NS}	5,31*	2,29 ^{NS}
Rep(set)	8	3,25 ^{NS}	15,01**	12,48**
Genot(set)	280	16,77**	4,77**	6,98**
Ano*genot(set)	280	3,11 ^{NS}	1,62 ^{NS}	2,75*
CV%		9,50	6,67	8,07
Média		24,21	20,18	17,52

**Significativo a 1% de probabilidade pelo teste F.

*Significativo a 5% de probabilidade pelo teste F.

5.2. Estimacão dos Parâmetros genéticos com base na análise conjunta dos dados

O sucesso de qualquer programa de melhoramento depende, essencialmente, da quantidade de variabilidade genética existente na populao-base a ser explorada, da herdabilidade do caráter que está sendo melhorado e da extensão do ganho genético possível para este caráter. As estimativas dos parâmetros genéticos referentes  primeira fase de seleo (T1) do Programa de Melhoramento Genético da RIDESA/UFRRJ em parceria com a UENF podem ser observadas na Tabela 6.

Tabela 6: Estimativas da variância genotípica (σ^2_g), variância fenotípica (σ^2_f), herdabilidade (h^2), coeficiente de variao genético (CV_g), coeficiente variao experimental (CV_e), ndice de variao genético (Iv_g), desvio-padrão (Dp_g) e a média das três características avaliadas, em 68 famílias de irmãos-completos de cana-de-aucar, utilizando-se a média dos dois anos agrícolas

Características	Parâmetros genéticos							Média
	σ^2_g	σ^2_f	h^2	CV_g	CV_e	Iv_g	Dp_g	
DMC	1,91	2,79	0,68	5,72	9,50	0,60	1,38	24,21
Brix PE	0,49	0,79	0,62	3,48	6,67	0,50	0,70	20,18
Brix PT	0,83	1,16	0,71	5,20	8,07	0,65	0,91	17,52

O conhecimento das estimativas dos parâmetros genéticos permite, ao melhorista, gerar informaçoes de grande utilidade em relao às diferentes características avaliadas na populao com a qual trabalha, sendo capaz de orientar qual estratégia mais apropriada de seleo, bem como o sucesso na predio em programas de melhoramento.

As variâncias genticas e fenotípicas entre os genótipos foram de magnitudes baixas para todas as três características analisadas (Tabela 6). Os coeficientes de variao genética foram mais expressivos.

Estimativas do coeficiente de variao genético (CV_g) permitem ao melhorista ter uma noo da grandeza relativa das mudanças que podem ser obtidas por meio de seleo, ao longo de um programa de melhoramento. Pode-se observar na Tabela 6 que todas as três características exibiram elevados

valores de CV_g , o que indica boas chances de sucesso em programas de melhoramento visando à seleção para essas características.

Para se ter uma idéia real da situação de cada característica visando ao melhoramento, é importante analisar a relação CV_g/CV_e , conhecida como índice de variação. As três características avaliadas expressaram $Iv < 1$ (Tabela 6). Este coeficiente é um forte fator a ser considerado, visto que, se for baixo, proporcionará uma seleção restrita (Resende, 2002).

Similarmente, Singh et al. (1981), ao estudarem 48 cultivares de cana-de-açúcar, observaram que a relação CV_g/CV_e foi inferior à unidade para todos os caracteres avaliados.

A grande influência do ambiente nos genótipos de cana-de-açúcar avaliados, nas fases iniciais de seleção, é responsável pelas baixas estimativas de herdabilidade encontradas nestas fases (Skinner et al., 1987; Matsuoka et al., 2005). Este fato faz com que a seleção individual seja pouco eficiente quando comparada com as subseqüentes fases de seleção.

A herdabilidade expressa a confiança do valor fenotípico como um guia para o valor genético, ou o grau de correspondência entre valor fenotípico e valor genético, ou seja, mede a confiabilidade do valor fenotípico mensurado em prever o verdadeiro valor genotípico (Falconer, 1987).

Pedrozo (2009) obteve valores de herdabilidade, na fase T1, para as características diâmetro e Brix de 0,4785 e 0,6698, respectivamente.

Skinner et al. (1987) mostraram que as estimativas de herdabilidade, considerando-se a média de famílias, foram superiores considerando-se as plantas individuais. Para os caracteres diâmetro e Brix, por exemplo, as estimativas, considerando-se famílias, variaram de 0,70 a 0,71, e 0,53 a 0,90, respectivamente. Sendo assim, as estimativas relatadas por estes autores, quanto às características diâmetro e Brix, foram semelhantes às estimativas encontradas no presente estudo.

A seleção, com base na média de famílias, é mais eficiente que a de plantas individuais, quando se consideram caracteres de baixa herdabilidade.

Bressiani (2001) relatou que as estimativas da herdabilidade, com base nas médias das famílias, geralmente foram superiores às estimativas desta em plantas individuais, para os seis caracteres estudados.

Uma vez que a seleção para produtividade de açúcar é pouco eficiente nas primeiras gerações clonais, programas de melhoramento têm conduzido, paralelamente, estudos de seleção baseados na seleção de famílias superiores (Barbosa et al., 2004; Barbosa et al, 2005b).

5.3. Ganhos percentuais preditos mediante os índices de seleção

A Tabela 7 contém as estimativas dos ganhos percentuais preditos para o índice de seleção de Mulamba e Mock (1978), Smith (1936) e Hazel (1943), e a Tabela 8, para os índices de Pesek e Baker (1969) e Willians (1962), utilizando-se como pesos econômicos: coeficiente de variação genético (CV_g), desvio-padrão genético (DP_g), índice de variação ($CV_g/CV_e = Iv$) e herdabilidade (h^2), sendo a seleção praticada nas características DMC, P, Brix PE e Brix PT.

Tabela 7. Estimativas dos ganhos percentuais, com base no diferencial de seleção, por seleção simultânea em quatro características em famílias de irmãos-completos em cana-de-açúcar.

Características	Mulamba e Mock				Smith e Hazel			
	CV_g	DP_g	Iv	h^2	CV_g	DP_g	Iv	h^2
DMC	3,92	3,35	4,73	4,73	5,34	5,34	5,34	5,34
P	116,59	130,91	78,98	78,98	126,23	126,23	126,23	126,23
Brix PE	0,44	0,29	0,57	0,57	0,28	0,28	0,28	0,28
Brix PT	9,76	6,42	12,7	12,7	6,29	6,29	6,29	6,29

Tabela 8. Estimativas dos ganhos percentuais, com base no diferencial de seleção, por seleção simultânea, em quatro características em famílias de irmãos-completos em cana-de-açúcar.

Características	Pesek e Baker				Willians			
	CV_g	DP_g	Iv	h^2	CV_g	DP_g	Iv	h^2
DMC	8,38	8,38	8,38	8,38	2,58	2,58	2,68	2,68
P	-51,52	-51,52	-51,52	-51,52	132,01	132,01	131,78	131,78
Brix PE	0,01	0,01	0,01	0,01	0,23	0,23	0,26	0,26
Brix PT	-0,3	-0,3	-0,3	-0,3	5,18	5,18	6,1	6,1

Os ganhos percentuais preditos, para o índice de seleção de Mulamba e Mock, para todos os pesos econômicos, proporcionaram valores simultâneos positivos para todas as características. Entretanto, para o índice de Pesek e Baker, não houve a obtenção de estimativas de ganhos preditos simultâneos nas características P (-51,52%) e Brix PT (-0,3%), utilizando-se todos os pesos econômicos, por isso, tais ganhos não foram satisfatórios (Tabela 7).

A característica P teve os maiores ganhos percentuais preditos com o índice de Willians, quando foram utilizados os peso econômicos CV_g e DP_g , ambos com 132,01%; e 131,78%, quando foram utilizados os pesos econômicos lv e h^2 (Tabela 8).

Os ganhos percentuais preditos para o índice de seleção de Smith e Hazel, para todos os pesos econômicos, proporcionaram valores simultâneos positivos para todas as características (Tabela 7).

Pedrozo (2009) concluiu que o índice multiplicativo foi o que mostrou maior eficiência de seleção de genótipos superiores de cana-de-açúcar, podendo aumentar a chance de sucesso em programas de melhoramento desta cultura.

Pillaie e Ethirajan (1993) estimaram índices de seleção em diferentes estágios de seleção para uma população de acasalamento biparental da cana (*Saccharum officinarum* L.). Na fase de mudas, a seleção baseada no índice pode levar a uma melhor eficiência de seleção em sucessivos estágios clonais. Esses autores concluíram que o método de índice de seleção foi altamente eficiente para selecionar genótipos superiores com consistente desempenho em uma população híbrida de cana.

Segundo Jackson (2005), devido ao alto valor econômico para melhorar o conteúdo de sacarose na cana-de-açúcar, a investigação-base sobre as causas de baixas taxas de ganho, em associação com a exploração de criação de estratégias alternativas, parece justificada. Esse autor sugere realizar pesquisas básicas, utilizando-se clones parentais e descendentes em uso, na avaliação em programas de melhoramento, para fornecer estimativas precisas dos principais parâmetros genéticos de variação genética aditiva, herdabilidade em sentido restrito, e correlações genéticas entre as características para a produção de cana, CCS (teor de açúcares de cana-de-açúcar comercial é derivada a partir de medições de Brix, Pol e fibra), e outras características de importância econômica. E concluiu que, a partir desses parâmetros, os índices de seleção, para maximizar

as taxas de ganho genético de valor econômico, para o uso em programas de melhoramento moderno, podem ser determinados.

Para o presente trabalho, o índice de Mulamba e Mock (1978) e o índice de Smith (1936) e Hazel (1943) permitiram ganhos simultâneos superiores e melhores distribuídos entre todas as características avaliadas, e as famílias selecionadas foram: 41(SP 85-3877 X RB 961005), 45 (RB 957610 X RB 93522), 46 (RB 896342 X RB 92508), 4 (RB 863129 X SP 83-2847), 17 (SP 80-3280 X SP 70-1284), 58 (RB 945065 X RB 912695), 18 (RB 965911 X SP 83-2847), 66 (RB 915141 X SP 89-1115), 3 (RB 92606 X SP 83-2847), 22 (RB 925345 X RB 91514), 51 (RB 9557 X RB 72454), 38 (RB 945954 X RB 957712), 52 (Co 434 X RB 946915), 35 (RB 957712 X RB 993522), 34 (RB 936001 X RB 965586), 7 (RB 72454 X RB 855035), 21 (SP 80-3280 X RB 947501), 48 (SP 71-6949 X RB 83102), 37 (RB 951015 X RB 957712), 27 (RB 92606 X RB 971537) e 49 (SP 83-2847 X RB 855206). (Tabela 7).

5.4. Aplicação da metodologia de modelos mistos (REML/BLUP) na estimação de componentes de variância e predição de valores genéticos em famílias de irmãos-completos de cana-de-açúcar

Uma das etapas importantes no melhoramento da cana-de-açúcar (*Saccharum* spp.) é a fase inicial, denominada de T1. Nesta fase, são produzidos milhares de indivíduos heterozigotos, provenientes de hibridações entre genitores previamente selecionados (Cesnik e Miocque, 2004). Para esta fase, a seleção de famílias pode ser preferível quando a seleção é praticada com base em caracteres de baixa herdabilidade individual.

O processo de seleção torna-se mais efetivo, visto que estes caracteres de baixa herdabilidade, quando analisados em estudos de famílias, 75% a 80% da variação fenotípica podem ser explicados devidos aos fatores genéticos (Bressiani, 2001).

A seleção quando praticada em famílias com elevados valores genotípicos pode possibilitar maior probabilidade de encontrar clones superiores em suas respectivas progênes (Barbosa et al., 2002 e Resende et al., 2005). Para este estudo de famílias, tem-se adotado a metodologia dos modelos mistos

REML/BLUP, que permite estimar os parâmetros genéticos e prever os valores genotípicos das famílias de cana-de-açúcar (Resende, 2002a).

Os parâmetros genéticos estimados pelo REML/BLUP, no estudo de 68 famílias de irmãos-completos de cana-de-açúcar, estão apresentados na Tabela 9.

Tabela 9. Estimativa dos componentes de variância (REML individual) e parâmetros genéticos, para as variáveis: diâmetro, número de colmos, Brix PE e Brix PT a partir de 68 famílias de irmãos-completos de cana-de-açúcar.

Parâmetros genéticos										
Caract.	V_g ^{1/}	V_{parc}	V_{dentro}	V_f	h^2_a	C^2_{parc}	h^2_{mp}	Acprog	h^2_{ad}	Média
DMC	0,60	0,60	7,71	8,92	0,14	0,07	0,60	0,78	0,08	24,6
NC	2,51	2,51	37,97	42,9	0,12	0,06	0,58	0,76	0,07	14,4
Brix PE	0,37	0,37	3,19	3,92	0,19	0,09	0,64	0,80	0,11	20,95
Brix PT	0,49	0,49	4,46	5,45	0,18	0,09	0,64	0,79	0,11	19,04

^{1/}: V_g : variância genotípica entre progênies de irmãos-completos, equivalendo a (1/2) da variância genética aditiva mais (1/4) da variância genética de dominância, ignorando-se a epistasia; V_{parc} : variância ambiental entre parcelas; V_{dentro} : variância residual dentro de parcela; V_f : variância fenotípica individual; $h^2_a = h^2$: herdabilidade individual no sentido restrito, obtida ignorando-se a fração (1/4) da variância genética de dominância; $c^2_{\text{parc}} = c^2$: coeficiente de determinação dos efeitos de parcela; h^2_{mp} : herdabilidade da média de progênies, assumindo sobrevivência completa; $Acprog$: acurácia da seleção de progênies, assumindo sobrevivência completa; h^2_{ad} : herdabilidade aditiva dentro de parcela, obtida ignorando-se a fração (1/4) da variância genética de dominância e a média geral do experimento.

Comparando-se a seleção individual, também denominada de seleção massal, com a seleção de famílias, verificou-se menor eficiência seletiva para todos os caracteres analisados, tendo em vista que as suas respectivas herdabilidades individuais (h^2_a) foram inferiores às estimativas de herdabilidade em nível de médias de famílias (h^2_{mp}). As características apresentaram valores médios para herdabilidade da média de progênies, variando de 0,58 para NC, 0,60 para DMC e 0,64 para o caráter Brix PE e PT, o que permitiu obter elevadas acurácias para a seleção entre famílias superiores, com base nestes caracteres de seleção (0,78; 0,76; 0,80 e 0,79, respectivamente) (Tabela 9).

Visando a identificar famílias promissoras com alto valor para a característica Brix, averiguou-se que a seleção entre famílias ($h^2_{\text{mp}} = 0,64$) seria efetiva, já que, para o presente trabalho, permitiu uma acurácia seletiva entre famílias de 80%.

Considerando a importância de selecionar novos genótipos de cana-de-açúcar que tenham valor alto de Brix, são apresentados na Tabela 10 e 11, os valores fenotípicos (f), genotípicos (g), valores genotípicos preditos (u+g), ganho de seleção (%) e as novas médias das 14 famílias de irmãos-completos avaliadas e selecionadas no presente trabalho para as características Brix PE e Brix PT, respectivamente.

Constatou-se que todos os indivíduos das 14 famílias avaliadas, apresentaram valores genotípicos superiores a média experimental (Brix PE =20,95 e Brix PT = 19,04). Isto indicaria haver grande probabilidade de encontrar novos genótipos promissores em produção de cana por hectare dentro destas melhores famílias.

Uma forma de explorar o potencial destas famílias seria realizar o plantio de plântulas em maior número para estas famílias, sendo posteriormente realizada a seleção individual com base nesta característica (Resende e Barbosa, 2005).

A família 20 (RB 945961 X RB 957751) foi a que mais teve indivíduos selecionados e com maiores valores para a característica Brix PE (Tabela 10). Para a característica Brix PT houve destaque para as famílias 60 (RB 855463 X SP 83-2847), 47 (L 60-14 X SP 80-3280) e 61 (RB 835486 X RB 955970), a qual apresentou o maior valor fenotípico (Tabela 11).

Neste sentido, a exploração de cruzamentos com valores genotípicos superiores seria importante, pois visaria à identificação de clones potenciais e com maior probabilidade de serem promissores para produção de produtos derivados da cana-de-açúcar. A exploração das famílias superiores pode possibilitar que maior número de clones potenciais avance para as etapas seguintes do melhoramento genético da cana-de-açúcar (Barbosa et al., 2005; Resende e Barbosa, 2005).

Neste sentido Resende e Barbosa (2006), ao descreverem a metodologia BLUPIS (BLUP individual simulado), relataram que a seleção de indivíduos dentro das famílias deve-se levar em conta o valor genotípico das famílias, sendo que as melhores famílias seriam selecionadas maior número de clones potenciais.

Nota-se que no presente trabalho não foram identificadas famílias com valores genotípicos para o caráter Brix, abaixo da média geral. Visando aumentar a eficiência seletiva, as famílias com valores genotípicos abaixo da média

experimental podem ser descartadas devido à baixa probabilidade de selecionar clones promissores dentro destas, conforme relatam Resende e Barbosa (2006).

Importante ainda, realizar novos trabalhos com a seleção de famílias, visando identificar a interação famílias superiores e a interação com os vários ambientes de seleção, pois haveria a tendência de ocorrer interação famílias e ambientes de seleção (Bressiani, 2001).

Portanto, a seleção das famílias com valores genotípicos acima da média experimental, possibilitou ganhos significativos para as características Brix PE e PT, sendo que as quatro melhores famílias para essa característica foram: a família 20 (RB 945961 X RB 957751), a 60 (RB 855463 X SP 83-2847), a 47 (L 60-14 X SP 80-3280) e a 61 (RB 835486 X RB 955970).

A seleção de famílias por meio de modelos mistos REML/BLUP pode ser uma estratégia importante para identificar famílias com elevados valores genotípicos, aonde haveria maior probabilidade de seleção de clones potencias.

Tabela10: Ordenação das 14 famílias de irmãos-completos de cana-de-açúcar selecionadas via componentes da média para a característica Brix PE e seus valores fenotípicos (f), genotípicos (g), valores genotípicos preditos (u+g), ganho de seleção (%) e as novas médias

ORDEM	BLOCO	FAMILIA	INDIVÍDUO	f	g	u+g	Ganho	Nova média
1	1	20	2	25,00	1,1101	22,0658	1,1101	22,0658
2	2	20	1	24,00	1,0510	22,0067	1,0806	22,0362
3	2	20	4	24,00	1,0510	22,0067	1,0707	22,0264
4	3	20	3	23,00	0,9722	21,9278	1,0461	22,0018
5	3	20	10	23,00	0,9722	21,9278	1,0313	21,9870
6	2	27	9	24,40	0,9655	21,9212	1,0203	21,9760
7	3	60	4	24,00	0,9571	21,9127	1,0113	21,9670
8	1	20	3	24,00	0,9499	21,9055	1,0036	21,9593
9	2	60	2	24,20	0,9077	21,8634	0,9930	21,9486
10	1	19	8	25,00	0,9043	21,8599	0,9841	21,9398
11	2	61	1	24,40	0,8838	21,8395	0,9750	21,9306
12	2	60	4	24,00	0,8757	21,8313	0,9667	21,9224
13	3	60	1	23,40	0,8609	21,8166	0,9586	21,9142
14	3	23	2	24,00	0,8554	21,8111	0,9512	21,9069
15	3	12	1	24,40	0,8331	21,7888	0,9433	21,8990
16	1	27	8	24,20	0,8323	21,7880	0,9364	21,8920

Cont. Tabela 10

17	3	20	7	22,00	0,8119	21,7676	0,9291	21,8847
18	2	20	2	22,50	0,8106	21,7663	0,9225	21,8781
19	2	27	3	23,40	0,8053	21,7609	0,9163	21,8720
20	2	27	6	23,40	0,8053	21,7609	0,9108	21,8664
21	1	20	1	23,00	0,7896	21,7453	0,9050	21,8607
23	3	19	1	23,00	0,7663	21,7220	0,8934	21,8491
26	3	24	7	23,20	0,7503	21,7060	0,8779	21,8335

Tabela11: Ordenação das 14 famílias de irmãos-completos de cana-de-açúcar, selecionadas via componentes da média para a característica Brix PT e seus valores fenotípicos (f), genotípicos (g), valores genotípicos preditos (u+g), ganho de seleção (%) e as novas médias

ORDEM	BLOCO	FAMILIA	INDIVÍDUO	f	g	u+g	ganho	nova média
1	2	61	8	28,00	1,6339	20,6800	1,6339	20,6800
2	2	60	4	23,80	1,2679	20,3140	1,4509	20,4970
3	2	47	1	23,00	1,1590	20,2051	1,3536	20,3997
4	3	60	1	22,60	1,1330	20,1791	1,2985	20,3445
5	1	16	1	24,40	1,0531	20,0992	1,2494	20,2955
6	1	60	3	23,00	1,0476	20,0937	1,2200	20,2600
7	1	16	6	24,20	1,0220	20,0681	1,1880	20,2340
8	3	19	1	22,80	1,0212	20,0672	1,1670	20,2100
9	3	60	6	21,80	1,0089	20,0550	1,1496	20,1957
10	2	47	2	22,00	1,0038	20,0499	1,1350	20,1800
11	2	24	7	22,50	0,9969	20,0430	1,1225	20,1686
12	1	25	8	24,20	0,9889	20,0349	1,1114	20,1574
13	1	60	2	22,60	0,9856	20,0316	1,1017	20,1478
14	3	8	3	22,40	0,9744	20,0205	1,0926	20,1387
15	3	8	6	22,40	0,9744	20,0205	1,0847	20,1308
16	1	19	8	23,40	0,9668	20,0129	1,0773	20,1234
17	3	24	7	21,80	0,9397	19,9857	1,0692	20,1153
18	3	47	1	21,20	0,9311	19,9772	1,0616	20,1076
19	1	47	2	22,00	0,9077	19,9538	1,0535	20,0995
20	3	47	7	21,00	0,9000	19,9461	1,0458	20,0919
21	3	38	8	22,40	0,8851	19,9311	1,0381	20,0842

5.5. Análise dos Marcadores Moleculares na Seleção dos Genótipos

Para estudar a variabilidade genética entre as 68 famílias de irmãos-completos de cana-de-açúcar, pertencentes à primeira fase de seleção (T1) do Programa de Melhoramento Genético da RIDESA/UFRRJ em parceria com a UENF, foram selecionados 39 indivíduos com maiores valores para as características Brix PE e Brix PT, por meio da metodologia REML/BLUP, utilizando-se a técnica molecular ISSR.

Foram utilizados 23 iniciadores que geraram um total de 193 bandas, sendo 17 monomórficas e 176 polimórficas (Tabela 12). A média de bandas por iniciador foi de 8,40. O percentual médio de polimorfismo foi estimado em 90,38%. O iniciador que apresentou maior número de bandas polimórficas e fragmentos amplificados foi o (GA)₈CTT, no total de 15 fragmentos (Tabela 12).

Segundo Colombo et al. (1998), 7 a 30 iniciadores, gerando de 50 a 200 bandas polimórficas, são suficientes para estimar relações genéticas dentro e entre espécies.

Kantety et al. (1995), utilizando dez iniciadores, obtiveram uma taxa de polimorfismo de 95% com 54 bandas polimórficas em populações de *Zea mays*.

Almeida (2009) obteve, para a cultura da cana-de-açúcar, um total de 56 bandas, com média de 7 bandas por *primer*, sendo que 53 dessas foram polimórficas (95%).

Tabela 12: Relação dos iniciadores utilizados e número de fragmentos amplificados e polimórficos de oligonucleotídeos de ISSR.

Oligonucleotídeos	Cultura	Fragmentos amplificados	Fragmentos polimórficos	Percentagem de polimorfismo
(AG) ₈ C	Cana-de-açúcar	08	07	87,50
(AG) ₈ T	Cana-de-açúcar	09	08	88,89
(GGGTG) ₃	Cana-de-açúcar	06	05	83,33
(GGAT) ₃	Cana-de-açúcar	03	03	100,0
(AC) ₈ CTT	Cana-de-açúcar	14	14	100,0
(TC) ₈ AGA	Cana-de-açúcar	11	10	90,90
(GT) ₈ CTC	Cana-de-açúcar	10	09	90,0

Cont. Tabela 12

(CT) ₈ AGG	Cana-de-açúcar	12	12	100,0
(GA) ₈ CTT	Cana-de-açúcar	16	15	93,75
(TC) ₈ AGG	Cana-de-açúcar	10	09	90,0
(AG) ₈ CTA	Cana-de-açúcar	14	14	100,0
(GACA) ₄	Cana-de-açúcar	07	06	85,71
(GA) ₈ C	Capim elefante	07	06	85,71
(GA) ₈ T	Capim elefante	09	09	100,0
(ATC) ₆ C	Capim elefante	08	07	87,50
(ATG) ₆ G	Capim elefante	10	08	80,0
G(CTA) ₆	Capim elefante	07	06	85,71
(ACC)Y	Capim elefante	05	05	100,0
(GATA) ₄	Capim elefante	06	05	83,33
(GA) ₆ CC	Estévia	04	04	100,0
(CT) ₈ G	Batata doce	07	05	71,43
(AC) ₈ T	Batata doce	04	03	75,0
(AG) ₈ YA	Batata doce	06	06	100,0
TOTAL	-	193	176	2078,76
MÉDIA	-	8,40	7,65	90,38

5.6. Análise de Agrupamento

Com base nas bandas reveladas, foi obtida a matriz de distâncias entre os indivíduos, utilizando-se o complemento aritmético do Índice de Jaccard e a análise de agrupamento pelo método Ward. Considerando o resultado obtido pelo agrupamento com os 39 indivíduos, foi possível separá-los em seis grupos distintos (Tabela 13).

A análise de agrupamento tem por finalidade reunir, por algum critério de classificação, as unidades amostrais em grupos, de tal forma que exista homogeneidade dentro do grupo e heterogeneidade entre grupos (Johnson e Wichern, 1992; Cruz e Regazzi, 1994)

No grupo 1, ficaram alocados os acessos 39 (família 47, indivíduo 2), 33 (família 47, indivíduo 2), 34 (família 16, indivíduo 1), 31 (família 20, indivíduo 1), 32 (família 20, indivíduo 3), 36 (família 20, indivíduo 2), 38 (família 20, indivíduo 1), 35 (família 61, indivíduo 1) e 37 (família 27, indivíduo 9).

Os acessos 15 (família 60, indivíduo 1), 17 (família 25, indivíduo 8), 19 (família 47, indivíduo 1), 16 (família 24, indivíduo 7), 20 (família 24, indivíduo 7), 14 (família 12, indivíduo 1) e 18 (família 61, indivíduo 8) ficaram reunidos no grupo 2.

Os acessos 5 (família 47, indivíduo 7), 4 (família 60, indivíduo 6), 6 (família 47, indivíduo 1), 7 (família 60, indivíduo 2), 1 (família 8, indivíduo 3), 2 (família 20, indivíduo 10), 3 (família 38, indivíduo 8) ficaram agrupados no grupo três.

O grupo 4 reuniu os acessos 25 (família 19, indivíduo 8), 27 (família 16, indivíduo 6), 26 (família 60, indivíduo 4) e 28 (família 60, indivíduo 3).

O grupo 5 foi formado pelos acessos 29 (família 20, indivíduo 2), 30 (família 20, indivíduo 4), 21 (família 20, indivíduo 7), 22 (família 8, indivíduo 6), 11 (família 60, indivíduo 4), 10 (família 20, indivíduo 3) e 13 (família 19, indivíduo 1).

O sexto grupo contém os acessos 8 (família 60, indivíduo 2), 9 (família 27, indivíduo 3), 24 (família 27, indivíduo 8), 12 (família 27, indivíduo 6) e 23 (família 23, indivíduo 2).

Observou-se que os acessos mais divergentes foram os de número 5 (grupo 3, família 47, indivíduo 7) e 24 (grupo 6, família 27, indivíduo 8), distantes em 0,75. Por sua vez, os acessos mais similares, apresentando uma distância de 0,40, foram o número 16 (grupo 2, família 24, indivíduo 7, bloco 2) e 20 (grupo 2 família 24, indivíduo 7, bloco 3). Vale destacar que, considerando a maior distância (0,75), os acessos são pertencentes a grupos distintos e, considerando a menor distância (0,40), os acessos encontram-se dispostos no mesmo grupo.

O conhecimento da distância genética entre genótipos de uma população de interesse é importante para um programa de melhoramento, porque permite a organização do germoplasma e uma amostragem mais eficiente de genótipos (Nienhuis et al., 1993).

Esta estimativa pode ser efetuada a partir de marcadores moleculares e/ou caracteres agrônômicos (morfológicos), sendo que a primeira se destaca por não sofrer influência do ambiente.

O coeficiente de correlação linear de Pearson entre os elementos da matriz de dissimilaridade (matriz de distâncias entre as cultivares, obtida a partir dos dados originais) e os elementos da matriz cofenética (matriz de distâncias entre as cultivares, obtida a partir do dendrograma) é denominado coeficiente de correlação cofenética. Esse coeficiente pode ser utilizado para avaliar a consistência do padrão de agrupamento de métodos de agrupamento hierárquicos, sendo que valores próximos à unidade indicam melhor representação (Barroso & Artes, 2003; Cruz & Carneiro, 2003).

O coeficiente de correlação cofenética, para esta análise, foi de 0,5. Pode-se concluir que há variabilidade na consistência do padrão de agrupamento, obtido a partir do complemento aritmético do Índice de Jaccard, e a análise de agrupamento pelo método Ward, visto se tratar de um ensaio de seleção pertencente à primeira fase de seleção, quando os indivíduos são ainda segregantes.

Tabela 13: Agrupamento pelo método Ward, de 39 indivíduos de cana-de-açúcar com base em 176 fragmentos polimórficos de ISSR, utilizando-se o complemento aritmético do índice de Jaccard.

Grupos	Indivíduos
I	39, 33, 34, 31, 32, 36, 38, 35, 37
II	15, 17, 19, 16, 20, 14, 18
III	5, 4, 6, 7, 1, 2, 3
IV	25, 27, 26, 28
V	29, 30, 21, 22, 11, 10, 13
VI	8, 9, 24, 12, 23

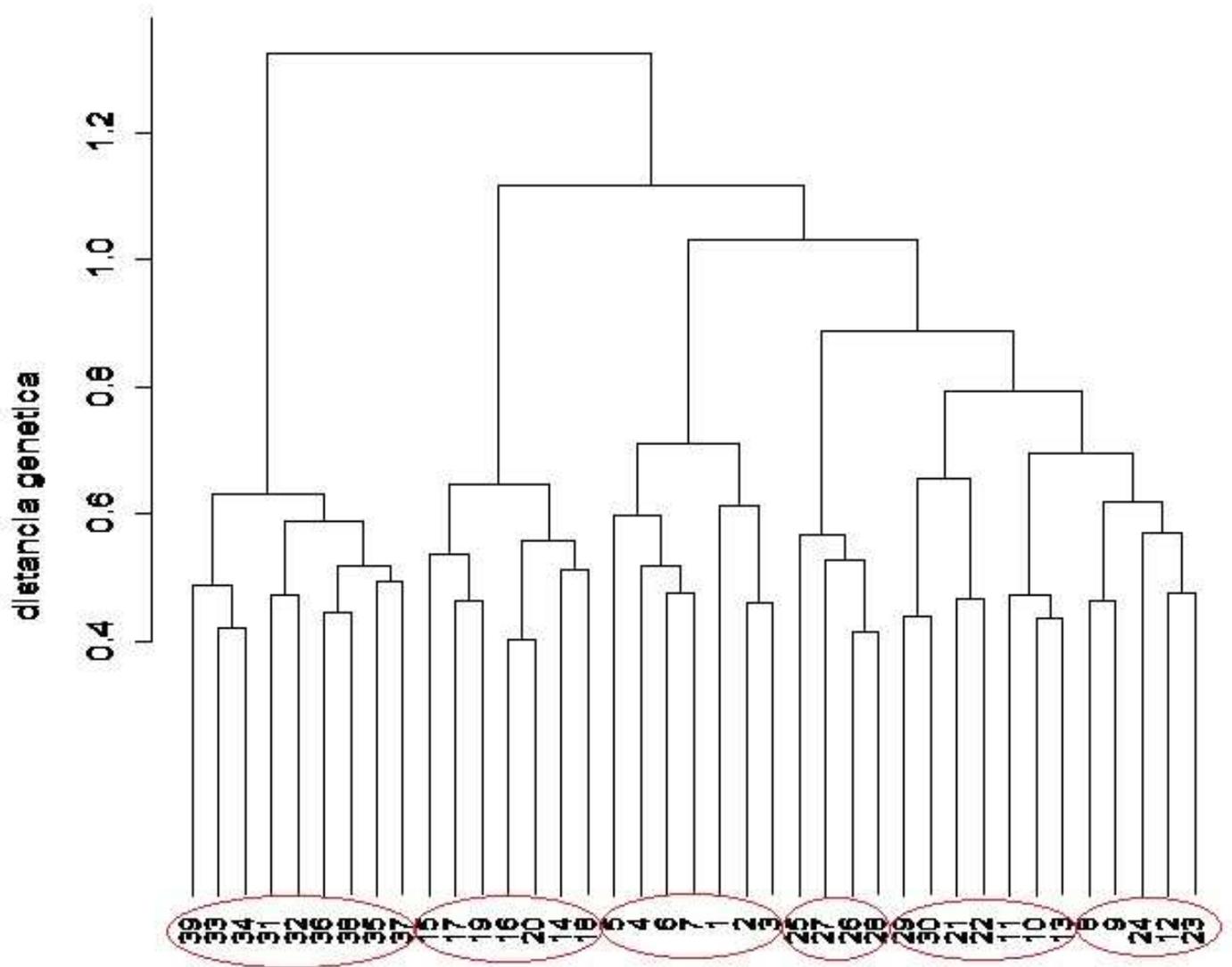


Figura 1: Dendrograma obtido pelo método hierárquico WARD dos 39 indivíduos de famílias de irmãos-completos, utilizando, como medida de dissimilaridade, o complemento aritmético do índice de Jaccard.

6. RESUMO E CONCLUSÕES

O Programa de Melhoramento Genético de cana-de-açúcar da RIDESA/UFRRJ, em parceria com a UENF, visa, na primeira fase de seleção (T1), a selecionar famílias superiores e indivíduos superiores dentro das famílias, para as fases posteriores do programa de melhoramento.

O melhoramento baseia-se na seleção e clonagem de genótipos superiores presentes em populações segregantes, que são obtidas mediante cruzamentos sexuais entre indivíduos diferentes. O sucesso desses processos depende de vários fatores, dentre os quais, a escolha adequada dos genitores, de forma a maximizar a chance de obter ganhos com a seleção, a instalação de experimentos com boa precisão experimental, a escolha correta dos caracteres e épocas de avaliação.

A população segregante é formada de milhares de plântulas, as quais serão posteriormente submetidas à seleção. O número de plântulas (ou *seedlings*) varia de acordo com o programa, e depende de fatores técnicos e econômicos.

A seleção de famílias pode ser adotada, quando os caracteres de seleção são de baixa herdabilidade, como a seleção para produtividade de cana e açúcar. Este procedimento consiste em selecionar as melhores e rejeitar as piores famílias, visto que a seleção, em famílias com valores genotípicos superiores, tende a ser mais efetiva para indicar maior proporção de genótipos promissores.

A identificação de famílias capazes de produzir genótipos superiores é altamente desejável para o desenvolvimento de novas variedades de cana-de-açúcar, especialmente, quando se considera, para a sua liberação, um período relativamente longo.,.

Em vista disso, este trabalho teve como objetivo avaliar 68 famílias de irmãos-completos e plantas dentro de famílias na primeira fase de seleção (T1) do Programa de Melhoramento Genético da RIDESA/UFRRJ, visando à seleção de plantas superiores para a fase seguinte de melhoramento da cultura (T2); obter informações acerca do uso do BLUP na predição de valores genéticos e seleção de indivíduos; estudar a diversidade genética das progênes envolvidas, via marcadores ISSR, como forma de incrementar a variabilidade genética do programa de melhoramento; obter estimativas de parâmetros genéticos das principais características avaliadas no programa e estimar o ganho genético esperado utilizando-se índices de seleção.

Em função dos resultados obtidos, pôde-se concluir que:

- Todas as características avaliadas (diâmetro, nº colmos, peso, Brix PE e Brix PT) foram significativas para genótipos pelo teste F ($P < 0,01$), demonstrando haver diferenças significativas entre os genótipos.

- Os parâmetros genéticos referentes ao presente estudo indicam grandes possibilidades de sucesso neste programa de melhoramento visando à seleção das características avaliadas.

- Os maiores ganhos genéticos foram preditos quando utilizados os índices de Smith e Hazel e Mulamba e Mock, os quais permitiram ganhos simultâneos superiores em todas as características avaliadas.

- A seleção das famílias com valores genotípicos acima da média experimental possibilitou ganhos significativos para as características Brix PE e PT. Sendo que as quatro melhores famílias para essas características foram: a família 20 (RB 945961 X RB 957751), a 60 (RB 855463 X SP 83-2847), a 47 (L 60-14 X SP 80-3280) e a 61 (RB 835486 X RB 955970).

- A análise de variabilidade genética, via marcadores moleculares ISSR, demonstrou uma significativa variabilidade genética na população, para continuação do programa de melhoramento, devido à segregação dos indivíduos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Ajibade, S.R., Weeden, N.F., Chite, S.M. (2000) *Inter simple sequence repeat analysis relationships in the genus Vigna*. Euphytica, 111: 47-55.
- Allard, R.W. (1971). *Princípios do melhoramento genético em plantas*. São Paulo: Ed. Blucher, 381 p.
- Almeida, C.M.A., Lima, S.N, Lima, G.S. A., Brito, J.Z., Donato,V.M.T. S., Silva, M.V.. (2009). *Caracterização molecular de cultivares de cana-de-açúcar utilizando marcadores ISSR*. Ciênc. agrotec. vol. 33 no.spe Lavras
- Amaral Júnior, A.T., Freitas Júnior, S.P., Rangel, R.M., Pena, G.F. Ribeiro, R.M., Morais, R.C., Schuelter, A.R. (2010). *Improvement of a popcorn population using selection indexes from a fourth cycle of recurrent selection program carried out in two different environments*. Genetics and Molecular Research 9 (1): 340-347.
- Andrade, J.A.C., Miranda Filho, J.B. (2008). *Quantitative variation in the tropical maize population, ESALQ-PB1*. Sci. agric. (Piracicaba, Braz.), Piracicaba, v. 65, n. 2, Abril.

- Asensio, L.J. (1989). *Técnicas da análise de dados multidimensionais: bases teóricas y aplicaciones em agricultura*. Madrid: Neografis, 301 p.
- Baker, R.J. (1986). *Selection indices in plant breeding*. CRC Press, Boca Raton–Florida, 218p
- Barbosa, M.H.P., Resende, M.D., Silveira, L.C.I., Peternelli, L.A. (2005a). Estratégias de melhoramento genético da cana-de-açúcar em universidades. *In: IX Simpósio sobre seleção recorrente*. Lavras: UFLA, ago.
- Barbosa, M.H.P., Resende, M.D.V., Bressiani, J.A., Silveira, L.C.I., Peternelli, L.A. (2005b). *Selection of sugarcane families and parents by REML/BLUP*. *Crop Breeding and Applied Biotechnology*, v. 5, p. 443-450.
- Barbosa, M.H.P., Resende, M.D., Peternelli, L.A., Bressiani, J.A., Silveira, L.C.I., Silva, F.L., Figueiredo, I.C.R. (2004). *Use of REML/BLUP for the selection of sugarcane families specialized in biomass production*. *Crop Breeding and Applied Biotechnology*, v.4, p. 218-226.
- Barbosa, M.H.P. (2000). *Perspectivas para o melhoramento da cana-de-açúcar In: Simpósio de atualização em genética e melhoramento de plantas: Genética e melhoramento de espécies de propagação vegetativa*. 4, Lavras: UFLA, p. 1-17.
- Barroso, L.P., Artes, R. (2003). *Análise multivariada*. Lavras: UFLA, 151p.
- Bastos, I.T., Barbosa, M.H.P., Cruz, C.D., Burnquist, W., Bressiani, J.A., Silva, F.L. (2003). *Análise dialélica em clones de cana-de-açúcar*. *Bragantia*. v.62. n.2. p. 199-206.
- Bonnett, G., Casu, R., Rae, A., Grof, C., Glassop, D., McIntyre, L., Manners, J. (2004). Identification of genes contributing to high sucrose accumulation in sugarcane. *In: 4th International Crop Science Congress, Austrália*.

Anais...Australia: The Regional Institute Ltda. Disponível em <www.cropsciense.org.au>. Acesso em 26/09/2008.

Bornet, B., Branchard, M. (2001). *Nonanchored inter simple sequence repeat (ISSR) markers: Reproducible and specific tools for genome fingerprinting*. Plant Molecular Biology, 19 209-215.

Bressiani, J.A. 1993. *Herdabilidade e repetibilidade dos componentes da produção na cultura da cana-de-açúcar*. Tese (Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas). ESALQ/USP, Piracicaba. 68p.

Bressiani, J.A. (2001). *Seleção seqüencial em cana-de-açúcar*. 159p. Tese (Doutorado em Agronomia) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba.

Breaux, R.D. (1987). Some breeding strategies with bi-parental and polycrosses. *In:Coopersucar Int. Sugarcane Breeding Workshop*. São Paulo: Copersucar. p. 71-86.

Bueno Filho, J.S.S. (1997). *Modelos mistos na predição de valores genéticos aditivos em testes de progênies florestais*. Tese (Doutorado em Agronomia). Piracicaba: ESALQ/USP,118p.

Cesnik, R., Miocque J. (2004). *Melhoramento da cana-de-açúcar*. Brasília, Embrapa Informação Tecnológica, 2004. 307p.

Coimbra, R.R., Miranda, G.V., Viana, J.M.S., Cruz, C.D., Murakami, D.M., Souza, L.V., Fidelis, R.R. (2002). *Estimation of genetic parameters and prediction of gains for DFT1-Ribeirão popcorn population*. Crop Breeding and Applied Biotechnology, v. 2, n. 1, p. 33-38.

Colombo, C. et al. (1998). *Genetic diversity characterization of cassava cultivars (Manihot esculenta Crantz) with RAPD markers*. Genetics and Molecular Biology, Ribeirão Preto, v. 21, n. 1, p. 105-113

- Cox, M.C., Hogarth, D.M. (1993). The effectiveness of family selection in early stages of a sugarcane improvement program. *In: Australian Plant Breeding Conference*, 10, Bundaberg. Proceedings. Brisbane: Watson Ferguson, p. 53-54.
- Costa, R. B., Resende, M.D.V., Araujo, A. J., Gonçalves, P. S., Higa, A. R. (2000). *Selection and genetic gain in rubber tree (Hevea) populations using a mixed mating system*. Genetics and Molecular Biology. Ribeirão Preto, v. 23, n. 3, p. 671-679.
- CONAB - Companhia Nacional de Abastecimento (2009). *Acompanhamento da Safra Brasileira Cana-de-Açúcar, Safra 2009/, primeiro levantamento, abril/2008*. - Brasília. Disponível em: www.conab.gov.br Acesso em 29/09/2009.
- Cruz, C.D. (2006) Programa Genes: Versão Windows; aplicativo computacional em genética e estatística. Viçosa: Ed. UFV, 390p.
- Cruz, C.D., Regazzi, A.J., Carneiro, P.C.S. (2004). *Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético*. Viçosa: Ed. UFV, 480p.
- Cruz, C.D., Regazzi, A.J. (2001). *Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético*. 2. ed. Viçosa: UFV, 390 p.
- Cruz, C.D. (1990) *Aplicação de algumas técnicas multivariada no melhoramento de plantas*. Tese (Doutorado em Agronomia) - Piracicaba - SP, Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz - ESALQ, 188p.
- Cruz, C.D., Regazzi, A.J. (1994). Divergência genética. *In: Cruz, C. D., Regazzi, A. J. Métodos biométricos aplicados ao melhoramento genético*. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa. p. 287-323.
- Cruz, C.D., Carneiro, P.C.S. (2003). *Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético*. Viçosa: UFV, 585p.

- Daros, M., Amaral Jr., A.T., Pereira, M.G., Santos, F.S., Gabriel, A.P.C., Scapim, C.A., Freitas Jr., S P.; Silvério, L. (2004). *Recurrent selection in inbred popcorn families*. Sci. agric. (Piracicaba, Braz.), Piracicaba, v. 61, n. 6, Dec.
- D'Hont, A. (2005). *Cytogenetics and Genome Research*, 109: 27-33.
- Dieters, M.J., Matheson, A.C.; Nikles, D.G., Harwood, C.E., Walker, S.M. (1996) *In: Proceedings of the QFRI-IUFRO Conference on Tree Improvement for Sustainable Tropical Forest*. QFRI-IUFRO, Caloundra, Queensland.
- Dieters, M.J., White, T.L., Hodge, G.R. (1995). *Genetic parameter estimates for volume from full-sib tests of slash pine (Pinus elliottii)*. Can. J. For. Res. 25, pp. 1397–1408.
- Esselman, E.J., Jianqiang, L, Crawford, D.J., Winduss, J.L., Wolfe, A.D. (1999). *Clonal diversity in the rare Calamagrostis porteri ssp. Insuperata (Poaceae): comparative results for allozymes and random amplified polymorphic DNA (RAPD) and inter simple sequence repeat (ISSR) markers*. Molecular Ecology, Edinburgh, v.,8, p.,443-451.
- Ethirajan, A.S. (1987). Sugarcane hybridization techniques. *In: Coopersucar Int. Sugarcane Breeding Workshop*. São Paulo: Copersucar. p. 129-147.
- Falconer, D.S. (1981) *Introdução à genética quantitativa*. Tradução de M.A. Silva e J.C. Silva. Viçosa: UFV, Imprensa Universitária, 279 p.
- Farias Neto, J.T. de, Resende, M.D.V. (2001). *Aplicação da metodologia de modelos mistos (reml/blup) na estimação de componentes de variância e predição de valores genéticos em pupunheira (Bactris gasipaes)*. Rev. Bras. Frutic. v. 23, n. 2, pp. 320-324.
- Fang, D.Q., Roose, M.L. (1997). *Identification of closely related citrus cultivars with inter-simple sequence repeat markers*. Theoretical and Applied Genetics, New York, v.,95, p.,408-417.

- Ferreira, M.E., Grattapaglia, D. (1998) *Introdução ao uso de Marcadores Moleculares em Análise Genética*. 3.ed. Brasília: EMBRAPA-CENARGEN, 220p. (EMBRAPA-CENARGEM Documento 20) Florestas,. 101p.
- Fernandes, A.C. (2000). *Cálculos na agroindústria da cana-de-açúcar*. Sociedade dos técnicos açucareiros e alcooleiros do Brasil: STAB, Piracicaba, SP, 193p.
- Gomes, F. P. (1963). *Curso de Estatística Experimental*. Piracicaba, Universidade de São Paulo – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, 384p.
- Granate, M.J., Cruz, C.D., Cecon, P.R., Pacheco, C.A.P. (2001). *A análise de fatores na predição de ganhos por seleção em milho (Zea mays L.)*. Acta Scientiarum. Maringá, v. 23, n. 5, p. 1271-1279.
- Gravina, G. de A., Filho, S.M., Sedyama, C. S., Cruz, C. D. (2003). *Joint scaling test to estimate genetic parameters of soybean resistance to frogeye leaf spot*. Crop Breeding and Applied Biotechnology, v. 3, n. 1, p. 53-60.
- Grivet, L., Arruda, P. (2001). *Current Opinion in Plant Biology*, 5: 122-127.
- Gupta M., Chyisys, Romero-Severson J., Owen J.L. (1994). *Amplification of DNA markers from evolutionarily diverse genomes using single primers of simple sequence repeats*. Theoretical Applied Genetics, 89: 998–1006.
- Hazel, L.N. (1943). *The genetic basis for constructing selection indexes*. Genetics, Austin, 28: 476–490.
- Henderson, C.R. (1973). Sire evaluation and genetic trends. *In: Animal breeding and genetics symposium in honor of j. Lush*. Champaign, 1973. Champaign: American Society of Animal Science, p. 10-41.
- Hicks, C.R. (1973). *Fundamental concepts in the design of experiments*. 2.ed. New York: Holt, Rinehart and Winston. 349p.

- Hogarth, D.M. 1980. *The effect of accidental selfing on the analysis of a diallel cross with sugar cane*. Euphytica 29: 737-746.
- Hogarth, D.M., Wu, K.K., Heinz, D.J. (1981). *Estimating genetic variance in sugarcane using a factorial cross design*. Crop Science. v. 21. p. 21-25.
- Hogarth, D.M. (1977). *Quantitative inheritance studies in sugarcane III. O effect of competition and violation of genetic assumptions on estimations of genetic variance components*. Australian Journal Agricultural Research. v. 28. n. 2. p. 257-268.
- Jackson, P.A. (2005). *Breeding for improved sugar content in sugarcane*. Field Crops Research 92, 277–290
- Johnson, R.A., Wichern, D.W. (1992). *Applied multivariate statistical analysis*. 3. ed. New Jersey: Prantice Hall, 642p.
- Kantety, R.V. et al. (1995). *Assessment of genetic diversity in dent and popcorn (Zea mays L.) inbred lines using inter-simple sequence repeat (ISSR) amplification*. Molecular Breeding, n. 1, p. 365-373.
- Kennedy, B.W., Sorensen, D.A. (1988). Properties of mixed-model methods for prediction of genetic merit. *In: Weir, B.S.; Eisen, E.J.; Goodman, M.M.; Namkoong, G. eds. Second international conference on quantitative genetics*. Sunderland: Sinauer Associates. p. 91-103.
- Lima, M.L.A., Garcia, A.A.F., Oliveira, K.M., Matsuoka, S., Arizono, H., Souza Jr., C.L., Souza, A.P. 2002. *Analysis of genetic similarity detected by AFLP and coefficient of parentage among genotypes of sugarcane (Saccharum spp.)*. Theor. Appl. Genet 104: 30–38.
- Lucchesis, A.A. Cana-de-açúcar. (2001) *In: Castro, P. R. C.; Kluge, R. A. (Ed). Ecofisiologia de culturas extrativas: cana-de-açúcar, seringueira, coqueiro, dendezeiro e oliveira*. Cosmópolis: Editora Stoller do Brasil, p. 13-46.

- Marques, M.J.B.S.G.S.M. (2000). *Número mínimo de famílias de meios-irmãos de milho pipoca, critério de seleção e predição de ganhos por seleção*. Tese de Doutorado. Viçosa: UVF, 236p.
- Matsuoka, S., Garcia, A.A.F., Arizono, H. (2005). Melhoramento da cana-de-açúcar. *In: Borém, A. (Ed.). Melhoramento de espécies cultivadas*. Viçosa, MG: UFV. p. 225-274.
- Matsuoka, S. (2000). *Relatório anual do programa de melhoramento genético*. Araras: UFSCar, 39p.
- Matsuoka, S., Garcia, A.A.F., Arizono, H. (1999a). Melhoramento da cana-de-açúcar. *In: Borém, A. (ed.) Melhoramento de espécies cultivadas*. 2ed. Viçosa: UFV, p. 205-251.
- Matsuoka, S., Garcia, A.A.F., Calheiros, G.C. (1999b). Hibridação em Cana-de-açúcar. *In: A Borém. (Org.). Hibridação Artificial de Plantas*. Viçosa: Editora da Universidade Federal de Viçosa, v. II, p. 221-256.
- Melo, L.J.O.T. de, et al. (2009). *Desempenho agroindustrial de cultivares de cana-de-açúcar na zona da mata litoral sul de Pernambuco*. Ciênc. agrotec., Lavras, v. 33, n. 3, Junho.
- Melo, L.J.O.T. de, et al. (2006). *Interação genótipo x ciclos de colheita de cana-de-açúcar da Zona da Mata Norte de Pernambuco*. Bragantia, Campinas, v. 65, n. 2.
- Melo, F.A.D., Figueiredo, A.A., Alves, M.C.P., Ferreira, V.M. (1999). Parâmetros tecnológicos da cana-de-açúcar em diferentes fundos agrícolas da região norte do estado de Pernambuco. *In: Congresso Nacional da STAB, 7, Anais*. Piracicaba: STAB, p.198-202.
- Mendonça, H.A., Santos, J.B., Ramalho, M.A.P. (2002). *Selection of common bean segregating populations using genetic and phenotypic parameters and*

RAPD markers. Crop Breeding and Applied Biotechnology, v. 2, n. 2, p. 219-226.

Ming, R. et al. (1998). *Detailed Alignment of Saccharum and sorghum Chromosomes: Comparative Organization of Closely Related Diploid and Polyploid Genomes*. Genetics, 150: 1663-1682.

Mora, A.L. (2002). *Aumento da produção de sementes geneticamente melhoradas de acácia mearnsii De Wild (Acácia-negra) no Rio Grande do Sul*. 140 p. (Tese de Doutorado em Ciência Florestal). Universidade Federal do Paraná, Curitiba.

Morais, O.P., Silva, J.C., Cruz, C.D., Regazzi, A.J., Neves, P.C.F. (1997). *Estimação dos parâmetros genéticos da população de arroz irrigado CNA-IRAT 4/0/3*. Pesquisa Agropecuária Brasileira. v.,32, nº ,4.

Mulamba, N.N., Mock, J.J. (1978). *Improvement of yield potential of the Eto Blanco maize (Zea mays L.) population by breeding for plant traits*. Egypt J. Gen. Cytol. Alexandria, 7:,40–51.

Nienhuis, J. et al. (1993). *Genetic similarity among Brassica oleracea genotypes as measured by restriction fragment length polymorphisms*. Journal of the American Society for Horticultural Science, Alexandria, v.,118, n.,2, p.,298-303.

Oliveira, K.M. (2006). *Desenvolvimento de marcadores moleculares EST-SSRs e mapeamento funcional em cana-de-açúcar (Saccharum spp.)* 186p. (Tese de Doutorado em Genética Vegetal e Melhoramento). UNICAMP.

Oliveira, V.R., Resende, M.D.V., Nascimento, C.E.S., Drumond, M.A., Santos, C.A.F. (2004). *Variabilidade genética de procedências e progênies de umbuzeiro via metodologia de modelos lineares mistos (REML/ BLUP)*. Revista Brasileira de Fruticultura, Jaboticabal - SP, v. 26, n. 1, p. 53-56.

- Oliveira, A.C., Richter, T., Bennetzen, J. L. (1996). *Regional and racial specificities in sorghum germplasm assessed with DNA markers*. Genome, Canada, v.,39, p.,579-587.
- Paiva, J.R., Resende, M.D.V., Cordeiro, E.R. (2002). *Índice multifeitos e estimativas de parâmetros genéticos em aceroleira*. Pesquisa Agropecuária Brasileira, Brasília, v. 37, n. 6, p. 799-807.
- Paterniani, E. (1980) *Melhoramento e Produção do Milho no Brasil*. Fundação Cargil. v. único, 650p.
- Patterson, H.D., Thompson, R. (1971). *Recovery of inter-block information when block sizes are unequal*. Biometrika, 58(3): 545-54.
- Pedrozo, C.A., Benites, F.R.G., Barbosa, M.H.P., Resende, M.D.V., Silva, F.L. (2009). *Eficiência de índices de seleção utilizando a metodologia reml/blup no melhoramento da cana-de-açúcar*. Scientia Agraria, Curitiba, v.,10, n.1, p.,031-036.
- Pesek, J., Baker, R.J. (1969) *Desired improvement in relation to selection indices*. Can. J. Plant. Science, Ottawa, 1:,215-274.
- Pillai, S.V., Ethirajan, A.S. (1993). *Selection indices for sugarcane improvement at three stages of selection*. Euphytica 71: 155 -159.
- ProCana. Disponível em: www.jornalcana.com.br Acesso em 29/09/2008.
- Purba, A.R., Flori, A., Baudouin, L., Hamon, S. (2001). *Prediction of oil palm (Elaeis guineensis, Jacq.) agronomic performances using the best linear unbiased predictor (blup)*. Theoretical and Applied Genetics, v.,102, p. 787-792.
- Ramalho, M.A.P., Santos, J.B., Zimmermann, M.J.O. (1993). *Genética quantitativa em plantas autógamas*. Goiânia. Ed: UFG. 271p.

- Rao, A.V., Prasad, A.S.R., Sai Krishna, T., Sechu, D.V., Srinivasan, T.E. (1981). *Genetic divergence among some brown planthopper resistant rice varieties*. The Indian Journal of Genetic Plant Breeding. New York, 41 (2): 179-185.
- Resende, M.D.V., Barbosa, M.H.P. (2006). *Selection via simulated Blup base on family genotypic effects in sugarcane*. Pesquisa Agropecuária Brasileira, v. 41, n. 3, p. 421-429.
- Resende, M.D.V, Barbosa, M.H.P. (2005). *Melhoramento genético de plantas de propagação assexuada*. Embrapa Informação Tecnológica, Colombo. 130p.
- Resende, M.D.V. (2002a). *Genética, biométrica e estatística: no melhoramento de plantas perenes*. Brasília, Embrapa Informação Tecnológica, 975p.
- Resende, M.D.V. (2002b). SELEGEN-REML/BLUP Seleção genética computadorizada: manual do usuário. Colombo: EMBRAPA–CNPQ. 67p.
- Resende, R.M.S. (2001). *Avaliação genética de populações de erva-mate (Ilex paraguariensis Saint Hilaire)*. Universidade Federal do Paraná. 124p. (Tese de Doutorado).
- Resende, M.D.V., Sturion, J.A. (2001). *Análise genética de dados com dependência espacial e temporal no melhoramento de plantas perenes via modelos geoestatísticos e de séries temporais empregando REML/BLUP individual*. Colombo: Embrapa Florestas. 80p.
- Resende, M.D.V., Dias, L.A.S. (2000). *Aplicação da metodologia de modelos mistos (REML/BLUP) na estimação de parâmetros genéticos e predição de valores genéticos aditivos e genotípicos em espécies frutíferas*. Revista Brasileira de Fruticultura, v.,22, n.,1, p.,44-52.
- Resende, F.V., Souza, R.J., Faquin, V., Resende, J.T.V. (1999a). *Comparação do crescimento e produção entre alho proveniente de cultura de tecidos e de*

multiplicação convencional. Horticultura Brasileira, Brasília, v. 17, n. 2, p. 118-124.

Resende, M.D.V., Fernandes, J.S.C., Simeão, R.M. (1999b). *BLUP individual multivariado em presença de interação genótipo x ambiente para delineamentos experimentais repetidos em vários ambientes*. Revista de Matemática e Estatística. São Paulo, v. 17. p. 209-228.

Resende, M.D.V., Prates, D.F., Jesus, A., Yamada, C. K. (1996). *Estimação de componentes de variância e predição de valores genéticos pelo método da máxima verossimilhança restrita (REML) e melhor predição linear não viciada (BLUP) em Pinus*. Boletim de Pesquisa Florestal, Colombo, n. 32/33, p. 18-45.

Resende, M.D.V., Sturion, J.A., Mendes, S. (1995). *Genética e melhoramento da erva-mate (Ilex paraguariensis St.Hil.)*. Colombo: EMBRAPA-CNPQ 33p.

Resende, M.D.V., Higa, A.R. (1994). *Maximização da eficiência da seleção em testes de progênies de Eucalyptus através da utilização de todos os efeitos do modelo matemático*. Boletim de Pesquisa Florestal, Colombo, v. 28/29, p. 37-55

Reddy, M.P., Sarla, N., Siddiq, E.A. (2002). *Inter simple sequence repeat (ISSR) polymorphism and its application in plant breeding*. Euphytica, 128: 9 – 17.

Roach, B.T., Daniels, J. (1987). A review of the origin and improvement of sugarcane. In: *Copersucar International Sugarcane Breeding Workshop*, Piracicaba: Copersucar, p.1-31.

Rocha, M. G. B. et al . (2007). *Seleção de genitores de Eucalyptus grandis e de Eucalyptus urophylla para produção de híbridos interespecíficos utilizando REML/BLUP e informação de divergência genética*. Rev. Árvore, Viçosa, v. 31, n. 6, Dec.

- Salimath, S.S., Oliveira, A.C., Godwin, I.O.A.C., Bennetzen, J.L. (1995). *Assessment of genome origins and genetic diversity in the genus eleusine with DNA markers*. Genome, Canada, v. 38, p. 757-763.
- Santos, E.G.D. (2008). *Interação genótipos x locais em cana-de-açúcar e perspectivas de estratificação ambiental*. Tese de Mestrado. Universidade de São Paulo Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz".
- SAS (1985). SAS user's guide: statistics. NC Cary, New York, 958p.
- Schaeffer, L.R. (1999). *Random regression models*. Class Notes, p. 20.
- Searle, S.R., Casella, G., Mcculloch, C. (1992). *Variance components*. New York: John Wiley. 501p.
- Silva, M.G. M., Viana, A.P., Gonçalves, G.M., Amaral Júnior, A.T, Pereira, M.G. (2009). *Seleção recorrente intrapopulacional no maracujazeiro amarelo: alternativa de capitalização de ganhos genéticos*. Ciênc. agrotec., Lavras, v. 33, n. 1, Feb.
- Silva, F.F., Pereira, M.G., Ramos, H.C.C., Damasceno Junior, P.C., Pereira, T.N.S., Gabriel, A.P.C., Viana, A.P., Ferregueti, G.A. (2008). *Selection and estimation of the genetic gain in segregating generations of papaya (Carica papaya L.)*. Crop Breeding and Applied Biotechnology 8: 1-8.
- Silva, J.A.G. (1993). *A methodology for genome mapping of autopolyploids and its application to sugarcane (Saccharum spp.)*. Cornell University. 108p.
- Singh, H.N., Singh, S.B., Singh, T.K. (1981). *Selection parameters in sugarcane*. Indian Journal Agricultural Sciences. v.51. n.8. p. 562-566.
- Skinner, J.C., Hogarth, D.M., Wu, K.K. (1987). Selection methods, criteria, and indices. In: HEINZ, D.J. (ed.). *Sugarcane improvement through breeding*. Amsterdam: Elsevier. p. 409-453.

- Smith, H.F. (1936). *A discriminant function for planta selection*. Ann. Eugen. 7: 240–250.
- Sneath, P. A., Sokal, R. R. (1973). *Numeric taxonomy: the principles and practice of numerical classification*. San Francisco: W. H. Freeman, 573 p.
- Sokal, R.R., Rohlf, F.J. (1962). *The comparison of dendrograms by objective methods*. Taxon, Berlin, v. 11, n. 1, p.30-40.
- Souza, A.G., Resende, M.D.V., Souza, N.R. (2002). *The cupuaçu genetic improvement of Embrapa Amazônia Ocidental*. Crop Breeding and Applied Biotechnology. Londrina. v. 2, n. 3, p. 471-478.
- Souza Jr., C.L. (1995). *Melhoramento de espécies de reprodução vegetativa*. Publicação didática, Departamento de Genética, Piracicaba: Esalq/USP. 41p.
- Teixeira, L.H.M. (2006). *Mapeamento funcional em cana-de-açúcar utilizando ESTs como marcadores moleculares*. Tese (Mestrado em Genética e Biologia Molecular). Universidade Estadual de Campinas, Campinas, São Paulo. p. 109.
- Walker, D.I.T. (1987). Trends in sugarcane breeding, *In*: Abbott, A.J., Atkin, R.K. (eds.). *Improving vegetative propagated crops*. Bristol: Academic Press, p. 3-26.
- Willians, J.S. (1962). *The evaluation of a selection index*. Biometrics, North Carolina, 18: 375–393.
- Wu, K.R., Jones, L. Dannaeburger P.A. Scolnik, (1994). *Detection of microsatellite polymorphisms without cloning*. Nucleic Acids Research, 22: 3257–3258.
- Zietkiewicz, E., Rafalski, A., Labuda, D. (1994). *Genome Fingerprinting by simple sequence repeat (SSR)-anchored polymerase chain reaction amplification*. Genomics, San Diego, v. 20, p. 176-183.