

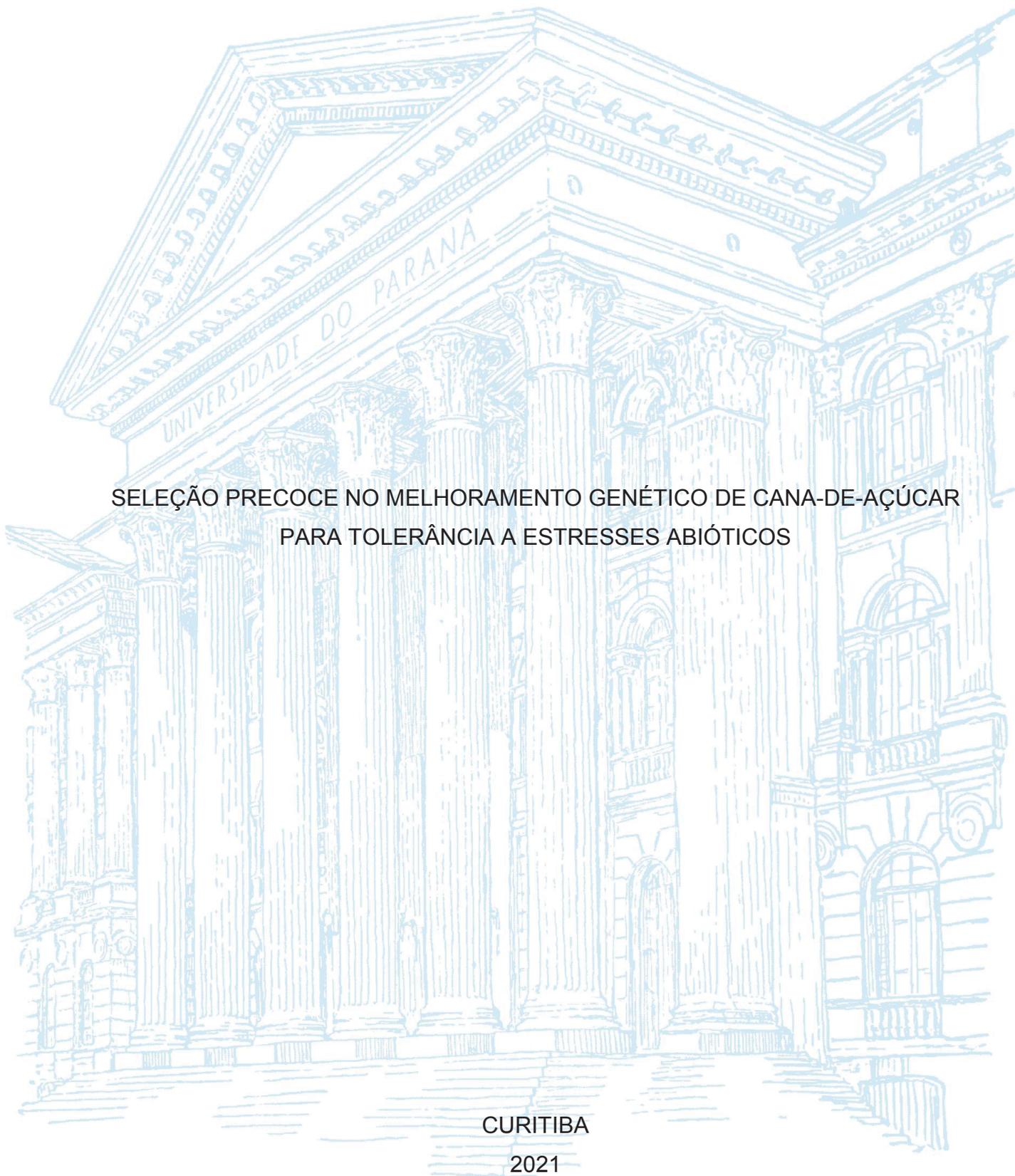
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

ADÍLSON HÄRTER

SELEÇÃO PRECOCE NO MELHORAMENTO GENÉTICO DE CANA-DE-AÇÚCAR  
PARA TOLERÂNCIA A ESTRESSES ABIÓTICOS

CURITIBA

2021



ADÍLSON HÄRTER

SELEÇÃO PRECOCE NO MELHORAMENTO GENÉTICO DE CANA-DE-AÇÚCAR  
PARA TOLERÂNCIA A ESTRESSES ABIÓTICOS

Tese apresentada ao curso de Pós-Graduação em Produção Vegetal, Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial à obtenção do título de Doutor em Agronomia.

Orientador: Prof. Dr. Ricardo Augusto de Oliveira

CURITIBA

2021

Härter, Adílson

Seleção precoce no melhoramento genético de cana-de-açúcar para tolerância a estresses abióticos. / Adílson Härter. - Curitiba, 2021.

Tese (Doutorado) - Universidade Federal do Paraná. Setor de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Agronomia - Produção Vegetal.

Orientador: Ricardo Augusto de Oliveira.

1. Cana-de-açúcar - Melhoramento genético. 2. Agricultura - Produtividade. 3. Plantas - Efeito do frio. 4. Plantas - Desidratação (Fisiologia) . I. Oliveira, Ricardo Augusto. II. Título. III. Universidade Federal do Paraná.

## TERMO DE APROVAÇÃO

ADÍLSON HÄRTER

### SELEÇÃO PRECOCE NO MELHORAMENTO GENÉTICO DE CANA-DE-AÇÚCAR PARA TOLERÂNCIA A ESTRESSES ABIÓTICOS

Tese aprovada como requisito parcial à obtenção do título de Doutor em Agronomia no curso de Pós-Graduação em Produção Vegetal, Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná.

Assinatura eletrônica<sup>1</sup> (03/02/2021 13:56:34.0)

Prof. Dr. Ricardo Augusto de Oliveira

Orientador – Universidade Federal do Paraná (UFPR)

Assinatura eletrônica (06/02/2021 09:21:04.0)

Pesquisador Dr. Sergio Delmar dos Anjos e Silva

Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA)

Assinatura eletrônica (03/02/2021 14:20:43.0)

Eng. Agrônomo Dr. Amaro Afonso Campos de Azeredo

Universidade Federal do Paraná (UFPR)

Assinatura eletrônica (05/02/2021 12:21:45.0)

Eng. Agrônomo Dr. Mario Alvaro Aloisio Verissimo

Companhia Integrada de Desenvolvimento Agrícola de Santa Catarina (CIDASC)

Curitiba, fevereiro de 2021.

---

<sup>1</sup> Documento assinado eletronicamente de acordo com o disposto na legislação federal Decreto 8539 de 08 de outubro de 2015. Gerado e autenticado pelo SIGA-UFPR, com a seguinte identificação única: 71970. Para autenticar este documento/assinatura, acesse <https://www.prppg.ufpr.br/siga/visitante/autenticacaoassinaturas.jsp> e insira o código 71970.

*A minha família, que se dedicou integralmente ao árduo trabalho da agricultura por toda vida, nunca medindo esforços para que esta e demais etapas acadêmicas fossem proporcionadas a mim.*

***Dedico.***

## **AGRADECIMENTOS**

A Deus por proporcionar saúde, sabedoria e o encontro de pessoas fundamentais em minha vida. Sou grato por todas as bênçãos concedidas, especialmente a este trabalho com qual tive muito aprendizado.

Ao programa de Pós-graduação em Produção Vegetal (PGAPV) da Universidade Federal do Paraná (UFPR), seu corpo docente, funcionários e secretaria, pela atenção com seus discentes, organização e empenho no trabalho.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa.

Ao Programa de Melhoramento Genético de Cana-de-açúcar (PMGCA) da UFPR, integrante da Rede Interuniversitária para o Desenvolvimento Sucroenergético (RIDESA), pelo apoio ao trabalho e serviços essenciais prestados ao setor sucroenergético.

A Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA), pelo apoio neste trabalho e serviços essenciais prestados a sociedade.

Ao meu orientador, Eng. Agrônomo Prof. Dr. Ricardo Augusto de Oliveira, pela oportunidade, pelo exemplo pessoal e profissional, pela confiança e liberdade, pelos bons conselhos e grande amigo que se tornou, foste muito importante na minha formação.

Ao Eng. Agrônomo Pesq. Dr. Sergio Delmar dos Anjos e Silva, amigo de longa data, sem dúvidas minha base pessoal e científica. Sou muito grato pela nossa amizade, pelo incentivo ao trabalho, dedicação à pesquisa e as pessoas, afinal, estar aqui é reflexo do teu apoio e sinto-me muito realizado em concretizar projetos de pesquisa que partiram das tuas inspirações.

Ao Eng. Agrônomo Prof. Dr. Edelclaiton Daros, pelas inúmeras oportunidades, pela sincera amizade, conselhos pessoais e acadêmicos, pelas ótimas discussões sobre cana-de-açúcar e pela dedicação ao trabalho de pesquisa.

Ao Eng. Agrônomo Dr. Heroldo Weber, um grande parceiro que acompanhou as batalhas dos experimentos, um ser de extrema inteligência, pessoa do bem e muito dedicado ao trabalho. Agradeço muito suas contribuições pessoais e científicas, sua inspiração na pesquisa é algo ímpar.

Ao Eng. Agrônomo Dr. Luís Cláudio Inácio da Silveira, pela amizade, boas discussões e pela admirável contribuição ao melhoramento genético da cana-de-açúcar.

Ao Eng. Agrônomo Dr. Mario Alvaro Aloisio Verissimo, pela amizade, companheirismo e dedicação que teve comigo no início da minha jornada na pesquisa.

Ao Eng. Agrônomo Pesq. Dr. Giovani Greigh Brito, fisiologista vegetal de grande expertise, pela amizade, pelos conhecimentos transmitidos e valiosas contribuições no planejamento experimental.

Aos Eng. Agrônomos e professores da Universidade Federal de Viçosa (UFV) Dr. Luiz Alexandre Peternelli e Dr. Cosme Damião Cruz, pela amizade e valiosas contribuições científicas na minha formação.

Aos integrantes do PMGCA/UFPR/RIDESA, pela amizade, pelo auxílio nos experimentos, pelo carinho com as pessoas e admirável dedicação ao trabalho.

Ao grupo de pesquisas em Agroenergia da Embrapa Clima Temperado. Aqui, em nome do Sr. Vilmar Gonçalves, excelente assistente de campo, agradeço todos aqueles que fizeram e fazem parte desse grupo. O aprendizado e os amigos que fiz neste setor são de eterna gratidão.

A todos amigos e colegas do PPG-PGAPV/UFPR, especialmente ao Guilherme, Afonso e Renã, pela amizade e pela ajuda concedida sem medir esforços.

A toda minha família, em especial aos meus pais (Ilgomar e Marlei) e aos meus avós (Werno e Júlia), pelo amor, apoio, respeito a mim ensinado e pela dedicação integral no trabalho com a agricultura.

Ao meu amor maior, Índia (Alexssandra), companheira estimada, namorada, amiga, pela sinceridade, paciência, respeito, confiança e pela dedicação com tudo que faz, da qual tenho muita admiração. Obrigado por me fazer muito feliz nesses quase 10 anos de relacionamento.

À família da minha namorada, na qual fui recebido com muito afeto e tenho apoio inestimável.

A todos aqueles que de alguma forma fizeram parte da minha caminhada, meu sincero, **muito obrigado!**

*“Ser útil para a sociedade e poder ajudar alguém, por mais simples que seja, dignifica o homem”*

Adílson Härter

## BIOGRAFIA DO AUTOR

Adílson Härter, nasceu no dia 15 de junho de 1991, no município de Pelotas, Estado do Rio Grande do Sul, Brasil. Filho de Marlei Härter (Júlia Scheunemann Behling e Werno Behling) e Ilgomar Härter (Nelson Härter e Renilda Maihlan Härter), todos de origem e dedicação a agricultura. Iniciou os estudos em 1997, no primeiro ano do ensino fundamental em uma pequena escola municipal do interior de Pelotas, nomeada Dirceu Moreira, finalizando o oitavo ano em 2004. Em 2005 iniciou o ensino médio e técnico na Escola Técnica Estadual Santa Isabel, no município de São Lourenço do Sul, formando-se em 2008 como Técnico em Agropecuária. Em 2009 iniciou estágio técnico obrigatório na Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA), unidade Clima Temperado, no grupo de pesquisas em Agroenergia, da qual é membro até os dias atuais. Em agosto de 2010 ingressou na Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel (FAEM), da Universidade Federal de Pelotas (UFPEL), formando-se Engenheiro Agrônomo em fevereiro de 2016, recebendo o prêmio de honra ao mérito como melhor aluno da turma. Em março de 2016 iniciou o curso de Pós-graduação em Sistemas de Produção Agrícola Familiar (SPAF) da UFPEL, tornando-se mestre em Agronomia em março de 2018. Neste mesmo período, iniciou os estudos como aluno de doutorado no Programa de Pós-graduação em Agronomia, ênfase em Produção Vegetal (PGAPV), da Universidade Federal do Paraná (UFPR), concluindo esta formação na data de 03 de fevereiro de 2021, com a defesa da tese intitulada “*Seleção precoce no melhoramento genético de cana-de-açúcar para tolerância a estresses abióticos*”.

## RESUMO

Estresses abióticos causam a redução de produtividade na cana-de-açúcar e limita a expansão do cultivo no mundo. O melhoramento genético tem papel fundamental no desenvolvimento de genótipos com tolerância superior, garantindo a segurança alimentar. Neste sentido, o objetivo deste trabalho foi desenvolver e validar metodologias para seleção precoce de famílias de cana-de-açúcar visando tolerância ao frio e ao déficit hídrico. Os testes de tolerância ao frio foram conduzidos na estação experimental da Embrapa Clima Temperado, em Pelotas/RS, enquanto de déficit hídrico na estação experimental da Universidade Federal do Paraná (PMGCA/UFPR/RIDESIA), em Paranavaí/PR. Foram avaliadas 21 famílias de irmãos completo de cana-de-açúcar, sendo 13 comuns em todos os testes, totalizando aproximadamente 6500 indivíduos. A primeira etapa de testes foi conduzida em ambiente controlado no estádio inicial de desenvolvimento, simulando os estresses em câmara fria (frio) e em casa de vegetação (déficit hídrico), definida como “fase precoce”. A segunda etapa foi realizada a campo sob condições naturais de estresse, definida como “fase de validação”. Em todos os experimentos foram avaliados caracteres fisiológicos e biométricos, sendo os principais teor de clorofila, dano foliar e altura de planta. Foram estimados os componentes de variância e os valores genotípicos via modelos mistos (REML/BLUP), as correlações genéticas entre variáveis e fases, bem como o índice de coincidência para seleção e descarte de famílias em fase precoce. Os resultados revelam elevada variabilidade entre e dentro das famílias para ambos os estresses nas diferentes fases. As famílias RB996962 x RB016916, RB996963 x RB92579 e RB867515 x RB92579 possuem valores genotípicos superiores para tolerância ao frio, enquanto que RB036152 x SP93-3500, RB867515 x RB92579, RB996963 x RB92579, RB106802 x RB036088 e BJ7504 x RB835089 apresentam valores genotípicos superiores para rendimento de açúcar associado a maior nível de tolerância ao déficit hídrico. Foram observadas correlações genotípicas significativas entre as fases avaliadas, com índice de coincidência geral médio superior a 70% para seleção precoce de famílias em ambos os estresses. As metodologias utilizadas neste trabalho são relevantes e podem ser utilizadas como estratégia de seleção precoce no melhoramento genético de cana-de-açúcar para tolerância ao frio e ao déficit hídrico.

Palavras-chave: *Saccharum* spp., tolerância ao frio; tolerância ao déficit hídrico; estratégia de seleção; REML/BLUP.

## ABSTRACT

Abiotic stresses reduce sugarcane productivity and limits the cultivation expansion worldwide. Crop breeding plays a fundamental role with the development of genotypes with superior tolerance, ensuring food security. In this sense, the objective of this work was to develop and validate methodologies for the early selection of sugarcane aiming cold tolerance and drought tolerance. The cold tolerance tests were conducted at the Embrapa Clima Temperado experimental station, in Pelotas/RS, while the drought tests took place at the experimental station of the Universidade Federal do Paraná (PMGCA/UFPR/RIDESA), in Paranaíba/PR. Twenty-one sugarcane full-sib families were evaluated, 13 of which were common in all tests, totaling approximately 6500 individuals. The first stage of testing was conducted in a controlled environment at the initial stage of development, simulating stresses in a cold chamber (cold) and in a greenhouse (drought), defined as an “early phase”. The second stage was carried out in the field under natural stress conditions, defined as the “validation phase”. In all experiments, physiological and biometric characters were evaluated, mainly chlorophyll content, leaf damage and plant height. The variance components and the genotypic values were estimated via mixed models (REML/BLUP), the genetic correlations between variables and phases, as well as the coincidence index for selection and discard of families at an early stage. The results reveal high variability between and within families for both stresses in the different phases. The families RB996962 x RB016916, RB996963 x RB92579 and RB867515 x RB92579 have higher genotypic values for cold tolerance, while RB036152 x SP93-3500, RB867515 x RB92579, RB996963 x RB92579 and RB106802 x RB106802 present superior genotypic values for sugar yield associated with higher level of drought tolerance. Significant genotypic correlations were observed between the evaluated phases, with an average general coincidence index greater than 70% for early selection of families in both stresses. The methodologies used in this work are relevant and can be used as an early selection strategy in the sugarcane breeding for cold and drought tolerance.

Keywords: *Saccharum* spp.; cold tolerance; drought tolerance; selection strategy; REML/BLUP.

## LISTA DE FIGURAS

### Capítulo I - Metodologia para seleção precoce de famílias de cana-de-açúcar visando tolerância ao frio

- Figura 1. Fases de condução para seleção precoce de famílias de cana-de-açúcar simulando estresse por frio em ambiente controlado. ....32
- Figura 2. Temperatura mínima, média, máxima e controlada durante o período de crescimento, aclimatação, estresse e recuperação para o screening precoce de famílias de cana-de-açúcar visando tolerância ao frio. ....33
- Figura 3. Escala de dano foliar por frio na fase inicial de desenvolvimentos da cana-de-açúcar (Nota 1: altamente tolerante; 2: tolerante; 3: medianamente tolerante; 4: sensível; 5: altamente sensível) .....35
- Figura 4. Escala visual de dano foliar por frio em cana-de-açúcar (Nota 1: Altamente tolerante; 2: Tolerante; 3: Medianamente tolerante; 4: Sensível; 5: Altamente sensível).. .....37
- Figura 5. Condições meteorológicas diárias de temperatura (°C) mínima, média, máxima e chuva (mm) para o período de maio a agosto de 2019 observadas em condição de campo. ....40
- Figura 6. Frequência de tolerância por classe de dano foliar (DNF, %) e distribuição dos teores de clorofila (CLF, SPAD) em 14 famílias de cana-de-açúcar avaliadas sob estresse por frio em ambiente controlado na fase precoce (PRE) e em condição de campo na fase de validação (VAL). ....41
- Figura 7. Rede de correlações genotípicas para variáveis fisiológicas e biométricas de 14 famílias de cana-de-açúcar avaliadas sob estresse por frio em ambiente controlado na fase precoce (PRE) e em condição de campo na fase de validação (VAL). ....47

## Capítulo II - Metodologia para seleção precoce de famílias de cana-de-açúcar visando tolerância ao déficit hídrico

Figura 1. Fases de condução para seleção precoce de famílias de cana-de-açúcar simulando estresse por frio em ambiente controlado. ....	63
Figura 2. Temperatura mínima, média, máxima e controlada durante o período de crescimento, aclimatação, estresse e recuperação para o screening precoce de famílias de cana-de-açúcar visando tolerância ao frio .....	64
Figura 3. Escala de dano foliar por frio na fase inicial de desenvolvimento da cana-de-açúcar (Nota 1: altamente tolerante; 2: tolerante; 3: medianamente tolerante; 4: sensível; 5: altamente sensível) .....	66
Figura 4. Escala visual de dano foliar por frio em cana-de-açúcar (Nota 1: Altamente tolerante; 2: Tolerante; 3: Medianamente tolerante; 4: Sensível; 5: Altamente sensível) .....	69
Figura 5. Condições meteorológicas diárias de temperatura (°C) mínima, média, máxima e chuva (mm) para o período de maio a agosto de 2019 observadas em condição de campo. *Dias com temperatura mínima $\leq 0^{\circ}\text{C}$ (geada) .....	70
Figura 6. Frequência de tolerância por classe de dano foliar (DNF, %) e distribuição dos teores de clorofila (CLF, SPAD) em 14 famílias de cana-de-açúcar avaliadas sob estresse por frio em ambiente controlado na fase precoce (PRE) e em condição de campo na fase de validação (VAL).....	76

### Considerações finais

Figura 1. Metodologia de seleção precoce para o melhoramento genético da cana-de-açúcar visando tolerância a estresses abióticos. ....	88
--	----

## LISTA DE TABELAS

**Capítulo I** - Tolerância ao frio de famílias de cana-de-açúcar e eficiência do screening precoce em ambiente controlado

- Tabela 1. Genitores utilizados para obtenção de cruzamentos biparentais de cana-de-açúcar para avaliação da tolerância ao frio.....31
- Tabela 2. Esquema da matriz de confusão utilizada para determinação dos índices de coincidência.....39
- Tabela 3. Componentes da variância por meio da máxima verossimilhança restrita (REML) para variáveis fisiológicas e biométricas de 14 famílias de cana-de-açúcar avaliadas sob estresse por frio em ambiente controlado na fase precoce (<sub>PRE</sub>) e em condição de campo na fase de validação (<sub>VAL</sub>).....42
- Tabela 4. Valor genotípico ( $V_g$ ) e média geral para variáveis fisiológicas e biométricas de 14 famílias de cana-de-açúcar avaliadas sob estresse por frio em ambiente controlado na fase precoce (<sub>PRE</sub>) e em condição de campo na fase de validação (<sub>VAL</sub>).....45
- Tabela 5. Índice de coincidência (IC, %) para seleção ( $IC_S$ ), descarte ( $IC_{DS}$ ) e geral ( $IC_G$ ) entre fase precoce (<sub>PRE</sub>) e fase de validação (<sub>VAL</sub>) para variáveis fisiológicas de 14 famílias de cana-de-açúcar sob estresse de frio.....49

**Capítulo II - Tolerância ao déficit hídrico de famílias de cana-de-açúcar e eficiência do screening precoce em ambiente controlado**

Tabela 1. Genitores utilizados para obtenção de cruzamentos biparentais de cana-de-açúcar utilizados para avaliação da tolerância ao déficit hídrico. ....	61
Tabela 2. Análise química do substrato utilizado para condução dos testes de déficit hídrico em ambiente controlado. ....	62
Tabela 3. Esquema da matriz de confusão utilizada para determinação dos índices de coincidência.....	68
Tabela 4. Parâmetros genéticos por meio da máxima verossimilhança restrita (REML) para caracteres fisiológicos e biométricos em 20 famílias de cana-de-açúcar avaliadas sob estresse por frio em ambiente controlado na fase precoce (PRE) e em condição de campo na fase de validação (VAL).....	72
Tabela 5. Valor genotípico (Vg) e média geral para caracteres fisiológicos e biométricos em 20 famílias de cana-de-açúcar avaliadas sob estresse por frio em ambiente controlado na fase precoce (PRE) e em condição de campo na fase de validação (VAL).....	74
Tabela 6. Índice de coincidência (IC) para seleção (IC <sub>S</sub> ), descarte (IC <sub>DS</sub> ) e geral (IC <sub>G</sub> ) entre fase precoce (PRE) e fase de validação (VAL) para variáveis fisiológicas avaliadas em 20 famílias de cana-de-açúcar sob déficit hídrico.....	78

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	<b>16</b>
1.1 REFERÊNCIAS .....	21
<b>2 CAPÍTULO I: SELEÇÃO PRECOCE PARA TOLERÂNCIA AO FRIO EM CANA-DE-AÇÚCAR</b> .....	<b>27</b>
2.1 INTRODUÇÃO .....	29
2.2 MATERIAIS E MÉTODOS.....	31
2.2.1 População .....	31
2.2.2 Fase precoce (PRE) em ambiente controlado – estresse simulado .....	31
2.2.3 Fase de validação (VAL) em condição de campo - estresse natural .....	35
2.2.4 Análise de dados.....	38
2.3 RESULTADOS E DISCUSSÕES .....	40
2.4 CONCLUSÕES .....	50
2.5 REFERÊNCIAS.....	51
<b>3 CAPÍTULO II: SELEÇÃO PRECOCE PARA TOLERÂNCIA AO DÉFICIT HÍDRICO EM CANA-DE-AÇÚCAR</b> .....	<b>57</b>
3.1 INTRODUÇÃO .....	59
3.2 MATERIAIS E MÉTODOS.....	61
3.2.1 População .....	61
3.2.2 Fase precoce (PRE) em ambiente controlado – estresse simulado .....	62
3.2.3 Fase de validação (VAL) em condição de campo - estresse natural .....	64
3.2.4 Análise de dados.....	67
3.3 RESULTADOS E DISCUSSÕES .....	69
3.4 CONCLUSÕES .....	79
3.5 REFERÊNCIAS.....	80
<b>4 CONSIDERAÇÕES FINAIS</b> .....	<b>86</b>
<b>5 REFERÊNCIAS GERAIS</b> .....	<b>90</b>

## 1 INTRODUÇÃO

A cana-de-açúcar possui relevância para segurança alimentar por ser a principal fonte de açúcar, representando mais de 70% da produção mundial, e nas últimas décadas tem expandido sua participação na matriz energética, contribuindo com a geração de energia renovável a partir do etanol e cogeração de eletricidade (YADAV et al., 2020). É uma das principais espécies agrícolas do mundo, sendo cultivada em mais de 100 países (FAOSTAT, 2018), destacando-se o Brasil com 8,4 milhões de hectares, distribuídos em mais de 20 estados com diferentes condições de solo e clima (CONAB, 2019).

As mudanças climáticas tem contribuído para o aumento da ocorrência de estresses abióticos na agricultura, causando redução na produtividade dos cultivos e limitado a expansão das culturas em diversas regiões do mundo, sendo temperaturas extremas, déficit hídrico, alagamento, salinidade, deficiência nutricional, suprimento subótimo destes fatores e a interação entre estresses, os eventos de maior impacto econômico (GILLIHAM; ABLE; ROY, 2017). Considerando que o cultivo de cana-de-açúcar abrange regiões tropicais e subtropicais (Yadav et al., 2020), o frio e o déficit hídrico são fatores limitantes para o desenvolvimento da cultura.

A ocorrência de baixas temperaturas e a formação de geadas (0 °C) é considerado um estresse severo, pois causam danos irreversíveis e limitam práticas de manejo que possam minimizar as perdas de produtividade e qualidade (EDMÉ; GLAZ, 2013). Estima-se que o cultivo de cana-de-açúcar está exposto a temperaturas baixas prejudiciais em mais de 25% dos principais países produtores (LEGENDRE et al., 2011), sendo um estresse comum em muitas regiões produtoras de cana-de-açúcar no mundo além do Brasil, como a Louisiana, Índia, Austrália, Argentina e ocasionais na Flórida, México e Irã.

Os principais danos causados pelo estresse por frio são a redução do teor de clorofila e diminuição das taxas fotossintéticas (ZHANG et al., 2015). Neste contexto, os componentes fotossintéticos e a membrana plasmática são os tecidos mais vulneráveis ao estresse pelo frio (LI et al., 2018), incluindo alterações nos complexos de pigmentos, estruturas dos cloroplastos destruídas, transporte de elétrons e atividades enzimáticas reduzidas (LU et al., 2013). Quando os tecidos do meristema apical e do colmo são danificados, ocorre proliferação de microrganismos e assim a degradação microbiana, química e enzimática de açúcares, causando

escurecimento da parte interna do colmo, redução da pureza, diminuição do pH e aumento da acidez (EGGLESTON et al., 2004; LEGENDRE et al., 2011). Como fator de resposta e estes danos, os mecanismos de tolerância ao frio podem ser diferencialmente expressos nas folhas (TANG; LI; YANG, 2015), gemas laterais (RASHEED et al., 2011) e colmo (EGGLESTON; LEGENDRE; TEW, 2004), os quais podem estar associados a capacidade de aclimatação de cada genótipo, sendo que tal processo envolve uma série de complexas modificações moleculares (SHI; DING; YANG, 2018), metabólicas (FÜRSTAUER et al., 2019) e hormonais (EREMINA; ROZHON; POPPENBERGER, 2016).

Além do frio, o déficit hídrico é um dos principais estresses abióticos que reduz a produtividade dos cultivos (BASNAYAKE et al., 2012; COMINELLI et al., 2013; FERREIRA et al., 2017). A cana-de-açúcar é uma espécie com adaptação tropical, com rápido crescimento em condições não restritivas, no entanto, o déficit hídrico pode reduzir em até 60% a produtividade de massa seca (BASNAYAKE et al., 2012). Apesar da cultura responder de maneira expressiva à irrigação (LIU et al., 2016), regiões com menor disponibilidade para armazenamento de água e condições meteorológicas de extremo déficit hídrico, podem comprometer a irrigação em larga escala como fator de produção.

O principal dano fisiológico causado pelo déficit hídrico é a desidratação celular, reduzindo o volume do vacúolo e do citosol, estimulando a produção de espécies reativas de oxigênio (ROS), afetando negativamente a estrutura e o metabolismo celular (BARTELS; SUNKAR, 2005). As respostas mais comuns ao estresse hídrico na cana-de-açúcar são o enrolamento foliar, fechamento estomático, indução ao crescimento radicular, inibição do crescimento do caule e da folha, senescência e redução da área foliar (INMAN-BAMBER; LAKSHMANAN; PARK, 2012). Os mecanismos de tolerância estão ligados a manutenção da condutância estomática, níveis altos de clorofila nas folhas, elevada taxa fotossintética e redução da temperatura foliar (COMINELLI et al., 2013).

A utilização de genótipos tolerantes é uma das medidas mais eficazes para minimizar os efeitos negativos do déficit hídrico (BASNAYAKE et al., 2012, 2015; SILVA et al., 2008; HEMAPRABHA et al., 2013), bem como para estresse por frio (EDMÉ; GLAZ, 2013; HUANG et al., 2015; PEIXOTO; SAGE, 2017; TANG; LI; YANG, 2015; VERISSIMO et al., 2020). Este cenário associado a expansão agrícola,

demanda maior agilidade dos programas de melhoramento para liberação de novos genótipos.

O melhoramento genético da cana-de-açúcar compreende várias etapas de seleção, sendo necessário cerca de 13 anos para a obtenção de uma nova cultivar (BARBOSA et al., 2012; SHANTHI; HERMAPRABHA; ALARMELU, 2011). Além disso, considerando as características genéticas da cana-de-açúcar e modelo de cultivo semiperene, o melhoramento genético necessita de longos ciclos de seleção e testes experimentais, sendo um processo oneroso com alta demanda de mão de obra e custo (BARBOSA et al., 2012). O rendimento da cana-de-açúcar no Brasil teve um incremento superior a 60% nas últimas cinco décadas, principalmente pelo uso de novas variedades, no entanto, este aumento está estagnado a alguns anos, o que gera uma demanda nos programas de melhoramento para obtenção de novos genótipos em menor tempo, com adaptações específicas principalmente para restrições ambientais (YADAV et al., 2020).

Ao longo do tempo os programas de melhoramento objetivaram a seleção de genótipos com alto desempenho produtivo, com adaptabilidade a condições ambientais favoráveis, culminando em baixos níveis de tolerância a estresses abióticos, no entanto, nos últimos anos diversos esforços tem sido direcionados para o aumento da tolerância aos principais estresses que afetam a agricultura (GILLIHAM; ABLE; ROY, 2017). Para isso, os principais desafios estão acerca do entendimento dos mecanismos de tolerância, ferramentas de avaliação de alta escala, metodologias para condução de experimentos com estresse, definição de caracteres alvo e estratégias de seleção de genótipos superiores (FERREIRA et al., 2017).

A liberação de uma nova variedade de cana-de-açúcar em menor espaço de tempo tem sido buscada por diversos programas de melhoramento, direcionando-se esforços principalmente em seleção precoce e redução do número de ciclos seletivos (SANTCHURN; BADALOO, 2020). Neste contexto, a seleção precoce direcionada para as fases iniciais de desenvolvimento proporcionam avanços substanciais na redução de tempo e custo. Especificamente para estresses abióticos, estudos demonstram a correlação genética da fase inicial de desenvolvimento com fase adulta para caracteres de tolerância, como déficit hídrico em soja (PEIRONE et al., 2018) e em trigo (DODIG et al., 2015), bem como para estresse por frio em sorgo (PARRA-LONDONO et al., 2018) e em arroz (PRADHAN

et al., 2016), aumentando o ganho genético através da redução do tempo de seleção.

Uma das estratégias para acelerar o melhoramento genético é realizar a seleção precoce em ambiente controlado, adotando técnicas de screening nas fases iniciais de seleção para direcionar os ensaios de campo. Estes testes permitem o controle das condições ambientais, contornando os problemas de variabilidade quanto a frequência e intensidade de estresses para condições de campo. Na fase inicial de desenvolvimento é possível avaliar um número maior de indivíduos em menor espaço físico, tornando-se aplicável para metodologias de condução em ambiente controlado. Neste contexto, metodologias de condução experimental, visando a fenotipagem e seleção em ambiente controlado têm avançado substancialmente nos últimos anos, visando maior controle das condições ambientais e acelerar as fases de seleção (WATSON et al., 2018). Além disso, em ambiente controlado as técnicas de automação para fenotipagem de alto rendimento proporcionam a aquisição de um volume extenso de dados, gerando informações relevantes quanto à variabilidade genética de populações em condições de estresse (HONSDORF et al., 2014; NEGIN; MOSHELION, 2017; PEIRONE et al., 2018).

Diversos estudos foram conduzidos em ambiente controlado, avaliando caracteres fisiológicos e biométricos para tolerância ao déficit hídrico (SILVA et al., 2012; DINH et al., 2019; DU et al., 1996; GRAÇA et al., 2010; JANGPROMMA et al., 2012; KHONGHINTAISONG et al., 2018; MACHADO et al., 2009; RIBEIRO et al., 2013; ZHAO; GLAZ; COMSTOCK, 2013), bem como para tolerância ao frio (DU; NOSE; WASANO, 1999; FRIESEN et al., 2014; HALE et al., 2017; HUANG et al., 2015; KAR et al., 2019; LI et al., 2018; SUN et al., 2017; TANG; LI; YANG, 2015; WANG et al., 2016), no entanto, a maior parte destes estudos se limita a um número reduzido de genótipos e sem a validação com resultados de campo.

A inclusão de estratégias de seleção nas fases iniciais do melhoramento da cana-de-açúcar, considerando a tolerância a estresses abióticos como fator de seleção, poderá aumentar a frequência de indivíduos tolerantes nas populações em fases subsequentes, contribuindo para a obtenção de genótipos com maior adaptação a condições ambientais restritivas. Neste sentido, o objetivo geral deste trabalho foi desenvolver e validar metodologias para seleção precoce em cana-de-açúcar visando a tolerância ao frio e ao déficit hídrico, tendo como objetivos específicos: 1) avaliar famílias de cana-de-açúcar sob estresse de frio e déficit

hídrico na fase precoce em ambiente controlado; 2) validar os resultados da fase precoce com a tolerância ao frio e ao déficit hídrico sob estresse em condição de campo; 3) avaliar a eficiência da seleção precoce para tolerância ao frio e ao déficit hídrico em famílias de cana-de-açúcar; 4) estimar parâmetros genéticos de variáveis fisiológicas e biométricas em famílias de cana-de-açúcar para tolerância ao frio e para tolerância ao déficit hídrico; 5) selecionar famílias de cana-de-açúcar com maiores níveis de tolerância ao frio e tolerância ao déficit hídrico.

## 1.1 REFERÊNCIAS

BARBOSA, M. H. P.; RESENDE, M. D. V.; DIAS, L. A. DOS S.; BARBOSA, G. V. DE S.; OLIVEIRA, R. A. DE; PETERNELLI, L. A.; DAROS, E. Genetic improvement of sugar cane for bioenergy: the brazilian experience in network research with RIDESA. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v. 12, p. 87–98, 2012.

BARTELS, D.; SUNKAR, R. Drought and salt tolerance in plants. **Critical Reviews in Plant Sciences**, v. 24, n. 1, p. 23–58, 2005.

BASNAYAKE, J.; JACKSON, P. A.; INMAN-BAMBER, N. G.; LAKSHMANAN, P. Sugarcane for water-limited environments. Genetic variation in cane yield and sugar content in response to water stress. **Journal of Experimental Botany**, v. 63, n. 2, p. 6023–6033, 2012.

BASNAYAKE, J.; JACKSON, P. A.; INMAN-BAMBER, N. G.; LAKSHMANAN, P. Sugarcane for water-limited environments. Variation in stomatal conductance and its genetic correlation with crop productivity. **Journal of Experimental Botany**, v. 66, n. 13, p. 3945–3958, 2015.

COMINELLI, E.; CONTI, L.; TONELLI, C.; GALBIATI, M. Challenges and perspectives to improve crop drought and salinity tolerance. **New Biotechnology**, v. 30, n. 4, p. 355–361, 2013.

CONAB. **Acompanhamento da Safra Brasileira de cana de açúcar**. Safra 2018/19, Brasília. v.5, n.4, p. 75, 2019.

DODIG, D.; ZORIĆ, M.; JOVIĆ, M.; KANDIĆ, V.; STANISAVLJEVIĆ, R.; ŠURLAN-MOMIROVIĆ, G. Wheat seedlings growth response to water deficiency and how it correlates with adult plant tolerance to drought. **Journal of Agricultural Science**, v. 153, n. 3, p. 466–480, 2015.

DINH, T. H.; TAKARAGAWA, H.; WATANABE, K.; NAKABARU, M.; KAWAMITSU, Y. Leaf photosynthesis response to change of soil moisture content in sugarcane. **Sugar Tech**, v. 21, n. 6, p. 949–958, 2019.

DU, Y. C.; KAWAMITSU, Y.; NOSE, A.; HIYANE, S.; MURAYAMA, S.; WASANO, K.; UCHIDA, Y. Effects of water stress on carbon exchange rate and activities of photosynthetic enzymes in leaves of sugarcane (*Saccharum* sp.). **Australian Journal of Plant Physiology**, v. 23, n. 6, p. 719–726, 1996.

DU, Y. C.; NOSE, A.; WASANO, K. Effects of chilling temperature on photosynthetic rates, photosynthetic enzyme activities and metabolite levels in leaves of three sugarcane species. **Plant, Cell and Environment**, v. 22, n. 3, p. 317–324, 1999.

EDMÉ, S. J.; GLAZ, B. S. Field response of sugarcane genotypes to freeze stress with genotype x environment effects on quality traits. **Journal of Crop Improvement**, v. 27, n. 1, p. 1–30, 2013.

EGGLESTON, G.; LEGENDRE, B.; TEW, T. Indicators of freeze-damaged sugarcane varieties which can predict processing problems. **Food Chemistry**, v. 87, n. 1, p. 119–133, 2004.

EREMINA, M.; ROZHON, W.; POPPENBERGER, B. Hormonal control of cold stress responses in plants. **Cellular and Molecular Life Sciences**, v. 73, n. 4, p. 797–810, 2016.

FAOSTAT. **Food And Agricultural Commodities Production**. 2018. Disponível em: <<http://faostat.fao.org/DesktopDefault.aspx?PageID=339&lang=en>>. Acessado em março de 2020

FERREIRA, T. H. S.; TSUNADA, M. S.; BASSI, D.; ARAÚJO, P.; MATTIELLO, L.; GUIDELLI, G. V.; RIGHETTO, G. L.; GONÇALVES, V. R.; LAKSHMANAN, P.; MENOSSI, M. Sugarcane water stress tolerance mechanisms and its implications on developing biotechnology solutions. **Frontiers in Plant Science**, v. 8, p. 1–18, 2017.

FRIESEN, P. C.; PEIXOTO, M. M.; BUSCH, F. A.; JOHNSON, D. C.; SAGE, R. F. Chilling and frost tolerance in *Miscanthus* and *Saccharum* genotypes bred for cool temperate climates. **Journal of Experimental Botany**, v. 65, n. 13, p. 3749–3758, 2014.

FÜRSTAUER, L.; WEISZMANN, J.; WECKWERTH, W.; NÄGELE, T. Dynamics of plant metabolism during cold acclimation. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 20, n. 21, 2019.

GILLIHAM, M.; ABLE, J. A.; ROY, S. J. Translating knowledge about abiotic stress tolerance to breeding programmes. **Plant Journal**, v. 90, n. 5, p. 898–917, 2017.

GRAÇA, J. P. DA; RODRIGUES, F. A.; FARIAS, J. R. B.; OLIVEIRA, M. C. N. DE; HOFFMANN-CAMPO, C. B.; ZINGARETTI, S. M. Physiological parameters in sugarcane cultivars submitted to water deficit. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, v. 22, n. 3, p. 189–197, 2010.

HALE, A. L.; VIATOR, R. P.; KIMBENG, C.; VEREMIS, J. C. Use of artificially-induced freezing temperatures to identify freeze tolerance in above-ground buds of *Saccharum* and *Erianthus* accessions. **Euphytica**, v. 213, n. 2, 2017.

HEMAPRABHA, G.; SWAPNA, S.; LAVANYA, D. L.; SAJITHA, B.; VENKATARAMANA, S. Evaluation of drought tolerance potential of elite genotypes and progenies of sugarcane (*Saccharum* sp. hybrids). **Sugar Tech**, v. 15, n. 1, p. 9–16, 2013.

HONSDORF, N.; MARCH, T. J.; BERGER, B.; TESTER, M.; PILLEN, K. High-throughput phenotyping to detect drought tolerance QTL in wild barley introgression lines. **PLoS ONE**, v. 9, n. 5, 2014.

HUANG, X.; CHEN, M. H.; YANG, L. T.; LI, Y. R.; WU, J. M. Effects of exogenous abscisic acid on cell membrane and endogenous hormone contents in leaves of sugarcane seedlings under cold stress. **Sugar Tech**, v. 17, n. 1, p. 59–64, 2015.

INMAN-BAMBER, N. G.; LAKSHMANAN, P.; PARK, S. Sugarcane for water-limited environments: Theoretical assessment of suitable traits. **Field Crops Research**, v. 134, p. 95–104, 2012.

JANGPROMMA, N.; THAMMASIRIRAK, S.; JAISIL, P.; SONGSRI, P. Effects of drought and recovery from drought stress on above ground and root growth, and water use efficiency in sugarcane (*Saccharum officinarum* L.). **Australian Journal of Crop Science**, v. 6, n. 8, p. 1298–1304, 2012.

KAR, S.; ZHANG, N.; NAKASHIMA, T.; VILLANUEVA-MORALES, A.; STEWART, J. R.; SACKS, E. J.; TERAJIMA, Y.; YAMADA, T. *Saccharum* × *Miscanthus* intergeneric hybrids (miscanes) exhibit greater chilling tolerance of C4 photosynthesis and postchilling recovery than sugarcane (*Saccharum* spp. hybrids). **GCB Bioenergy**, v. 11, n. 11, p. 1318–1333, 2019.

KHONGHINTAISONG, J.; SONGSRI, P.; TOOMSAN, B.; JONGRUNGKLANG, N. Rooting and physiological trait responses to early drought stress of sugarcane cultivars. **Sugar Tech**, v. 20, n. 4, p. 396–406, 2018.

LEGENDRE, B.; TEW, T.; HALE, A. L.; BIRKETT, G.; EGGLESTON, G.; DUET, M.; STEIN, J. Stalk cold tolerance of commercial and candidate varieties during the 2010-2011 harvest. **Journal American Society of Sugar Cane Technologists**, v. 30, p. 148–156, 2011.

LI, S. L.; LI, Z. G.; YANG, L. T.; LI, Y. R.; HE, Z. L. Differential effects of cold stress on chloroplasts structures and photosynthetic characteristics in cold-sensitive and cold-tolerant cultivars of sugarcane. **Sugar Tech**, v. 20, n. 1, p. 11–20, 2018.

LIU, J. et al. Growth and yield of sugarcane genotypes are strongly correlated across irrigated and rainfed environments. **Field Crops Research**, v. 196, p. 418–425, 2016.

MACHADO, R. S.; RIBEIRO, R. V.; MARCHIORI, P. E. R.; MACHADO, D. F. S. P.; MACHADO, E. C.; LANDELL, M. G. DE A. Respostas biométricas e fisiológicas ao déficit hídrico em cana-de-açúcar em diferentes fases fenológicas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 44, n. 12, p. 1575–1582, 2009.

NEGIN, B.; MOSHELION, M. The advantages of functional phenotyping in pre-field screening for drought-tolerant crops. **Functional Plant Biology**, v. 44, n. 1, p. 107–118, 2017.

PARRA-LONDONO, S.; FIEDLER, K.; KAVKA, M.; SAMANS, B.; WIECKHORST, S.; ZACHARIAS, A.; UPTMOOR, R. Genetic dissection of early-season cold tolerance in sorghum: genome-wide association studies for seedling emergence and survival under field and controlled environment conditions. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 131, n. 3, p. 581–595, 2018.

PEIRONE, L. S.; PEREYRA IRUJO, G. A.; BOLTON, A.; ERREGUERENA, I.; AGUIRREZÁBAL, L. A. N. Assessing the efficiency of phenotyping early traits in a greenhouse automated platform for predicting drought tolerance of soybean in the field. **Frontiers in Plant Science**, v. 9, p. 1–14, 2018.

PEIXOTO, M. DE M.; SAGE, R. F. Comparative photosynthetic responses in upland and lowland sugarcane cultivars grown in cool and warm conditions. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 40, n. 4, p. 829–839, 2017.

PRADHAN, S. K.; NAYAK, D. K.; GURU, M.; PANDIT, E.; DAS, S.; BARIK, S. R.; MOHANTY, S. P.; ANANDAN, A. Screening and classification of genotypes for seedling-stage chilling stress tolerance in rice and validation of the trait using SSR markers. **Plant Genetic Resources: Characterisation and Utilisation**, v. 14, n. 3, p. 173–182, 2016.

RASHEED, R.; WAHID, A.; FAROOQ, M.; HUSSAIN, I.; BASRA, S. M. A. Role of proline and glycinebetaine pretreatments in improving heat tolerance of sprouting sugarcane (*Saccharum* sp.) buds. **Plant Growth Regulation**, v. 65, n. 1, p. 35–45, 2011.

RIBEIRO, R. V.; MACHADO, R. S.; MACHADO, E. C.; MACHADO, D. F. S. P.; MAGALHÃES FILHO, J. R.; LANDELL, M. G. A. Revealing drought-resistance and productive patterns in sugarcane genotypes by evaluating both physiological responses and stalk yield. **Experimental Agriculture**, v. 49, n. 2, p. 212–224, 2013.

SANTCHURN, D.; BADALOO, M. G. H. Shortening the sugarcane breeding cycle at early selection stages and relevance of selection in ratoons. **Journal of Crop Improvement**, p. 1–20, 2020.

SHANTHI, R. M.; HERMAPRABHA, G.; ALARMELU, S. An overview on the selection strategies in sugarcane breeding programmes. **Journal of Sugarcane Research**, v. 1, p. 27–37, 2011.

SHI, Y.; DING, Y.; YANG, S. Molecular regulation of cbf signaling in cold acclimation. **Trends in Plant Science**, v. 23, n. 7, p. 623–637, 2018.

SILVA, M. DE A.; SOARES, R. A. B.; LANDELL, M. G. DE A.; CAMPANA, M. P. Agronomic performance of sugarcane families in response to water stress. **Bragantia**, v. 67, n. 3, p. 655–661, 2008.

SILVA, P. P.; SOARES, L.; COSTA, J. G.; VIANA, L. S.; DE ANDRADE, J. C. F.; GONÇALVES, E. R.; SANTOS, J. M.; BARBOSA, G. V. S.; NASCIMENTO, V. X.; TODARO, A. R.; RIFFEL, A.; GROSSI-DE-SA, M. F.; BARBOSA, M. H. P.; SANT'ANA, A. E. G.; RAMALHO NETO, C. E. Path analysis for selection of drought tolerant sugarcane genotypes through physiological components. **Industrial Crops and Products**, v. 37, n. 1, p. 11–19, 2012.

SUN, B.; LIU, G. L.; PHAN, T. T.; YANG, L. T.; LI, Y. R.; XING, Y. X. Effects of cold stress on root growth and physiological metabolisms in seedlings of different sugarcane varieties. **Sugar Tech**, v. 19, n. 2, p. 165–175, 2017.

TANG, S.; LI, Y.; YANG, L. Evaluation of cold tolerance and photosynthetic characteristics in different sugarcane genotypes. **Journal of Global Biosciences**, v. 4, n. 6, p. 2459–2467, 2015.

VERISSIMO, M. A. A.; AZEREDO, A. A. C.; SILVA, S. D. DOS A.; BRASILEIRO, B. P.; BESPALHOK FILHO, J. C.; DAROS, E.; OLIVEIRA, R. A. Selection of sugarcane families and clones under cold stress. **Ciencia Rural**, v. 50, n. 1, p. 1–12, 2020.

WANG, Z.; CHEN, S.; WANG, X.; HE, L.; LI, F. Response to low temperature and evaluation on cold tolerance of sugarcane at seedling stage. **Agricultural Basic Science and Technology**, v. 17, n. 2, p. 256–261, 2016.

WATSON, A. et al. Speed breeding is a powerful tool to accelerate crop research and breeding. **Nature Plants**, v. 4, n. 1, p. 23–29, 2018.

YADAV, S.; JACKSON, P.; WEI, X.; ROSS, E. M.; AITKEN, K.; DEOMANO, E.; ATKIN, F.; HAYES, B. J.; VOSS-FELS, K. P. Accelerating genetic gain in sugarcane breeding using genomic selection. **Agronomy**, v. 10, n. 4, p. 1–21, 2020.

ZHANG, B. Q.; YANG, L. T.; LI, Y. R. Physiological and biochemical characteristics related to cold resistance in sugarcane. **Sugar Tech**, v. 17, n. 1, p. 49–58, 2015.

ZHAO, D.; GLAZ, B.; COMSTOCK, J. C. Sugarcane leaf photosynthesis and growth characters during development of water-deficit stress. **Crop Science**, v. 53, n. 3, p. 1066–1075, 2013.

## 2 CAPÍTULO I: SELEÇÃO PRECOCE PARA TOLERÂNCIA AO FRIO EM CANA-DE-AÇÚCAR

### RESUMO

O estresse por frio afeta a produtividade e limita a distribuição geográfica da cana-de-açúcar no mundo, sendo a seleção de genótipos tolerantes uma contribuição importante para superar este problema. Neste sentido, o objetivo deste trabalho foi desenvolver e validar uma metodologia para seleção em cana-de-açúcar visando tolerância ao frio. Foram avaliados caracteres fisiológicos e biométricos em 14 famílias de irmãos completos de cana-de-açúcar sob estresse de frio, para fase precoce em ambiente controlado e fase de validação em condição de campo. Estimou-se os componentes de variância e os valores genotípicos via modelos mistos (REML/BLUP), as correlações genéticas entre variáveis e fases, bem como o índice de coincidência para seleção e descarte de famílias em fase precoce. Foi observada variabilidade genética entre e dentro das famílias, destacando-se RB996962 x RB016916, RB996963 x RB92579 e RB867515 x RB92579 com valores genotípicos superiores para tolerância ao frio. Existe alta correlação genotípica das variáveis fisiológicas entre fase precoce e fase de validação. Foi observado maior eficiência para o descarte de 30% das famílias com valores genotípicos inferiores, sendo o índice de coincidência entre fases de seleção de 87,5%. A metodologia utilizada é eficiente para seleção precoce de famílias de cana-de-açúcar visando à tolerância ao frio, portanto, apresenta potencial para utilização nas primeiras fases do melhoramento genético.

Palavra-chave: *Saccharum* spp., estresse abiótico, melhoramento acelerado, estratégia de seleção, REML/BLUP.

## EARLY SELECTION FOR COLD TOLERANCE IN SUGARCANE

### ABSTRACT

Cold stress affects productivity and limits the geographical distribution of sugarcane in the world, being the selection of tolerant genotypes an important contribution to overcome this problem. In this sense, the objective of this work was to develop and validate a methodology for early selection of sugarcane aiming cold tolerance. Physiological and biometric characters were evaluated in fourteen full-sib sugarcane families under cold stress, for early phase in a controlled environment and validation phase in a field condition. The variance components and the genotypic values were estimated via mixed models (REML/BLUP), the genetic correlations between variables and phases, as well as the coincidence index for families selection and discard at an early stage. Genetic variability was observed between and within families, with emphasis on RB996962 x RB016916, RB996963 x RB92579 and RB867515 x RB92579 with higher genotypic values for cold tolerance. There is a high genotypic correlation of the physiological variables between the early phase and the validation phase. Greater efficiency was observed for the discard of 30% of families with lower genotypic values, with the coincidence index between selection phases being 87.5%. The methodology used is efficient for early selection of sugarcane families aiming cold tolerance, therefore, it has potential for use in the first stages of breeding.

Keywords: *Saccharum* spp., abiotic stress, speed-breeding, selection strategy, REML/BLUP.

## 2.1 INTRODUÇÃO

O estresse por frio é um dos principais fatores que reduzem a produtividade dos cultivos no mundo (CRAMER et al., 2011; JOHN et al., 2016). Baixas temperaturas e a formação de geadas ( $\leq 0^{\circ}\text{C}$ ) causam danos irreversíveis nos tecidos vegetais, sendo considerado um estresse severo que limita as práticas de manejo para manutenção da qualidade e produtividade (EDMÉ; GLAZ, 2013).

O cultivo de cana-de-açúcar está exposto a temperaturas baixas prejudiciais em mais de 25% dos principais países produtores (LEGENDRE et al., 2011), sendo um estresse comum em muitas regiões produtoras no mundo como Brasil, Louisiana, Índia, Austrália, Argentina e ocasionais na Flórida, México e Irã. É uma espécie adaptada ao clima tropical, com baixa tolerância aos estresses por frio, sendo que temperaturas entre  $-2,5$  a  $-5,0^{\circ}\text{C}$  causam a morte dos tecidos foliares (BRINHOLI, 1972), entre  $0,0$  e  $-2,2^{\circ}\text{C}$  provocam danos nas gemas terminais e danos letais no meristema apical e gemas laterais são observados com temperaturas entre  $-2,8$  e  $-3,9^{\circ}\text{C}$  (EDMÉ; GLAZ, 2013; HALE et al., 2016).

Os principais danos causados pelo estresse por frio são a redução do teor de clorofila e diminuição das taxas fotossintéticas, visto que em genótipos sensíveis estas reduções são mais acentuadas (ZHANG et al., 2015). Neste contexto, os componentes fotossintéticos e a membrana plasmática são os tecidos mais vulneráveis ao estresse pelo frio (LI et al., 2018), incluindo alterações nos complexos de pigmentos, estruturas dos cloroplastos destruídas, transporte de elétrons e atividades enzimáticas reduzidas (LU et al., 2013). Quando os tecidos do meristema apical e do colmo são danificados, ocorre proliferação de microrganismos e assim a degradação microbiana, química e enzimática de açúcares, causando escurecimento da parte interna do colmo, redução da pureza, diminuição do pH e aumento da acidez (EGGLESTON et al., 2004; LEGENDRE et al., 2011).

Considerando as características de danos irreversíveis e perdas acentuadas, a utilização de genótipos tolerantes é a medida mais eficaz para minimizar os efeitos negativos causados por estresse de frio (EDMÉ; GLAZ, 2013; HUANG et al., 2015; PEIXOTO; SAGE, 2017; TANG; LI; YANG, 2015; VERISSIMO et al., 2020). De modo geral, ao longo do tempo os programas de melhoramento concentraram esforços para seleção de genótipos com alto desempenho produtivo e adaptabilidade a condições ambientais favoráveis, culminando em baixos níveis de tolerância a estresses abióticos (GILLIHAM; ABLE; ROY, 2017). No entanto, devido a natureza

genética complexa e ciclo semiperene, o melhoramento genético da cana-de-açúcar necessita longos ciclos de seleção e testes experimentais, sendo um processo oneroso com alta demanda de mão de obra e custo (BARBOSA et al., 2012). Neste sentido, a seleção de famílias de cana-de-açúcar sob estresse por frio é indicada como ferramenta importante para a obtenção de genótipos com maior tolerância (KAR et al., 2019; VERISSIMO et al., 2018, 2020).

A redução dos gastos de tempo e onerosidade laboral dos programas de melhoramento de cana-de-açúcar têm sido enfatizada nos últimos anos, sendo a seleção precoce e a redução do número de fases de seleção os métodos mais destacados (SANTCHURN; BADALOO, 2020). Para seleção precoce, considerando a existência de correlação genética entre fase inicial de desenvolvimento e fase adulta, conforme reportado para sorgo (PARRA-LONDONO et al., 2018) e arroz (PRADHAN et al., 2016), é possível direcionar testes experimentais para fases precoces de desenvolvimento, permitindo a avaliação de um número maior de indivíduos em menor espaço físico, tornando-se aplicável para as etapas iniciais dos programas de melhoramento. Neste contexto, metodologias de condução experimental e seleção em ambiente controlado têm avançado substancialmente nos últimos anos, visando acelerar as fases de seleção e obter maior controle das condições ambientais (WATSON et al., 2018). Para isso, as condições controladas devem simular analogamente as condições naturais, considerando o período de aclimação, a intensidade e duração do estresse, os fatores principais que influenciam na tolerância a frio (KAZEMI-SHAHANDASHTI; MAALI-AMIRI, 2018).

Devido à sazonalidade de ocorrência, duração e intensidade de estresses abióticos em condições de campo, a simulação desse estresse em ambiente controlado é importante para padronização e validação de metodologias (PARRA-LONDONO et al., 2018; YU et al., 2004). Testes com a simulação de estresse por frio têm sido realizados em cana-de-açúcar (DU; NOSE; WASANO, 1999; FRIESEN et al., 2014; HALE et al., 2017; HUANG et al., 2015; KAR et al., 2019; LI et al., 2018; SUN et al., 2017; TANG; LI; YANG, 2015; WANG et al., 2016), no entanto, estes estudos limitam-se à avaliação de um número reduzido de genótipos. Neste sentido, o objetivo do presente trabalho consiste em desenvolver e validar uma metodologia para seleção precoce em cana-de-açúcar visando tolerância ao frio.

## 2.2 MATERIAIS E MÉTODOS

### 2.2.1 População

Foram utilizadas sementes botânicas de 14 famílias de irmãos completos de cana-de-açúcar da série RB18 (Republica Brasil, Ano 2018), obtidas a partir de hibridações realizadas na Estação de Floração e Cruzamento da Serra do Ouro, em Murici, Alagoas, pertencente à Universidade Federal de Alagoas (UFAL) (Tabela 1).

Tabela 1. Genitores utilizados para obtenção de cruzamentos biparentais de cana-de-açúcar para avaliação da tolerância ao frio.

♀		♂		♀		♂
RB996962	x	RB016916		RB965902	x	RB946903
RB016916	x	RB006970		RB946903	x	RB006970
RB975952	x	RB966229		RB966220	x	RB946903
RB867515	x	RB92579		RB006970	x	RB965902
RB996963	x	RB92579		BJ7504	x	RB835089
BJ7504	x	RB106802		RB835089	x	RB006655
SP70-1143	x	RB036088		RB006655	x	RB835089

♀: Genitor feminino; ♂: Genitor masculino

Após o beneficiamento das sementes, estas foram encaminhadas a estação experimental da Embrapa Clima Temperado, em Pelotas, RS. Para cada cruzamento, o total de sementes foi dividido em duas partes de 1,0 g cada, formando assim as populações nas diferentes fases e ambientes avaliados.

### 2.2.2 Fase precoce (<sub>PRE</sub>) em ambiente controlado – estresse simulado

Com uma das amostras de sementes, foi realizado o semeio no terceiro decêndio de abril de 2019, em bandejas de poliestireno preenchidas com substrato comercial marca Turfa Fertil®. Aos 10 dias após a semeadura (DAS), foi realizada a individualização das plântulas para tubetes de polietileno, preenchidos com o mesmo tipo de substrato. O período de desenvolvimento das plântulas, compreendido entre o semeio até os 70 dias, foi conduzido em casa de vegetação, com temperatura controlada e irrigação por aspersão automatizada (Figura 1).

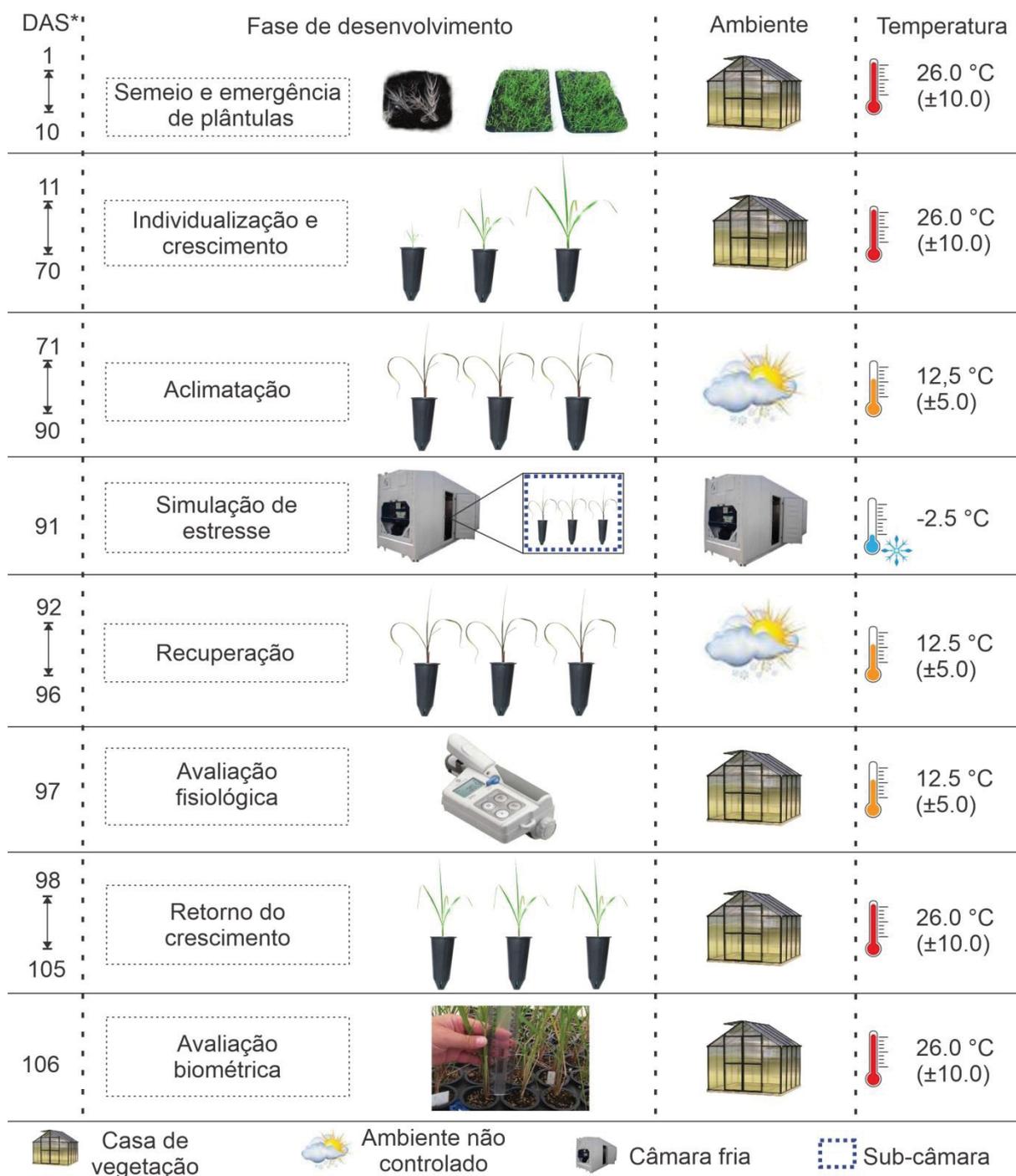


Figura 1. Fases de condução para seleção precoce de famílias de cana-de-açúcar simulando estresse por frio em ambiente controlado. \*DAS: dias após semeadura.

Após a fase de crescimento, as populações foram aclimatadas em ambiente não controlado por 20 dias, com temperaturas mínima, média e máxima de 5,0, 12,5 e 23,0 °C, respectivamente. Estas condições ambientais são importantes para aclimação das plantas, induzindo os mecanismos naturais de tolerância ao frio e evitando o efeito de “choque térmico” durante a simulação de estresse. Os dados de temperatura na casa de vegetação e no ambiente não controlado foram registrados

utilizando um sensor meteorológico data logger, marca Novus®, modelo LogBox-THT\_LCD, com intervalo de aquisição de 10 minutos, instalado sobre o dossel das plantas. A temperatura no interior da câmara de refrigeração foi monitorada utilizando três sensores termopares tipo K, constituídos de cromo e alumínio, posicionados no dossel das plantas. Estes sensores foram acoplados a um datalogger CR1000 com interface ao software PC200W (Campbell Scientific®), configurado para aquisição de dados em intervalo de 15 segundos.

As informações de temperatura registradas nos diferentes ambientes estão apresentadas na figura 2.

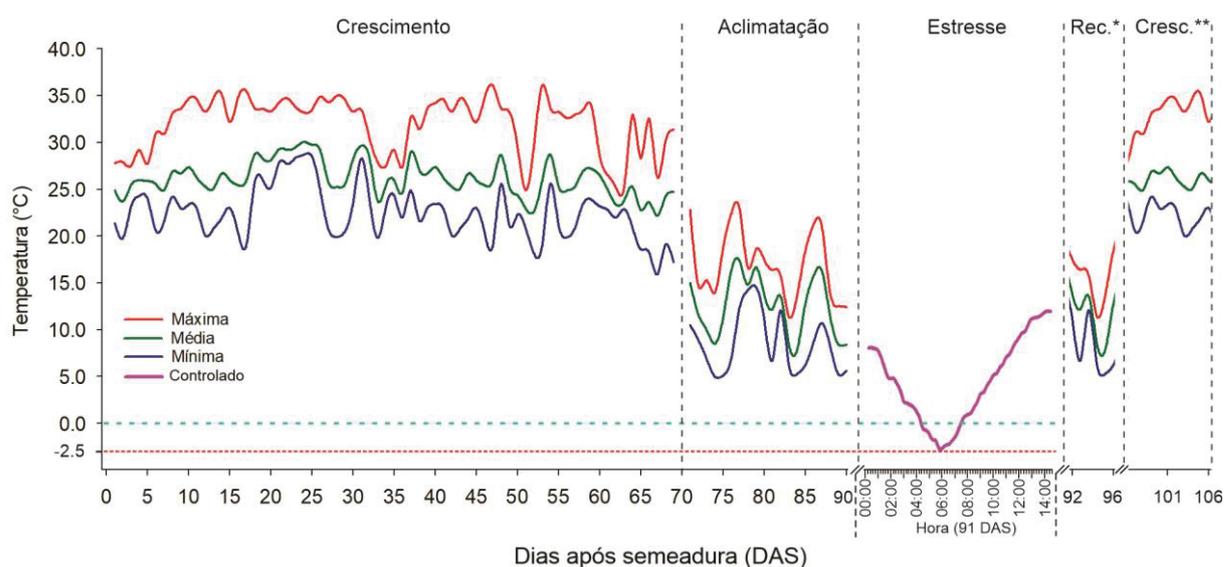


Figura 2. Temperatura mínima, média, máxima e controlada durante o período de crescimento, aclimação, estresse e recuperação para o screening precoce de famílias de cana-de-açúcar visando tolerância ao frio.

\*Rec.: recuperação pós-estresse; \*\*Cresc.: crescimento pós-recuperação.

Após o período de aclimação, foi realizada a simulação de estresse por frio em câmara de refrigeração, contendo as seguintes especificações: container Reefer 40 pés High Cube, com medidas internas de 2,29 m (largura) x 2,50 m (altura) x 11,55 m (comprimento), totalizando 66,1 m<sup>3</sup>, com isolamento interno de poliuretano, revestimento interno de aço inox e sistema de refrigeração Thermo King com motor trifásico 15 CV (380 V), com faixa operacional de temperatura entre +25,0°C a -25,0°C. No interior da câmara de refrigeração foi construída uma subcâmara, com dimensões de 1,0 m (largura) x 2,0 m (altura) x 10,0 m (comprimento), com estrutura de madeira e revestida com filme plástico de 200 µm. Esta estrutura tem

por objetivo promover a troca gradual de temperatura entre a câmara de refrigeração e o ambiente interno da subcâmara.

No dia 21/08/2019 (91 DAS), as populações foram transferidas para a câmara fria as 0:00 horas, alocando-se as plantas dentro da subcâmara, no delineamento de blocos casualizados com seis repetições, com parcela composta por nove plantas. Antes de iniciar a redução de temperatura, foi realizada a umidificação da superfície do dossel com borrifador manual para simular a formação de orvalho, seguido do fechamento da subcâmara.

A partir de 0:45 horas foi dado início a redução gradual na temperatura da câmara de refrigeração. Os testes foram conduzidos em ausência de luz e com taxa de resfriamento de 2,0°C por hora, controlado manualmente no display da câmara de refrigeração, até atingir - 2,5 °C as 6:00 horas, mantendo esta temperatura por 30 minutos, seguido do aumento gradual de temperatura na mesma escala. A umidade relativa do ar foi mantida a 85%  $\pm$ 5 durante a simulação do estresse. Após a câmara atingir a temperatura do ambiente externo as plantas foram conduzidas novamente em ambiente não controlado por cinco dias, compreendendo o período de recuperação pós-estresse. Após esta etapa, as populações foram conduzidas novamente em casa de vegetação por 10 dias para avaliação do retorno de crescimento.

Ao final do período de recuperação (97 DAS, 5 dias pós-estresse), foram realizadas as seguintes avaliações fisiológicas:

**1 - Teor de clorofila** ( $CLF_{PRE}$ , SPAD): avaliado no intervalo de 09:30 à 11:30 da manhã, na porção mediana da folha +1 em todas as plantas, com auxílio de um clorofilômetro portátil, modelo SPAD-502Plus, marca Konica Minolta ®;

**2 - Dano foliar** ( $DNF_{PRE}$ ): avaliação visual de danos nas folhas classificando-se como nota 1 (altamente tolerante) - plantas com ausência de sintomas de dano por congelamento, com folhas verdes e de aparência tenra; nota 2 (tolerante) – plantas com sintomas leves de murchamento das folhas; nota 3 (medianamente tolerante) - plantas com sintomas intermediários de morte celular e murchamento presente em todas folhas, com início de descoloração foliar, porém com ausência de folhas secas; nota 4 (sensível) – plantas com sintomas intensos de morte celular, folhas jovens secas e com enrolamento foliar; nota 5 (altamente sensível) – plantas com sintomas severos de dano foliar por congelamento, com completa desidratação e enrolamento de todas folhas (Figura 3);

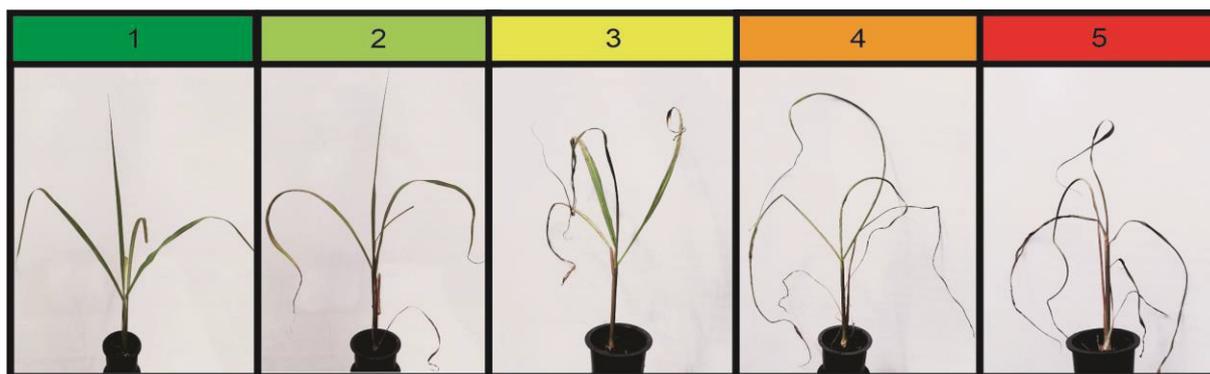


Figura 3. Escala de dano foliar por frio na fase inicial de desenvolvimento da cana-de-açúcar (Nota 1: altamente tolerante; 2: tolerante; 3: medianamente tolerante; 4: sensível; 5: altamente sensível).

**3 - Sobrevivência** ( $SBV_{PRE}$ ): classificação das plantas conforme nota de dano foliar, associando valor “1” para plantas com  $DNF_{PRE} \leq 4$  e valor “0” para plantas com  $DNF_{PRE} = 5$ .

Após as avaliações fisiológicas, foi realizada a poda drástica de todas as folhas, com corte no ponto de ligação com a bainha foliar, objetivando retirar todas as folhas secas. Aos 10 dias após esta poda (106 DAS) foi realizada a avaliação das seguintes variáveis biométricas:

**4 - Altura de planta** ( $ALT_{PRE}$ , cm): medida realizada da base da planta até a inserção da folha +1, utilizando uma régua graduada em milímetros;

**5 - Taxa de crescimento** ( $TXC_{PRE}$ ,  $\text{mm dia}^{-1}$ ): medida realizada a partir da inserção da folha +1 até o final do primórdio foliar de maior comprimento, expressa em milímetros por dia.

### 2.2.3 Fase de validação ( $VAL$ ) em condição de campo - estresse natural

O experimento foi conduzido na Estação Experimental da Embrapa Clima Temperado ( $31^{\circ}39'41''$  S,  $52^{\circ}27'30''$  O e altitude de 50 m) em condição de campo. Com a segunda amostra de sementes foi realizado o semeio no terceiro decêndio de setembro de 2018, em bandejas de poliestireno preenchidas com substrato comercial marca Turfa Fertil®. As plântulas foram produzidas em casa de vegetação, com temperatura controlada para  $28^{\circ}\text{C}$  e irrigação por aspersão automatizada. Aos 10 dias após a emergência das plântulas, foi realizada a individualização das mesmas para tubetes de polietileno, preenchidas com substrato. Após 75 dias de condução em ambiente controlado foi iniciado o período de aclimação em ambiente natural por 40 dias sob tela sombreada (50%),

terminado este período foi realizada a poda das folhas e transplante para o campo, no terceiro decêndio de janeiro de 2019.

A área utilizada estava em pousio e foi previamente preparada com dessecação química, uma aração e uma gradagem, realizando a correção de acidez do solo quatro meses antes do preparo, conforme análise química. As linhas de plantio foram feitas com sulcador a uma profundidade de 0,3 m, com espaçamento entre linhas de 1,4 m, realizando adubação de base no sulco com NPK (10-20-20) na dose de 600 kg ha<sup>-1</sup>, cobrindo com 0,2 m de solo. A implantação do experimento foi realizada no delineamento de blocos ao acaso com seis repetições, sendo a parcela experimental composta por uma linha de 4,5 m, com o transplante manual de nove plantas por parcela, espaçados 0,5 m entre si.

Para monitoramento das condições meteorológicas foram realizadas medições de temperatura mínima, média, máxima (°C) e umidade relativa do ar (%), utilizando um sensor meteorológico data logger, marca Novus®, modelo LogBox-THT\_LCD, com intervalo de aquisição de 10 minutos, instalado no centro do experimento com ajuste vertical semanal para manter na altura do dossel das plantas. Os dados de precipitação foram coletados junto a Estação Meteorológica Automática da Embrapa Clima Temperado, a uma distância de 3 km da área experimental.

A partir do mês de agosto de 2019, após a ocorrência de eventos de geada, foram realizadas as seguintes avaliações fisiológicas e biométricas:

**6 - Teor de clorofila** (CLF<sub>VAL</sub>, Índice SPAD): realizada no primeiro decêndio de agosto, com medida tomada no intervalo de 09:30 às 11:30 da manhã, realizada na porção mediana da folha +3 do colmo principal da touceira, com auxílio de um clorofilômetro portátil, modelo SPAD-502 Plus, marca Konica Minolta®;

**7 - Dano foliar** (DNF<sub>VAL</sub>): com a avaliação visual da proporção de dano por congelamento das folhas, realizada no terceiro decêndio de julho de 2019, por um único avaliador, classificando-se como (Figura 4): Nota 1 (Altamente tolerante) - plantas com todas folhas verdes; Nota 2 (Tolerante) - plantas com até 30% de folhas secas; Nota 3 (Medianamente tolerante) - plantas com até 60% de folhas secas; Nota 4 (Sensível) - plantas com até 90% de folhas secas; Nota 5 (Altamente sensível) - plantas com todas as folhas secas (Figura 4);

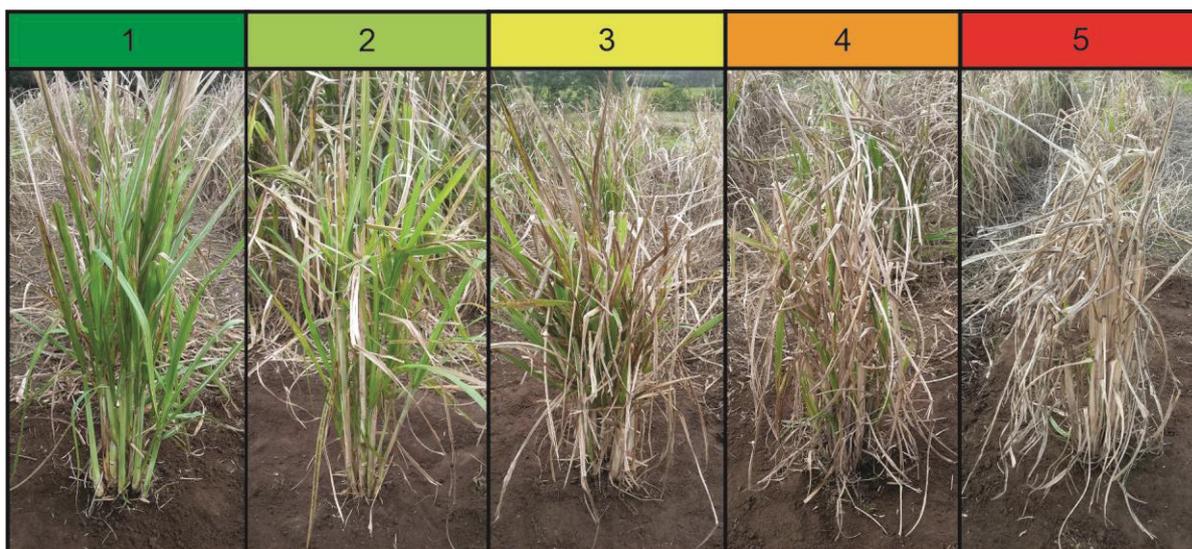


Figura 4. Escala visual de dano foliar por frio em cana-de-açúcar (Nota 1: Altamente tolerante; 2: Tolerante; 3: Medianamente tolerante; 4: Sensível; 5: Altamente sensível). Fonte: Harter et al. (2020).

**8 - Sobrevivência** ( $SBV_{VAL}$ ): classificação das plantas conforme nota de dano foliar, associando valor “1” para plantas com  $DNF_{VAL} \leq 4$  e valor “0” para plantas com  $DNF_{VAL} = 5$ ;

**9 - Dano no colmo** ( $DNC_{VAL}$ , %), medida realizada com o corte longitudinal do colmo e medição do comprimento do dano (escurecimento) ao longo do colmo a partir do meristema apical, utilizando uma régua graduada em milímetros, expressa em proporção relativa ao comprimento total do colmo;

**10 - Número de colmos por touceira** ( $NCT_{VAL}$ ), realizada a partir da contagem do número total de colmos por touceira com no mínimo a folha +3 expandida;

**11 - Diâmetro do colmo** ( $DIA_{VAL}$ , cm), medida realizada em três colmos por touceira, mensurado no terceiro entrenó acima da superfície do solo, utilizando um paquímetro digital;

**12 - Altura de planta** ( $ALT_{VAL}$ , cm), medida realizada em três colmos por touceira, a partir da base do colmo até a inserção da folha +1 (Dewlap), utilizando uma régua graduada em centímetros;

**13 - Massa média do colmo** ( $MMC_{VAL}$ , kg), estimada adaptando-se a metodologia proposta por Chang e Milligan (1992) e considerando o volume de um colmo igual ao de um cilindro com densidade de  $1 \text{ g cm}^{-3}$ :

$$MMC_{VAL} = \left[ \pi \times \left( \frac{DIA_{VAL}}{2} \right)^2 \times ALT_{VAL} \right] \div 1000$$

Onde “ $\pi$ ”: constante geométrica para estimar área do cilindro;

**14 - Toneladas de colmos por ha** ( $TCH_{VAL}$ ,  $Mg\ ha^{-1}$ ), estimada para cada indivíduo conforme adaptação utilizada para determinação de  $MMC_{VAL}$ :

$$TCH_{VAL} = [(MMC_{VAL} \times ALT_{VAL} \times NCT_{VAL}) \div A] \div 100$$

Onde “A”: área da parcela ( $1,4m \times 0,5m = 0,7\ m^2$ );

**15 - Teor de sólidos solúveis totais do caldo** ( $BRIX_{VAL}$ , °Brix), medida realizada no terço médio de três colmos por touceira, com auxílio de um calador para extração do caldo e leitura em refratômetro digital portátil, marca Atago®, modelo Pal-1, com compensação automática da temperatura;

**16 - Toneladas de Brix por ha** ( $TBH_{VAL}$ ,  $Mg\ ha^{-1}$ ): estimado a partir  $TCH_{VAL}$  e  $BRIX_{VAL}$ , sendo:

$$TBH_{VAL} = (TCH_{VAL} \times BRIX_{VAL}) \div 100$$

#### 2.2.4 Análise de dados

Os gráficos da análise descritiva foram elaborados com auxílio do software SigmaPlot®, versão 14.0. As classes de dano foliar foram associadas a valores conforme nível de tolerância, sendo a classe 1 (altamente tolerante) com valor 1, sucessivamente, até classe 5 (altamente sensível) com valor 5.

Os componentes da variância e os parâmetros genéticos foram estimados pela máxima verossimilhança restrita (REML) e os valores genotípicos das progênies pelo melhor preditor linear não viesado (BLUP). Os dados foram analisados via modelos mistos, com o auxílio do programa SELEGEN REML/BLUP (RESENDE, 2016). Foi utilizado o modelo estatístico associado à avaliação de famílias de irmãos completos obtidas sob cruzamento dialélico desbalanceado, genitores não aparentados e no delineamento de blocos ao acaso:

$$y = Xr + Za + Wp + Td + e$$

Em que “y” é o vetor de dados; “r” é o vetor dos efeitos de repetição (assumidos como fixos) somados à média geral; “a” é o vetor dos efeitos genéticos aditivos individuais (assumidos como aleatórios); “p” é o vetor dos efeitos de parcela (aleatórios); “d” vetor dos efeitos genéticos de dominância associado a famílias de irmãos germanos (assumidos como aleatórios); “e” é o vetor de erros ou resíduos (aleatórios). As letras maiúsculas representam as matrizes de incidência para os referidos efeitos. Os parâmetros genéticos foram estimados conforme descrito por Rodrigues et al. (2017).

A associação entre caracteres foi estimada via correlação de Spearman utilizando os valores genotípicos (médias de famílias estimadas via BLUP), sendo a matriz de correlação avaliada através da rede de correlações, elaborada com pacote estatístico “qgraph” (EPSKAMP et al., 2012) no ambiente estatístico R (R CORE TEAM, 2020).

A eficiência da seleção precoce foi validada a partir dos resultados da experimentação de campo, simulando três taxas de seleção (30, 50 e 70%). Após a definição do conjunto de famílias selecionadas (S) e descartadas (D) em cada taxa de seleção, foi utilizada uma matriz de confusão entre a fase precoce e fase de validação para estimativa do índice de coincidência (IC) de seleção ( $IC_S$ ), descarte ( $IC_D$ ) e geral ( $IC_G$ ), adaptando-se a metodologia utilizada por Peternelli et al. (2018), conforme tabela 2.

Tabela 2. Esquema da matriz de confusão utilizada para determinação dos índices de coincidência.

Seleção		Fase de validação		Total
		S	D	
Fase precoce	S*	A	B	$\sum_{AB}$
	D	C	D	$\sum_{CD}$
Total		$\sum_{AC}$	$\sum_{BD}$	$\sum_{ABCD}$

\*S: Famílias selecionadas; D: Famílias descartadas; A: Famílias selecionadas na fase precoce e na fase de validação; B: Famílias selecionadas na fase precoce e descartadas na fase de validação; C: Famílias descartadas na fase precoce e selecionadas na fase de validação; D: Famílias descartadas na fase precoce e na fase de validação;  $\sum$ : Somatório.

A estimativa dos IC foi determinada utilizando as informações geradas a partir da matriz de confusão, sendo:

$$IC_S (\%) = \frac{A}{\sum_{AB}} \times 100$$

$$IC_D (\%) = \frac{D}{\sum_{CD}} \times 100$$

$$IC_G (\%) = \frac{A + D}{\sum_{ABCD}} \times 100$$

## 2.3 RESULTADOS E DISCUSSÕES

As condições meteorológicas durante a condução do experimento de campo foram caracterizadas por baixas temperaturas e ocorrência de geadas nos meses de maio, junho, julho e agosto (Figura 5).

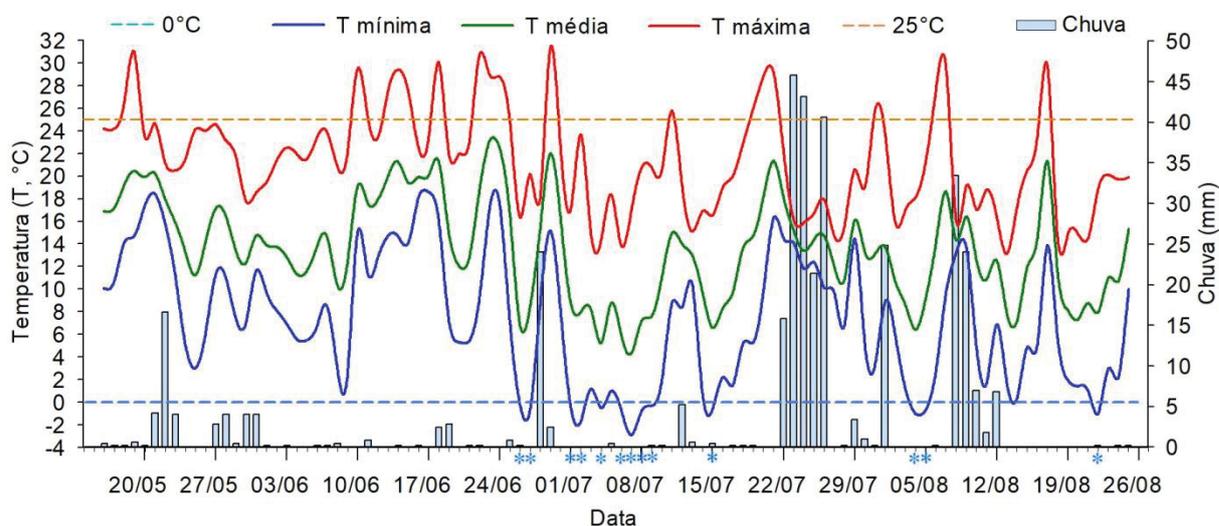


Figura 5. Condições meteorológicas diárias de temperatura (°C) mínima, média, máxima e chuva (mm) para o período de maio a agosto de 2019 observadas em condição de campo, Pelotas, RS. \*Dias com temperatura mínima  $\leq 0^{\circ}\text{C}$  (geada).

Foram observados 13 dias com temperatura negativa (geada) em condição de campo, com mínima absoluta de  $-2,9^{\circ}\text{C}$  no mês de julho. Nos meses de maio a agosto registrou-se 21 dias com temperatura mínima entre  $0$  e  $5^{\circ}\text{C}$ , possibilitando a ocorrência de danos por frio na cana-de-açúcar (EDMÉ; GLAZ, 2013). Além dos eventos de geada, entre julho e agosto também foram registradas temperaturas máximas próximas a  $30^{\circ}\text{C}$  e volumes de chuva expressivos, proporcionando condições de intensificação dos danos através da ação microbiana após a ocorrência de geadas (EGGLESTON; LEGENDRE; TEW, 2004). Consequentemente, tais condições ambientais foram favoráveis para a avaliação da tolerância ao frio nas famílias de cana-de-açúcar em condição de campo (fase de validação), bem como, associar estes resultados com as informações obtidas em ambiente controlado (fase precoce).

Em ambas as fases de avaliação foi observada elevada variabilidade entre e dentro das famílias para dano foliar (DNF) e teor de clorofila (CLF) (Figura 6). Na fase precoce, as famílias RB016916 x RB006970 e RB966962 x RB016916 apresentaram 70% da população com baixo nível de dano foliar (nota 1 e 2). Nesta variável em condição de campo, as famílias RB835089 x RB006655, RB016916 x

RB006970 e RB996963 x RB92579 mostraram maior nível de tolerância, com mais de 65% dos indivíduos classificados como tolerantes.

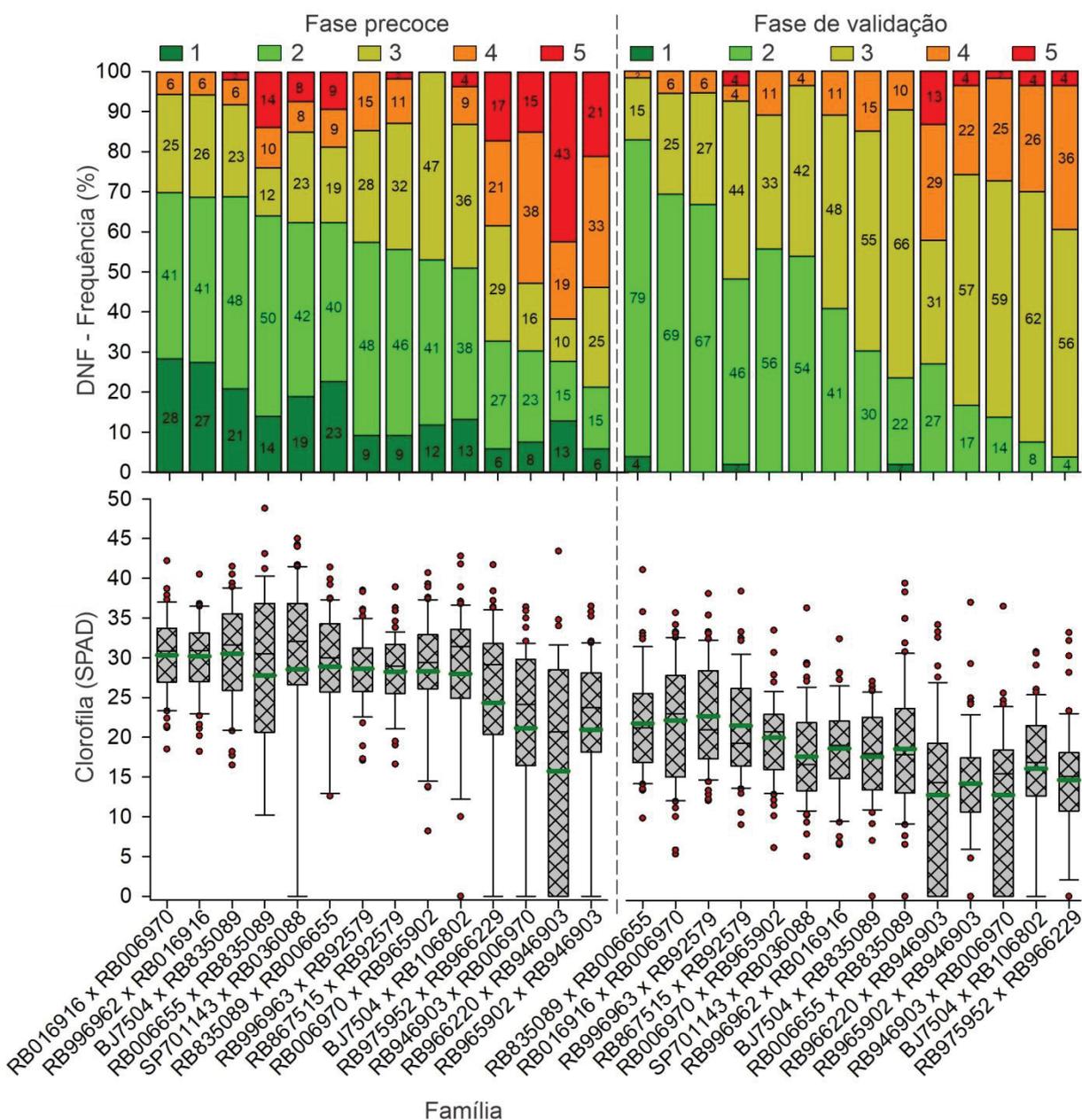


Figura 6. Frequência de tolerância por classe de dano foliar (DNF, Nota 1: altamente tolerante; 2: tolerante; 3: medianamente tolerante; 4: sensível; 5: altamente sensível) e distribuição dos teores de clorofila (CLF, SPAD) em 14 famílias de cana-de-açúcar avaliadas sob estresse por frio em ambiente controlado na fase precoce (PRE) e em condição de campo na fase de validação (VAL). — média.

Para CLF, maior parte das famílias apresentou mediana acima de 28,0 SPAD na fase precoce e 15 SPAD na fase de validação, exceto RB966220 x RB946903, RB946903 x RB006970 e RB965902 x RB946903 em ambos os ambientes, assim como RB975952 x RB966229 na fase de validação, apresentaram

menor nível de tolerância ao frio. A avaliação do teor de clorofila tem sido utilizada em estudos com estresse por frio em cana-de-açúcar, representando uma variável importante para caracterização de diferentes níveis de tolerância (KAR et al., 2019; LI et al., 2018; TANG; LI; YANG, 2015; ZHANG et al., 2015).

As estimativas de herdabilidade no sentido restrito ( $h_a^2$ ) foram superiores a 0,25 para todas as variáveis avaliadas na fase precoce, com destaque para altura de planta ( $ALT_{PRE}$ ) e taxa de crescimento ( $TXC_{PRE}$ ), com valores de 0,37 e 0,36, respectivamente (Tabela 3).

Tabela 3. Componentes da variância por meio da máxima verossimilhança restrita (REML) para variáveis fisiológicas e biométricas de 14 famílias de cana-de-açúcar avaliadas sob estresse por frio em ambiente controlado na fase precoce ( $PRE$ ) e em condição de campo na fase de validação ( $VAL$ ).

Parâmetro*	$\sigma_a^2$	$\sigma_d^2$	$\sigma_e^2$	$h_a^2$	$\pm {}^1DP$	$\sigma_p^2$	$h_{mf}^2$	CVg(%)	AC <sub>fam</sub>	Média
${}^2CLF_{PRE}$	25,75	0,14	60,98	0,26	$\pm 0,08$	13,01	0,78	13,53	0,88	26,66
$DNF_{PRE}$	0,37	0,00	0,72	0,28	$\pm 0,08$	0,19	0,76	16,40	0,87	2,65
$SBV_{PRE}$	0,02	0,00	0,05	0,26	$\pm 0,08$	0,01	0,79	11,59	0,89	0,90
$ALT_{PRE}$	14,45	0,05	19,83	0,37	$\pm 0,09$	7,28	0,84	35,95	0,92	7,50
$TXC_{PRE}$	0,28	0,00	0,39	0,36	$\pm 0,09$	0,14	0,83	34,68	0,91	1,08
$CLF_{VAL}$	15,42	0,38	40,71	0,24	$\pm 0,07$	8,09	0,78	16,02	0,88	17,76
$DNF_{VAL}$	0,16	0,06	0,30	0,28	$\pm 0,08$	0,14	0,89	13,47	0,94	2,81
$SBV_{VAL}$	0,00	0,00	0,02	0,08	$\pm 0,04$	0,00	0,61	3,12	0,78	0,98
$DNC_{VAL}$	9,30	0,06	24,32	0,23	$\pm 0,08$	4,71	0,73	35,54	0,85	6,11
$NCT_{VAL}$	0,79	0,07	14,69	0,05	$\pm 0,03$	0,46	0,50	6,71	0,71	10,15
$DIA_{VAL}$	0,01	0,01	0,14	0,07	$\pm 0,04$	0,01	0,71	4,77	0,84	2,32
$ALT_{VAL}$	81,83	0,49	266,16	0,22	$\pm 0,07$	41,41	0,82	9,32	0,90	69,08
$MMC_{VAL}$	0,00	0,00	0,02	0,01	$\pm 0,01$	0,00	0,68	12,03	0,82	0,31
$TCH_{VAL}$	2,34	40,57	829,91	0,00	$\pm 0,01$	41,74	0,66	13,57	0,82	47,62
$BRIX_{VAL}$	2,70	0,01	2,90	0,40	$\pm 0,10$	1,36	0,84	11,51	0,91	10,14
$TBH_{VAL}$	0,06	0,81	10,72	0,00	$\pm 0,01$	0,84	0,71	17,27	0,84	5,30

\*Variância genética aditiva ( $\sigma_a^2$ ) variância genética de dominância entre progênies de irmãos completos ( $\sigma_d^2$ ); variância residual entre parcelas ( $\sigma_e^2$ ); herdabilidade individual no sentido restrito – efeitos aditivos ( $h_a^2$ ); herdabilidade entre médias de progênies ( $h_{mf}^2$ ); variância genotípica entre famílias ( $\sigma_p^2$ ); coeficiente de variação genético (CVg) e acurácia seletiva entre famílias (AC<sub>fam</sub>). <sup>1</sup>DP: desvio padrão; <sup>2</sup>CLF: teor de clorofila (SPAD); DNF: Dano foliar; SBV: sobrevivência; ALT: altura de planta (cm); TXC: taxa de crescimento (mm dia<sup>-1</sup>); DNC: dano no colmo (%); NCT: número de colmos por touceira; DIA: diâmetro do colmo (cm); MMC: massa média do colmo (kg); TCH: toneladas de colmo por ha (Mg ha<sup>-1</sup>); BRIX: teor de sólidos solúveis totais (°Brix) TBH: toneladas de Brix por ha em (Mg ha<sup>-1</sup>).

As herdabilidades entre médias de famílias variaram de 0,76 a 0,84 na fase precoce e de 0,50 a 0,89 para fase de validação, sendo superiores aos demais coeficientes de herdabilidade para todas as características avaliadas. Estes resultados corroboram com demais estudos avaliando caracteres biométricos

(BARBOSA et al., 2014; OLIVEIRA et al., 2013) e de tolerância ao frio em famílias de cana-de-açúcar (VERISSIMO et al., 2018) e em eucalipto (MORAES et al., 2016). Isto indica que é possível realizar a seleção em nível de famílias, podendo-se combinar a seleção entre e dentro, bem como explorar as combinações superiores em próximas fases, avaliando-se um maior número de indivíduos dentro destas famílias (OLIVEIRA et al., 2013; RESENDE; BARBOSA, 2006; VERISSIMO et al., 2018).

A seleção em famílias com valores genotípicos superiores tende a ser mais eficaz na identificação da maior proporção de genótipos promissores (SILVA et al., 2015; OLIVEIRA et al., 2016), como também indicam o potencial de genitores para recombinação em futuros cruzamentos a serem realizados no programa de melhoramento (CASTRO et al., 2016).

Confirmando a existência de variabilidade na população, as estimativas do coeficiente de variação genética (CV<sub>g</sub>) foram superiores a 11% para todas variáveis fisiológicas em ambas as fases de avaliação, com ênfase para DNF<sub>PRE</sub> e DNC<sub>VAL</sub>, com CV<sub>g</sub> de 16,4 e 35,5%, respectivamente. Tais estimativas superam o limiar de 10%, considerado indicador de variabilidade genética entre progênies (RESENDE, 2002). Na fase precoce as variáveis ALT<sub>PRE</sub> e TXC<sub>PRE</sub> destacam-se com CV<sub>g</sub> superior a 34,0%. Simulando estresse por frio em ambiente controlado, Kaiser e Sacks (2015) observaram elevada variabilidade dentro e entre progênies de *Miscanthus* em fase de plântula, indicando a aplicabilidade deste tipo de metodologia para screening precoce.

Considerando a precisão na inferência das estimativas dos parâmetros genéticos, ressalta-se que os valores de acurácia seletiva (AC<sub>fam</sub>) foram superiores a 0,71, visto que acima de 0,50 considera-se um indicador importante para eficiência do processo de seleção (RESENDE; DUARTE, 2007). Inferindo sobre os componentes de variância para teor de clorofila (CLF<sub>PRE</sub> e CLF<sub>VAL</sub>) e dano foliar (DNF<sub>PRE</sub> e DNF<sub>VAL</sub>), observa-se que as estimativas de variância residual ( $\sigma_e^2$ ) na fase de validação foram inferiores para ambas as variáveis analisadas, em contrapartida, a variância genotípica entre famílias ( $\sigma_p^2$ ) foi proporcionalmente superior na fase precoce, refletindo em estimativas semelhantes de  $h_a^2$  e  $h_{mf}^2$ , sendo possível selecionar e obter-se ganhos em ambas as fases. É importante enfatizar que os testes em ambiente controlado padronizam as condições ambientais,

contornando problemas observados nas avaliações convencionais de ensaios a campo, como a variabilidade espacial e a sazonalidade dos eventos de estresse (PARRA-LONDONO et al., 2018), dificultando a implementação destes testes como rotina no melhoramento.

Em fase precoce oito famílias apresentaram valores genotípicos superiores a média geral para  $CLF_{PRE}$ ,  $DNF_{PRE}$  e  $SBV_{PRE}$ , com ganho médio de 8,0% (Tabela 4). Dentre este conjunto de famílias, em condição de campo foi observado que RB996962 x RB016916, RB016916 x RB006970, RB996963 x RB92579, RB867515 x RB92579 e RB006970 x RB965902 apresentaram valores genotípicos acima da média geral para  $CLF_{VAL}$ ,  $DNF_{VAL}$  e  $SBV_{VAL}$ , confirmando maior nível de tolerância destas famílias e a associação dos resultados entre fases de avaliação. Para  $ALT_{PRE}$  e  $TXC_{PRE}$  foi observado a superioridade de oito famílias, com ganho de 12,1 e 9,6%, respectivamente.

As famílias RB966220 x RB946903, RB965902 x RB946903, RB946903 x RB006970 e RB975952 x RB966229 apresentaram menor nível de tolerância ao frio tanto em fase precoce quanto na validação, com valores genotípicos na ordem de 19,0, 22,7 e 13,3% inferiores a média geral para  $CLF_{PRE}$ ,  $DNF_{PRE}$  e  $SBV_{PRE}$ , respectivamente, repetindo este resultado para  $CLF_{VAL}$  e  $DNF_{VAL}$ , com valores genotípicos médios 16,0% inferiores, confirmando menor nível de tolerância destas famílias e a associação dos resultados entre as fases avaliadas.

Na fase de validação observou-se superioridade nos valores genotípicos de  $CLF_{VAL}$  e  $DNF_{VAL}$  para sete famílias, apresentando maior nível de tolerância foliar e um ganho médio de 11% em relação a média geral. Para  $DNC_{VAL}$ , cinco famílias apresentaram maior tolerância ao frio, indicando um ganho superior a 27%. Associando estes resultados de tolerância ao frio, observa-se que as famílias RB996963 x RB92579, RB996962 x RB016916 e RB867515 x RB92579 apresentaram conjuntamente maior nível de tolerância nas folhas e no colmo, com ganho de 13,4, 8,2 e 28,1%, respectivamente para  $CLF_{VAL}$ ,  $DNF_{VAL}$  e  $DNC_{VAL}$ .

Tabela 4. Valor genotípico (Vg) e média geral para variáveis fisiológicas e biométricas de 14 famílias de cana-de-açúcar avaliadas sob estresse por frio em ambiente controlado na fase precoce (PRE) e em condição de campo na fase de validação (VAL).

Família	<sup>1</sup> CLF <sub>PRE</sub>	DNF <sub>PRE</sub>	SBV <sub>PRE</sub>	ALT <sub>PRE</sub>	TXC <sub>PRE</sub>	CLF <sub>VAL</sub>	DNF <sub>VAL</sub>	SBV <sub>VAL</sub>	DNC <sub>VAL</sub>	NCT <sub>VAL</sub>	DIA <sub>VAL</sub>	ALT <sub>VAL</sub>	MMC <sub>VAL</sub>	TCH <sub>VAL</sub>	BRIX <sub>VAL</sub>	TBH <sub>VAL</sub>
RB996962 x RB016916	<b>*29,74</b>	<b>2,19</b>	<b>0,98</b>	<b>10,28</b>	<b>1,47</b>	<b>18,96</b>	<b>2,70</b>	<b>0,991</b>	<b>5,67</b>	9,81	<b>2,41</b>	<b>70,93</b>	<b>0,35</b>	49,43	<b>11,65</b>	<b>6,04</b>
RB016916 x RB006970	<b>29,62</b>	<b>2,18</b>	<b>1,00</b>	<b>9,48</b>	<b>1,35</b>	<b>20,16</b>	<b>2,42</b>	<b>0,998</b>	6,15	9,70	<b>2,33</b>	<b>71,64</b>	<b>0,31</b>	42,67	<b>12,19</b>	5,25
BJ7504 x RB835089	<b>29,10</b>	<b>2,36</b>	<b>0,96</b>	<b>10,38</b>	<b>1,49</b>	17,59	2,85	<b>0,991</b>	8,02	9,65	2,30	66,80	0,29	43,05	9,12	4,33
RB835089 x RB006655	<b>28,31</b>	<b>2,51</b>	0,89	6,95	1,07	<b>20,00</b>	<b>2,25</b>	<b>0,996</b>	6,72	9,48	2,28	60,03	0,29	46,59	10,10	<b>5,87</b>
RB006655 x RB835089	<b>28,28</b>	<b>2,51</b>	0,89	6,93	1,07	<b>19,56</b>	<b>2,79</b>	<b>0,996</b>	6,70	9,65	<b>2,33</b>	59,92	0,30	45,07	10,10	5,19
RB996963 x RB92579	<b>28,27</b>	<b>2,51</b>	<b>0,98</b>	<b>9,79</b>	<b>1,40</b>	<b>21,59</b>	<b>2,43</b>	<b>0,988</b>	<b>3,73</b>	9,58	2,26	59,60	0,27	39,10	9,40	4,31
SP701143 x RB036088	<b>28,08</b>	<b>2,48</b>	<b>0,92</b>	<b>8,05</b>	<b>1,15</b>	17,60	<b>2,53</b>	<b>0,991</b>	<b>4,60</b>	<b>10,35</b>	<b>2,32</b>	<b>70,02</b>	<b>0,32</b>	<b>50,12</b>	9,46	5,11
RB867515 x RB92579	<b>28,02</b>	<b>2,52</b>	<b>0,97</b>	<b>7,84</b>	<b>1,12</b>	<b>19,88</b>	<b>2,62</b>	0,971	<b>3,78</b>	10,12	<b>2,46</b>	66,15	<b>0,35</b>	<b>55,08</b>	9,25	<b>5,85</b>
BJ7504 x RB106802	<b>27,90</b>	<b>2,52</b>	<b>0,96</b>	7,32	1,05	16,28	3,22	0,970	8,00	9,99	<b>2,41</b>	<b>78,65</b>	<b>0,37</b>	<b>53,14</b>	8,90	5,20
RB006970 x RB965902	<b>27,75</b>	<b>2,50</b>	<b>0,98</b>	<b>7,78</b>	<b>1,11</b>	<b>19,23</b>	<b>2,59</b>	<b>0,996</b>	6,49	<b>10,53</b>	<b>2,42</b>	68,77	<b>0,34</b>	<b>52,71</b>	<b>12,10</b>	<b>6,45</b>
RB975952 x RB966229	24,87	3,05	0,84	<b>7,97</b>	<b>1,14</b>	15,49	3,34	0,968	<b>4,34</b>	<b>11,06</b>	2,28	<b>73,88</b>	<b>0,32</b>	<b>51,04</b>	<b>10,46</b>	<b>5,70</b>
RB946903 x RB006970	21,96	3,16	0,84	4,12	0,59	14,34	3,10	0,967	8,96	<b>10,37</b>	2,25	<b>74,15</b>	<b>0,32</b>	49,58	<b>10,23</b>	5,19
RB965902 x RB946903	21,54	3,31	0,80	3,87	0,56	14,68	3,11	0,959	8,92	<b>10,74</b>	2,24	<b>69,35</b>	0,29	49,59	<b>10,87</b>	<b>5,87</b>
RB966220 x RB946903	17,95	3,50	0,65	2,42	0,35	13,01	3,26	0,913	10,03	<b>10,22</b>	2,13	<b>69,64</b>	0,26	39,26	9,40	3,81
Média	26,66	2,65	0,90	7,50	1,08	17,76	2,81	0,976	6,11	10,15	2,32	69,08	0,31	47,62	10,14	5,30

\*Valores destacados em negrito referem-se a famílias com superioridade genotípica em relação a média geral. <sup>1</sup> CLF: teor de clorofila (SPAD); DNF: Dano foliar; SBV: sobrevivência; ALT: altura de planta (cm); TXC: taxa de crescimento (mm dia<sup>-1</sup>); DNC: dano no colmo (%); NCT: número de colmos por touceira; DIA: diâmetro do colmo (cm); MMC: massa média do colmo (kg); TCH: toneladas de colmo por ha (Mg ha<sup>-1</sup>); BRIX: teor de sólidos solúveis totais (°Brix) TBH: toneladas de Brix por ha em (Mg ha<sup>-1</sup>).

O teor de clorofila está correlacionado com demais variáveis fisiológicas como taxa fotossintética, condutância estomática e eficiência no transporte de elétrons, sendo considerada importante para caracterização da tolerância ao frio em cana-de-açúcar (TANG; LI; YANG, 2015). Entretanto, a tolerância ao frio nos tecidos do colmo é considerada relevante, pois genótipos sensíveis necessitam de colheita imediata após a ocorrência de geadas que causam a morte do meristema apical, reduzindo a qualidade devido a ação microbiana, inversão de açúcares e aumento da acidez (EGGLESTON et al., 2004; LEGENDRE et al., 2011).

Mesmo com tendência associativa observada entre  $CLF_{VAL}$  e  $DNC_{VAL}$ , é possível que determinadas populações apresentem distintos mecanismos de tolerância envolvidos na atenuação do estresse, diferencialmente expressos nas folhas (TANG; LI; YANG, 2015), gemas laterais (RASHEED et al., 2011) e colmo (EGGLESTON; LEGENDRE; TEW, 2004), os quais podem estar associados a capacidade de aclimação de cada genótipo, sendo que tal processo envolve uma série de complexas modificações moleculares (SHI; DING; YANG, 2018), metabólicas (FÜRSTAUER et al., 2019) e hormonais (EREMINA; ROZHON; POPPENBERGER, 2016).

Nos caracteres biométricos em condição de campo, nenhuma família apresentou conjuntamente valores superiores a média geral. Considerando toneladas de brix por ha ( $TBH_{VAL}$ ) como caracter de maior relevância agrônômica, observam-se seis famílias com valores genotípicos superiores a média geral, com ganho médio de 12,6%. Dentre este grupo de maior potencial produtivo, RB996962 x RB016916 e RB867515 x RB92579 também apresentam superioridade para todas variáveis de tolerância ao frio.

Os valores médios observados para as variáveis biométricas em condição de campo foram inferiores aos observados no estudo de Verissimo et al. (2018) sob estresse de frio, bem como de Barbosa et al. (2014), Silva et al. (2015) e Oliveira et al. (2013) em condições de ausência de estresse abiótico. Este fato se deve pela idade das plantas no momento de avaliação (oito meses) e pelo severo estresse de frio, o que permitiu avaliar com maior precisão a tolerância ao frio e obter um direcionamento do potencial produtivo das famílias avaliadas. Considerando a ampla janela de plantio na região Sul do Brasil, os plantios precoces (janeiro a março) ou tardios (outubro a dezembro) acarretam na coincidência desta fase de crescimento

vegetativo intenso (6 a 8 meses) com o estresse por frio, sendo uma importante fase para avaliar características de tolerância.

As correlações genótípicas foram de média a alta magnitude entre variáveis e fases de avaliação, conforme rede de correlações (Figura 7). As variáveis avaliadas em fase precoce apresentaram correlação genotípica moderada a forte entre si, com destaque para  $DNF_{PRE} \times SBV_{PRE}$  e  $ALT_{PRE} \times TXC_{PRE}$ , com posicionamento próximo e linhas espessas. Neste contexto, no grupo de variáveis avaliadas na fase de validação, ressalta-se a associação de  $DNF_{VAL}$  com  $CLF_{VAL}$  e de  $TCH_{VAL}$  com  $MMC_{VAL}$  (massa média do colmo),  $DIA_{VAL}$  (diâmetro do colmo) e  $TBH_{VAL}$ .

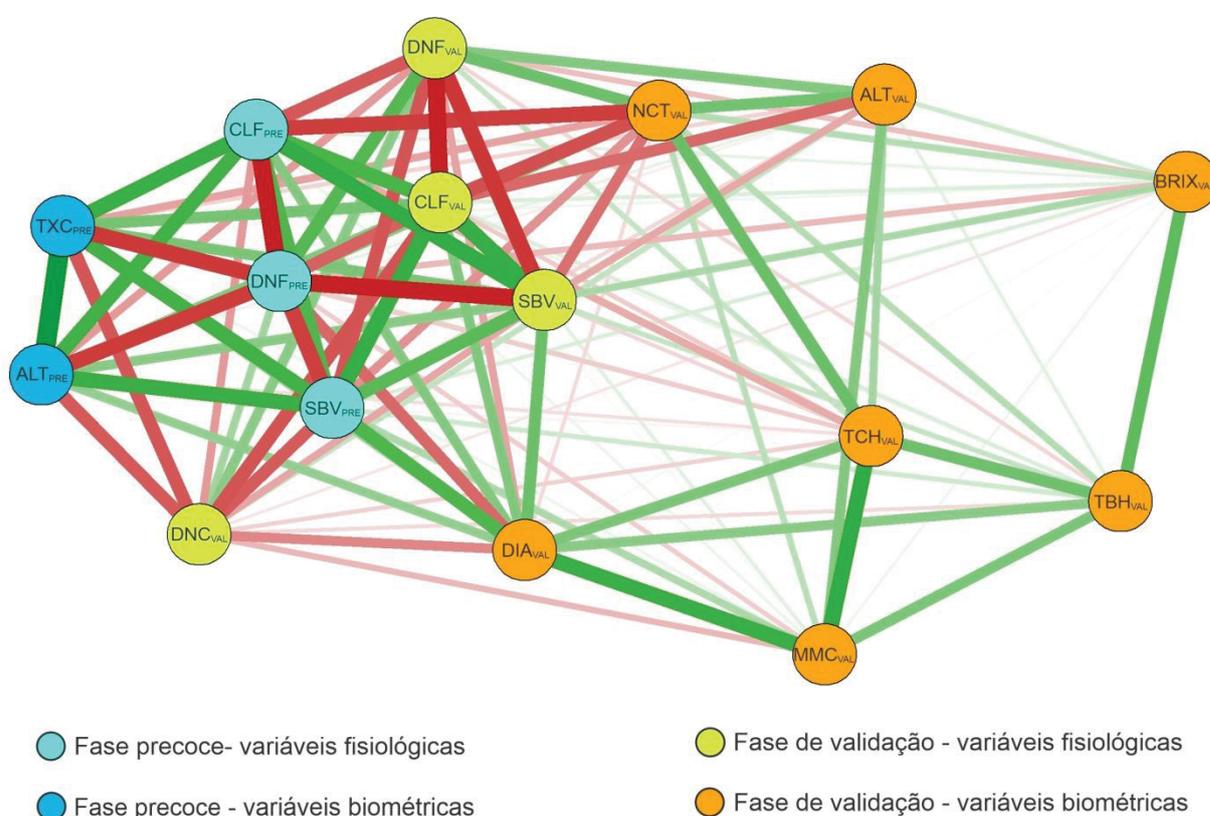


Figura 7. Rede de correlações genótípicas para variáveis fisiológicas e biométricas de 14 famílias de cana-de-açúcar avaliadas sob estresse por frio em ambiente controlado na fase precoce (PRE) e em condição de campo na fase de validação (VAL). As linhas verdes representam correlações positivas enquanto linhas vermelhas representam correlações negativas. A espessura da linha é proporcional à magnitude da correlação. \* CLF: teor de clorofila (SPAD); DNF: Dano foliar; SBV: sobrevivência; ALT: altura de planta (cm); TXC: taxa de crescimento ( $\text{mm dia}^{-1}$ ); DNC: dano no colmo (%); NCT: número de colmos por touceira; DIA: diâmetro do colmo (cm); MMC: massa média do colmo (kg); TCH: toneladas de colmo por ha ( $\text{Mg ha}^{-1}$ ); BRIX: teor de sólidos solúveis totais ( $^{\circ}\text{Brix}$ ); TBH: toneladas de Brix por ha em ( $\text{Mg ha}^{-1}$ ).

A associação entre caracteres biométricos em condição de campo foi semelhante ao estudo de Espósito et al. (2012), onde as variáveis  $NCT_{VAL}$ ,  $DIA_{VAL}$  e  $ALT_{VAL}$  apresentam relação direta com  $TCH_{VAL}$ , com destaque para  $NCT_{VAL}$  com maior coeficiente de correlação para  $TCH_{VAL}$ , sendo assim uma importante variável a ser considerada no processo de seleção para rendimento de colmos. Espósito et al. (2012) observaram correlação genotípica de 0,76 a 0,95 entre  $NCT_{VAL}$  e  $TCH_{VAL}$ , enquanto Silveira et al. (2016) obtiveram correlação de 0,47, semelhante a tendência observada em nosso estudo. Tena; Mekbib; Ayana (2016) observaram correlação positiva porém não significativa entre BRIX x TCH, coincidindo com nossos resultados. Ressalta-se que os valores de correlação dependem das características genéticas das populações avaliadas, podendo assim variar entre estudos.

A associação entre as fases foi observada em maior magnitude para as variáveis fisiológicas de tolerância ao frio, com destaque para correlações genotípicas de  $CLF_{PRE}$  com  $CLF_{VAL}$  e  $SBV_{PRE}$  com  $DNC_{VAL}$ , indicando que a metodologia adotada para simulação de estresse em ambiente controlado reproduziu resultados satisfatórios quanto a representatividade do estresse em condição de campo.

Houve forte associação genotípica entre dano foliar e teor de clorofila, em ambas as fases de avaliação, apontando que a escala visual de dano foliar apresenta potencial de aplicação no processo de seleção. Neste sentido, considerando o baixo custo e agilidade para avaliação, esta variável pode ser explorada como caracter de seleção nas fases iniciais do programa de melhoramento. Em estudo de campo, Verissimo et al. (2018) sugere o uso de escalas de dano para seleção de famílias de cana-de-açúcar em condições de estresse por frio. Escalas de dano foliar também têm sido utilizadas para caracterização da tolerância ao frio em *Miscanthus* spp., com aplicabilidade para testes em ambiente controlado e campo (KAISER; SACKS, 2015; ZUB et al., 2012).

O índice de coincidência geral ( $IC_G$ ) médio para a seleção via  $CLF_{PRE}$ ,  $DNF_{PRE}$  e  $SBV_{PRE}$  foi de 65,5, 76,2 e 76,2%, respectivamente (Tabela 5). Para as diferentes taxas de seleção (TS), o  $IC_G$  foi de 53,6, 71,4 e 92,9%, para TS de 30, 50 e 70%, respectivamente, confirmando que a seleção precoce pode ser utilizada com eficiência, retornando vantagens como redução de custo e ganho de tempo.

Tabela 5. Índice de coincidência (IC, %) para seleção (IC<sub>S</sub>), descarte (IC<sub>D</sub>) e geral (IC<sub>G</sub>) entre fase precoce (PRE) e fase de validação (VAL) para variáveis fisiológicas de 14 famílias de cana-de-açúcar sob estresse de frio.

Seleção	Taxa de seleção (%)									
	30			50			70			
	IC <sub>S</sub>	IC <sub>D</sub>	IC <sub>G</sub>	IC <sub>S</sub>	IC <sub>D</sub>	IC <sub>G</sub>	IC <sub>S</sub>	IC <sub>D</sub>	IC <sub>G</sub>	
CLF <sub>PRE</sub>	<sup>1</sup> CLF <sub>VAL</sub>	50,0	20,0	28,6	71,4	71,4	71,4	100,0	100,0	100,0
	DNF <sub>VAL</sub>	50,0	20,0	28,6	71,4	71,4	71,4	90,0	75,0	85,7
	SBV <sub>VAL</sub>	50,0	20,0	28,6	85,7	85,7	85,7	100,0	100,0	100,0
	DNC <sub>VAL</sub>	0,0	60,0	42,9	57,1	57,1	57,1	90,0	75,0	85,7
DNF <sub>PRE</sub>	CLF <sub>VAL</sub>	25,0	70,0	57,1	71,4	71,4	71,4	100,0	100,0	100,0
	DNF <sub>VAL</sub>	50,0	80,0	71,4	71,4	71,4	71,4	90,0	75,0	85,7
	SBV <sub>VAL</sub>	25,0	70,0	57,1	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0
	DNC <sub>VAL</sub>	25,0	70,0	57,1	57,1	57,1	57,1	90,0	75,0	85,7
SBV <sub>PRE</sub>	CLF <sub>VAL</sub>	50,0	80,0	71,4	71,4	71,4	71,4	100,0	100,0	100,0
	DNF <sub>VAL</sub>	50,0	80,0	71,4	71,4	71,4	71,4	90,0	75,0	85,7
	SBV <sub>VAL</sub>	50,0	80,0	71,4	57,1	57,1	57,1	100,0	100,0	100,0
	DNC <sub>VAL</sub>	25,0	70,0	57,1	71,4	71,4	71,4	90,0	75,0	85,7

\*As taxas de seleção de 30, 50 e 70% representam respectivamente a seleção de 4, 7 e 10 famílias com base nos valores genotípicos preditos em cada variável. <sup>1</sup>CLF: teor de clorofila (SPAD); DNF: Dano foliar; SBV: sobrevivência; DNC: dano no colmo (%).

Foi observada maior coincidência para identificar as famílias de menor nível de tolerância (IC<sub>D</sub>), com valor médio de 87,5%. Nesta comparação, destaca-se que todas as variáveis avaliadas em ambiente controlado apresentaram 100% de coincidência para identificação de 30% das famílias com menor valor genotípico de CLF<sub>VAL</sub> e SBV<sub>VAL</sub>. Segundo Apiolaza (2009), técnicas de screening podem ser favoráveis para seleção precoce visando eliminar populações com baixo valor genético.

O conjunto de famílias que apresentou maior sensibilidade ao frio em ambiente controlado também tiveram menor nível de tolerância a campo, indicando a alta eficiência desta metodologia para screening precoce. Yu et al. (2004) observaram elevada associação da tolerância ao frio em sorgo (*Sorghum bicolor*) entre câmara de crescimento e condição de campo, indicando que testes em ambiente controlado podem ser utilizados como um método alternativo ou de pré-seleção. Neste sentido, uma metodologia que possibilite a identificação e exclusão de 30% das populações de menor nível de tolerância, representa um ganho substancial de tempo e redução de custos nas avaliações de campo, garantindo maior agilidade ao programa de melhoramento.

A elevada magnitude de correlação e dos índices de coincidência, entre as diferentes fases avaliadas, apontam a alta eficiência da metodologia utilizada. Ressaltando a seleção precoce, a correlação genética entre fase de plântula e planta adulta para tolerância ao frio foi relatada em sorgo (PARRA-LONDONO et al., 2018) e em arroz (PRADHAN et al., 2016). A partir disso, é possível direcionar testes experimentais para fases iniciais de desenvolvimento, permitindo a avaliação de um número maior de indivíduos em menor espaço físico, tornando-se aplicável para as etapas iniciais de melhoramento, principalmente quando objetiva-se simular estresses em ambiente controlado.

As metodologias experimentais conduzidas em ambiente controlado podem ser adaptadas para plataformas de fenotipagem automatizadas, utilizando técnicas como análise de imagens e sensores capazes de prever características fisiológicas de interesse para seleção (HUMPLÍK et al., 2015), sendo assim importante a validação de testes precoces neste ambiente com resultados de campo. Para isso, as etapas metodológicas conduzidas em ambiente controlado devem simular o mais próximo possível as condições de campo, considerando para o estresse de frio principalmente os fatores de aclimação, intensidade e duração de estresse, conforme adotados neste trabalho, resultando na alta associação dos resultados entre as fases e ambientes de avaliação.

## 2.4 CONCLUSÕES

Há variabilidade genética entre e dentro das famílias de cana-de-açúcar para as diferentes fases avaliadas, sendo RB996962 x RB016916, RB996963 x RB92579 e RB867515 x RB92579 superiores para valores genotípicos de tolerância ao frio.

Os índices de coincidência indicam o descarte de famílias com baixo nível de tolerância na fase precoce. A metodologia utilizada é eficiente para a seleção precoce sendo sua utilização recomendada no melhoramento.

## 2.5 REFERÊNCIAS

APIOLAZA, L. A. Very early selection for solid wood quality: Screening for early winners. **Annals of Forest Science**, v. 66, n. 6, p. 601–601, 2009.

BARBOSA, M. H. P.; FERREIRA, A.; PEIXOTO, L. A.; RESENDE, M. D. V.; NASCIMENTO, M.; SILVA, F. F. Selection of sugar cane families by using BLUP and multi-diverse analyses for planting in the Brazilian savannah. **Genetics and Molecular Research**, v. 13, n. 1, p. 1619–1626, 2014.

BARBOSA, M. H. P.; RESENDE, M. D. V.; DIAS, L. A. DOS S.; BARBOSA, G. V. DE S.; OLIVEIRA, R. A. DE; PETERNELLI, L. A.; DAROS, E. Genetic improvement of sugar cane for bioenergy: the brazilian experience in network research with RIDESA. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v. 12, p. 87–98, 2012.

BRINHOLI, O. **Resistência ao frio de diferentes cultivares de cana-de-açúcar (*Saccharum spp.*)**. Tese (Doutorado em Agronomia). Universidade de São Paulo, 1972.

CASTRO, R. D.; PETERNELLI, L. A.; RESENDE, M. D. V.; MARINHO, C. D.; COSTA, P. M. A.; BARBOSA, M. H. P.; MOREIRA, E. F. A. Selection between and within full-sib sugarcane families using the modified BLUPIS method (BLUPISM). **Genetics and Molecular Research**, v. 15, n. 1, p. 1–10, 2016.

CHANG, Y. S.; MILLIGAN, S. B. Estimating the potential of sugarcane families to produce elite genotypes using bivariate prediction methods. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 84, n. 5–6, p. 633–639, 1992.

CRAMER, G. R.; URANO, K.; DELROT, S.; PEZZOTTI, M.; SHINOZAKI, K. Effects of abiotic stress on plants: A systems biology perspective. **BMC Plant Biology**, v. 11, 2011.

DU, Y. C.; NOSE, A.; WASANO, K. Effects of chilling temperature on photosynthetic rates, photosynthetic enzyme activities and metabolite levels in leaves of three sugarcane species. **Plant, Cell and Environment**, v. 22, n. 3, p. 317–324, 1999.

EDMÉ, S. J.; GLAZ, B. S. Field response of sugarcane genotypes to freeze stress with genotype x environment effects on quality traits. **Journal of Crop Improvement**, v. 27, n. 1, p. 1–30, 2013.

EGGLESTON, G.; LEGENDRE, B.; TEW, T. Indicators of freeze-damaged sugarcane varieties which can predict processing problems. **Food Chemistry**, v. 87, n. 1, p. 119–133, 2004.

EPSKAMP, S.; CRAMER, A. O. J.; WALDORP, L. J.; SCHMITTMANN, V. D.; BORSBOOM, D. Qgraph: Network visualizations of relationships in psychometric data. **Journal of Statistical Software**, v. 48, n. 4, 2012.

EREMINA, M.; ROZHON, W.; POPPENBERGER, B. Hormonal control of cold stress responses in plants. **Cellular and Molecular Life Sciences**, v. 73, n. 4, p. 797–810, 2016.

ESPÓSITO, D. P.; PETERNELLI, L. A.; DE PAULA, T. O. M.; BARBOSA, M. H. P. Path analysis using phenotypic and genotypic values for yield components in the selection of sugarcane families. **Ciência rural**, v. 42, n. 1, p. 38–44, 2012.

FRIESEN, P. C.; PEIXOTO, M. M.; BUSCH, F. A.; JOHNSON, D. C.; SAGE, R. F. Chilling and frost tolerance in *Miscanthus* and *Saccharum* genotypes bred for cool temperate climates. **Journal of Experimental Botany**, v. 65, n. 13, p. 3749–3758, 2014.

FÜRTAUER, L.; WEISZMANN, J.; WECKWERTH, W.; NÄGELE, T. Dynamics of plant metabolism during cold acclimation. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 20, n. 21, 2019.

GILLIHAM, M.; ABLE, J. A.; ROY, S. J. Translating knowledge about abiotic stress tolerance to breeding programmes. **Plant Journal**, v. 90, n. 5, p. 898–917, 2017.

HALE, A. L.; VIATOR, R. P.; EGGLESTON, G.; HODNETT, G.; STELLY, D. M.; BOYKIN, D.; MILLER, D. K. Estimating broad sense heritability and investigating the mechanism of genetic transmission of cold tolerance using mannitol as a measure of post-freeze juice degradation in sugarcane and energycane (*Saccharum* spp.). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 64, n. 8, p. 1657–1663, 2016.

HALE, A. L.; VIATOR, R. P.; KIMBENG, C.; VEREMIS, J. C. Use of artificially-induced freezing temperatures to identify freeze tolerance in above-ground buds of *Saccharum* and *Erianthus* accessions. **Euphytica**, v. 213, n. 2, 2017.

HARTER, A.; SILVA, S. D. DOS A. E; VERISSIMO, M. A. A.; ANTUNES, W. R.; LEMÕES, L. S.; MASCARENHAS, L. S.; BESPALHOK FILHO, J. C.; OLIVEIRA, R. A. DE. Cold tolerance in sugarcane progenies under natural stress. **Sugar Tech**, 2020.

HUANG, X.; CHEN, M. H.; YANG, L. T.; LI, Y. R.; WU, J. M. Effects of exogenous abscisic acid on cell membrane and endogenous hormone contents in leaves of sugarcane seedlings under cold stress. **Sugar Tech**, v. 17, n. 1, p. 59–64, 2015.

HUMPLÍK, J. F.; LAZÁR, D.; FÜRST, T.; HUSICKOVÁ, A.; HÝBL, M.; SPÍCHAL, L. Automated integrative high-throughput phenotyping of plant shoots: A case study of the cold-tolerance of pea (*Pisum sativum* L.). **Plant Methods**, v. 11, n. 1, p. 1–11, 2015.

JOHN, R.; ANJUM, N. A.; SOPORY, S. K.; AKRAM, N. A.; ASHRAF, M. Some key physiological and molecular processes of cold acclimation. **Biologia Plantarum**, v. 60, n. 4, p. 603–618, 2016.

KAISER, C. M.; SACKS, E. J. Cold-tolerance of *Miscanthus* seedlings and effects of spring and autumn frosts on mature clonally replicated cultivars. **Crop Science**, v. 55, n. 5, p. 2401–2415, 2015.

KAR, S.; ZHANG, N.; NAKASHIMA, T.; VILLANUEVA-MORALES, A.; STEWART, J. R.; SACKS, E. J.; TERAJIMA, Y.; YAMADA, T. *Saccharum* × *Miscanthus* intergeneric hybrids (miscanes) exhibit greater chilling tolerance of C4 photosynthesis and postchilling recovery than sugarcane (*Saccharum* spp. hybrids). **GCB Bioenergy**, v. 11, n. 11, p. 1318–1333, 2019.

KAZEMI-SHAHANDASHTI, S. S.; MAALI-AMIRI, R. Global insights of protein responses to cold stress in plants: Signaling, defence, and degradation. **Journal of Plant Physiology**, v. 226, p. 123–135, 2018.

LEGENDRE, B.; TEW, T.; HALE, A. L.; BIRKETT, G.; EGGLESTON, G.; DUET, M.; STEIN, J. Stalk cold tolerance of commercial and candidate varieties during the 2010-2011 harvest. **Journal American Society of Sugar Cane Technologists**, v. 30, p. 148–156, 2011.

LI, S. L.; LI, Z. G.; YANG, L. T.; LI, Y. R.; HE, Z. L. Differential effects of cold stress on chloroplasts structures and photosynthetic characteristics in cold-sensitive and cold-tolerant cultivars of sugarcane. **Sugar Tech**, v. 20, n. 1, p. 11–20, 2018.

LU, S.; WANG, X.; GUO, Z. Differential responses to chilling in *Stylosanthes guianensis* (aublet) sw. and its mutants. **Agronomy Journal**, v. 105, n. 2, p. 377–382, 2013.

MORAES, C. B.; TAMBARUSSI, E. V.; GAMA, L.; ABILIO, F. M.; CARIGNATO, A.; ZIMBACK, L.; DE PAULA, R. C.; MORI, E. Controle genético para a tolerância a geadas em progênies de *Eucalyptus urophylla*. **Scientia Forestalis/Forest Sciences**, v. 44, n. 110, p. 373–381, 2016.

OLIVEIRA, R. A.; DAROS, E.; RESENDE, M. D. V.; BESPALHOK FILHO, J. C.; ZAMBON, J. L. C.; RUARO, L. Seleção precoce em famílias de cana-de-açúcar via procedimentos BLUP e BLUPIS. **Acta Scientiarum - Agronomy**, v. 35, n. 4, p. 427–434, 2013.

OLIVEIRA, R. A.; DAROS, E.; BARBOSA, M. H. P.; BESPALHOK FILHO, J. C.; ZAMBON, J. L. C.; RUARO, L. Performance of sugarcane families at different stages of a selection program. **International Sugar Journal**, v. 16, p. 378–381, 2016.

PARRA-LONDONO, S.; FIEDLER, K.; KAVKA, M.; SAMANS, B.; WIECKHORST, S.; ZACHARIAS, A.; UPTMOOR, R. Genetic dissection of early-season cold tolerance in sorghum: genome-wide association studies for seedling emergence and survival under field and controlled environment conditions. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 131, n. 3, p. 581–595, 2018.

PEIXOTO, M. DE M.; SAGE, R. F. Comparative photosynthetic responses in upland and lowland sugarcane cultivars grown in cool and warm conditions. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 40, n. 4, p. 829–839, 2017.

PETERNELLI, L. A.; BERNARDES, D. P.; BRASILEIRO, B. P.; BARBOSA, M. H. P.; SILVA, R. H. T. Decision trees as a tool to select sugarcane families. **American Journal of Plant Sciences**, v. 09, n. 02, p. 216–230, 2018.

PRADHAN, S. K.; NAYAK, D. K.; GURU, M.; PANDIT, E.; DAS, S.; BARIK, S. R.; MOHANTY, S. P.; ANANDAN, A. Screening and classification of genotypes for seedling-stage chilling stress tolerance in rice and validation of the trait using SSR markers. **Plant Genetic Resources: Characterisation and Utilisation**, v. 14, n. 3, p. 173–182, 2016.

R DEVELOPMENT CORE TEAM. **R: A language and environment for statistical computing**. R Foundation for Statistical Computing Vienna, Austria, 2020.  
Disponível em: <<http://www.r-project.org>>

RASHEED, R.; WAHID, A.; FAROOQ, M.; HUSSAIN, I.; BASRA, S. M. A. Role of proline and glycinebetaine pretreatments in improving heat tolerance of sprouting sugarcane (*Saccharum* sp.) buds. **Plant Growth Regulation**, v. 65, n. 1, p. 35–45, 2011.

RESENDE, M. D. V. **Genética biométrica e estatística no melhoramento de plantas perenes**. Colombo: Embrapa Florestas, 2002.

RESENDE, M. D. V.; BARBOSA, M. H. P. Selection via simulated individual BLUP based on family genotypic effects in sugarcane. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 41, n. 3, p. 421–429, 2006.

RESENDE, M. D. V. Software Selegen-REML/BLUP: a useful tool for plant breeding. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v. 16, p. 330–339, 2016.

RESENDE, M. D. V.; DUARTE, J. B. Precisão e controle de qualidade em experimentos de avaliação de cultivares. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 37, p. 182–194, 2007.

RODRIGUES, E. V.; DAHER, R. F.; DOS SANTOS, A.; VIVAS, M.; MACHADO, J. C.; GRAVINA, G. A.; DE SOUZA, Y. P.; VIDAL, A. K.; DOS ROCHA, A. S.; FREITAS, R. S. Selecting elephant grass families and progenies to produce bioenergy through mixed models (REML/BLUP). **Genetics and Molecular Research**, v. 16, n. 2, 2017.

SANTCHURN, D.; BADALOO, M. G. H. Shortening the sugarcane breeding cycle at early selection stages and relevance of selection in ratoons. **Journal of Crop Improvement**, p. 1–20, 2020.

SHI, Y.; DING, Y.; YANG, S. Molecular regulation of cbf signaling in cold acclimation. **Trends in Plant Science**, v. 23, n. 7, p. 623–637, 2018.

SILVA, F. L.; BARBOSA, M. H. P.; RESENDE, M. D. V.; PETERNELLI, L. A.; PEDROZO, C. Â. Eficiência da seleção dentro de famílias de cana-de-açúcar via BLUP individual simulado. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v. 15, n. 1, p. 1–9, 2015.

SILVEIRA, L. C. I.; BRASILEIRO, B. P.; KIST, V.; WEBER, H.; DAROS, E.; PETERNELLI, L. A.; BARBOSA, M. H. P. Selection in energy cane families. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v. 16, n. 4, p. 298–306, 2016.

SUN, B.; LIU, G. L.; PHAN, T. T.; YANG, L. T.; LI, Y. R.; XING, Y. X. Effects of cold stress on root growth and physiological metabolisms in seedlings of different sugarcane varieties. **Sugar Tech**, v. 19, n. 2, p. 165–175, 2017.

TANG, S.; LI, Y.; YANG, L. Evaluation of cold tolerance and photosynthetic characteristics in different sugarcane genotypes. **Journal of Global Biosciences**, v. 4, n. 6, p. 2459–2467, 2015.

TENA, E.; MEKBIB, F.; AYANA, A. Heritability and Correlation among Sugarcane (*Saccharum* spp.) Yield and Some Agronomic and Sugar Quality Traits in Ethiopia. **American Journal of Plant Sciences**, v. 07, n. 10, p. 1453–1477, 2016

VERISSIMO, M. A. A.; AZEREDO, A. A. C.; SILVA, S. D. DOS A.; BRASILEIRO, B. P.; BESPALHOK FILHO, J. C. ; DAROS, E.; OLIVEIRA, R. A. Selection of sugarcane families and clones under cold stress. **Ciencia Rural**, v. 50, n. 1, p. 1–12, 2020.

VERISSIMO, M. A. A.; OLIVEIRA, R. A.; SILVA, S. D. DOS A.; DAROS, E.; HÄRTER, A. Genetic parameters and performance of sugarcane families under cold stress in the South of Brazil. **Pesquisa Agropecuaria Brasileira**, v. 53, n. 5, p. 583–592, 2018.

WANG, Z.; CHEN, S.; WANG, X.; HE, L.; LI, F. Response to low temperature and evaluation on cold tolerance of sugarcane at seedling stage. **Agricultural Basic Science and Technology**, v. 17, n. 2, p. 256–261, 2016.

WATSON, A. et al. Speed breeding is a powerful tool to accelerate crop research and breeding. **Nature Plants**, v. 4, n. 1, p. 23–29, 2018.

YU, J.; TUINSTRA, M. R.; CLAASSEN, M. M.; GORDON, W. B.; WITT, M. D. Analysis of cold tolerance in sorghum under controlled environment conditions. **Field Crops Research**, v. 85, n. 1, p. 21–30, 2004.

ZENI NETO, H.; DAROS, E.; BESPALHOK FILHO, J. C.; SCAPIM, C. A.; VIDIGAL, M. C. G.; VIDIGAL FILHO, P. S. Selection of families and parents of sugarcane (*Saccharum* spp.) through mixed models by joint analysis of two harvests. **Euphytica**, v. 193, n. 3, p. 391–408, 2013.

ZHANG, B. Q.; YANG, L. T.; LI, Y. R. Physiological and biochemical characteristics related to cold resistance in sugarcane. **Sugar Tech**, v. 17, n. 1, p. 49–58, 2015.

ZHANG, F. J.; ZHANG, K. K.; DU, C. Z.; LI, J.; XING, Y. X.; YANG, L. T.; LI, Y. R. Effect of drought stress on anatomical structure and chloroplast ultrastructure in leaves of sugarcane. **Sugar Tech**, v. 17, n. 1, p. 41–48, 2015.

ZUB, H. W.; ARNOULT, S.; YOUNOUS, J.; LEJEUNE-HÉNAUT, I.; BRANCOURT-HULMEL, M. The frost tolerance of *Miscanthus* at the juvenile stage: Differences between clones are influenced by leaf-stage and acclimation. **European Journal of Agronomy**, v. 36, n. 1, p. 32–40, 2012.

### 3 CAPÍTULO II: SELEÇÃO PRECOCE PARA TOLERÂNCIA AO DÉFICIT HÍDRICO EM CANA-DE-AÇÚCAR

#### RESUMO

A demanda crescente por genótipos com tolerância ao déficit hídrico exige a definição de estratégias de seleção e maior agilidade do melhoramento genético. Neste contexto, o objetivo deste trabalho foi desenvolver e validar uma metodologia de seleção precoce em cana-de-açúcar para tolerância ao déficit hídrico. Foram avaliadas 20 famílias de irmãos completos de cana-de-açúcar sob condições de déficit hídrico, a partir de características fisiológicas e biométricas obtidas em ambiente controlado na fase precoce e em condição de campo para validação da metodologia. Os componentes de variância e os valores genotípicos foram estimados via modelos mistos (REML/BLUP), as correlações genéticas entre variáveis e fases, bem como o índice de coincidência para seleção e descarte de famílias na fase precoce. Foi observado variabilidade genética para tolerância ao déficit hídrico entre e dentro das famílias para fase precoce e de validação, sendo que RB036152 x SP93-3500, RB867515 x RB92579, RB996963 x RB92579, RB106802 x RB036088 e BJ7504 x RB835089 apresentam valores genotípicos superiores para rendimento de açúcar associado a maior nível de tolerância ao déficit hídrico. Os caracteres avaliados na fase precoce possuem alta correlação genotípica com as variáveis fisiológicas de tolerância ao déficit hídrico na fase de validação. Considerando a sobrevivência sob condição de estresse na fase precoce, o índice de coincidência geral foi superior a 75% para a seleção de famílias com valores genotípicos superiores para tolerância ao déficit hídrico na fase de validação. A metodologia utilizada é eficiente para o screening precoce de famílias de cana-de-açúcar visando à tolerância ao déficit hídrico.

Palavra-chave: *Saccharum* spp.; estresse abiótico; melhoramento genético; melhoramento acelerado; REML/BLUP.

## EARLY SELECTION FOR DROUGHT TOLERANCE IN SUGARCANE

### ABSTRACT

The growing demand for genotypes with drought tolerance requires the definition of selection strategies and greater agility of breeding programs. In this context, this work aimed to develop and validate a methodology for the early selection of sugarcane for drought tolerance. Twenty full-sib sugarcane families were evaluated under drought conditions, based on physiological and biometric characteristics obtained in controlled environment at an early stage and in field condition to validate the methodology. The variance components and the genotypic values of the families were estimated via mixed models (REML/BLUP), the genetic correlations between variables and phases, as well as the coincidence index for selection and discard of families at an early stage. Genetic variability was observed for drought tolerance between and within families for the early and validation phase. The families RB036152 x SP93-3500, RB867515 x RB92579, RB996963 x RB92579, RB106802 x RB036088 and BJ7504 x RB835089 have higher genotypic values for sugar yield associated with a higher level of drought tolerance. The characters evaluated in the early phase have a high genotypic correlation with the physiological variables of drought tolerance in the validation phase. Considering survival under stress condition at an early stage, the general coincidence index was greater than 75% for families selection with higher genotypic values for drought tolerance in the validation phase. The methodology used is efficient for the early screening of sugarcane aiming drought tolerance.

Key-words: *Saccharum* spp.; abiotic stress; crop breeding; speed breeding; REML/BLUP.

### 3.1 INTRODUÇÃO

O déficit hídrico é o estresse de maior relevância para agricultura, reduzindo a produtividade e a expansão de diversas culturas no mundo (GILLIHAM; ABLE; ROY, 2017). Para cana-de-açúcar, estima-se que mais de 60% da área cultivada está exposta ao déficit hídrico (GOMATHI et al., 2020), sendo uma das mais relevantes perdas econômicas para o setor sucroenergético (BASNAYAKE et al., 2012).

A restrição hídrica na cana-de-açúcar compromete diversos processos fisiológicos, causando alterações bioquímicas, anatômicas e morfológicas (SILVA; GERONIMO; SANTOS, 2020). Deste modo, ocorre a redução da divisão celular, número de folhas verdes, área foliar, taxa de alongamento de folhas e colmos, emissão de novos perfilhos e acúmulo de matéria seca, acarretando em menor rendimento final (INMAN-BAMBER; SMITH, 2005). Para as características fisiológicas, o déficit hídrico causa redução do conteúdo de água na folha, diminuição e degradação do teor de clorofila, redução da transpiração e conseqüentemente limita a taxa fotossintética (BASNAYAKE et al., 2015; SILVA et al., 2011; SILVA; GERONIMO; SANTOS, 2020).

A tolerância ao déficit hídrico em cana-de-açúcar está associada a respostas como enrolamento foliar, fechamento estomático, indução ao crescimento radicular, inibição do crescimento do caule, senescência e redução da área foliar (INMAN-BAMBER; LAKSHMANAN; PARK, 2012). Estes mecanismos de tolerância estão ligados ao controle da condutância estomática, níveis altos de clorofila, elevada taxa fotossintética e redução da temperatura foliar (COMINELLI et al., 2013).

Os processos bioquímicos envolvidos na resposta ao estresse são complexos e ocorrem em cascata, iniciado pela percepção, transdução de sinal e a expressão gênica, sustentando todas as respostas morfológicas, fisiológicas e bioquímicas das plantas ao estresse (GILLIHAM; ABLE; ROY, 2017). Estes mecanismos são controlados por uma série de genes e sinalizadores de estresse, diferencialmente expressos em cada genótipo (FERREIRA et al., 2017). Neste sentido, uma das maneiras mais eficazes de minimizar os efeitos negativos do déficit hídrico é a utilização de genótipos tolerantes (GOMATHI et al., 2020), o qual pode ser obtido com diferentes estratégias de seleção no melhoramento.

O melhoramento genético da cana-de-açúcar compreende várias etapas de seleção, sendo necessário cerca de 13 anos para a obtenção de uma nova cultivar

(BARBOSA et al., 2012; SHANTHI; HERMAPRABHA; ALARMELU, 2011). Além disso, considerando as características genéticas da cana-de-açúcar e modelo de cultivo semiperene, o melhoramento genético necessita de longos ciclos de seleção e testes experimentais, sendo um processo oneroso com alta demanda de mão de obra e custo (BARBOSA et al., 2012). O rendimento da cana-de-açúcar no Brasil teve um incremento superior a 60% nas últimas cinco décadas, principalmente pelo uso de novas variedades, no entanto, este aumento está estagnado a alguns anos, o que gera uma demanda por maior agilidade dos programas de melhoramento para o desenvolvimento novos genótipos, com adaptações específicas principalmente para restrições ambientais (YADAV et al., 2020).

Uma das estratégias para acelerar o melhoramento genético é realizar a seleção precoce em ambiente controlado, adotando técnicas de screening nas fases iniciais de seleção para direcionar os ensaios de campo. Neste contexto, a condução experimental visando a fenotipagem e seleção em ambiente controlado têm avançado substancialmente nos últimos anos, visando acelerar as fases de seleção e obter maior controle das condições ambientais (WATSON et al., 2018). Além disso, em ambiente controlado as técnicas de automação para fenotipagem de alto rendimento proporcionam a obtenção de grande volume de dados, gerando informações relevantes quanto à variabilidade genética de populações em condições simuladas de estresse (HONSDORF et al., 2014; NEGIN; MOSHELION, 2017; PEIRONE et al., 2018). Estas metodologias apresentam maior aplicabilidade no melhoramento quando realizadas em estádios iniciais de desenvolvimento, onde um maior número de indivíduos pode ser avaliado em menor espaço físico. Além disso, demais estudos confirmam a existência de correlação genética para caracteres de tolerância entre fase inicial de crescimento em ambiente controlado com fase adulta em condição de campo (DODIG et al., 2015; PEIRONE et al., 2018).

Diversos trabalhos foram desenvolvidos ao longo dos anos em ambiente controlado avaliando a tolerância ao déficit hídrico da cana-de-açúcar (SILVA et al., 2012; DINH et al., 2019; DU et al., 1996; GRAÇA et al., 2010; JANGPROMMA et al., 2012; KHONGHINTAISONG et al., 2018; MACHADO et al., 2009; RIBEIRO et al., 2013; ZHAO; GLAZ; COMSTOCK, 2013), no entanto, maior parte destes estudos se limita a um número reduzido de genótipos e sem validação de campo. Portanto, o objetivo deste trabalho foi desenvolver e validar uma metodologia para seleção precoce em cana-de-açúcar visando tolerância ao déficit hídrico.

## 3.2 MATERIAIS E MÉTODOS

### 3.2.1 População

Foram utilizadas sementes botânicas de 20 famílias de irmãos completos de cana-de-açúcar da série RB18 (Republica Brasil, Ano 2018), obtidas a partir de hibridações realizadas na Estação de Floração e Cruzamento da Serra do Ouro, em Murici, Alagoas, pertencente à Universidade Federal de Alagoas (UFAL) (Tabela 1).

Tabela 1. Genitores utilizados na obtenção de cruzamentos biparentais de cana-de-açúcar para avaliação da tolerância ao déficit hídrico.

♀		♂		♀		♂
SP93-3500	x	RB036152		RB946022	x	RB036085
RB996962	x	RB016916		RB006970	x	RB946903
RB016916	x	RB006970		RB946903	x	RB006970
RB036152	x	SP93-3500		RB966220	x	RB946903
RB975952	x	RB966229		RB006970	x	RB965902
RB867515	x	RB92579		BJ7504	x	RB835089
RB996963	x	RB92579		RB835089	x	RB006655
SP70-1143	x	RB036088		RB006655	x	RB835089
RB106802	x	RB036088		RB835089	x	BJ7504
RB965902	x	RB946903		RB016916	x	RB975932

♀: Genitor feminino; ♂: Genitor masculino

Após a obtenção e beneficiamento das sementes, estas foram enviadas a Estação Experimental de Paranavaí, pertencente à Universidade Federal do Paraná (UFPR). As cariopses foram semeadas no primeiro decêndio de setembro de 2018, em caixas de polietileno com volume de 8 litros, preenchidas com 4,5 kg de substrato. Após o semeio, as caixas foram mantidas em casa de vegetação com sistema de aquecimento elétrico e irrigação por aspersão. Aos 20 dias após a emergência (DAE) foi realizada a individualização das plântulas para bandejas de polietileno com células de 200 cm<sup>3</sup> cada, preenchidas 0,15 kg de substrato por célula. As plântulas individualizadas foram mantidos em casa de vegetação até 90 DAE, utilizando irrigação por aspersão na frequência de 3 vezes ao dia, totalizando uma lâmina de 6 mm por dia. Após este período as populações foram divididas aleatoriamente em duas partes, destinadas para condução dos testes com déficit hídrico nas duas fases.

### 3.2.2 Fase precoce (PRE) em ambiente controlado – estresse simulado

O experimento foi conduzido em casa de vegetação, com controle de temperatura, umidade e irrigação. As plântulas foram mantidas no mesmo recipiente de individualização, com composto da mistura de torta de filtro (resíduo agroindustrial da filtragem do caldo) com substrato comercial, marca Turfa Fertil®, na proporção de 50% de volume cada, conforme caracterização química e física descrita na tabela 2.

Tabela 2. Análise química do composto utilizado para condução dos testes de déficit hídrico em ambiente controlado.

pH	Matéria orgânica	N	P	K	Ca	Mg	S	C/N
	mg kg <sup>-1</sup>							
5,9	284,5	6,7	6,8	4,7	8,4	4,3	3,5	24,6

A análise física do composto utilizado foi realizada no Laboratório de Análises de Solo da Estação Experimental da Embrapa Clima Temperado, Pelotas, RS. Os valores de retenção de água a partir de sucções equivalentes aos pontos de tensão 10, 50 e 100 cm de coluna de água (1, 5 e 10 KPa) foram determinados pelo método da mesa de tensão (KIEHL, 1979), obtendo-se valores de umidade de 51,1%, 34,0%, 23,0% e 13,4%, para as tensões de 0, 1, 5, e 10 Kpa, respectivamente, representando os valores aproximados de porosidade total, capacidade de campo, água tamponante e ponto de murcha permanente, nesta ordem.

Foram utilizados um total 96 plântulas por família, distribuindo-se as populações no delineamento de blocos ao acaso com 6 repetições, sendo 16 plantas por parcela. Aos 95 DAE a simulação do déficit hídrico foi realizada com a suspensão da irrigação, em três ciclos de 7 dias sem irrigação (DSI) com intervalo de recuperação de 5 dias entre ciclo de estresse, totalizando 31 dias de teste (Figura 1). Antes de cada ciclo de déficit hídrico foi realizada a uniformização da umidade das plantas com imersão em lâmina d'água por 5 minutos, preenchendo todos os espaços porosos do substrato com água. No final do sétimo dia de estresse foi realizado o retorno da irrigação via aspersão, conduzindo o período de recuperação por 5 dias.

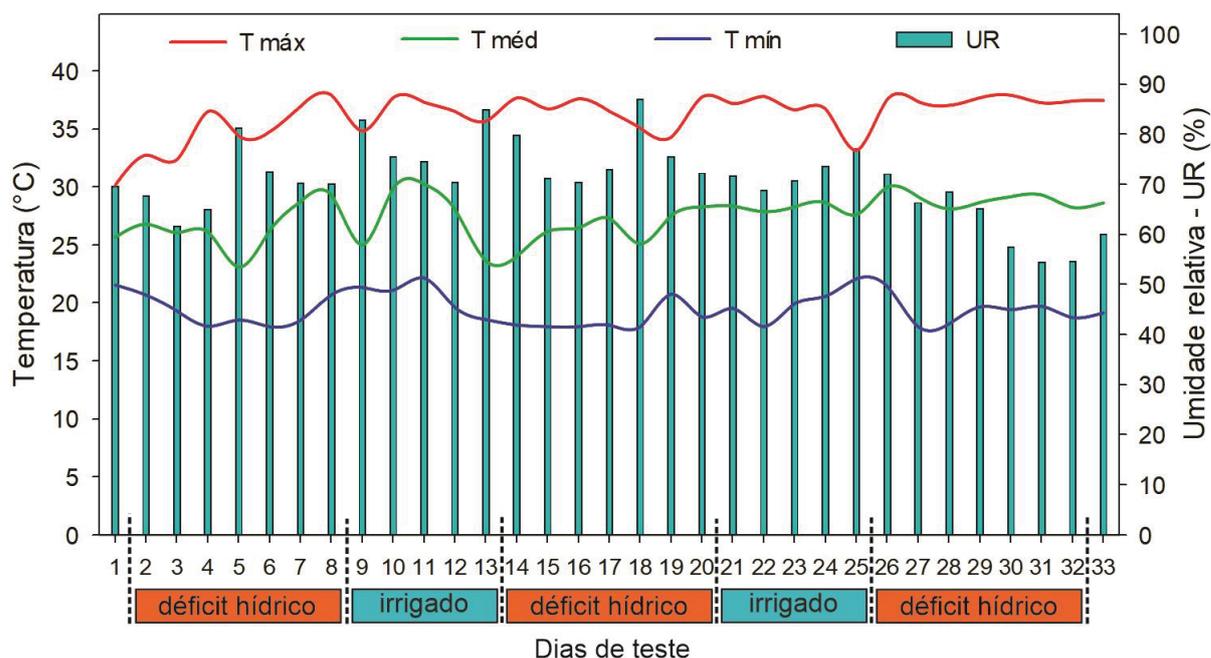


Figura 1. Temperatura mínima (T mín), média (T méd), máxima (T máx) e umidade relativa do ar (UR) durante o período de simulação de déficit hídrico.

Durante o período de simulação de estresse foram avaliados caracteres fisiológicos e biométricos, conforme descrição abaixo:

**1 - Teor de clorofila** ( $CLF_{PRE}$ , índice SPAD): Medida tomada no último dia do terceiro ciclo de estresse (dia 31), no intervalo de 09:30 às 11:30 da manhã, realizada na porção mediana da folha +1 em todas as plantas, com auxílio de um clorofilômetro portátil, modelo SPAD-502Plus, marca Konica Minolta®;

**2 - Dano foliar** ( $DNF_{PRE}$ ): avaliação visual de danos nas folhas classificando-se como Nota 1 (Altamente tolerante) - plantas com ausência de sintomas de déficit hídrico, com folhas verdes e de aparência tenra; Nota 2 (Tolerante) – plantas com sintomas iniciais de deficiência hídrica, leve murchamento das folhas e com enrolamento nas folhas mais jovens; Nota 3 (Medianamente tolerante) - plantas com sintomas intermediários de deficiência hídrica, murchamento e enrolamento foliar presente em todas folhas, com início de descoloração foliar, porém com ausência de folhas secas; Nota 4 (Sensível) – plantas com sintomas intensos de deficiência hídrica, folhas mais velhas secas e presença de descoloração em todas as folhas; Nota 5 (Altamente sensível) – plantas com sintomas severos de deficiência hídrica, com completo enrolamento foliar, descoloração e folhas totalmente secas (Figura 2).



Figura 2. Escala visual de notas para dano foliar por déficit hídrico na fase inicial de desenvolvimento da cana-de-açúcar (1 - Altamente tolerante; 2 - Tolerante; 3 - Medianamente tolerante; 4 - Sensível; 5 - Altamente sensível).

**3 - Sobrevivência** ( $SBV_{PRE}$ ): classificação das plantas conforme nota de dano foliar, associando valor “1” para plantas com  $DNF_{PRE} \leq 4$  e valor “0” para plantas com  $DNF_{PRE} = 5$ .

**4 - Altura de planta** ( $ALT_{PRE}$ , cm): medida realizada no primeiro (1) e último dia de teste (33), tomada da base da planta até a inserção da folha +1, utilizando uma régua graduada em milímetros. Os valores apresentados como resultados referem-se a última data de avaliação;

**5 - Taxa de crescimento** ( $TXC_{PRE}$ ,  $\text{mm dia}^{-1}$ ): Realizada com base na diferença da altura de planta do início do teste (dia 1) até o final do teste (dia 31), expressa em mm por dia.

### 3.2.3 Fase de validação ( $_{VAL}$ ) em condição de campo - estresse natural

O experimento foi conduzido na Estação Experimental de Paranavaí (EEP), pertencente à Universidade Federal do Paraná (UFPR) ( $22^{\circ} 58' 41.21''$  S  $52^{\circ} 28' 4.836''$  O, 470 m). O clima da região é do tipo Cfa de acordo com a Classificação Climática de Köppen, sendo o solo da área experimental classificado como latossolo vermelho distrófico.

Aos 110 DAE, as plantas foram retiradas da casa de vegetação e dispostas ao ar livre sob tela sombreada, caracterizando o período de aclimação para posterior condição de campo. Após 70 dias neste período, foi realizada o preparo para transplante a campo, com a poda das plantas cortando-se 1/3 das folhas, objetivando reduzir a perda de água e induzir o crescimento radicular.

O transplântio foi realizado no primeiro decêndio de março de 2019, em uma área pré-cultivada com *Bracchiaria* sp. durante um período de quatro meses. O preparo foi conduzido com dessecação química prévia e posterior formação dos sulcos sobre a palhada remanescente, preparados na profundidade de 0,3 m com espaçamento entre linhas de 1,5 m. No sulco foi realizada aplicação de 1000 kg ha<sup>-1</sup> de calcário dolomítico (PRNT=78%), 500 kg ha<sup>-1</sup> de gesso agrícola e 800 kg ha<sup>-1</sup> do formulado 10-20-20 (80 kg de N, 160 de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> e 160 de K<sub>2</sub>O), com posterior cobertura do sulco com uma camada de 0,2 m de solo. A implantação do experimento foi realizada no delineamento de blocos casualizados com 10 repetições, sendo a parcela experimental composta por uma linha de oito metros, com o transplante manual de 16 plântulas por parcela, espaçados 0,5 m entre si.

Os dados meteorológicos diários de temperatura do ar (°C) e precipitação (mm) foram coletados a partir de uma estação meteorológica automática, modelo Davis Vantage PRO2, instalada a 200 m do experimento. Os dados de temperatura mínima, média e máxima (°C), precipitação (mm) e o balanço hídrico (BH, mm) foram apresentados por decêndio, sendo o BH elaborado conforme Rolim et al. (1998).

Aos 220 dias após o transplante das plântulas (DAT) ao campo, no segundo decêndio de outubro de 2019, foram realizadas as seguintes avaliações fisiológicas:

**6 - Teor de clorofila** (CLF<sub>VAL</sub>, Índice SPAD): Medida tomada no intervalo de 09:30 às 11:30 da manhã, realizada na porção mediana da folha +3 do colmo principal da touceira, com auxílio de um clorofilômetro portátil, modelo SPAD-502Plus, marca Konica Minolta ®;

**7 - Dano foliar** (DNF<sub>VAL</sub>): avaliação visual de danos nas folhas classificando-se como Nota 1 (Altamente tolerante) - planta com ausência de sintomas de déficit hídrico, com folhas verdes e de aparência tenra; Nota 2 (Tolerante) – planta com sintomas iniciais de deficiência hídrica, leve murchamento das folhas e com enrolamento nas folhas mais jovens; Nota 3 (Medianamente tolerante) - planta com sintomas intermediários de deficiência hídrica, murchamento e enrolamento foliar presente em todas as folhas, com início de descoloração foliar, porém com ausência de folhas secas; Nota 4 (Sensível) – planta com sintomas intensos de deficiência hídrica, folhas mais velhas secas e presença de descoloração em todas as folhas; Nota 5 (Altamente sensível) – planta com sintomas severos de deficiência hídrica, com completo enrolamento foliar, descoloração e folhas totalmente secas (Figura 3);

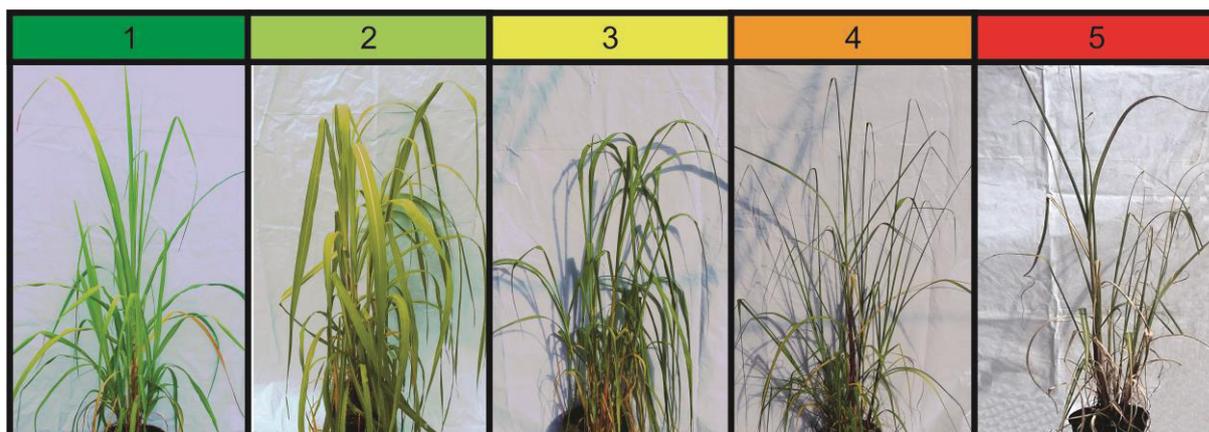


Figura 3. Escala de tolerância ao déficit hídrico em cana-de-açúcar (1: altamente tolerante; 2: tolerante; 3: medianamente tolerante; 4: sensível; 5: altamente sensível).

**8 - Sobrevivência** ( $SBV_{VAL}$ ): classificação das plantas conforme nota de dano foliar, associando valor “1” para plantas com  $DNF_{VAL} \leq 4$  e valor “0” para plantas com  $DNF_{VAL} = 5$ .

**9 - Número de folhas verdes** ( $NFV_{VAL}$ ): contagem por touceira do número total de folhas totalmente expandidas e com no mínimo 50% da área foliar verde, contadas a partir da folha +1;

Aos 385 DAT, no terceiro decêndio de março de 2020, foram realizadas as seguintes avaliações biométricas:

**10 - Número de colmos por touceira** ( $NCT_{VAL}$ ): realizada a partir da contagem do número total de colmos por touceira;

**11 - Diâmetro do colmo** ( $DIA_{VAL}$ , cm): medida realizada em três colmos por touceira, mensurado no terço médio do colmo, utilizando um paquímetro milimétrico digital;

**12 - Altura de planta** ( $ALT_{VAL}$ , cm): medida realizada em três colmos por touceira, a partir da base do colmo até a inserção da folha +1 (Dewlap), utilizando uma régua graduada em centímetros;

Aos 480 DAT, no terceiro decêndio de março de 2020, foram realizadas avaliações biométricas mensurando as seguintes características:

**13 - Massa média do colmo** ( $MMC_{VAL}$ , kg): realizada com a coleta de um colmo representativo de cada touceira (indivíduo) e pesagem em balança digital.

**14 - Toneladas de colmos por ha** ( $TCH_{VAL}$ ,  $Mg\ ha^{-1}$ ): estimado a partir de  $NCT_{VAL}$  e  $MMC_{VAL}$ , sendo:

$$TCH_{VAL} = [(NCT_{VAL} \times MMC_{VAL}) \div A] \times 10$$

Onde “A”: área da parcela ( $1,5m \times 0,5m = 0,75\ m^2$ );

**15 - Teor de sólidos solúveis totais do caldo** ( $BRIX_{VAL}$ , °Brix): medida realizada no terço médio e em dois colmos por touceira, com auxílio de um calador para extração do caldo e leitura em refratômetro digital portátil, marca Atago®, modelo Pal-1, com compensação automática da temperatura;

**16 - Toneladas de Brix por ha** ( $TBH_{VAL}$ ,  $Mg\ ha^{-1}$ ): estimado a partir de  $TCH_{VAL}$  e  $BRIX_{VAL}$ , sendo:

$$TBH_{VAL} = (TCH_{VAL} \times BRIX_{VAL}) \div 100$$

### 3.2.4 Análise de dados

Os gráficos da análise descritiva foram elaborados com auxílio do software SigmaPlot®, versão 14.0. As classes de dano foliar foram associadas a valores conforme nível de tolerância, sendo a classe 1 (altamente tolerante) com valor 1, sucessivamente, até classe 5 (altamente sensível) com valor 5.

Os componentes da variância e os parâmetros genéticos foram estimados pela máxima verossimilhança restrita (REML) e os valores genotípicos das progênes pelo melhor preditor linear não viesado (BLUP). Os dados foram analisados via modelos mistos, com o auxílio do programa SELEGEN REML/BLUP (Resende 2016). Foi utilizado o modelo associado à avaliação de famílias de irmãos completos obtidas sob cruzamento dialélico desbalanceado, genitores não aparentados, no delineamento de blocos ao acaso, conforme o seguinte modelo estatístico:

$$y = Xr + Za + Wp + Td + e$$

Em que “ $y$ ” é o vetor de dados; “ $r$ ” é o vetor dos efeitos de repetição (assumidos como fixos) somados à média geral; “ $a$ ” é o vetor dos efeitos genéticos aditivos individuais (assumidos como aleatórios); “ $p$ ” é o vetor dos efeitos de parcela (aleatórios); “ $d$ ” vetor dos efeitos genéticos de dominância associado a famílias de irmãos germanos (assumidos como aleatórios); “ $e$ ” é o vetor de erros ou resíduos (aleatórios). As letras maiúsculas representam as matrizes de incidência para os referidos efeitos. Os parâmetros genéticos foram estimados conforme descrito em Rodrigues et al. (2017).

A associação entre caracteres foi estimada via correlação de Spearman utilizando os valores genotípicos (médias de famílias estimadas via BLUP), sendo a matriz de correlação avaliada através da rede de correlações, elaborada com pacote estatístico “qgraph” (EPSKAMP et al., 2012) no ambiente estatístico R (R CORE TEAM, 2020).

A eficiência da seleção precoce foi validada a partir dos resultados da experimentação de campo, simulando três taxas de seleção (30, 50 e 70%). Após a definição do conjunto de famílias selecionadas (S) e descartadas (D) em cada taxa de seleção, foi utilizada uma matriz de confusão entre a fase precoce e fase de validação para estimativa do índice de coincidência (IC) de seleção ( $IC_S$ ), descarte ( $IC_D$ ) e geral ( $IC_G$ ), adaptando-se a metodologia utilizada por Peternelli et al. (2018), conforme tabela 3.

Tabela 3. Esquema da matriz de confusão utilizada para determinação dos índices de coincidência.

Seleção		Fase de validação		Total
		S	D	
Fase precoce	S*	A	B	$\sum_{AB}$
	D	C	D	$\sum_{CD}$
Total		$\sum_{AC}$	$\sum_{BD}$	$\sum_{ABCD}$

\*S: Famílias selecionadas; D: Famílias descartadas; A: Famílias selecionadas na fase precoce e na fase de validação; B: Famílias selecionadas na fase precoce e descartadas na fase de validação; C: Famílias descartadas na fase precoce e selecionadas na fase de validação; D: Famílias descartadas na fase precoce e na fase de validação;  $\sum$ : Somatório.

A estimativa dos IC foi determinada utilizando as informações geradas a partir da matriz de confusão, sendo:

$$IC_S (\%) = \frac{A}{\sum_{AB}} \times 100$$

$$IC_D (\%) = \frac{D}{\sum_{CD}} \times 100$$

$$IC_G (\%) = \frac{A + D}{\sum_{ABCD}} \times 100$$

### 3.3 RESULTADOS E DISCUSSÕES

A fase de validação apresentou longos períodos de déficit hídrico, com temperatura de 14,8, 22,9 e 32,7°C, para médias de temperatura mínima, média e máxima, respectivamente (Figura 4).

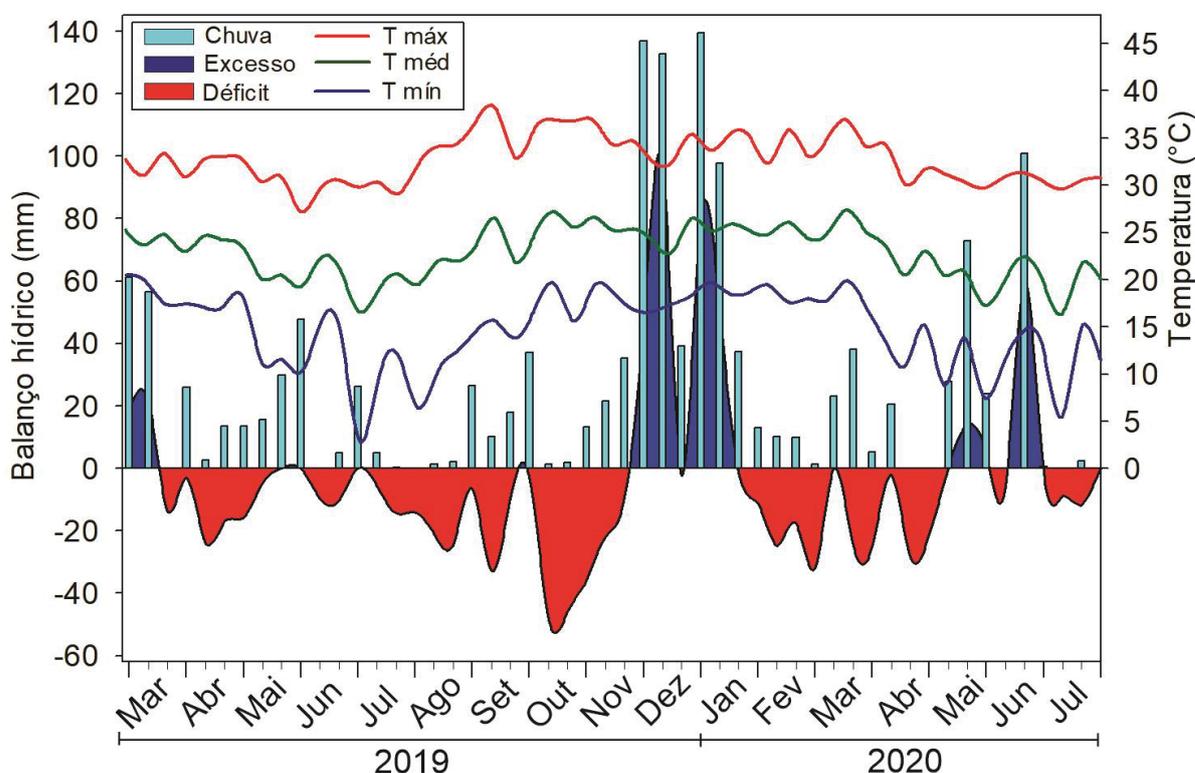


Figura 4. Condições meteorológicas para chuva (mm), temperatura mínima (T min, °C), média (T med, °C), máxima (T max, °C) e balanço hídrico (mm) por decêndio dos meses de março de 2019 a julho de 2020, estação experimental de Paranaíba, PR.

A partir do balanço hídrico decendial observa-se um período total de 350 dias com déficit hídrico, representando 70% de todo o ciclo de cana planta conduzido em 16 meses. De modo geral, a cana-de-açúcar necessita de 1500 a 2000 mm de chuva para um período de 12 meses, com maior demanda na fase inicial de crescimento (NAWAE et al., 2020). Neste contexto, o volume total de chuva foi de 1400 mm durante 16 meses, no entanto distribuídos de forma irregular, concentrando-se um volume de 600 mm em dezembro de 2019 e janeiro de 2020, restando apenas 800 mm para os demais 14 meses de cultivo.

Nos primeiros oito meses de crescimento (abril a novembro de 2019) o acumulado de chuva foi de apenas 352 mm, visto que a demanda hídrica estimada (evapotranspiração) foi de 800 mm, representando um déficit superior a 400 mm. Neste sentido, destaca-se que tais condições ambientais foram favoráveis para

avaliação da tolerância ao déficit hídrico em condição de campo, bem como associar estes resultados com as informações obtidas na fase precoce em ambiente controlado.

Foi observada alta variabilidade para dano foliar (DNF) e teor de clorofila (CLF) dentro e entre as famílias nas duas fases de avaliação (Figura 5).

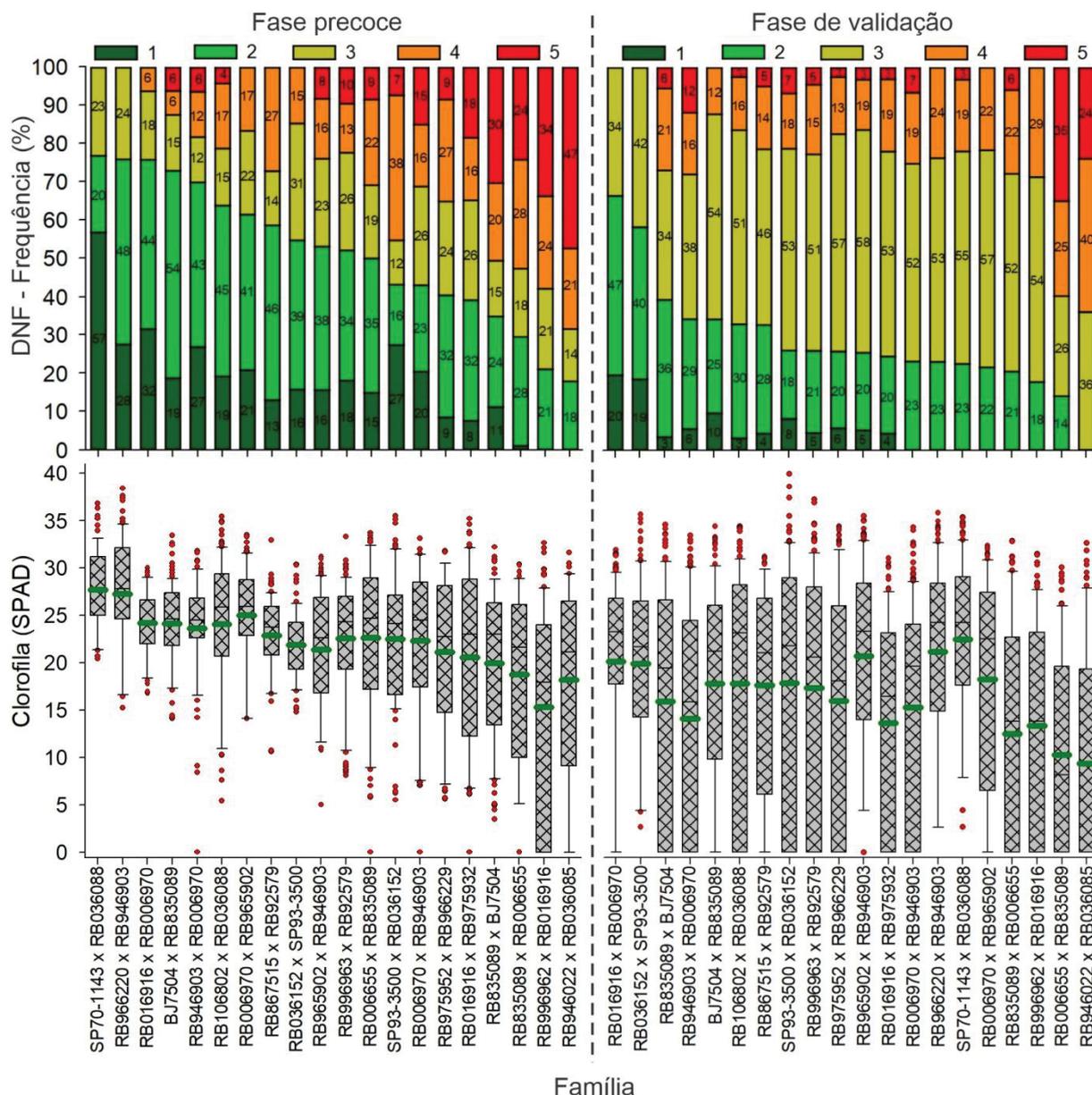


Figura 5. Frequência de tolerância por classe de dano foliar (DNF, DNF, Nota 1: altamente tolerante; 2: tolerante; 3: medianamente tolerante; 4: sensível; 5: altamente sensível) e distribuição dos teores de clorofila (CLF, SPAD) em 20 famílias de cana-de-açúcar avaliadas sob estresse por déficit hídrico em ambiente controlado na fase precoce (PRE) e em condição de campo na fase de validação (VAL). — média.

Na fase precoce as famílias SP70-1143 x RB036088 e RB966220 x RB946903 apresentaram elevada tolerância ao déficit hídrico, com frequência de indivíduos tolerantes para  $DNF_{PRE}$  (nota 1 e 2) superior a 75% associado a valores médios de  $CLF_{PRE}$  superior a 27,0 SPAD. Estas mesmas famílias em condição de campo apresentaram menor frequência de indivíduos tolerantes para  $DNF_{VAL}$ , entretanto com maiores valores médios de clorofila ( $CLF_{VAL} > 24,0$  SPAD). Na fase de validação, as famílias RB016916 x RB006970 e RB036152 x SP93-3500 apresentaram em média mais de 60% dos indivíduos classificados como tolerantes para  $DNF_{VAL}$  e valor médio de  $CLF_{VAL}$  superior a 20,0 SPAD, corroborando com a tolerância observada na fase precoce ( $> 55\%$  com  $DNF_{PRE}$  1 e 2; média de  $CLF_{PRE} > 22,0$  SPAD). Estes resultados confirmam o maior nível de tolerância ao déficit hídrico destas combinações e a associação entre as fases avaliadas.

Em condições controladas, Dapanage; Bhat (2018) observaram teor de CLF entre 29,9 até 35,3 SPAD para variedades de cana-de-açúcar tolerantes ao déficit hídrico. A partir disso, destaca-se que em ambas as fases de avaliação, todas as famílias apresentaram indivíduos com CLF acima de 35 SPAD. Para  $DNF_{PRE}$ , a frequência média foi de 18, 34, 20, 17 e 11% em ambiente controlado e 5, 24, 48, 18 e 6% no campo, respectivamente para as classes altamente tolerante, tolerante, medianamente tolerante, sensível e altamente sensível, diferindo de Hemaprabha et al. (2013), que observaram 11% de indivíduos altamente tolerantes e 22% altamente sensíveis para 165 progênies oriundas da hibridação de Co740 x Co775.

As estimativas de herdabilidade no sentido restrito ( $h_a^2$ ) na fase precoce variaram de 0,05 a 0,34, para  $DNF_{PRE}$  e altura de plântula ( $ALT_{PRE}$ ), respectivamente, enquanto tal estimativa foi nula para taxa de crescimento ( $TXC_{PRE}$ ) (Tabela 4). Na fase de validação as estimativas de  $h_a^2$  variaram de 0,03 para número de colmos por touceira ( $NCT_{VAL}$ ), toneladas de colmo por ha ( $TCH_{VAL}$ ) e toneladas de brix por ha ( $TBH_{VAL}$ ) a 0,12 para teor de sólidos solúveis totais ( $BRIX_{VAL}$ ), enquanto que para dano foliar ( $DNF_{VAL}$ ), sobrevivência ( $SBV_{VAL}$ ) e número de folhas verdes ( $NFV_{VAL}$ ) estes valores não diferiram de zero. Estimativas de ( $h_a^2$ ) superiores a 0,05 são importantes para confirmação de variabilidade, sendo que valores acima de 0,15 são considerados de magnitude moderada, permitindo a seleção baseada nas informações individuais associada às informações em nível de família (RESENDE, 2002).

Tabela 4. Parâmetros genéticos por meio da máxima verossimilhança restrita (REML) para caracteres fisiológicos e biométricos em 20 famílias de cana-de-açúcar avaliadas sob estresse por déficit hídrico em ambiente controlado na fase precoce (PRE) e em condição de campo na fase de validação (VAL).

Parâmetro*	$\sigma_a^2$	$\sigma_d^2$	$\sigma_e^2$	$h_a^2 (\pm DP^1)$	$h_{mf}^2$	$\sigma_p^2$	CVg(%)	AC <sub>fam</sub>	Média
<sup>2</sup> CLF <sub>PRE</sub>	3,41	5,60	47,05	0,06 ±0,02	0,80	7,30	12,17	0,89	22,20
DNF <sub>PRE</sub>	0,08	0,29	1,06	0,05 ±0,02	0,90	0,33	21,00	0,95	2,72
SBV <sub>PRE</sub>	0,01	0,01	0,07	0,08 ±0,54	0,83	0,02	14,04	0,91	0,88
ALT <sub>PRE</sub>	0,98	0,59	1,26	0,34 ±0,05	0,96	1,08	12,90	0,98	8,05
TXC <sub>PRE</sub>	0,00	0,03	0,18	0,00 ±0,01	0,79	0,03	18,42	0,89	0,96
CLF <sub>VAL</sub>	13,71	8,38	139,49	0,08 ±0,02	0,78	15,23	20,93	0,88	18,65
DNF <sub>VAL</sub>	0,01	0,14	0,60	0,01 ±0,01	0,86	0,15	12,87	0,93	2,97
SBV <sub>VAL</sub>	0,00	0,01	0,05	0,01 ±0,01	0,86	0,01	9,09	0,93	0,94
NFV <sub>VAL</sub>	4,33	7,68	272,49	0,01 ±0,01	0,61	9,85	10,89	0,78	28,81
NCT <sub>VAL</sub>	0,43	0,19	13,82	0,03 ±0,01	0,61	0,41	9,26	0,78	6,89
DIA <sub>VAL</sub>	0,02	0,02	0,28	0,05 ±0,02	0,71	0,02	7,82	0,84	1,99
ALT <sub>VAL</sub>	208,02	248,25	2198,34	0,08 ±0,02	0,85	352,25	10,06	0,92	186,48
MMC <sub>VAL</sub>	0,01	0,01	0,16	0,06 ±0,02	0,78	0,02	16,44	0,88	0,88
TCH <sub>VAL</sub>	122,34	221,86	4311,99	0,03 ±0,01	0,76	283,03	19,70	0,87	85,41
BRIX <sub>VAL</sub>	0,80	0,01	5,15	0,12 ±0,03	0,62	0,41	3,10	0,79	20,68
TBH <sub>VAL</sub>	7,18	9,19	198,28	0,03 ±0,01	0,75	12,78	19,96	0,87	17,90

\*Variância genética aditiva ( $\sigma_a^2$ ); variância genética de dominância entre progênies de irmãos completos ( $\sigma_d^2$ ); variância residual entre parcelas ( $\sigma_e^2$ ); herdabilidade individual no sentido restrito – efeitos aditivos ( $h_a^2$ ); herdabilidade entre médias de progênies ( $h_{mf}^2$ ); variância genotípica entre famílias ( $\sigma_p^2$ ); coeficiente de variação genético (CVg) e acurácia seletiva entre famílias (AC<sub>fam</sub>). <sup>1</sup>DP: Desvio padrão. <sup>2</sup>CLF: teor de clorofila; DNF: Dano foliar; SBV: sobrevivência; ALT: altura de planta (cm); TXC: taxa de crescimento (mm dia<sup>-1</sup>); NFV: número de folhas verdes; NCT: número de colmos por touceira; DIA: diâmetro do colmo (cm); MMC: massa média do colmo (kg); TCH: toneladas de colmo por ha (Mg ha<sup>-1</sup>); BRIX: teor de sólidos solúveis totais (°Brix) TBH: toneladas de Brix por ha (Mg ha<sup>-1</sup>).

As herdabilidades para média de famílias ( $h_{mf}^2$ ) foram superiores as demais estimativas de  $h^2$  para todas as variáveis, variando de 0,61 para NFV<sub>VAL</sub> e NCT<sub>VAL</sub> a 0,96 para ALT<sub>PRE</sub>. Resultados semelhantes foram observados em demais estudos avaliando a variabilidade genética entre famílias de cana-de-açúcar (CASTRO et al., 2016; SILVEIRA et al., 2016; OLIVEIRA et al., 2016; VERISSIMO et al., 2018; ZENI NETO et al., 2013). A seleção em famílias com valores genotípicos superiores tende a ser mais eficaz na identificação da maior proporção de genótipos promissores (SILVA et al., 2015; OLIVEIRA et al., 2016). Valores genotípicos superiores indicam o potencial de genitores para recombinação em futuros cruzamentos (CASTRO et al., 2016).

Foram observados valores de acurácia seletiva (AC<sub>fam</sub>) superior a 0,75 para todas as variáveis em ambas as fases de avaliação. Para a seleção de famílias, é um importante indicador de precisão de inferência das estimativas genéticas, visto

que  $AC_{fam}$  maior que 0,50 aponta que é possível obter eficiência no processo de seleção (RESENDE; DUARTE, 2007).

O coeficiente de variação genética (CVg) é um importante indicador de variabilidade genética, sendo que valores superiores a 10% apontam para existência de variabilidade genética entre progênies (OLIVEIRA et al., 2013; RESENDE, 2002). Neste contexto, todas as variáveis avaliadas nas duas fases apresentaram tais estimativas (>10%), exceto diâmetro do colmo ( $DIA_{VAL}$ ),  $NCT_{VAL}$  e  $BRIX_{VAL}$ , destacando-se  $DNF_{PRE}$  e  $CLF_{VAL}$ , com CVg superior a 20%.

Entre as fases de avaliação, observa-se que a tendência das estimativas de variância residual ( $\sigma_e^2$ ) e variância genotípica entre famílias ( $\sigma_p^2$ ) diferem em relação a variável analisada. Por exemplo, para a variável CLF, a  $\sigma_e^2$  foi superior na fase de validação, enquanto para DNF isto foi observado para fase precoce. Em contrapartida, as estimativas de  $\sigma_p^2$  apresentaram tendência inversa à  $\sigma_e^2$ , considerando estas mesmas variáveis. Devido a isso, as estimativas de  $h_{mf}^2$  para CLF e DNF foram semelhantes entre os ambientes de avaliação, permitindo assim, a seleção em ambas as situações de estudo. Em ambiente controlado as condições ambientais podem ser padronizadas, contornando problemas como a variabilidade espacial e a sazonalidade dos eventos de estresse, observados frequentemente nos ensaios de campo, (PARRA-LONDONO et al., 2018), o que dificulta a implementação destes testes como rotina no melhoramento.

Para a fase precoce nove famílias apresentaram valores genotípicos superiores à média geral para  $CLF_{PRE}$ ,  $DNF_{PRE}$  e  $SBV_{PRE}$ , com ganhos de 9,7, 16,4 e 8,5%, respectivamente (Tabela 5). Dentre este conjunto, oito famílias apresentaram valores genotípicos superiores à média geral de  $CLF_{VAL}$ , representando um ganho de aproximadamente 13% nesta variável.

Tabela 5. Valor genotípico (Vg) e média geral para caracteres fisiológicos e biométricos em 20 famílias de cana-de-açúcar avaliadas sob estresse por déficit hídrico em ambiente controlado na fase precoce (PRE) e em condição de campo na fase de validação (VAL).

Família	<sup>1</sup> CLF <sub>PRE</sub>	DNF <sub>PRE</sub>	SBV <sub>PRE</sub>	ALT <sub>PRE</sub>	TXC <sub>PRE</sub>	CLF <sub>VAL</sub>	DNF <sub>VAL</sub>	SBV <sub>VAL</sub>	NFV <sub>VAL</sub>	NCT <sub>VAL</sub>	DIA <sub>VAL</sub>	ALT <sub>VAL</sub>	MMC <sub>VAL</sub>	TCH <sub>VAL</sub>	BRIX <sub>VAL</sub>	TBH <sub>VAL</sub>
RB036152 x SP93-3500	21,9	<b>2,47</b>	<b>0,98</b>	<b>11,2</b>	<b>1,04</b>	<b>22,0</b>	<b>2,28</b>	<b>0,965</b>	<b>29,7</b>	<b>7,3</b>	<b>2,20</b>	<b>213,6</b>	<b>1,17</b>	<b>120,4</b>	20,1	<b>24,7</b>
RB867515 x RB92579	<b>22,7</b>	<b>2,56</b>	<b>0,98</b>	7,7	<b>0,98</b>	<b>19,8</b>	<b>2,90</b>	<b>0,996</b>	<b>29,6</b>	<b>7,2</b>	<b>2,19</b>	<b>202,5</b>	<b>1,11</b>	<b>113,7</b>	<b>21,3</b>	<b>24,6</b>
RB966220 x RB946903	<b>26,3</b>	<b>2,04</b>	<b>0,98</b>	7,1	<b>1,14</b>	<b>23,3</b>	3,00	<b>0,996</b>	<b>31,9</b>	<b>8,1</b>	1,92	<b>207,2</b>	0,87	<b>100,4</b>	20,3	<b>20,4</b>
RB996963 x RB92579	<b>22,4</b>	<b>2,64</b>	<b>0,90</b>	<b>8,2</b>	<b>1,18</b>	<b>19,4</b>	<b>2,97</b>	<b>0,973</b>	<b>31,5</b>	<b>7,0</b>	<b>2,03</b>	181,6	<b>0,90</b>	<b>90,8</b>	<b>21,1</b>	<b>19,5</b>
RB975952 x RB966229	21,2	2,93	<b>0,91</b>	7,6	0,92	18,1	<b>2,89</b>	<b>0,996</b>	27,0	<b>7,1</b>	<b>2,07</b>	<b>196,3</b>	<b>0,91</b>	<b>88,1</b>	<b>21,3</b>	<b>19,2</b>
RB106802 x RB036088	<b>23,8</b>	<b>2,44</b>	<b>0,95</b>	7,7	0,85	<b>20,0</b>	<b>2,84</b>	<b>0,996</b>	<b>29,3</b>	6,8	<b>2,08</b>	<b>207,1</b>	<b>1,00</b>	<b>94,9</b>	19,9	<b>19,0</b>
SP70-1143 x RB036088	<b>26,8</b>	<b>1,74</b>	<b>0,98</b>	6,8	<b>1,05</b>	<b>24,6</b>	3,02	0,886	<b>31,0</b>	<b>7,0</b>	<b>2,03</b>	<b>192,9</b>	<b>0,94</b>	<b>88,9</b>	<b>20,8</b>	<b>18,9</b>
BJ7504 x RB835089	<b>23,7</b>	<b>2,31</b>	<b>0,92</b>	<b>9,4</b>	<b>1,06</b>	<b>19,7</b>	<b>2,70</b>	<b>0,949</b>	<b>30,8</b>	<b>7,3</b>	<b>2,02</b>	<b>187,8</b>	<b>0,88</b>	<b>94,1</b>	20,2	<b>18,8</b>
RB996962 x RB016916	16,4	3,63	0,69	<b>8,1</b>	0,77	15,5	3,10	0,935	25,9	6,5	<b>2,06</b>	<b>189,3</b>	<b>0,93</b>	<b>86,8</b>	<b>20,8</b>	<b>18,4</b>
SP93-3500 x RB036152	<b>22,4</b>	2,81	<b>0,92</b>	<b>9,4</b>	0,88	<b>20,3</b>	<b>2,95</b>	0,667	<b>31,7</b>	<b>7,0</b>	<b>2,02</b>	181,7	<b>0,88</b>	<b>87,4</b>	20,0	17,7
RB946022 x RB036085	18,8	3,88	0,58	7,5	0,72	11,5	3,81	0,931	26,6	<b>7,0</b>	1,95	169,4	0,79	80,1	<b>21,3</b>	17,5
RB006970 x RB965902	<b>24,5</b>	<b>2,37</b>	<b>0,99</b>	<b>8,7</b>	<b>1,19</b>	<b>20,4</b>	2,99	<b>0,954</b>	<b>31,1</b>	<b>6,9</b>	1,92	<b>194,0</b>	0,85	80,8	<b>21,1</b>	17,4
RB835089 x RB006655	19,3	3,41	0,78	<b>8,3</b>	0,88	14,3	3,12	<b>0,996</b>	26,2	6,0	1,85	164,8	0,83	77,4	19,7	15,7
RB946903 x RB006970	<b>23,5</b>	<b>2,31</b>	<b>0,93</b>	<b>8,7</b>	<b>1,27</b>	16,4	2,99	<b>0,965</b>	28,7	6,7	1,76	170,2	0,73	76,6	20,6	15,5
RB016916 x RB006970	<b>23,8</b>	<b>2,05</b>	<b>0,98</b>	7,5	<b>1,03</b>	<b>21,9</b>	<b>2,20</b>	<b>0,972</b>	<b>29,8</b>	6,0	<b>2,18</b>	<b>196,4</b>	<b>0,94</b>	75,3	20,5	15,4
RB965902 x RB946903	21,6	<b>2,64</b>	<b>0,91</b>	<b>8,2</b>	0,78	<b>22,8</b>	<b>2,90</b>	<b>0,967</b>	<b>33,2</b>	<b>7,3</b>	1,95	<b>194,6</b>	0,71	70,5	<b>21,2</b>	14,9
RB016916 x RB975932	20,7	3,05	0,82	7,0	0,80	15,8	<b>2,96</b>	<b>0,946</b>	24,2	6,4	1,93	178,9	0,78	69,9	20,6	14,5
RB006970 x RB946903	<b>22,5</b>	2,82	0,86	7,9	0,78	17,6	3,07	<b>0,941</b>	<b>29,1</b>	6,6	1,84	172,7	0,69	66,3	20,6	13,9
RB006655 x RB835089	<b>22,4</b>	2,75	<b>0,91</b>	7,3	<b>1,01</b>	12,3	3,76	0,773	26,9	5,6	1,67	139,3	0,70	63,4	19,7	12,8
RB835089 x BJ7504	20,3	3,30	0,72	7,9	0,86	17,9	<b>2,89</b>	<b>0,997</b>	22,5	6,3	1,78	164,0	0,65	58,2	20,2	12,1
Média	<b>22,2</b>	<b>2,72</b>	<b>0,88</b>	<b>8,0</b>	<b>0,96</b>	<b>18,7</b>	<b>2,97</b>	<b>0,940</b>	<b>28,8</b>	<b>6,9</b>	<b>1,99</b>	<b>186,5</b>	<b>0,88</b>	<b>85,4</b>	<b>20,7</b>	<b>17,9</b>

\*Valores destacados em negrito referem-se a famílias com superioridade genotípica em relação a média geral. <sup>1</sup>CLF<sub>PRE</sub>: teor de clorofila em fase precoce (SPAD); DNF<sub>PRE</sub>: Dano foliar em fase precoce; SBV<sub>PRE</sub>: sobrevivência em fase precoce; ALT<sub>PRE</sub>: altura de planta em fase precoce (cm); TXC<sub>PRE</sub>: taxa de crescimento em fase precoce (mm dia<sup>-1</sup>); <sup>1</sup>CLF: teor de clorofila; DNF: Dano foliar; SBV: sobrevivência; ALT: altura de planta (cm); TXC: taxa de crescimento (mm dia<sup>-1</sup>); NFV: número de folhas verdes; NCT: número de colmos por touceira; DIA: diâmetro do colmo (cm); MMC: massa média do colmo (kg); TCH: toneladas de colmo por ha (Mg ha<sup>-1</sup>); BRIX: teor de sólidos solúveis totais (°Brix) TBH: toneladas de Brix por ha (Mg ha<sup>-1</sup>).

Para  $CLF_{VAL}$  e  $NFV_{VAL}$  11 famílias apresentaram valores genotípicos superiores a média geral, representando um ganho de 7,1 e 14,1%, respectivamente. Neste conjunto em destaque, observa-se que 10 destas famílias (>90%) possuem superioridade para tolerância ao déficit hídrico em fase precoce, considerando valores de  $DNF_{PRE} \leq 2,64$ . Estes resultados reforçam a associação das informações genéticas entre as fases avaliadas.

As famílias RB036152 x SP95-3500 e RB867515 x RB92579 apresentaram superioridade evidente para todas as variáveis em condição de campo. O ganho médio foi de 9,2% para as variáveis fisiológicas e 22,1% para as variáveis biométricas, com relevância para  $TBH_{VAL}$ , superando 37% de ganho em relação à média geral da população. Além disso, estas famílias também destacaram-se para  $DNF_{PRE}$ ,  $SBV_{PRE}$  e  $TXC_{PRE}$ , confirmando elevada tolerância ao déficit hídrico.

A população avaliada apresentou alto potencial produtivo, com  $TCH_{VAL}$  médio de  $85,4 \text{ Mg ha}^{-1}$ , com ênfase para RB036152 x SP93-3500, RB867515 x RB92579 e RB966220 x RB946903, superando  $100 \text{ Mg ha}^{-1}$ . Estes rendimentos são superiores aos observados em demais estudos avaliando o desempenho de famílias de cana-de-açúcar sem ocorrência de estresse (CASTRO et al., 2016; LUCIUS et al., 2014; OLIVEIRA et al., 2016). Considerando as variáveis  $DIA_{VAL}$ ,  $NCT_{VAL}$  e  $ALT_{VAL}$ , os resultados foram superiores aos observados por Silva et al. (2008), avaliando 25 famílias de cana-de-açúcar no cerrado Brasileiro em condições de déficit hídrico e irrigadas, confirmando o elevado potencial genético da população para tolerância ao déficit hídrico e alto rendimento sob condições restritivas.

Considerando a variável  $TBH_{VAL}$  como de maior relevância agrônômica, nove famílias apresentaram valores superiores a  $18,0 \text{ Mg Brix ha}^{-1}$ , representando um ganho de 14% em relação a média geral. Dentre estas famílias, RB036152 x SP93-3500, RB867515 x RB92579, RB996963 x RB92579, RB106802 x RB036088 e BJ7504 x RB835089 também apresentaram valores genotípicos superiores a média geral para todas variáveis fisiológicas, combinando tolerância ao déficit hídrico e alto potencial produtivo.

A associação entre as variáveis biométricas e fisiológicas observada a partir da rede de correlações mostra tendência de agrupamento para as variáveis biométricas avaliadas a campo, com forte correlação para  $TCH_{VAL}$  x  $TBH_{VAL}$ ,  $TCH_{VAL}$  x  $MMC_{VAL}$  e  $TCH_{VAL}$  x  $NCT_{VAL}$  (Figura 6). Resultados similares também foram

observados em demais estudos de avaliação biométrica em famílias de cana-de-açúcar (SILVEIRA et al., 2015; ESPÓSITO et al., 2012).

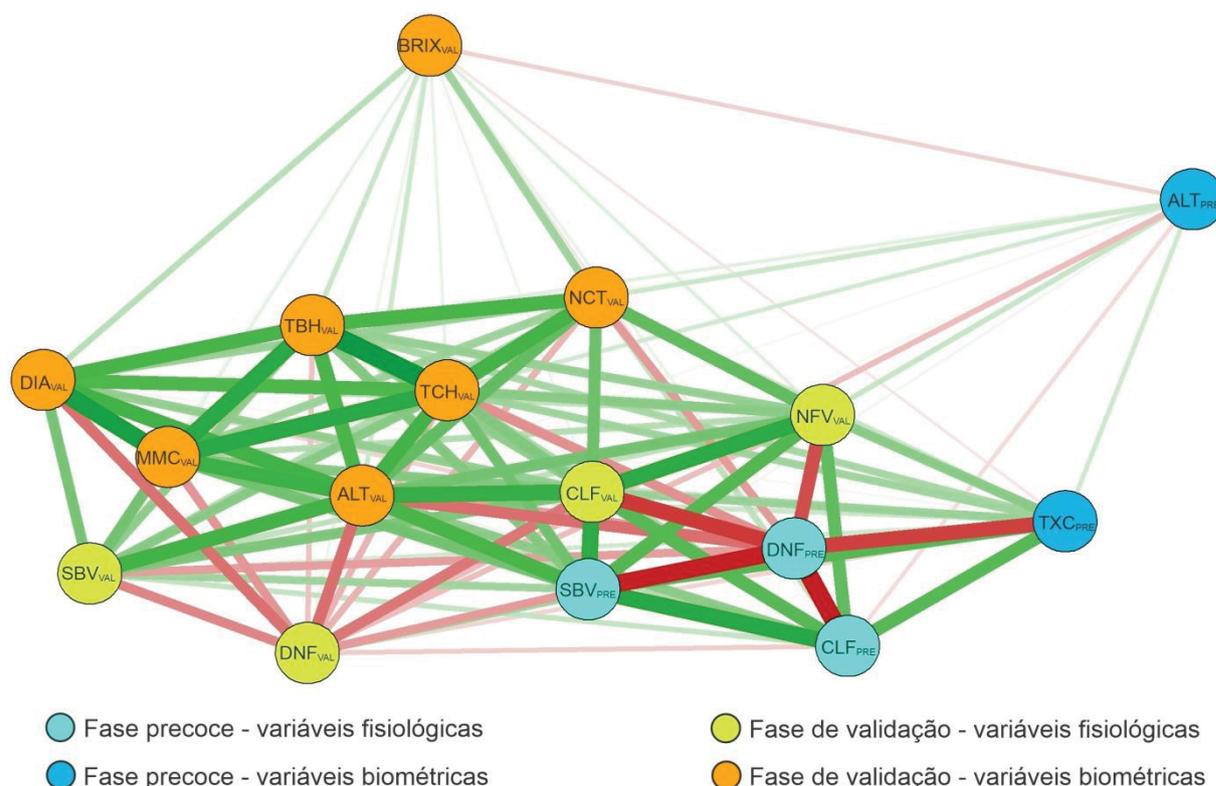


Figura 6. Rede de correlações genóticas para caracteres fisiológicos e biométricos em 20 famílias de cana-de-açúcar avaliadas sob estresse por déficit hídrico em ambiente controlado na fase precoce (PRE) e em condição de campo na fase de validação (VAL). As linhas verdes representam correlações positivas enquanto linhas vermelhas representam correlações negativas. A espessura da linha é proporcional à magnitude da correlação. \* CLF: teor de clorofila; DNF: Dano foliar; SBV: sobrevivência; ALT: altura de planta (cm); TXC: taxa de crescimento (mm dia<sup>-1</sup>); NFV: número de folhas verdes; NCT: número de colmos por touceira; DIA: diâmetro do colmo (cm); MMC: massa média do colmo (kg); TCH: toneladas de colmo por ha (Mg ha<sup>-1</sup>); BRIX: teor de sólidos solúveis totais (°Brix) TBH: toneladas de Brix por ha (Mg ha<sup>-1</sup>).

Observa-se que TCH<sub>VAL</sub> apresenta posicionamento central, associado a diferentes variáveis, com distinta magnitude e sentido. A correlação de variáveis fisiológicas com rendimento de colmos é confirmada em demais estudos avaliando variabilidade genética da cana-de-açúcar sob condições de déficit hídrico (BASNAYAKE et al., 2015; GOMATHI et al., 2020; HEMAPRABHA et al., 2013). O rendimento de colmos é uma variável controlada por muitos genes com elevado nível de complexidade, influenciada por vários caracteres inter-relacionados (ESPÓSITO et al., 2012).

As variáveis fisiológicas CLF<sub>VAL</sub> e NFV<sub>VAL</sub> apresentaram correlação genotípica moderada a forte com os componentes de rendimento, principalmente para ALT<sub>VAL</sub>, evidenciando a influência negativa do déficit hídrico no desempenho

das famílias. Em cana-de-açúcar, a alongação do colmo é um dos processos mais afetados pelo déficit hídrico, observando-se redução de altura das plantas e encurtamento dos entrenós (GOMATHI et al., 2020; HEMAPRABHA et al., 2013; ISHAQ; OLAOYE, 2009). A restrição hídrica interfere em diversos processos fisiológicos, reduzindo o crescimento e desenvolvimento das plantas de acordo com a severidade do estresse e do nível de tolerância da espécie (FERREIRA et al., 2017).

As variáveis fisiológicas avaliadas na fase precoce ( $CLF_{PRE}$ ,  $DNF_{PRE}$  e  $SBV_{PRE}$ ) apresentaram alta correlação com  $NFV_{VAL}$  e  $CLF_{VAL}$ , com nós de ligação próximos e linhas espessas, sendo os valores médios de correlação genotípica de 0,70, revelando alta associação entre as fases avaliadas. Além disso, para  $SBV_{PRE}$  também foi observada correlação genotípica com  $ALT_{VAL}$  e  $TCH_{VAL}$ , sendo um importante indicador que a seleção precoce nestas condições pode contribuir na obtenção de populações com maior rendimento sob déficit hídrico.

O índice de coincidência geral ( $IC_G$ ) para média das taxas de seleção (TS) foi de 69,2, 74,2 e 76,7%, na seleção via  $CLF_{PRE}$ ,  $DNF_{PRE}$  e  $SBV_{PRE}$ , respectivamente (Tabela 6). Para as diferentes TS, o  $IC_G$  médio foi de 74,2, 69,2 e 76,7%, para TS de 30, 50 e 70%, respectivamente. Para TS de 30%, as variáveis  $CLF_{PRE}$  e  $SBV_{PRE}$  apresentaram maior índice de coincidência de seleção ( $IC_S$ ), com 58,3%, enquanto que para as TS de 50 e 70% a variável  $SBV_{PRE}$  se destaca com  $IC_S$  médio de 80%. Considerando o índice de coincidência para descarte ( $IC_{DS}$ ), as variáveis  $CLF_{PRE}$ ,  $DNF_{PRE}$  e  $SBV_{PRE}$  apresentaram  $IC_{DS}$  médio de 66,0, 71,2 e 74,6%, para TS de 30, 50 e 70%, respectivamente.

Foram observados valores ligeiramente superiores de  $IC_{DS}$  comparado ao  $IC_S$ , destacando a combinação de  $CLF_{PRE}$  e  $SBV_{PRE}$  com  $CLF_{VAL}$  e  $NFV_{VAL}$ , a qual apresentou valor médio de  $IC_{DS}$  de 83% na TS de 70%, o que representa uma alta efetividade no descarte de 30% das famílias com baixos valores genotípicos para tolerância ao déficit hídrico. Deste modo, a metodologia utilizada pode ser aplicada como uma ferramenta de screening precoce, eliminando parte da população com baixo nível de tolerância. Segundo Apiolaza (2009), técnicas de screening podem ser favoráveis para seleção precoce visando eliminar populações com baixo valor genético. Neste sentido, uma metodologia capaz de eliminar de 30 a 50% da população com baixo valor genotípico para tolerância ao déficit hídrico, representa

um ganho substancial de tempo e redução de custo, direcionando assim os ensaios de campo com populações pré-selecionadas.

Tabela 6. Índice de coincidência (IC) para seleção (IC<sub>S</sub>), descarte (IC<sub>DS</sub>) e geral (IC<sub>G</sub>) entre fase precoce (PRE) e fase de validação (VAL) para variáveis fisiológicas avaliadas em 20 famílias de cana-de-açúcar sob déficit hídrico.

Seleção	Taxa de seleção (%)									
	30			50			70			
	IC <sub>S</sub>	IC <sub>DS</sub>	IC <sub>G</sub>	IC <sub>S</sub>	IC <sub>DS</sub>	IC <sub>G</sub>	IC <sub>S</sub>	IC <sub>DS</sub>	IC <sub>G</sub>	
CLF <sub>PRE</sub>	<sup>1</sup> CLF <sub>VAL</sub>	66,7	85,7	80,0	70,0	70,0	70,0	85,7	66,7	80,0
	DNF <sub>VAL</sub>	50,0	78,6	70,0	40,0	40,0	40,0	78,6	50,0	70,0
	SBV <sub>VAL</sub>	66,7	85,7	80,0	60,0	60,0	60,0	71,4	33,3	60,0
	NFV <sub>VAL</sub>	50,0	78,6	70,0	60,0	60,0	60,0	92,9	83,3	90,0
DNF <sub>PRE</sub>	CLF <sub>VAL</sub>	66,7	85,7	80,0	90,0	90,0	90,0	85,7	66,7	80,0
	DNF <sub>VAL</sub>	33,3	71,4	60,0	60,0	60,0	60,0	78,6	50,0	70,0
	SBV <sub>VAL</sub>	66,7	85,7	80,0	70,0	70,0	70,0	71,4	33,3	60,0
	NFV <sub>VAL</sub>	50,0	78,6	70,0	80,0	80,0	80,0	92,9	83,3	90,0
SBV <sub>PRE</sub>	CLF <sub>VAL</sub>	83,3	92,9	90,0	90,0	90,0	90,0	85,7	66,7	80,0
	DNF <sub>VAL</sub>	33,3	71,4	60,0	60,0	60,0	60,0	85,7	66,7	80,0
	SBV <sub>VAL</sub>	66,7	85,7	80,0	70,0	70,0	70,0	78,6	50,0	70,0
	NFV <sub>VAL</sub>	50,0	78,6	70,0	80,0	80,0	80,0	92,9	83,3	90,0

\*As taxas de seleção de 30, 50 e 70% representam respectivamente a seleção de 4, 7 e 10 famílias com base nos valores genotípicos preditos em cada variável. <sup>1</sup>CLF: teor de clorofila (SPAD); DNF: Dano foliar; SBV: sobrevivência; NFV: número de folhas verdes.

Os resultados de correlação genotípica e coincidência entre fases indicam que DNF<sub>PRE</sub> e SBV<sub>PRE</sub> apresentam potencial para screening de famílias de cana-de-açúcar. Utilizando a análise visual para avaliar a tolerância ao déficit hídrico em genótipos de cana-de-açúcar, Wagih; Ala; Musa, (2003) observaram elevada acurácia no processo de seleção com uma escala de notas. Apesar de diversas limitações associadas à análise visual, o sistema visual humano é capaz de processar naturalmente informações multi-dimensionais (EPSKAMP et al., 2012), importantes na seleção massal.

É relevante considerar que a fase precoce foi conduzida em estágio inicial de desenvolvimento vegetativo e em recipientes com volume restrito de solo. A correlação genética da fase de plântula com fase adulta para caracteres de tolerância ao déficit hídrico foi relatada em soja (PEIRONE et al., 2018) e em trigo (DODIG et al., 2015). Neste sentido, a condução de testes na fase inicial de desenvolvimento tem como principal vantagem a avaliação de um número maior de

indivíduos em menor espaço físico, o que favorece o screening em ambiente controlado.

A validação dos testes em ambiente controlado com resultados de campo é importante para o melhoramento genético, pois possibilita a definição de metodologias de condução experimental e indica os caracteres que podem ser utilizados como alvos de seleção. Além disso, o avanço da automação para fenotipagem de alto rendimento em ambiente controlado têm sido explorada com sucesso, com maior padronização das condições ambientais, simulação de condições desejadas (estresses abióticos), elevada aquisição de dados, redução de custo, tempo e mão de obra (HONSDORF et al., 2014; PEIRONE et al., 2018; WATSON et al., 2018).

### 3.4 CONCLUSÕES

Há variabilidade genética para tolerância ao déficit hídrico entre e dentro das famílias para fase precoce e de validação. As combinações RB036152 x SP93-3500, RB867515 x RB92579, RB996963 x RB92579, RB106802 x RB036088 e BJ7504 x RB835089 possuem valores genotípicos superiores para rendimento de açúcar associado a maior nível de tolerância ao déficit hídrico.

A sobrevivência na fase precoce possui alta correlação genotípica com características fisiológicas de validação, sendo um caractere indicado para seleção. A metodologia proposta é eficiente e pode ser aplicada como estratégia de seleção precoce no melhoramento genético de cana-de-açúcar para tolerância ao déficit hídrico.

### 3.5 REFERÊNCIAS

APIOLAZA, L. A. Very early selection for solid wood quality: Screening for early winners. **Annals of Forest Science**, v. 66, n. 6, p. 601–601, 2009.

BARBOSA, M. H. P.; RESENDE, M. D. V.; DIAS, L. A. DOS S.; BARBOSA, G. V. DE S.; OLIVEIRA, R. A. DE; PETERNELLI, L. A.; DAROS, E. Genetic improvement of sugar cane for bioenergy: the brazilian experience in network research with RIDESA. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v. 12, p. 87–98, 2012.

BASNAYAKE, J.; JACKSON, P. A.; INMAN-BAMBER, N. G.; LAKSHMANAN, P. Sugarcane for water-limited environments. Genetic variation in cane yield and sugar content in response to water stress. **Journal of Experimental Botany**, v. 63, n. 2, p. 6023–6033, 2012.

BASNAYAKE, J.; JACKSON, P. A.; INMAN-BAMBER, N. G.; LAKSHMANAN, P. Sugarcane for water-limited environments. Variation in stomatal conductance and its genetic correlation with crop productivity. **Journal of Experimental Botany**, v. 66, n. 13, p. 3945–3958, 2015.

CASTRO, R. D.; PETERNELLI, L. A.; RESENDE, M. D. V.; MARINHO, C. D.; COSTA, P. M. A.; BARBOSA, M. H. P.; MOREIRA, E. F. A. Selection between and within full-sib sugarcane families using the modified BLUPIS method (BLUPISM). **Genetics and Molecular Research**, v. 15, n. 1, p. 1–10, 2016.

COMINELLI, E.; CONTI, L.; TONELLI, C.; GALBIATI, M. Challenges and perspectives to improve crop drought and salinity tolerance. **New Biotechnology**, v. 30, n. 4, p. 355–361, 2013.

DINH, T. H.; TAKARAGAWA, H.; WATANABE, K.; NAKABARU, M.; KAWAMITSU, Y. Leaf photosynthesis response to change of soil moisture content in sugarcane. **Sugar Tech**, v. 21, n. 6, p. 949–958, 2019.

DODIG, D.; ZORIĆ, M.; JOVIĆ, M.; KANDIĆ, V.; STANISAVLJEVIĆ, R.; ŠURLAN-MOMIROVIĆ, G. Wheat seedlings growth response to water deficiency and how it correlates with adult plant tolerance to drought. **Journal of Agricultural Science**, v. 153, n. 3, p. 466–480, 2015.

DU, Y. C.; KAWAMITSU, Y.; NOSE, A.; HIYANE, S.; MURAYAMA, S.; WASANO, K.; UCHIDA, Y. Effects of water stress on carbon exchange rate and activities of photosynthetic enzymes in leaves of sugarcane (*Saccharum* sp.). **Australian Journal of Plant Physiology**, v. 23, n. 6, p. 719–726, 1996.

EPSKAMP, S.; CRAMER, A. O. J.; WALDORP, L. J.; SCHMITTMANN, V. D.; BORSBOOM, D. Qgraph: Network visualizations of relationships in psychometric data. **Journal of Statistical Software**, v. 48, n. 4, 2012.

ESPÓSITO, D. P.; PETERNELLI, L. A.; DE PAULA, T. O. M.; BARBOSA, M. H. P. Análise de trilha usando valores fenotípicos e genotípicos para componentes do rendimento na seleção de famílias de cana-de-açúcar Path analysis using phenotypic and genotypic values for yield components in the selection of sugarcane families. **Ciência rural**, v. 42, n. 1, p. 38–44, 2012.

FERREIRA, T. H. S.; TSUNADA, M. S.; BASSI, D.; ARAÚJO, P.; MATTIELLO, L.; GUIDELLI, G. V.; RIGHETTO, G. L.; GONÇALVES, V. R.; LAKSHMANAN, P.; MENOSSI, M. Sugarcane water stress tolerance mechanisms and its implications on developing biotechnology solutions. **Frontiers in Plant Science**, v. 8, p. 1–18, 2017.

GILLIHAM, M.; ABLE, J. A.; ROY, S. J. Translating knowledge about abiotic stress tolerance to breeding programmes. **Plant Journal**, v. 90, n. 5, p. 898–917, 2017.

GOMATHI, R.; KRISHNAPRIYA, V.; ARUNKUMAR, R.; GOVINDARAJ, P.; RAM, B. Physiological traits imparting drought stress tolerance to promising sugarcane (*Saccharum* spp.) clones. **Plant Physiology Reports**, v. 25, n. 3, p. 509–515, 2020.

GRAÇA, J. P. DA; RODRIGUES, F. A.; FARIAS, J. R. B.; OLIVEIRA, M. C. N. DE; HOFFMANN-CAMPO, C. B.; ZINGARETTI, S. M. Physiological parameters in sugarcane cultivars submitted to water deficit. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, v. 22, n. 3, p. 189–197, 2010.

HEMAPRABHA, G.; SWAPNA, S.; LAVANYA, D. L.; SAJITHA, B.; VENKATARAMANA, S. evaluation of drought tolerance potential of elite genotypes and progenies of sugarcane (*Saccharum* sp. hybrids). **Sugar Tech**, v. 15, n. 1, p. 9–16, 2013.

HONSDORF, N.; MARCH, T. J.; BERGER, B.; TESTER, M.; PILLEN, K. High-throughput phenotyping to detect drought tolerance QTL in wild barley introgression lines. **PLoS ONE**, v. 9, n. 5, 2014.

INMAN-BAMBER, N. G.; LAKSHMANAN, P.; PARK, S. Sugarcane for water-limited environments: Theoretical assessment of suitable traits. **Field Crops Research**, v. 134, p. 95–104, 2012.

INMAN-BAMBER, N. G.; SMITH, D. M. Water relations in sugarcane and response to water deficits. **Field Crops Research**, v. 92, n. 2, p. 185–202, 2005.

ISHAQ, M. N.; OLAOYE, G. Cane yield attributes and heritability of juice quality characters in sugarcane under moisture deficit conditions. **Sugar Tech**, v. 11, n. 4, p. 360–367, 2009.

JANGPROMMA, N.; THAMMASIRIRAK, S.; JAISIL, P.; SONGSRI, P. Effects of drought and recovery from drought stress on above ground and root growth, and water use efficiency in sugarcane (*Saccharum officinarum* L.). **Australian Journal of Crop Science**, v. 6, n. 8, p. 1298–1304, 2012.

KHONGHINTAISONG, J.; SONGSRI, P.; TOOMSAN, B.; JONGRUNGLANG, N. Rooting and physiological trait responses to early drought stress of sugarcane cultivars. **Sugar Tech**, v. 20, n. 4, p. 396–406, 2018.

LUCIUS, A. S. F.; DE OLIVEIRA, R. A.; DAROS, E.; ZAMBON, J. L. C.; BESPALHOK FILHO, J. C.; VERISSIMO, M. A. A. Desempenho de famílias de cana-de-açúcar em diferentes fases no melhoramento genético via REML/BLUP. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 35, n. 1, p. 101–112, 2014.

MACHADO, R. S.; RIBEIRO, R. V.; MARCHIORI, P. E. R.; MACHADO, D. F. S. P.; MACHADO, E. C.; LANDELL, M. G. DE A. Respostas biométricas e fisiológicas ao déficit hídrico em cana-de-açúcar em diferentes fases fenológicas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 44, n. 12, p. 1575–1582, 2009.

NAWAE, W.; SHEARMAN, J. R.; TANGPHATSORNRUANG, S.; PUNPEE, P.; YOOCHA, T.; SANGSRAKRU, D.; NAKTANG, C.; SONTHIROD, C.; WIROJSIRASAK, W.; UKOSKIT, K.; SRIROTH, K.; KLOMSA-ARD, P.; POOTAKHAM, W. Differential expression between drought-tolerant and drought-sensitive sugarcane under mild and moderate water stress as revealed by a comparative analysis of leaf transcriptome. **PeerJ**, v. 8, 2020.

NEGIN, B.; MOSHELION, M. The advantages of functional phenotyping in pre-field screening for drought-tolerant crops. **Functional Plant Biology**, v. 44, n. 1, p. 107–118, 2017.

OLIVEIRA, R. A.; DAROS, E.; DE RESENDE, M. D. V.; BESPALHOK FILHO, J. C.; ZAMBON, J. L. C.; RUARO, L. Seleção precoce em famílias de cana-de-açúcar via procedimentos BLUP e BLUPIS. **Acta Scientiarum - Agronomy**, v. 35, n. 4, p. 427–434, 2013.

OLIVEIRA, R. A.; DAROS, E.; BARBOSA, M. H. P.; FILHO, J. C. B.; ZAMBON, J. L. C.; RUARO, L. Performance of sugarcane families at different stages of a selection program. **International Sugar Journal**, v. 16, p. 378–381, 2016.

PARRA-LONDONO, S.; FIEDLER, K.; KAVKA, M.; SAMANS, B.; WIECKHORST, S.; ZACHARIAS, A.; UPTMOOR, R. Genetic dissection of early-season cold tolerance in sorghum: genome-wide association studies for seedling emergence and survival under field and controlled environment conditions. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 131, n. 3, p. 581–595, 2018.

PEIRONE, L. S.; PEREYRA IRUJO, G. A.; BOLTON, A.; ERREGUERENA, I.; AGUIRREZÁBAL, L. A. N. Assessing the efficiency of phenotyping early traits in a greenhouse automated platform for predicting drought tolerance of soybean in the field. **Frontiers in Plant Science**, v. 9, p. 1–14, 2018.

PETERNELLI, L. A.; BERNARDES, D. P.; BRASILEIRO, B. P.; BARBOSA, M. H. P.; SILVA, R. H. T. Decision trees as a tool to select sugarcane families. **American Journal of Plant Sciences**, v. 09, n. 02, p. 216–230, 2018.

R DEVELOPMENT CORE TEAM. **R: A language and environment for statistical computing**. R Foundation for Statistical Computing Vienna, Austria, 2020. Disponível em: <<http://www.r-project.org>.>

RESENDE, M. D. V. **Genética biométrica e estatística no melhoramento de plantas perenes**. Colombo: Embrapa Florestas, 2002.

RESENDE, M. D. V.; DUARTE, J. B. Precisão e controle de qualidade em experimentos de avaliação de cultivares. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 37, p. 182–194, 2007.

RIBEIRO, R. V.; MACHADO, R. S.; MACHADO, E. C.; MACHADO, D. F. S. P.; MAGALHÃES FILHO, J. R.; LANDELL, M. G. A. Revealing drought-resistance and productive patterns in sugarcane genotypes by evaluating both physiological responses and stalk yield. **Experimental Agriculture**, v. 49, n. 2, p. 212–224, 2013.

RODRIGUES, E. V.; DAHER, R. F.; DOS SANTOS, A.; VIVAS, M.; MACHADO, J. C.; GRAVINA, G. A.; DE SOUZA, Y. P.; VIDAL, A. K.; DOS ROCHA, A. S.; FREITAS, R. S. Selecting elephant grass families and progenies to produce bioenergy through mixed models (REML/BLUP). **Genetics and Molecular Research**, v. 16, n. 2, 2017.

SHANTHI, R. M.; HERMAPRABHA, G.; ALARMELU, S. An overview on the selection strategies in sugarcane breeding programmes. **Journal of Sugarcane Research**, v. 1, p. 27–37, 2011.

SILVA, M. DE A.; SOARES, R. A. B.; LANDELL, M. G. DE A.; CAMPANA, M. P. Agronomic performance of sugarcane families in response to water stress. **Bragantia**, v. 67, n. 3, p. 655–661, 2008.

SILVA, M. A.; JIFON, J. L.; SHARMA, V.; DA SILVA, J. A. G.; CAPUTO, M. M.; DAMAJ, M. B.; GUIMARÃES, E. R.; FERRO, M. I. T. Use of physiological parameters in screening drought tolerance in sugarcane genotypes. **Sugar Tech**, v. 13, n. 3, p. 191–197, 2011.

SILVA, P. P.; SOARES, L.; COSTA, J. G.; SILVA VIANA, L.; ANDRADE, J. C. F.; GONÇALVES, E. R.; SANTOS, J. M.; BARBOSA, G. V. S.; NASCIMENTO, V. X.; TODARO, A. R.; RIFFEL, A.; GROSSI-DE-SA, M. F.; BARBOSA, M. H. P.; SANT'ANA, A. E. G.; RAMALHO NETO, C. E. Path analysis for selection of drought tolerant sugarcane genotypes through physiological components. **Industrial Crops and Products**, v. 37, n. 1, p. 11–19, 2012.

SILVA, F. L.; BARBOSA, M. H. P.; RESENDE, M. D. V.; PETERNELLI, L. A.; PEDROZO, C. Â. Eficiência da seleção dentro de famílias de cana-de-açúcar via BLUP individual simulado. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v. 15, n. 1, p. 1–9, 2015.

SILVA, M. A.; GERONIMO, G. Z.; SANTOS, H. L. Genetic and morpho-physiological differentiation of sugarcane genotypes under drought stress. **International Journal of Agriculture and Biology**, v. 24, n. 2, p. 311–318, 2020.

SILVEIRA, L. C. I.; BRASILEIRO, B. P.; KIST, V.; WEBER, H.; DAROS, E.; PETERNELLI, L. A.; BARBOSA, M. H. P. Selection strategy in families of energy cane based on biomass production and quality traits. **Euphytica**, v. 204, n. 2, p. 443–455, 2015.

SILVEIRA, L. C. I.; BRASILEIRO, B. P.; KIST, V.; WEBER, H.; DAROS, E.; PETERNELLI, L. A.; BARBOSA, M. H. P. Selection in energy cane families. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v. 16, n. 4, p. 298–306, 2016.

TENA, E.; MEKBIB, F.; AYANA, A. Heritability and correlation among sugarcane (*Saccharum* spp.) yield and some agronomic and sugar quality traits in Ethiopia. **American Journal of Plant Sciences**, v. 07, n. 10, p. 1453–1477, 2016.

VERISSIMO, M. A. A.; OLIVEIRA, R. A.; SILVA, S. D. DOS A.; DAROS, E.; HÄRTER, A. Genetic parameters and performance of sugarcane families under cold stress in the South of Brazil. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 53, n. 5, p. 583–592, 2018.

WAGIH, M. E.; ALA, A.; MUSA, Y. Biomass analysis and selection of sugarcane genotypes for drought tolerance. **Sugar Tech**, v. 5, n. 4, p. 257–263, 2003.

WATSON, A. et al. Speed breeding is a powerful tool to accelerate crop research and breeding. **Nature Plants**, v. 4, n. 1, p. 23–29, 2018.

YADAV, S.; JACKSON, P.; WEI, X.; ROSS, E. M.; AITKEN, K.; DEOMANO, E.; ATKIN, F.; HAYES, B. J.; VOSS-FELS, K. P. Accelerating genetic gain in sugarcane breeding using genomic selection. **Agronomy**, v. 10, n. 4, p. 1–21, 2020.

ZENI NETO, H.; DAROS, E.; BESPALHOK FILHO, J. C.; SCAPIM, C. A.; VIDIGAL, M. C. G.; VIDIGAL FILHO, P. S. Selection of families and parents of sugarcane (*Saccharum* spp.) through mixed models by joint analysis of two harvests. **Euphytica**, v. 193, n. 3, p. 391–408, 2013.

ZHAO, D.; GLAZ, B.; COMSTOCK, J. C. Sugarcane leaf photosynthesis and growth characters during development of water-deficit stress. **Crop Science**, v. 53, n. 3, p. 1066–1075, 2013.

#### 4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O melhoramento genético possui importância relevante para o setor sucroenergético, contribuindo historicamente com a liberação de variedades com maior teor de açúcar, produtividade superior e resistência à doenças. Neste contexto, este campo da ciência também terá papel fundamental para minimizar os efeitos negativos dos estresses abióticos, proporcionando maior estabilidade produtiva aos canaviais cultivados com genótipos tolerantes.

Os resultados deste trabalho evidenciam a variabilidade existente para caracteres biométricos e fisiológicos, contribuindo para o melhoramento genético da cana-de-açúcar visando tolerância a estresses abióticos. As condições ambientais na experimentação de campo foram favoráveis para validação da metodologia proposta, tendo para os testes de frio a ocorrência de 13 geadas com temperatura mínima de  $-2,9^{\circ}\text{C}$ , e para déficit hídrico 350 dias de estresse, sendo mais intenso na fase inicial de crescimento, com volume de chuvas 60% abaixo da demanda evapotranspirativa.

Para tolerância ao frio foi observado elevada variabilidade e a expressão de diferentes mecanismos de tolerância. As práticas de manejo após a ocorrência de frio são restritas, pois com a morte do meristema apical ocorre a degradação de açúcares e redução da qualidade, intensificada em condições de temperatura e umidade elevada. Neste contexto, a tolerância para danos no colmo é relevante, pois aumenta o período de colheita após a ocorrência de frio. Considerando que o manejo auxilia no escape do estresse, genótipos precoces podem ser posicionados em áreas com maior ocorrência de estresse, logo, podem ser colhidos antes ou durante o período de geadas. Para isso, é importante ter-se maior tolerância nos tecidos foliares, pois a fase inicial de crescimento das soqueiras colhidas neste período pode coincidir com eventuais geadas tardias.

Os resultados de tolerância ao déficit hídrico mostram correlações genéticas significativas entre caracteres fisiológicos e biométricos, com destaque para teor de clorofila com rendimento de colmos. Este estresse possui maior duração e influência no rendimento final de colmos, sem afetar a qualidade da matéria prima como os danos por frio. Neste contexto, os altos valores genotípicos para rendimento de açúcar em condições severas de déficit hídrico comprovam o potencial genético das populações avaliadas.

As avaliações conduzidas a campo apontam que sob estresse de frio as famílias RB996962 x RB016916, RB996963 x RB92579 e RB867515 x RB92579 apresentam valores genotípicos superiores para tolerância ao frio, enquanto que em condições de déficit hídrico RB036152 x SP93-3500, RB867515 x RB92579, RB996963 x RB92579, RB106802 x RB036088 e BJ7504 x RB835089 possuem valores genotípicos superiores para rendimento de açúcar associado a maior nível de tolerância ao déficit hídrico. Foi identificado um grupo de famílias, que apresentam conjuntamente em ambos os estresses, valores genotípicos superiores para caracteres fisiológicos, sendo estas RB016916 x RB006970, RB867515 x RB92579, RB996963 x RB92579 e RB006970 x RB965902. Portanto, é possível selecionar populações com tolerância combinada, aumentando a frequência de indivíduos com valores genotípicos superiores para tolerância conjunta a estes estresses. Ressalta-se que genótipos com adaptabilidade a diferentes estresses possuem alto potencial de cultivo no Brasil, pois as diferentes regiões agrícolas apresentam em uma mesma safra diversos estresses abióticos.

A metodologia proposta é direcionada para as primeiras fases de melhoramento, objetivando realizar o screening precoce e exclusão de populações com baixo nível de tolerância (Figura 1). O ambiente controlado padroniza as condições de estresse, o que garante reprodutibilidade dos testes e possibilita a execução destas metodologias em diferentes unidades de pesquisa. Além disso, o direcionamento para fase inicial de desenvolvimento permite a avaliação de um número grande de indivíduos, podendo-se assim testar diversas populações em um reduzido espaço físico e de tempo.

Os testes em ambiente controlado devem simular o mais próximo possível as características de estresse observadas em condição de campo, assegurando representatividade da metodologia e acurácia na seleção. Para isso, a avaliação de tolerância ao frio deve preceder um período de aclimação das populações, garantindo que ocorra capacidade de expressão dos mecanismos de tolerância. Nos testes de tolerância ao déficit hídrico, a uniformização da umidade inicial do solo e os períodos de recuperação entre ciclos de estresse são de extrema importância, pois proporciona a padronização da disponibilidade inicial de água e a avaliação dos diferentes mecanismos de tolerância no período de recuperação. Para ambos os estresses abordados, a intensidade e duração devem ser simuladas de forma que

seja possível observar diferentes níveis de tolerância na população, permitindo assim a seleção.

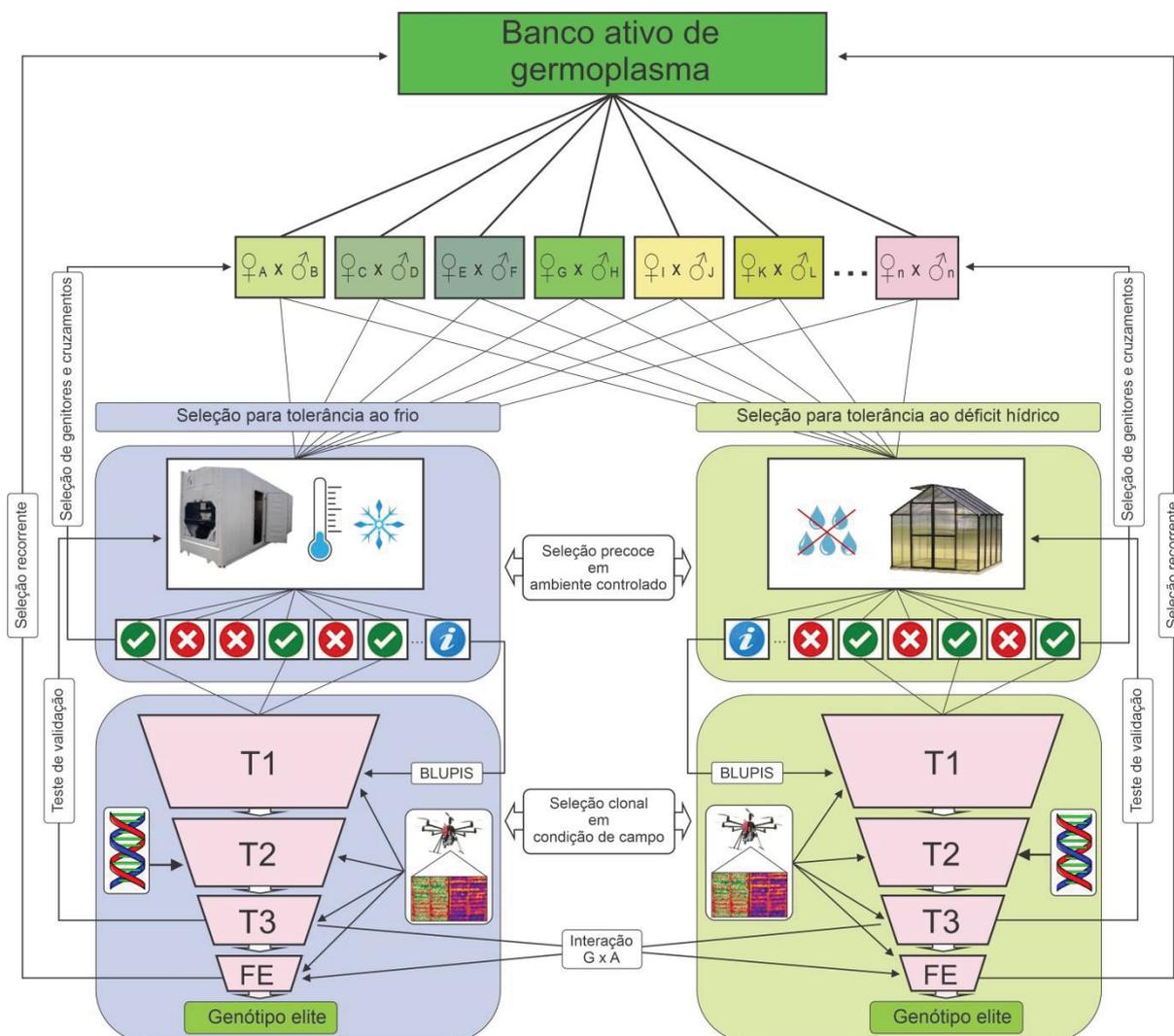


Figura 1. Metodologia de seleção precoce para o melhoramento genético da cana-de-açúcar visando tolerância a estresses abióticos.

O screening precoce em ambiente controlado permite a caracterização dos diferentes níveis de tolerância a partir de caracteres biométricos e fisiológicos, sendo estas informações importantes para a seleção de progênies com valores genotípicos superiores. Nas primeiras fases avaliação clonal a campo, estas informações podem ser utilizadas no processo de seleção adotando-se a metodologia BLUPIS (BLUP individual simulado) para definição do número de indivíduos a serem selecionados por família na fase T1.

Nas fases finais de seleção clonal deve ser realizada a validação dos testes de tolerância, avaliando-se clones promissores novamente em ambiente controlado com simulação de estresse, contrastando o desempenho com base em parâmetros

fisiológicos de genótipos padrões de tolerância. Os genótipos que apresentarem destaque nesta fase devem ser incluídos nos blocos de cruzamento via seleção recorrente, recombinação de genitores para aumentar a frequência de progênies com tolerância conjunta ao frio e ao déficit hídrico.

O principal desafio dos programas de melhoramento genético para inserir em sua rotina a tolerância a estresses abióticos como fator de seleção, é integrar as diferentes ferramentas disponíveis para avaliar caracteres fisiológicos em nível de população. É fundamental que tais caracteres sejam mensurados para caracterizar o nível de tolerância das populações, determinar a associação com variáveis biométricas e estimar os parâmetros genéticos destes caracteres para definir estratégias de seleção. Para isso, nas etapas de seleção clonal é possível avaliar estes parâmetros integrando técnicas de genotipagem e fenotipagem de alto rendimento, ambas ferramentas complementares entre si e que apresentam alto potencial para acelerar o programa de melhoramento.

A próxima etapa deste estudo será a seleção dos melhores indivíduos dentro das melhores famílias, multiplicação clonal para experimentos repetidos e intercâmbio entre instituições (Embrapa e PMGCA/UFPR/RIDESA), visando explorar a interação genótipo x ambiente para tolerância aos estresses testados e demais caracteres agrônômicos.

Por fim, destaca-se que o sucesso deste trabalho está nas parcerias institucionais. A RIDESA ao longo desses mais de 30 anos tem desenvolvido um papel fundamental para sustentabilidade do setor sucroenergético. Integrado a esta rede, o PMGCA/UFPR trabalha exaustivamente para liberação de novas variedades de cana-de-açúcar, adaptadas para as condições ambientais do Sul do Brasil. Em parceria com o PMGCA/UFPR/RIDESA, a Embrapa Clima Temperado nos últimos 13 anos desenvolve tecnologias para a cana-de-açúcar no Rio Grande do Sul, como desenvolvimento e indicação de variedades, elaboração do sistema de produção e ações de melhoramento para contornar estresses abióticos. As informações geradas neste trabalho são inéditas no Brasil, o que torna relevante estudos desta natureza e reforça a necessidade de fortalecer a pesquisa multidisciplinar e interinstitucional.

## 5 REFERÊNCIAS GERAIS

BARBOSA, M. H. P.; RESENDE, M. D. V.; DIAS, L. A. DOS S.; BARBOSA, G. V. DE S.; OLIVEIRA, R. A. DE; PETERNELLI, L. A.; DAROS, E. Genetic improvement of sugar cane for bioenergy: the brazilian experience in network research with RIDESA. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v. 12, p. 87–98, 2012.

BARTELS, D.; SUNKAR, R. Drought and salt tolerance in plants. **Critical Reviews in Plant Sciences**, v. 24, n. 1, p. 23–58, 2005.

BASNAYAKE, J.; JACKSON, P. A.; INMAN-BAMBER, N. G.; LAKSHMANAN, P. Sugarcane for water-limited environments. Genetic variation in cane yield and sugar content in response to water stress. **Journal of Experimental Botany**, v. 63, n. 2, p. 6023–6033, 2012.

COMINELLI, E.; CONTI, L.; TONELLI, C.; GALBIATI, M. Challenges and perspectives to improve crop drought and salinity tolerance. **New Biotechnology**, v. 30, n. 4, p. 355–361, 2013.

DINH, T. H.; TAKARAGAWA, H.; WATANABE, K.; NAKABARU, M.; KAWAMITSU, Y. Leaf Photosynthesis Response to Change of Soil Moisture Content in Sugarcane. **Sugar Tech**, v. 21, n. 6, p. 949–958, 2019.

DODIG, D.; ZORIĆ, M.; JOVIĆ, M.; KANDIĆ, V.; STANISAVLJEVIĆ, R.; ŠURLAN-MOMIROVIĆ, G. Wheat seedlings growth response to water deficiency and how it correlates with adult plant tolerance to drought. **Journal of Agricultural Science**, v. 153, n. 3, p. 466–480, 2015.

DU, Y. C.; KAWAMITSU, Y.; NOSE, A.; HIYANE, S.; MURAYAMA, S.; WASANO, K.; UCHIDA, Y. Effects of water stress on carbon exchange rate and activities of photosynthetic enzymes in leaves of sugarcane (*Saccharum* sp.). **Australian Journal of Plant Physiology**, v. 23, n. 6, p. 719–726, 1996.

DU, Y. C.; NOSE, A.; WASANO, K. Effects of chilling temperature on photosynthetic rates, photosynthetic enzyme activities and metabolite levels in leaves of three sugarcane species. **Plant, Cell and Environment**, v. 22, n. 3, p. 317–324, 1999.

EDMÉ, S. J.; GLAZ, B. S. Field Response of Sugarcane Genotypes to Freeze Stress with Genotype x Environment Effects on Quality Traits. **Journal of Crop Improvement**, v. 27, n. 1, p. 1–30, 2013.

EGGLESTON, G.; LEGENDRE, B.; TEW, T. Indicators of freeze-damaged sugarcane varieties which can predict processing problems. **Food Chemistry**, v. 87, n. 1, p. 119–133, 2004.

EREMINA, M.; ROZHON, W.; POPPENBERGER, B. Hormonal control of cold stress responses in plants. **Cellular and Molecular Life Sciences**, v. 73, n. 4, p. 797–810, 2016.

FERREIRA, T. H. S.; TSUNADA, M. S.; BASSI, D.; ARAÚJO, P.; MATTIELLO, L.; GUIDELLI, G. V.; RIGHETTO, G. L.; GONÇALVES, V. R.; LAKSHMANAN, P.; MENOSSI, M. Sugarcane water stress tolerance mechanisms and its implications on developing biotechnology solutions. **Frontiers in Plant Science**, v. 8, p. 1–18, 2017.

FRIESEN, P. C.; PEIXOTO, M. M.; BUSCH, F. A.; JOHNSON, D. C.; SAGE, R. F. Chilling and frost tolerance in *Miscanthus* and *Saccharum* genotypes bred for cool temperate climates. **Journal of Experimental Botany**, v. 65, n. 13, p. 3749–3758, 2014.

FÜRTAUER, L.; WEISZMANN, J.; WECKWERTH, W.; NÄGELE, T. Dynamics of plant metabolism during cold acclimation. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 20, n. 21, 2019.

GILLIHAM, M.; ABLE, J. A.; ROY, S. J. Translating knowledge about abiotic stress tolerance to breeding programmes. **Plant Journal**, v. 90, n. 5, p. 898–917, 2017.

GRAÇA, J. P. DA; RODRIGUES, F. A.; FARIAS, J. R. B.; OLIVEIRA, M. C. N. DE; HOFFMANN-CAMPO, C. B.; ZINGARETTI, S. M. Physiological parameters in sugarcane cultivars submitted to water deficit. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, v. 22, n. 3, p. 189–197, 2010.

HALE, A. L.; VIATOR, R. P.; KIMBENG, C.; VEREMIS, J. C. Use of artificially-induced freezing temperatures to identify freeze tolerance in above-ground buds of *Saccharum* and *Erianthus* accessions. **Euphytica**, v. 213, n. 2, 2017.

HEMAPRABHA, G.; SWAPNA, S.; LAVANYA, D. L.; SAJITHA, B.; VENKATARAMANA, S. Evaluation of Drought Tolerance Potential of Elite Genotypes and Progenies of Sugarcane (*Saccharum* sp. hybrids). **Sugar Tech**, v. 15, n. 1, p. 9–16, 2013.

HONSDORF, N.; MARCH, T. J.; BERGER, B.; TESTER, M.; PILLEN, K. High-throughput phenotyping to detect drought tolerance QTL in wild barley introgression lines. **PLoS ONE**, v. 9, n. 5, 2014.

HUANG, X.; CHEN, M. H.; YANG, L. T.; LI, Y. R.; WU, J. M. Effects of Exogenous Abscisic Acid on Cell Membrane and Endogenous Hormone Contents in Leaves of Sugarcane Seedlings under Cold Stress. **Sugar Tech**, v. 17, n. 1, p. 59–64, 2015.

INMAN-BAMBER, N. G.; LAKSHMANAN, P.; PARK, S. Sugarcane for water-limited environments: Theoretical assessment of suitable traits. **Field Crops Research**, v. 134, p. 95–104, 2012.

JANGPROMMA, N.; THAMMASIRIRAK, S.; JAISIL, P.; SONGSRI, P. Effects of drought and recovery from drought stress on above ground and root growth, and water use efficiency in sugarcane (*Saccharum officinarum* L.). **Australian Journal of Crop Science**, v. 6, n. 8, p. 1298–1304, 2012.

KAR, S.; ZHANG, N.; NAKASHIMA, T.; VILLANUEVA-MORALES, A.; STEWART, J. R.; SACKS, E. J.; TERAJIMA, Y.; YAMADA, T. *Saccharum* × *Miscanthus* intergeneric hybrids (miscanes) exhibit greater chilling tolerance of C4 photosynthesis and postchilling recovery than sugarcane (*Saccharum* spp. hybrids). **GCB Bioenergy**, v. 11, n. 11, p. 1318–1333, 2019.

KHONGHINTAISONG, J.; SONGSRI, P.; TOOMSAN, B.; JONGRUNGKLANG, N. Rooting and physiological trait responses to early drought stress of sugarcane cultivars. **Sugar Tech**, v. 20, n. 4, p. 396–406, 2018.

LEGENDRE, B.; TEW, T.; HALE, A. L.; BIRKETT, G.; EGGLESTON, G.; DUET, M.; STEIN, J. Stalk cold tolerance of commercial and candidate varieties during the 2010-2011 harvest. **Journal American Society of Sugar Cane Technologists**, v. 30, p. 148–156, 2011.

LI, S. L.; LI, Z. G.; YANG, L. T.; LI, Y. R.; HE, Z. L. Differential effects of cold stress on chloroplasts structures and photosynthetic characteristics in cold-sensitive and cold-tolerant cultivars of sugarcane. **Sugar Tech**, v. 20, n. 1, p. 11–20, 2018.

LIU, J. et al. Growth and yield of sugarcane genotypes are strongly correlated across irrigated and rainfed environments. **Field Crops Research**, v. 196, p. 418–425, 2016.

LU, S.; WANG, X.; GUO, Z. Differential responses to chilling in *Stylosanthes guianensis* (aublet) sw. And its mutants. **Agronomy Journal**, v. 105, n. 2, p. 377–382, 2013.

MACHADO, R. S.; RIBEIRO, R. V.; MARCHIORI, P. E. R.; MACHADO, D. F. S. P.; MACHADO, E. C.; LANDELL, M. G. DE A. Respostas biométricas e fisiológicas ao deficit hídrico em cana-de-açúcar em diferentes fases fenológicas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 44, n. 12, p. 1575–1582, 2009.

NAWAE, W.; SHEARMAN, J. R.; TANGPHATSORNRUANG, S.; PUNPEE, P.; YOOCHA, T.; SANGSRAKRU, D.; NAKTANG, C.; SONTHIROD, C.; WIROJSIRASAK, W.; UKOSKIT, K.; SRIROTH, K.; KLOMSA-ARD, P.; POOTAKHAM, W. Differential expression between drought-tolerant and drought-sensitive sugarcane under mild and moderate water stress as revealed by a comparative analysis of leaf transcriptome. **PeerJ**, v. 8, 2020.

NEGIN, B.; MOSHELION, M. The advantages of functional phenotyping in pre-field screening for drought-tolerant crops. **Functional Plant Biology**, v. 44, n. 1, p. 107–118, 2017.

PEIRONE, L. S.; PEREYRA IRUJO, G. A.; BOLTON, A.; ERREGUERENA, I.; AGUIRREZÁBAL, L. A. N. Assessing the efficiency of phenotyping early traits in a greenhouse automated platform for predicting drought tolerance of soybean in the field. **Frontiers in Plant Science**, v. 9, n. May, p. 1–14, 2018.

PEIXOTO, M. DE M.; SAGE, R. F. Comparative photosynthetic responses in upland and lowland sugarcane cultivars grown in cool and warm conditions. **Revista Brasileira de Botanica**, v. 40, n. 4, p. 829–839, 2017.

PRADHAN, S. K.; NAYAK, D. K.; GURU, M.; PANDIT, E.; DAS, S.; BARIK, S. R.; MOHANTY, S. P.; ANANDAN, A. Screening and classification of genotypes for seedling-stage chilling stress tolerance in rice and validation of the trait using SSR markers. **Plant Genetic Resources: Characterisation and Utilisation**, v. 14, n. 3, p. 173–182, 2016.

RASHEED, R.; WAHID, A.; FAROOQ, M.; HUSSAIN, I.; BASRA, S. M. A. Role of proline and glycinebetaine pretreatments in improving heat tolerance of sprouting sugarcane (*Saccharum* sp.) buds. **Plant Growth Regulation**, v. 65, n. 1, p. 35–45, 2011.

RIBEIRO, R. V.; MACHADO, R. S.; MACHADO, E. C.; MACHADO, D. F. S. P.; MAGALHÃES FILHO, J. R.; LANDELL, M. G. A. Revealing drought-resistance and productive patterns in sugarcane genotypes by evaluating both physiological responses and stalk yield. **Experimental Agriculture**, v. 49, n. 2, p. 212–224, 2013.

SANTCHURN, D.; BADALOO, M. G. H. Shortening the sugarcane breeding cycle at early selection stages and relevance of selection in ratoons. **Journal of Crop Improvement**, p. 1–20, 2020.

SHANTHI, R. M.; HERMAPRABHA, G.; ALARMELU, S. An overview on the selection strategies in sugarcane breeding programmes. **Journal of Sugarcane Research**, v. 1, p. 27–37, 2011.

SHI, Y.; DING, Y.; YANG, S. Molecular Regulation of CBF Signaling in Cold Acclimation. **Trends in Plant Science**, v. 23, n. 7, p. 623–637, 2018.

SILVA, P. P.; SOARES, L.; COSTA, J. G.; VIANA, L. S.; DE ANDRADE, J. C. F.; GONÇALVES, E. R.; SANTOS, J. M.; BARBOSA, G. V. S.; NASCIMENTO, V. X.; TODARO, A. R.; RIFFEL, A.; GROSSI-DE-SA, M. F.; BARBOSA, M. H. P.; SANT'ANA, A. E. G.; RAMALHO NETO, C. E. Path analysis for selection of drought tolerant sugarcane genotypes through physiological components. **Industrial Crops and Products**, v. 37, n. 1, p. 11–19, 2012.

SILVA, M. DE A.; SOARES, R. A. B.; LANDELL, M. G. DE A.; CAMPANA, M. P. Agronomic performance of sugarcane families in response to water stress. **Bragantia**, v. 67, n. 3, p. 655–661, 2008.

SUN, B.; LIU, G. L.; PHAN, T. T.; YANG, L. T.; LI, Y. R.; XING, Y. X. Effects of Cold Stress on Root Growth and Physiological Metabolisms in Seedlings of Different Sugarcane Varieties. **Sugar Tech**, v. 19, n. 2, p. 165–175, 2017.

TANG, S.; LI, Y.; YANG, L. Evaluation of cold tolerance and photosynthetic characteristics in different sugarcane genotypes. **Journal of Global Biosciences**, v. 4, n. 6, p. 2459–2467, 2015.

VERISSIMO, M. A. A.; DE AZEREDO, A. A. C.; E SILVA, S. D. DOS A.; BRASILEIRO, B. P.; FILHO, J. C. B.; DAROS, E.; DE OLIVEIRA, R. A. Selection of sugarcane families and clones under cold stress. **Ciencia Rural**, v. 50, n. 1, p. 1–12, 2020.

WANG, Z.; CHEN, S.; WANG, X.; HE, L.; LI, F. Response to low temperature and evaluation on cold tolerance of sugarcane at seedling stage. **Agricultural Basic Science and Technology**, v. 17, n. 2, p. 256–261, 2016.

WATSON, A. et al. Speed breeding is a powerful tool to accelerate crop research and breeding. **Nature Plants**, v. 4, n. 1, p. 23–29, 2018.

YADAV, S.; JACKSON, P.; WEI, X.; ROSS, E. M.; AITKEN, K.; DEOMANO, E.; ATKIN, F.; HAYES, B. J.; VOSS-FELS, K. P. Accelerating genetic gain in sugarcane breeding using genomic selection. **Agronomy**, v. 10, n. 4, p. 1–21, 2020.

ZHANG, B. Q.; YANG, L. T.; LI, Y. R. Physiological and Biochemical Characteristics Related to Cold Resistance in Sugarcane. **Sugar Tech**, v. 17, n. 1, p. 49–58, 2015.

ZHAO, D.; GLAZ, B.; COMSTOCK, J. C. Sugarcane leaf photosynthesis and growth characters during development of water-deficit stress. **Crop Science**, v. 53, n. 3, p. 1066–1075, 2013.