

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel
Programa de Pós-Graduação em Sistemas de
Produção Agrícola Familiar



Dissertação

Seleção avançada em cana-de-açúcar para tolerância ao déficit hídrico

Adílson Härter

Pelotas, 2018

Adílson Härter

Seleção avançada em cana-de-açúcar para tolerância ao déficit hídrico

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Sistemas de Produção Agrícola Familiar da Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Agronomia.

Orientador: Sérgio Delmar dos Anjos e Silva

Coorientador: Luís Antonio Veríssimo Corrêa

Pelotas, 2018

Universidade Federal de Pelotas / Sistema de Bibliotecas
Catalogação na Publicação

H111s Härter, Adílson

Seleção avançada em cana-de-açúcar para tolerância ao déficit hídrico / Adílson Härter ; Sérgio Delmar dos Anjos e Silva, orientador ; Luís Antonio Veríssimo Corrêa, coorientador. — Pelotas, 2018.

84 f.

Dissertação (Mestrado) — Programa de Pós-Graduação em Sistemas de Produção Agrícola Familiar, Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, 2018.

1. Melhoramento. 2. Estresse abiótico. 3. Seleção precoce. 4. Saccharum ssp.. I. Silva, Sérgio Delmar dos Anjos e, orient. II. Corrêa, Luís Antonio Veríssimo, coorient. III. Título.

CDD : 633.61

Elaborada por Gabriela Machado Lopes CRB: 10/1842

Adílson Härter

Seleção avançada em cana-de-açúcar para tolerância ao déficit hídrico

Dissertação aprovada, como requisito parcial, para obtenção do grau de Mestre em Agronomia, Programa de Pós-Graduação em Sistemas de Produção Agrícola Familiar da Universidade Federal de Pelotas, da Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel.

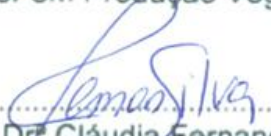
Data da Defesa: 28 de fevereiro de 2018

Banca examinadora:


.....
Dr. Sérgio Delmar dos Anjos e Silva (Orientador)
Doutor em Fitotecnia pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul.


.....
Prof. Dr. Ricardo Augusto de Oliveira
Doutor em Produção Vegetal pela Universidade Federal do Paraná.


.....
Dr. Mario Alvaro Aloisio Verissimo
Doutor em Produção Vegetal pela Universidade Federal do Paraná.


.....
Prof. Dr. Cláudia Fernanda Lemons e Silva
Doutora em Fitotecnia pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul.


.....
Dr. Cândida Raquel Scherrer Montero
Doutora em Fitotecnia pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

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

Agradeço, a Deus por proporcionar saúde, sabedoria e o conhecimento de pessoas especiais e fundamentais em minha vida.

Ao Programa de Pós-Graduação em Sistemas de Produção Agrícola Familiar (SPAF) e a Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel (FAEM), da Universidade Federal de Pelotas (UFPEL), professores e colegas, pelo conhecimento e amizade concedidos.

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

A Embrapa Clima Temperado pelo apoio, disponibilidade de recursos e espaço físico, indispensáveis para execução deste trabalho.

Ao Programa de Melhoramento Genético de Cana-de-açúcar (PMGCA), a Universidade Federal do Paraná (UFPR) e a Rede Interuniversitária para o Desenvolvimento do Setor Sucroenergético (RIDESA) pelo apoio e disponibilização dos materiais para pesquisa.

Ao meu amigo e orientador, pesquisador Dr. Sérgio Delmar dos Anjos e Silva pela amizade, orientação presente, oportunidades concedidas, incentivo ao trabalho, pela dedicação a pesquisa e pelo modo que ajuda o próximo.

Ao coorientador Prof. Dr. Luis Antônio Veríssimo Corrêa, pela amizade e conhecimento transmitido.

Aos professores Dr. Ricardo Augusto de Oliveira e Dr. Edelclaiton Daros, pelos incentivos e sinceros conselhos.

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

À Alexssandra (Índia), companheira estimada, namorada, amiga, pela sinceridade, paciência, respeito, confiança e pela dedicação com tudo que faz, da qual tenho muita admiração.

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

Aos funcionários da Embrapa Clima Temperado, Vilmar O. Gonçalves e Cândida R. S. Montero, representando todos os colegas do grupo Agroenergia, pelo conhecimento adquirido, amadurecimento profissional e pessoal e pelas amizades inesquecíveis que lá construí.

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

Resumo

HÄRTER, Adílson. **Seleção avançada em cana-de-açúcar para tolerância ao déficit hídrico**. 2018. 84f. Dissertação (Mestrado em agronomia) - Programa de Pós-Graduação em Sistemas de Produção Agrícola Familiar, Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2018.

A cana-de-açúcar é uma das principais fontes de energia e alimento, destacando-se pela múltipla forma de uso e subprodutos obtidos. Neste cenário, o Rio Grande do Sul (RS) representa uma região importante na produção de derivados desta cultura, vinculado principalmente à agricultura familiar. O cultivo de cana-de-açúcar no RS atualmente passa por uma fase de adoção de novas variedades, substituindo clones e variedades antigas, as quais geralmente apresentam baixo rendimento e pouca tolerância a estresses abióticos. O objetivo deste trabalho foi desenvolver uma metodologia de seleção avançada para tolerância ao déficit hídrico em cana-de-açúcar. Os experimentos foram conduzidos na Estação Experimental da Embrapa Clima Temperado, em Pelotas, RS. Foi utilizado um total de 1853 plântulas para condução dos testes, obtidas a partir de sementes botânicas de 13 famílias de cana-de-açúcar, as quais foram submetidas ao déficit hídrico aos 70 dias após a emergência (DAE), com a suspensão da irrigação em ambiente controlado. Foram realizadas avaliações diárias do nível de tolerância utilizando uma escala de notas visuais desenvolvida neste estudo, com cinco classes de tolerância (nota 1 a 5), considerando como principais critérios de avaliação o enrolamento, a murcha e a descoloração foliar. A partir destas avaliações, foi estimada a tolerância ao déficit hídrico em plântula (TLP), expressa em dias sem irrigação (DSI), obtida a partir do número de dias que a plântula tolera até atingir nota visual de menor tolerância (nota 5). Após os testes na fase de plântulas, foram selecionados seis cruzamentos biparentais com maior nível de variabilidade e contraste para a variável TLP, conduzindo-se 380 plantas para as avaliações em fase adulta, realizada aos 250 DAE. Nesta etapa, foi realizada a suspensão da irrigação por sete dias, avaliando-se caracteres biométricos, fisiológicos e visuais de tolerância ao déficit hídrico. De acordo com a distribuição dos níveis de tolerância na fase de plântulas, foram definidas cinco classes de tolerância para a população em fase adulta, possibilitando as análises entre e dentro destes grupos para estimativa dos índices de coincidência e eficiência de seleção. Os resultados mostram alta variabilidade dentro e entre as famílias avaliadas, tanto na fase de plântulas como em fase adulta. A formação de classes de tolerância na fase de plântulas permitiu a diferenciação dos níveis de tolerância em fase adulta. Houve correlação positiva para tolerância ao déficit hídrico entre a fase de plântulas e fase adulta. A metodologia proposta permite a seleção avançada de genótipos de cana-de-açúcar visando à tolerância ao déficit hídrico, com índice de coincidência superior a 70,0% entre as fases de seleção.

Palavras-chave: melhoramento; estresse abiótico; seleção precoce; *Saccharum* ssp.

Abstract

HÄRTER, Adílson. **Advanced selection in sugarcane for drought tolerance**. 2018. 84f. Dissertation (Master's degree in agronomy) - Programa de Pós-Graduação em Sistemas de Produção Agrícola Familiar, Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2018.

Sugarcane is one of the main sources of energy and food, being distinguished by its multiple use and by-products obtained. In this context, the Rio Grande do Sul State (RS) represents an important region for derivatives production of this culture, linked mainly to family farming. The cultivation of sugarcane in RS is currently undergoing a phase of adoption of new varieties, replacing clones and old varieties, which generally present low yield and little tolerance to abiotic stresses. The objective of this work was to develop an advanced selection methodology for water deficit tolerance in sugarcane. The experiments were conducted at the Experimental Station of Embrapa Clima Temperado, in Pelotas, RS. A total of 1853 seedlings were used to conduct the tests, obtained from botanical seeds of 13 families of sugarcane, which were submitted to drought test at 70 days after emergence (DAE), with the suspension of irrigation in a controlled environment. Daily evaluations of the tolerance level were carried out using a scale of visual notes developed in this study, with five tolerance classes (note 1 to 5), considering foliar winding, wilting and discoloration as the main evaluation criteria. Based on these evaluations, the water deficit tolerance seedling (TLP), expressed in days without irrigation (DSI) was estimated from the number of days tolerated by the seedling until it reaches a visual score of lower tolerance (note 5). After the tests in the seedling phase, six bi-parental crosses with a higher level of variability and contrast for the TLP variable were selected, leading to 380 plants for the adult evaluations, performed at 250 DAE. In this stage, irrigation was suspended by seven days, after biometric, physiological and visual characteristics of water deficit tolerance were evaluated. According to the distribution of tolerance levels in the seedling phase, five tolerance classes were defined for the adult population, allowing the analysis between and within these groups to estimate the indexes of coincidence and selection efficiency. The results show high variability within and between the families evaluated, both in the seedling phase and in the adult phase. The formation of tolerance classes in the seedling phase allowed the differentiation of adult tolerance levels. There was a positive correlation for water deficit tolerance between the seedling and adult phases. The proposed methodology allows the advanced selection of sugarcane genotypes aiming water deficit tolerance, with coincidence index higher than 70.0% between the selection phases.

Keywords: breeding; abiotic stress; early selection; *Saccharum* spp.

Lista de figuras

Figura 1 - Zoneamento Agroecológico para a cultura da cana-de-açúcar.....	16
Figura 2 - Estação de floração e hibridação de cana-de-açúcar em Murici-AL, recebimento de sementes, semeadura de cariopses, emergência de plântulas, individualização e estabelecimento de plântulas	27
Figura 3 - Temperatura mínima, média, máxima e umidade relativa do ar durante o período de simulação do déficit hídrico para a fase de plântulas em câmara de crescimento tipo fitotron.	30
Figura 4 - Uniformização do teor de umidade, avaliações biométricas em plântulas e condução do teste de tolerância ao déficit hídrico em câmara de crescimento.....	31
Figura 5 - Temperatura mínima, média, máxima e umidade relativa do ar durante o período de simulação do déficit hídrico para a fase de plântulas em casa de vegetação.....	32
Figura 6 - Escala visual de notas para tolerância ao déficit hídrico em plântulas de cana-de-açúcar	33
Figura 7 - Curva de decréscimo da percentagem de plântulas altamente tolerantes ao déficit hídrico (nota 1) ao longo de 17 DSI para oito famílias de cana-de-açúcar avaliadas em câmara de crescimento tipo fitotron.	35
Figura 8 - Curva de decréscimo da percentagem de plântulas altamente tolerantes ao déficit hídrico (nota 1) ao longo de 23 DSI para seis famílias de cana-de-açúcar avaliadas em casa de vegetação.	36
Figura 9 - Percentagem de plântulas por classe de tolerância ao déficit hídrico em famílias de cana-de-açúcar aos 14 DSI, avaliadas em câmara de crescimento tipo fitotron.	37
Figura 10 - Percentagem de plântulas por classe de tolerância ao déficit hídrico em famílias de cana-de-açúcar aos 20 DSI em casa de vegetação.	40
Figura 11 - Distribuição da tolerância ao déficit hídrico em plântulas de cana-de-açúcar avaliadas em câmara de crescimento tipo fitotron.....	43
Figura 12 - Distribuição da tolerância ao déficit hídrico em plântulas de cana-de-açúcar avaliadas em casa de vegetação.	44
Figura 13 - Uniformização do teor de umidade do substrato e avaliação do teor de clorofila na folha.	49

Figura 14 - Temperatura mínima, média, máxima e umidade relativa do ar durante o período de simulação do déficit hídrico para a fase adulta em casa de vegetação.....	50
Figura 15 - Percentagem de plantas por classe de tolerância ao déficit hídrico em famílias de cana-de-açúcar aos 7 DSI, avaliadas na fase adulta.....	55
Figura 16 - Tolerância ao déficit hídrico em fase adulta (TLA) para seis famílias de cana-de-açúcar e variedades padrão.....	61
Figura 17 - Teor de clorofila total (CLT) para seis famílias de cana-de-açúcar avaliadas em fase adulta e variedades padrão aos 7 DSI.	62
Figura 18 - Tolerância ao déficit hídrico na fase adulta (TLA) para cinco classes de tolerância e variedades padrão	65
Figura 19 - Teor de clorofila total (CLT) em fase adulta para cinco classes de tolerância aos 7 DSI.....	66
Figura 20 - Tolerância na fase adulta em percentagem de plantas por classe de tolerância definida na fase de plântulas	71

Lista de tabelas

Tabela 1 - Caracterização físico-química do substrato comercial Turfa Fertil®.	28
Tabela 2 - Relação das famílias que compõem as populações utilizadas no experimento de seleção para tolerância ao déficit hídrico, local de teste e número de plântulas testadas por família.....	29
Tabela 3 - Percentagem média de plântulas por classe de tolerância aos 14 dias sem irrigação e tolerância média ao déficit hídrico em plântulas (TLP) de cana-de-açúcar avaliadas em câmara de crescimento tipo fitotron.....	38
Tabela 4 – Percentagem média de plântulas por classe de tolerância aos 20 dias sem irrigação e tolerância média ao déficit hídrico em plântulas (TLP) de cana-de-açúcar avaliadas em casa de vegetação.	41
Tabela 5 - Famílias selecionadas em fase de plântulas e número de plantas avaliadas em fase adulta para tolerância ao déficit hídrico	47
Tabela 6 - Definição de classes e agrupamento de plantas de acordo com a tolerância ao déficit hídrico na fase de plântulas em seis famílias de cana-de-açúcar	52
Tabela 7 - Percentagem média de plantas por classe de nota aos 7 DSI para seis famílias de cana-de-açúcar avaliadas em fase adulta.....	56
Tabela 8 - Resumo da análise da variância para tolerância ao déficit hídrico na fase adulta (TLA), teor de clorofila A (CLA), clorofila B (CLB), clorofila total (CLT) e perda de clorofila total (PCL) avaliada em seis famílias de cana-de-açúcar aos 7 DSI.....	58
Tabela 9 - Tolerância ao déficit hídrico na fase adulta (TLA), teor de clorofila A (CLA), clorofila B (CLB), clorofila total (CLT) e perda de clorofila (PCL) para seis famílias de cana-de-açúcar aos 7 DSI.	58
Tabela 10 - Estimativa dos coeficientes de variação fenotípica (CV) para seis famílias de cana-de-açúcar, dentro e entre famílias, populacional e ambiental para tolerância ao déficit hídrico na fase de plântulas, fase adulta e teor de clorofila total.	59
Tabela 11 - Resumo da análise da variância para tolerância ao déficit hídrico na fase adulta (TLA), teor de clorofila A (CLA), clorofila B (CLB), clorofila total (CLT) e perda de clorofila total (PCL) avaliada em cinco grupos de tolerância aos 7 DSI.	63

Tabela 12 - Tolerância ao déficit hídrico na fase adulta (TLA), teor de clorofila A (CLA), clorofila B (CLB), clorofila total (CLT) e perda de clorofila total (PCL) para cinco classes de tolerância aos 7 DSI.	64
Tabela 13 - Coeficientes de correlação de Spearman entre caracteres biométricos e de tolerância ao déficit hídrico avaliados na fase de plântula e fase adulta em progênies de cana-de-açúcar.	68
Tabela 14 - Índice de coincidência (IC) entre as fases de seleção em plântula e planta adulta para cinco classes de tolerância.....	71
Tabela 15 - Índice de coincidência (IC) entre fases de seleção em plântula e planta adulta para três classes de tolerância.	72
Tabela 16 - Eficiência de seleção e de descarte entre as fases de seleção em plântula e planta adulta para duas classes de tolerância.	73

Sumário

1. Introdução geral	13
2. Revisão bibliográfica.....	15
2.1. Importância da cana-de-açúcar	15
2.2. Estresse hídrico na cana-de-açúcar.....	18
2.3. Origem, caracterização e melhoramento genético da cana-de-açúcar	21
3. Metodologia geral	25
4. Capítulo 1 – Seleção avançada em plântulas de cana-de-açúcar para tolerância ao déficit hídrico	29
4.1. Introdução	29
4.2. Material e métodos	27
4.3. Resultados e discussão	35
4.4. Conclusões.....	45
5. Capítulo 2 - Tolerância ao déficit hídrico em progênies de cana-de-açúcar e associação de caracteres de tolerância entre fases de seleção	48
5.1. Introdução	48
5.2. Material e métodos	47
5.3. Resultados e discussão	55
5.4. Conclusões.....	73
6. Considerações finais.....	74
Referências.....	76

1. Introdução geral

A cana-de-açúcar é uma das principais fontes de energia e alimento no mundo, apresentando múltiplas formas de uso. Neste cenário, o estado do Rio Grande do Sul (RS) destaca-se na produção de derivados desta cultura, como o melado, açúcar mascavo, rapadura e cachaça, produzidos basicamente pela agricultura familiar, representando uma importante fonte de renda para a economia agrícola do Estado.

Atualmente o cultivo de cana-de-açúcar no RS passa por uma fase de adoção de novas variedades, substituindo clones e variedades antigas, as quais geralmente apresentam baixo rendimento e pouca tolerância a estresses abióticos. Neste sentido, para expansão do cultivo e maior disponibilidade de tecnologias, são necessários estudos que desenvolvam novas cultivares com adaptação as diferentes regiões produtoras.

A região Sul do Brasil possui diferenciação climática bem definida entre as estações do ano, apresentando como principais estresses ambientais a ocorrência de geadas no período invernal e a estiagem no verão. Neste sentido, o período de máximo crescimento vegetativo e maior demanda hídrica da cana-de-açúcar coincide com a falta de água, afetando o crescimento da cultura e reduzindo a produtividade final.

O desenvolvimento e a liberação de novos genótipos selecionados para as condições edafoclimáticas do RS, apresentando adaptabilidade para as diferentes regiões produtoras, são fundamentais para aumentar os recursos disponíveis à produção agrícola da cana-de-açúcar no Estado. Neste contexto, destaca-se que os sistemas de produção relacionados a agricultura familiar necessitam de tecnologias de baixo custo, visando a otimização do uso da mão de obra e utilização eficiente das terras agricultáveis. Para isso, a utilização de genótipos com elevada adaptabilidade e tolerância aos principais estresses ambientais, além de reduzir os riscos de cultivo, maximizam a produtividade agrícola nas pequenas propriedades.

Um programa de melhoramento com liberação contínua de novas cultivares possui um custo elevado, além da necessidade de mão de obra qualificada e longo tempo gasto durante todo processo de obtenção de uma nova cultivar. Neste contexto, para viabilizar o desenvolvimento de novas cultivares em regiões com menores áreas de cultivo, torna-se necessário a adequação dos métodos clássicos

praticados nos programas de melhoramento, os quais demandam alto custo, muita mão de obra, longo período de retorno e utilização de grandes áreas para experimentação. Para isso, este trabalho visa apresentar um modelo de seleção, baseado na otimização de tempo e custo, enfatizando o desenvolvimento de novos genótipos para as condições ambientais do RS.

A hipótese desenvolvida para contornar este problema consiste na realização da seleção na fase de plântulas, simulando a ocorrência de déficit hídrico, a qual pode reduzir o tempo gasto e aumentar o nível de tolerância da população para as próximas fases de seleção, contribuindo para a obtenção de genótipos com adaptação as condições ambientais do RS.

Neste sentido, o objetivo geral deste trabalho consiste em desenvolver uma metodologia de seleção avançada de genótipos de cana-de-açúcar visando tolerância ao estresse hídrico. Como objetivos específicos, foram propostos:

- Testar uma metodologia de seleção em fase de plântulas para tolerância ao déficit hídrico em condições controladas;
- Selecionar genótipos tolerantes ao déficit hídrico;
- Testar genótipos promissores na fase adulta e avaliar a correlação da tolerância com a fase de plântulas em condições controladas;

2. Revisão bibliográfica

2.1. Importância da cana-de-açúcar

A área mundial de cana-de-açúcar (*Saccharum spp.*) ocupa cerca de 26,7 milhões de hectares distribuídas em mais de 130 países, sendo uma das maiores áreas de cultivo agrícola no mundo, alcançando uma produção de 1,8 bilhões de toneladas (FAOSTAT, 2016).

O Brasil possui uma área cultivada com cana-de-açúcar acima de 9,0 milhões de ha, o que evidencia a grande importância econômica desta cultura para o país, com grande contribuição na matriz energética nacional e em exportações de produtos desta cadeia produtiva (CONAB, 2017).

A importância econômica da cana-de-açúcar deve-se a sua múltipla forma de uso e também pela alta demanda por seus principais produtos, como o açúcar, etanol, eletricidade, melado, bagaço, levedura, torta de filtro, vinhaça, composto fertilizante, gás carbônico, ácido cítrico, lisina, briquetes, aglomerados MDF, etc. (BNDES/CGEE, 2008), além do importante setor de mercado vinculado a bebidas destiladas (cachaça e aguardente).

No Rio Grande do Sul (RS) a área cultivada com cana-de-açúcar é de cerca de 29,0 mil hectares (IBGE, 2014), produzida basicamente no âmbito da agricultura familiar. Este cenário é vinculado principalmente pela característica econômica, histórica, socio-cultural e agrícola do estado, aliadas a diferenciação mesoclimática, tipo de relevo, destino da produção e ao processo de colonização (SOARES, 2008).

O estado do RS representa cerca de 40% do total de estabelecimentos que produzem derivados de cana-de-açúcar no Brasil, tendo como principais produtos o melado, a rapadura e a aguardente, evidenciando assim a importância desta cultura para o RS (VERISSIMO, 2012). Além disso, em épocas de baixa oferta de forragem, a cana-de-açúcar é amplamente utilizada na alimentação animal, sendo um importante suplemento em dietas de bovinos de leite e de corte (RUGERI, 2015).

No ano de 2009 foi publicada a portaria do zoneamento agroecológico da cana-de-açúcar, o qual indicou cerca de 1,5 milhão de hectares com aptidão ao cultivo no RS, considerando 182 municípios aptos para o cultivo com fins de produção de etanol e açúcar e 216 municípios com potencial de cultivar cana-de-açúcar para outros fins, situados nas regiões da Depressão Central, Missões e Alto Uruguai (MANZATTO; BACA; PEREIRA, 2010) (Figura 1). Além disso, outro avanço

técnico da cultura no estado foi à indicação de nove variedades de cana-de-açúcar com adaptação para o cultivo no RS, com especificações sobre as características agrônômicas e o manejo de cada variedade (SILVA et al., 2012a).



Figura 1 - Zoneamento Agroecológico para a cultura da cana-de-açúcar, portaria n° 332/2009.
Fonte: Manzatto, Baca; Pereira, 2010.

A pesquisa com cana-de-açúcar no RS iniciou na década de 80, através da Embrapa Clima Temperado, vinculado ao programa Proálcool, mostrando resultados promissores para o cultivo no estado. Entretanto, devido à crise no setor sucroalcooleiro, a falta de incentivo fiscal e também por questões políticas a cultura não avançou em grande escala no estado.

Em 2005, uma parceria entre Embrapa Clima Temperado e Emater-RS, recomeçou as pesquisas com a cultura no RS a partir de uma demanda gerada por agricultores da região noroeste do estado, que buscavam alternativas de cultivo visando a maior tolerância ao déficit hídrico desta cultura, fato este que afeta culturas anuais de verão em diversas regiões do estado. No final do ano de 2006 firmou-se um vínculo entre Embrapa Clima Temperado e Universidade Federal do

Paraná (UFPR), que pertence a Rede Interuniversitária para o Desenvolvimento do Setor Sucroenergético (RIDESA), dando início a implantação dos primeiros experimentos no Estado (SILVA et al., 2012a).

Atualmente, diversas instituições públicas e privadas, cooperativas e demais órgãos fazem parte da “Rede de pesquisa com cana-de-açúcar para o sul do Brasil”, desenvolvendo tecnologias para a cultura da cana-de-açúcar. Dentre os principais resultados obtidos com esta rede de pesquisas, está o lançamento do “Sistema de produção da cana-de-açúcar para o RS”, onde estão detalhados os aspectos da cultura que vão desde o zoneamento agrícola até as técnicas agroindustriais (SILVA et al., 2016).

No cenário atual, diversas propriedades agrícolas do RS já utilizam genótipos indicados a partir das pesquisas realizadas pela Embrapa no Estado, com uma adoção satisfatória dos novos materiais (SILVA et al., 2012a, RUGERI, 2015). No cenário econômico, a produção de cana-de-açúcar contribui em aproximadamente R\$ 70 milhões e está entre as sete principais culturas de maior valor econômico, não considerando as commodities de grãos (soja, arroz, milho e trigo) (BRASIL, 2015). Neste sentido, a cana-de-açúcar representa uma importante fonte de renda para diversas famílias gauchas, garantindo a sustentabilidade da agricultura familiar em muitos municípios do RS.

2.2. Estresse hídrico na cana-de-açúcar

Os estresses ambientais são fatores limitantes para diversas espécies em todos os continentes de produção, reduzindo a produtividade e restringindo a expansão dos cultivos para novas áreas (LOBELL; SCHLENKER; COSTA-ROBERTS, 2011). Déficit hídrico, salinidade, baixas e altas temperaturas, inundação, poluentes e radiação são os fatores de estresse mais importantes que limitam a produtividade das culturas (LAWLOR; CORNIC, 2002).

O déficit hídrico é considerado o principal estresse ambiental enfrentado pela agricultura mundial, dificultando a produção de alimentos em diversos países (RAMPINO et al., 2006). Este cenário em muitas regiões do mundo é um dos principais fatores que limitam a produção e expansão da cana-de-açúcar, sendo causada por períodos de déficit hídrico prolongado ou por irrigação inadequada (INMAN-BAMBER; SMITH, 2005).

O crescimento e o desenvolvimento das plantas são afetados tanto pela falta quanto o excesso do suprimento de água (GAVA et al. 2011). A cana-de-açúcar é uma cultura que apresenta certa tolerância ao estresse hídrico, porém, responde altamente a irrigação (SINGH; SHUKLA; BHATNAGAR, 2007). No entanto, a ocorrência de eventos atípicos observados nos últimos anos, como o excesso ou a falta de chuvas em algumas regiões podem comprometer além do cultivo convencional, o uso da irrigação como fator de produção.

A região Sul do Brasil possui diferenciação climática bem definida entre as estações do ano, apresentando como principais estresses ambientais a ocorrência de geadas no período invernal e a estiagem no verão (GROSS; CASSOL, 2015). No RS, apesar da inexistência de estação chuvosa, já que a precipitação pluvial é bem distribuída nas quatro estações do ano, a deficiência hídrica se concentra no verão devido à alta demanda evaporativa da atmosfera, principalmente nos meses de dezembro e janeiro (LEIVAS; BERLATO; FONTANA, 2006). Neste sentido, o período de máximo crescimento vegetativo e maior demanda hídrica da cana-de-açúcar coincide com a falta de água, afetando o crescimento da cultura e reduzindo a produtividade final (RAMESH, 2000).

As mudanças climáticas estão impactando diretamente as condições meteorológicas do RS, principalmente em relação ao aumento da temperatura mínima do ar, e na maior frequência de anomalias de precipitação, as quais

possuem grande influência do fenômeno El Niño Oscilação Sul (ENOS) (CORDEIRO et al., 2016). No caso do RS, o El Niño produz anomalias positivas de precipitação pluvial e o La Niña anomalias negativas, especialmente na primavera e início de verão (FONTANA; BERLATO, 1996). No período de 2000 a 2012, foram registrados 2183 decretos de situação de emergência por estiagem nos municípios do RS, sendo que 88,6% dos casos foram observados em municípios com alta produção agrícola (GROSS, 2013).

A cultura da cana-de-açúcar necessita de disponibilidade de umidade no solo durante todo o período de crescimento vegetativo, devido à alta absorção de água e produção de fotoassimilados, porém, na fase de maturação, o ideal é que haja redução na disponibilidade de água, não drasticamente, mas o suficiente para reduzir o metabolismo de crescimento e induzir a maior concentração de açúcar nos colmos (BULL, 2000). Portanto, o déficit hídrico na fase vegetativa influencia de maneira direta o crescimento dos perfilhos e a altura final dos colmos e, consequentemente, a produção de açúcar (SUGIHARTO, 2004).

O principal problema 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; SUKAR, 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). Estes mecanismos originam-se da percepção, transdução do sinal de estresse e a expressão gênica, sustentando todas as respostas morfológicas, fisiológicas e bioquímicas das plantas ao estresse (FERREIRA et al., 2017).

O ácido abscísico (ABA) é o principal modulador de respostas aos estresses ambientais em plantas (HIMMELBACH; YANG; GRILL, 2003). Este hormônio vegetal está relacionado com o fechamento estomático, redução do crescimento da folha e do caule, indução ao aprofundamento radicular, aumento da condutividade hidráulica

das raízes, remobilização de assimilados, indução da senescência, manutenção da pressão osmótica e expressão de proteínas antioxidantes (HAN; YANG, 2015).

As principais estratégias para aumentar os níveis de tolerância ao déficit hídrico são conduzidas com a seleção de genótipos superiores ou na modificação genética das cultivares já existentes (FERREIRA et al., 2017). Dentre estas, têm se realizado o estudo e a seleção de genótipos com diferencial de tolerância (HEMAPRABHA et al., 2006; MACHADO et al., 2009; HEMAPRABHA et al., 2013), técnicas de transgenia (MOLINARI, 2006; REIS et al., 2014) e de edição genética (KUMAR; JAIN, 2014).

Os estudos em melhoramento genético direcionados para tolerância ao déficit hídrico em cana-de-açúcar têm avançado no desenvolvimento de variedades com bom desempenho em campo (MATSUOKA; FERRO; ARRUDA, 2009). No entanto, há necessidade de adequações nas metodologias de avaliação e seleção, visando diminuir o tempo e o gasto na obtenção de novos clones com alta performance e com tolerância ao déficit hídrico (FRITSCHÉ-NETO; BOREM, 2011).

2.3. Origem, caracterização e melhoramento genético da cana-de-açúcar

A cana-de-açúcar é uma planta monocotiledônea, alógama e perene, provavelmente originária das regiões da Indonésia e Nova Guiné, pertencente à família *Poaceae*. Durante o período pré-colonial a cana-de-açúcar foi introduzida por Martin Afonso de Souza, em 1502, na capitania de São Vicente através de mudas provenientes da Ilha da Madeira (CESNIK; MIOCQUE, 2004). Seus atuais cultivares são híbridos interespecíficos, sendo que nas constituições genéticas participam seis espécies do gênero *Saccharum*, originárias do Sudeste Asiático e da Nova Guiné, descritas por Roach e Daniels (1987), com a seguinte caracterização:

- i) *S. officinarum*- plantas de porte elevado, colmos grossos, alto teor de açúcar e de baixo teor de fibra, chamadas de “canas nobres”;
- ii) *S. spontaneum* - plantas de colmos curtos, finos, fibrosos, praticamente sem açúcar; perfilhamento vigoroso e abundante; sistema radicular bem desenvolvido;
- iii) *S. robustum* - colmos muito altos, grossos, fibrosos e pobres em açúcar;
- iv) *S. barberi* - colmos de baixo a médio porte, finos, fibrosos e baixo teor de açúcar;
- v) *S. sinense* - colmos de alto porte, finos, fibrosos e regular teor de açúcar; raízes abundantes e fortes;
- vi) *S. edule* - plantas caracterizadas por apresentarem inflorescências empregadas na alimentação humana.

O genoma da cana-de-açúcar é caracterizado como poliplóide, logo, possui mais de duas cópias de cada um de seus cromossomos, no entanto, estes níveis de ploidia são variáveis de acordo com a espécie, sendo: *S. officinarum* possui em cada célula $2n = 80 = 8x$ ($x=10$ cromossomos); na espécie *S. spontaneum* é mais comum os tipos $2n = 40, 64, 80, 96, 112$ e $128 = 5x, 8x, 10x, 12x, 14x$ e $16x$ ($x=8$ cromossomos) (BARBOSA, 2014). As cultivares modernas são resultantes de cruzamentos genéticos interespecíficos realizados na primeira metade do século XX entre *S. officinarum* e *S. spontaneum* e têm entre 100 a 130 cromossomos, sendo 80% derivados de *S. officinarum*, 10% de *S. spontaneum* e 10% de recombinantes das duas espécies (PIPERIDIS; PIPERIDIS; D'HONT, 2010).

A realização de retrocruzamentos dos híbridos interespecíficos com *S. officinarum* objetivou o aumento de sacarose no colmo, ocorrendo assim um

processo de “nobilização” da cana-de-açúcar. Atualmente, a RIDESA tem incluído em seu programa de melhoramento, hibridações envolvendo acessos de *S. spontaneum* e *S. robustum*, com cultivares República Brasil (RB) e cultivares de outros programas de melhoramento, visando o desenvolvimento de clones que apresentam teor de fibra acima de 17%, mas mantendo os mesmos níveis de sacarose (~13%) das cultivares atualmente disponíveis para o cultivo comercial, objetivando aumentar a produção de biomassa e a tolerância aos estresses ambientais (SILVEIRA, 2014).

O melhoramento genético de cana-de-açúcar para alcançar uma nova variedade passa por uma série de fases de seleção aplicadas a diferentes parâmetros, sendo praticada em caracteres indiretos de produção, correlacionados com o caráter principal toneladas de cana por hectare (TCH), realizada em áreas relativamente grandes com milhares de genótipos e sem repetições, apresentando baixa herdabilidade e acarretando em baixa precisão experimental (MELO, 2014). Este mesmo autor cita que, com o avanço das fases, poucos genótipos são selecionados para etapas posteriores, apresentando grande percentual de descarte, transformando a seleção em nível de campo em uma tarefa onerosa e de alto custo.

O cultivo de cana-de-açúcar ainda é realizado por variedades que foram desenvolvidas por programas clássicos, utilizando métodos convencionais de coleta e recombinação, praticando somente técnicas de seleção massal (MELO, 2014). Ao longo do tempo, diferentes estudos foram realizados para aperfeiçoar o processo de seleção, como a Seleção Combinada Através de Índices (LUSH, 1947), a Seleção Sequencial Australiana (McRAE et al, 1998; COX; HOGARTH; SIMITH, 2000), e a Seleção Sequencial Modificada (BRESSIANI, 2001), no entanto, poucas metodologias de pré-seleção antecedendo a fase de campo foram desenvolvidas.

As principais etapas de um programa de melhoramento de cana-de-açúcar são: seleção de genitores; realização de hibridações dando origem às famílias; envio das cariopses às estações para implantação da primeira fase de teste (T1), nessa fase, verifica-se a maior variabilidade, com a avaliação de milhares de plântulas a campo; avaliação e seleção durante a segunda fase de teste (T2) sem repetições e em pequenas parcelas; terceira fase de teste (T3) em poucos locais; e por último, a fase de experimentação (FE), na qual se avalia a adaptabilidade e estabilidade de clones potenciais por vários locais e ciclos de corte (CASTRO et al., 2016).

Os programas de melhoramento genético de cana-de-açúcar buscam realizar avaliações experimentais “in loco” nas regiões produtoras, fazendo a seleção de genótipos que melhor se adaptam às condições de cultivo em determinada região, que possui características intrínsecas de clima e solo (BARBOSA, 2014). Neste sentido, torna-se pertinente a seleção de novas cultivares apropriadas para cada ambiente de produção, pois a aplicação das estratégias e operacionalização do melhoramento genético da cana-de-açúcar de uma determinada região pode não ter o mesmo resultado em outra (BURNQUIST; REDSHAW, K; GILMOUR, 2010).

A demanda por estudos envolvendo resistência varietal para enfrentar os estresses climáticos têm aumentado nos últimos anos para muitas culturas (VERISSIMO et al., 2017). Neste contexto, o melhoramento genético de plantas entra como fator-chave no processo de adaptação aos estresses abióticos, considerando os efeitos das mudanças climáticas no desenvolvimento de novas variedades, que, além de mais produtivas, devem suportar maior variação térmica e ser mais tolerantes ao estresse hídrico (CARVALHO; FURTADO, 2013).

Estudos envolvendo a seleção em fases iniciais baseada na tolerância a estresses abióticos são escassos. Neste contexto, Veríssimo et al. (2017) conduziram a seleção de famílias de cana-de-açúcar sob efeito de geada no RS, avaliando a tolerância ao frio nas primeiras fases de seleção, sendo este o primeiro estudo com a seleção de progênies de cana-de-açúcar nesta região.

O desenvolvimento e a liberação de uma nova cultivar de cana-de-açúcar pelo melhoramento genético convencional requer um longo período de tempo, sendo gastos de 12 a 15 anos com atividades dispendiosas e alto custo de pesquisa (BARBOSA et al., 2012). Neste contexto, alguns programas de melhoramento têm direcionado estratégias de seleção às fases iniciais de melhoramento, os quais otimizam o gasto de recurso e tempo. A seleção precoce é apontada como uma alternativa para acelerar o processo de melhoramento (SILVA; PEREIRA, 2011; BANDINELLI et al., 2017), uma vez que a principal limitação tem sido o tempo gasto para a seleção de genótipos superiores (MELO et al., 2011).

Estudos de seleção avançada ou *screening* (triagem) para tolerância a estresses abióticos direcionados a fase de plântulas em cana-de-açúcar são comumente realizados em ensaios conduzidos *in vitro* (PATADE et al., 2006; RAUF et al., 2016; SNYMAN; MHLANGA; WATT, 2016; MASOABI et al., 2018). No entanto, estes experimentos utilizam agentes mutagênicos, avaliando a tolerância

aos estresses simulados em calos regenerados em cultura de tecidos, considerando que haja alguma mutação que promova diferencial de tolerância (PATADE et al., 2006). Contudo, até o momento não há relatos de resultados consistentes, com experimentos conduzidos a campo ou variedades comerciais desta origem.

Com o objetivo de implantar um sistema de seleção simplificada, Melo (2014) conduziu um estudo com avaliação de progênies de cana-de-açúcar na fase de plântulas, realizando a seleção visual com base no vigor. Neste estudo, a partir de experimentos conduzidos a campo com as populações pré-selecionadas, concluiu-se que com a seleção das plântulas de maior vigor é possível obter avanços genéticos estimados em cerca de duas vezes superiores à população intermediária. Este trabalho é considerado um marco para as estratégias de seleção em cana-de-açúcar, dando origem ao sistema de seleção avançado em plântulas (SAP), também denominado de “tapetinho” (OLIVEIRA; DAROS, 2014).

Atualmente parte do programa de melhoramento genético da cana-de-açúcar conduzido pela RIDESA já adota o sistema “tapetinho”, qual proporcionou uma redução substancial das áreas experimentais nas primeiras fases de seleção, possibilitando o aumento da população inicial testada em cerca de 20 vezes (OLIVEIRA; DAROS, 2014).

A integração das várias estratégias de seleção pode tornar os programas de melhoramento de cana-de-açúcar mais eficientes na seleção dos melhores indivíduos, pois haverá um aumento da precisão nas etapas iniciais de seleção sem perder a agilidade necessária para o lançamento de novas cultivares (BRASILEIRO, 2013). No entanto, até o presente momento não há relatos da seleção avançada para tolerância a estresses abióticos, realizada em populações segregantes, a qual possui um amplo campo de oportunidades para exploração da variabilidade genética existente na espécie.

3. Metodologia geral

Foram realizados testes com simulação de déficit hídrico em ambiente controlado, avaliando-se a tolerância a este estresse na fase de plântulas em 13 famílias de cana-de-açúcar conduzidas em ambiente controlado, totalizando aproximadamente 1850 plântulas, formando o primeiro capítulo desta dissertação. O experimento foi conduzido na estação experimental da Embrapa Clima Temperado, em Pelotas, RS. As sementes botânicas para produção das plântulas foram obtidas a partir de cruzamentos realizados na estação de floração e hibridação da Serra do Ouro, em Murici, AL, pertencente à Universidade Federal de Alagoas (UFAL), integrante da RIDESA, rede com a qual a Embrapa possui vínculo de pesquisa.

A simulação do estresse foi iniciada aos 70 dias após a emergência (DAE) das plântulas, com a suspensão da irrigação. Para avaliação diária do nível de tolerância, foi utilizada uma escala de notas visuais desenvolvida neste estudo, contendo cinco classes de tolerância (Nota 1 – Altamente tolerante; Nota 2 – Tolerante; Nota 3 – Medianamente tolerante; Nota 4 – Sensível; Nota 5 – Altamente sensível), considerando como principais critérios de avaliação o enrolamento, a murcha e a descoloração foliar. A variável resposta de maior importância utilizada como critério de seleção na fase de plântula foi a “Tolerância ao déficit hídrico individual” (TLP), expressa em dias sem irrigação (DSI) e estimada a partir do número de dias que a plântula tolera até atingir nota igual a cinco.

Para avaliar a eficiência da seleção realizada na fase de plântulas, parte da população conduzida nesta fase foi selecionada para um ensaio em fase adulta, formando o segundo capítulo desta dissertação. Foram selecionados seis cruzamentos bi-parentais com maior nível de variabilidade e contraste para a variável TLP, conduzindo-se 380 plantas para as avaliações em fase adulta, realizadas aos 250 DAE. Nesta etapa foi realizada a suspensão da irrigação por sete DSI e foram avaliados caracteres biométricos, fisiológicos e visuais de tolerância ao déficit hídrico.

As análises dos resultados foram direcionadas para avaliação do nível de tolerância das populações estudadas em ambas as fases, bem como da associação das características avaliadas dentro e entre as fases de seleção, obtidas a partir da análise de correlação e pelos índices de coincidência.

4. Capítulo 1 – Seleção avançada em plântulas de cana-de-açúcar para tolerância ao déficit hídrico

4.1. Introdução

O cultivo de cana-de-açúcar apresenta grande importância econômica para o Brasil, possuindo atualmente a maior área de cultivo mundial, com mais de 9,0 milhões de hectares (CONAB, 2017). No Rio Grande do Sul (RS) esta cultura está vinculada basicamente a agricultura familiar, principalmente na produção de derivados, como melado, rapadura, açúcar mascavo e cachaça.

A cana-de-açúcar é cultivada tanto em clima tropical como subtropical, entre as latitudes 35° N e 30° S e em altitudes que variam desde o nível do mar até 1000 m (DOORENBOS; KASSAM, 1994), adaptando-se a diversas condições ambientais restritivas. Entre os estresses ambientais, o déficit hídrico é considerado um dos fatores mais limitantes à agricultura mundial, dificultando a produção de alimentos em diversos países (RAMPINO et al., 2006). Este cenário em muitas regiões do mundo é um dos principais fatores que limitam a produção e expansão da cana-de-açúcar, sendo causada por períodos de déficit hídrico prolongado ou por irrigação inadequada (INMAN-BAMBER; SMITH, 2005).

As cultivares de cana-de-açúcar utilizadas para o cultivo no Brasil foram selecionadas por métodos convencionais de melhoramento, tomando como principais critérios de seleção a produtividade de colmos e a resistência as principais doenças (OLIVEIRA; DAROS, 2014). Ressalta-se que, o desenvolvimento e a liberação de uma nova cultivar de cana-de-açúcar pelo melhoramento genético convencional requer um longo período de tempo, sendo gastos de 12 a 15 anos com atividades dispendiosas e alto custo de pesquisa (BARBOSA et al., 2012). Neste contexto, torna-se necessário desenvolver métodos de seleção direcionados para as fases iniciais de melhoramento, as quais otimizam tempo e o gasto de recursos.

Estudos de seleção precoce ou *screening* (triagem) para tolerância a estresses abióticos direcionados a fase de plântulas em cana-de-açúcar são comumente realizados em ensaios conduzidos *in vitro* (PATADE et al., 2006; RAUF

et al., 2016; SNYMAN; MHLANGA; WATT, 2016; MASOABI et al., 2018). No entanto, estes experimentos utilizam agentes mutagênicos, avaliando a tolerância aos estresses simulados em calos regenerados em cultura de tecidos, considerando que haja alguma mutação que promova diferencial de tolerância (PATADE et al., 2006). Contudo, até o momento não há relatos de resultados consistentes, com experimentos conduzidos a campo ou variedades comerciais desta origem.

Neste contexto, o objetivo do presente trabalho foi testar uma metodologia para avaliação da tolerância ao déficit hídrico em plântulas de cana-de-açúcar.

4.2. Material e métodos

O experimento foi implantado na estação experimental da Embrapa Clima Temperado, situado em Pelotas, estado do Rio Grande do Sul (RS). Foram utilizadas sementes botânicas de 13 famílias de cana-de-açúcar da série RB16 (Republica Brasil, Ano 2016), 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), que integra a RIDESA (Figura 2).

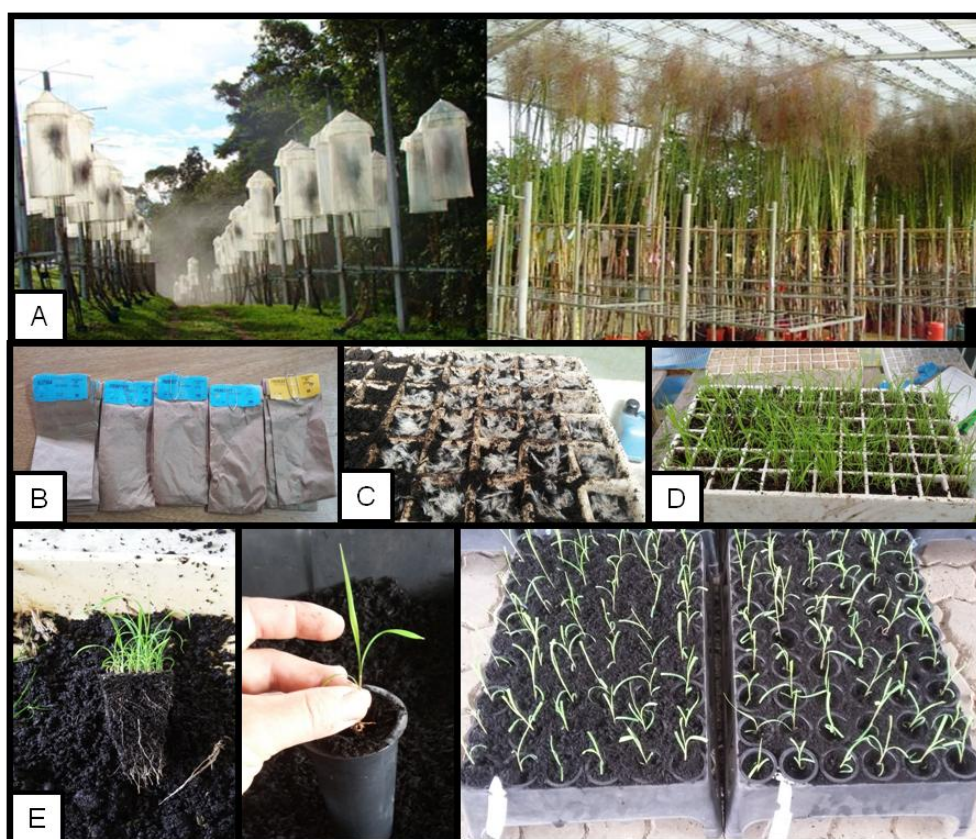


Figura 2 - Estação de floração e hibridação de cana-de-açúcar em Murici-AL (A), recebimento de sementes (B), semeadura de cariopses (C), emergência de plântulas (D), individualização e estabelecimento de plântulas em tubetes (E).

Fotos: (A) G. V. S. Barbosa; (B, C, D e E) A. Härter.

As sementes foram previamente enviadas ao Programa de Melhoramento Genético de Cana-de-açúcar da Universidade Federal do Paraná (PMGCA/UFPR), integrante da Ridesa, e posteriormente encaminhadas à estação experimental da Embrapa Clima Temperado. A semeadura foi realizada no dia 26 de novembro de 2016, em bandejas de poliestireno preenchidas com substrato comercial marca Turfa Fertil® (Figura 2C), com análise físico-química descrita na tabela 1. A análise do substrato foi realizada no Laboratório de Análises de Substratos para Plantas, da Fundação Estadual de Pesquisa Agropecuária (Fepagro), em Porto Alegre, RS.

Tabela 1 - Caracterização físico-química do substrato comercial marca Turfa Fertil®.

Parâmetro	Valor
Densidade Úmida (g L^{-1})	669,0
Matéria Seca ($\text{g } 100\text{g}^{-1}$)	44,0
Densidade Seca (g L^{-1})	297,0
Porosidade Total ($\text{m}^3 \text{m}^{-3}$)	0,66
Espaço de Aeração ($\text{m}^3 \text{m}^{-3}$)	0,15
Água Facilmente Disponível ($\text{m}^3 \text{m}^{-3}$)	0,3
Água Tamponante ($\text{m}^3 \text{m}^{-3}$)	0,1
Capacidade de Retenção de Água 10cm ($\text{m}^3 \text{m}^{-3}$)	0,50
Capacidade de Retenção de Água 50cm ($\text{m}^3 \text{m}^{-3}$)	0,47
Capacidade de Retenção de Água 100cm ($\text{m}^3 \text{m}^{-3}$)	0,46
Condutividade Elétrica (dS m^{-1})	0,95
Valor de pH (H_2O)	6,07
Relação C:N*	42:1
N (g kg^{-1})	6,4
P (g kg^{-1})	0,34
K (g kg^{-1})	2,2

*C: Carbono; N: Nitrogênio; P: Fósforo; K: Potássio.

A primeira fase para obtenção das plântulas foi conduzida em casa de vegetação, com temperatura controlada para 28 °C e irrigação do tipo floating. Aos 15 dias após a emergência (DAE) das plântulas, foi realizada a individualização das mesmas para tubetes de polietileno (Figura 2E), previamente pesados, com volume aproximado de 180 cm^3 , preenchido com 95,0 gramas do mesmo substrato utilizado na semeadura. Foi utilizado um total de 1853 plântulas distribuídos em 13 famílias, variando de acordo com a emergência de cada cruzamento (Tabela 2). Para cada família, o total de plântulas emergidas foi distribuído de forma aleatória em três repetições separadas em diferentes caixas, utilizadas como suporte para alocação dos tubetes. As plântulas individualizadas foram mantidas nas mesmas condições de irrigação e ambiente até aos 50 DAE.

Tabela 2 - Relação das famílias que compõem as populações utilizadas no experimento de seleção para tolerância ao déficit hídrico, local de teste e número de plântulas testadas por família.

ID Família	Genitor feminino		Genitor masculino	Local teste	Número de plântulas testadas por família
1	RB036012	x	RB863129	Fitotron	158
2	RB036091	x	RB036152	Fitotron	159
3	IAC936033	x	RB036145	Fitotron	156
4	RB036091 (1)	x	?	Fitotron	160
5	RB036075	x	?	Fitotron	160
6	RB946905	x	?	Fitotron	162
7	RB036152	x	?	Fitotron	161
8	RB036091	x	?	Fitotron	160
Subtotal	-		-	Fitotron	1276
8	RB036091	x	?	C. Vegetação	106
9	RB036145	x	RB946903	C. Vegetação	157
10	RB867515	x	RB036147	C. Vegetação	152
11	BJ7504	x	RB72454	C. Vegetação	54
12	RB867515	x	RB92579	C. Vegetação	54
13	SP701143	x	RB867515	C. Vegetação	54
Subtotal	-		-	C. Vegetação	577
Total					1853

(1) Hibridação realizada em bloco de cruzamento distinto ao da família 8, apresentando um conjunto de genitores masculinos indefinidos diferente entre os cruzamentos.

O teste de seleção com déficit hídrico foi realizado em dois ambientes em virtude do limite espacial da câmara de crescimento, logo, objetivando avaliar o número máximo de plântulas disponíveis, as populações excedentes foram conduzidas em casa de vegetação, visto que os ambientes não foram considerados fontes de variação para fins de comparação.

A câmara de crescimento do tipo fitotron possui controle automatizado de temperatura, umidade do ar, radiação, fotoperíodo e concentração de gases, de modo que as condições ambientais se mantêm estáveis conforme definição prévia, sem interferência das condições ambientais externas. Neste estudo, tais condições foram definidas conforme as normais climatológicas do RS semelhante aos meses de dezembro e janeiro, utilizando-se fotoperíodo de 14 horas, temperatura média de 24 °C com variação de $\pm 4,0$ °C entre período diurno e noturno.

Aos 70 DAE iniciou-se o teste com restrição hídrica, realizando previamente a uniformização da umidade do substrato com a imersão dos tubetes em lâmina de água por 5 minutos, objetivando preencher todos os espaços porosos com água (Figura 4A). Após esta etapa, o teste foi conduzido com a suspensão da irrigação até os 17 dias sem irrigação (DSI) no ambiente fitotron, de acordo com as condições ambientais descritas na Figura 3.

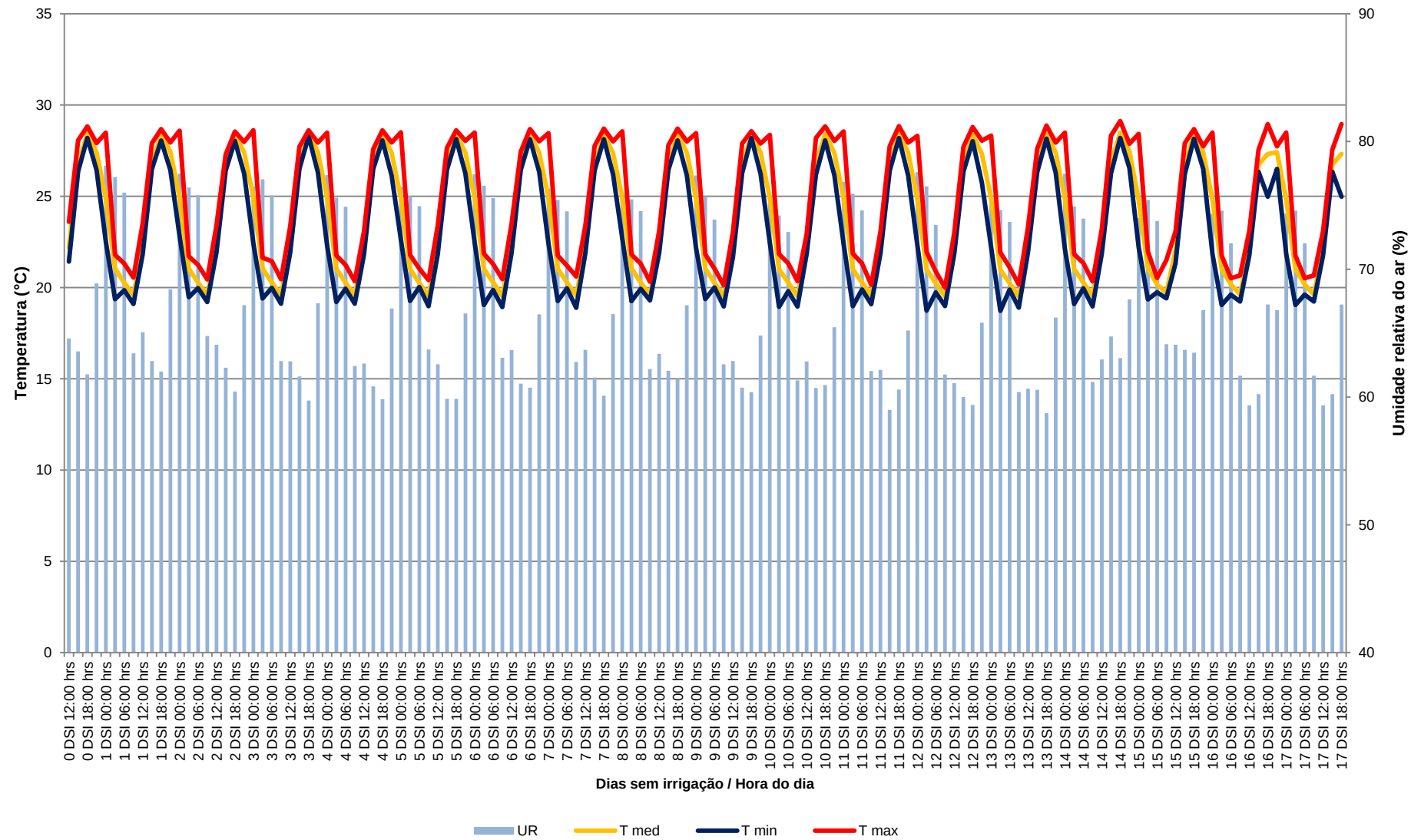


Figura 3 - Temperatura mínima, média, máxima e umidade relativa do ar durante o período de simulação do déficit hídrico para a fase de plântulas em câmara de crescimento tipo fitotron. *DSI: Dias sem irrigação.

As condições meteorológicas no ambiente fitotron mantiveram-se estáveis entre os dias de condução do teste, favorecendo assim a precisão experimental e redução dos efeitos ambientais sobre a expressão da tolerância das plântulas ao déficit hídrico. Os dados meteorológicos foram coletados junto ao banco de dados armazenados no sistema automático da câmara de crescimento, com intervalo de aquisição de 10 minutos. No entanto, os resultados foram apresentados em intervalos de três horas, com valores de temperatura média diária de 24,0 °C, variando de 20,0°C (temperatura mínima as 06:00 horas) à 28,0 °C (temperatura máxima as 15:00 horas) e umidade relativa do ar média de 65,0%, com variação diária de 60,0% a 75,0% (Figura 3).

No primeiro dia de teste (0 DSI) foi realizado a caracterização biométrica a nível de indivíduo em ambos os ambientes de teste, realizando a contagem do número de folhas abertas por plântula e a altura de plântula, medida tomada do nível superior do substrato até a inserção da folha +1 (figura 4B).

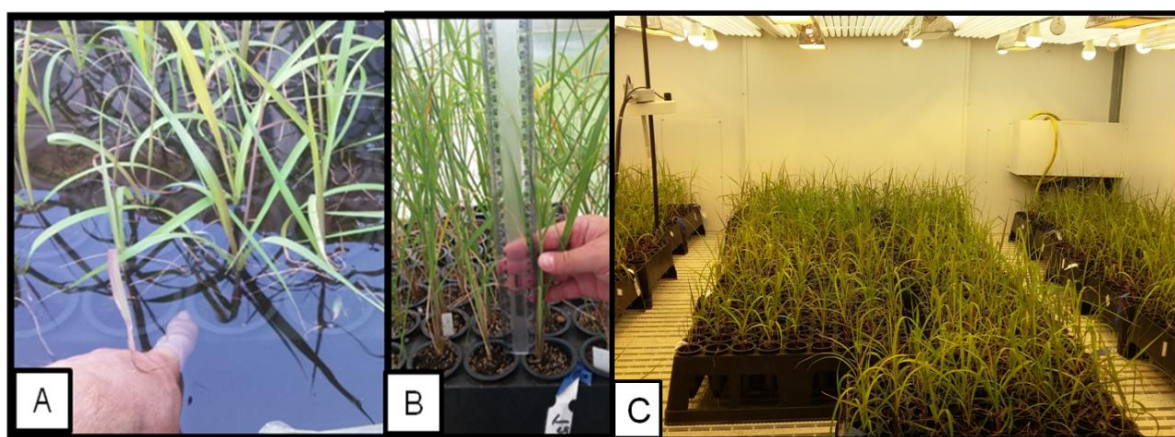


Figura 4 - Uniformização do teor de umidade (A), avaliações biométricas em plântulas (B) e condução do teste de tolerância ao déficit hídrico em câmara de crescimento (C). Fotos: A. Härter.

A casa de vegetação utilizada neste trabalho possui estrutura lateral e superior de policarbonato com a base de alvenaria. Neste ambiente, as populações conduzidas foram avaliadas por um período de 23 DSI, iniciando o teste na mesma data da câmara de crescimento. 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. Os dados estão apresentados graficamente com intervalo de 3 horas entre medidas (Figura 5).

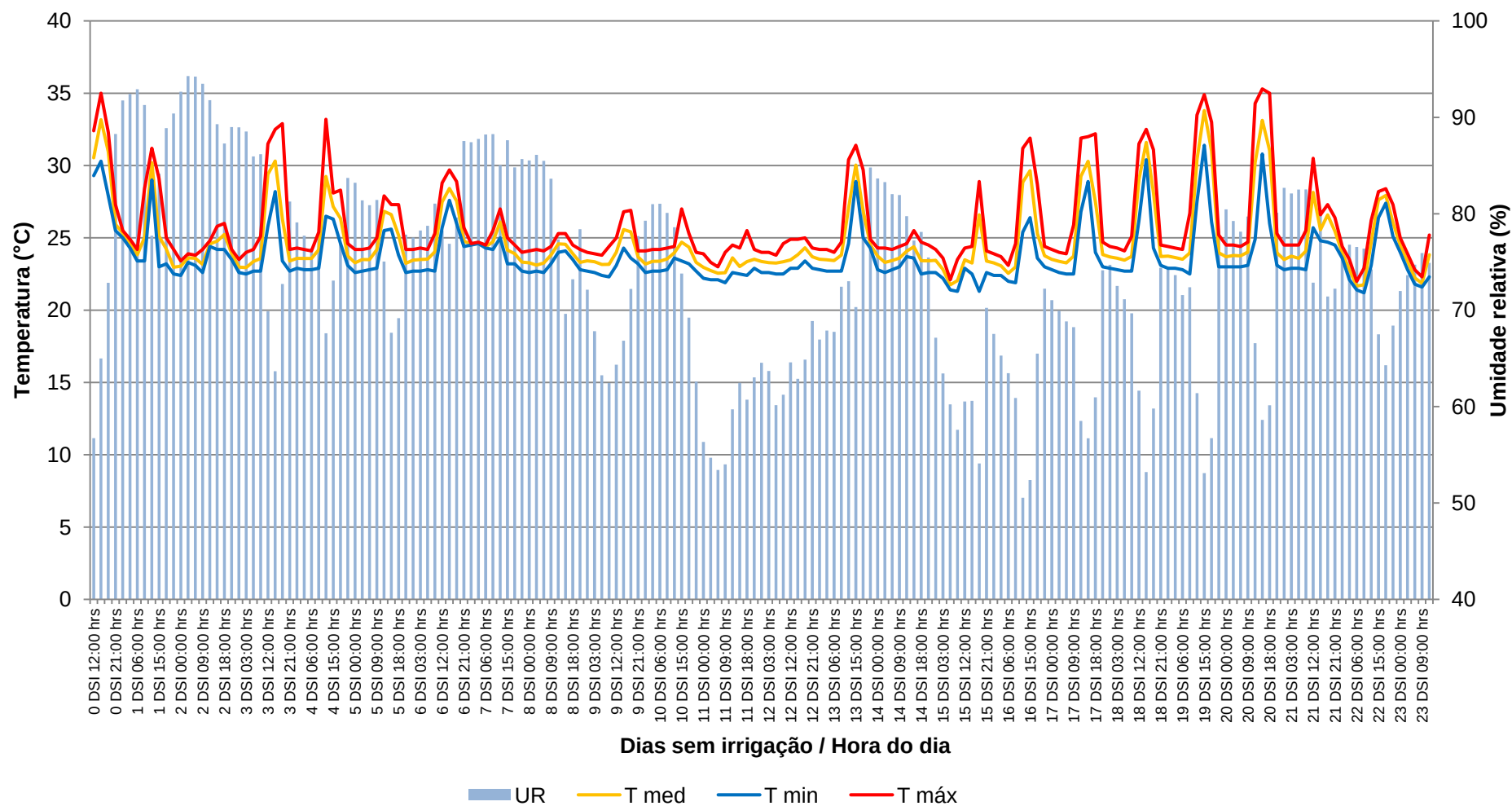


Figura 5 - Temperatura mínima, média, máxima e umidade relativa do ar durante o período de simulação do déficit hídrico para a fase de plântulas em casa de vegetação. *DSI: Dias sem irrigação.

A temperatura média durante o período de teste em casa de vegetação foi de 24,7 °C, com mínima de 21,2°C aos 22 DSI e máxima de 35,3 °C aos 20 DSI. A maior amplitude térmica diária foi registrada aos 20 DSI, com variação de 12,3 °C entre a temperatura mínima e máxima, sendo que, de modo geral estas temperaturas foram registradas diariamente próximo as 6:00 horas e as 15:00 horas, respectivamente. A umidade relativa do ar média foi de 73,7%, variando de 50,5% aos 16 DSI a 94,3% aos 2 DSI, com maior amplitude registrada aos 0 DSI com variação diária de 32,0%.

Para ambos os ambientes de avaliação (câmara de crescimento e casa de vegetação), foi realizada avaliação diária do nível de tolerância para cada indivíduo (plântula), com base em uma escala de notas de tolerância ao déficit hídrico em plântulas de cana-de-açúcar, desenvolvida neste trabalho (Figura 6), variando de 1 (Altamente tolerante) a 5 (Altamente sensível). Todas as avaliações foram realizadas por um único avaliador no período matutino das 09:00 às 11:00 horas.

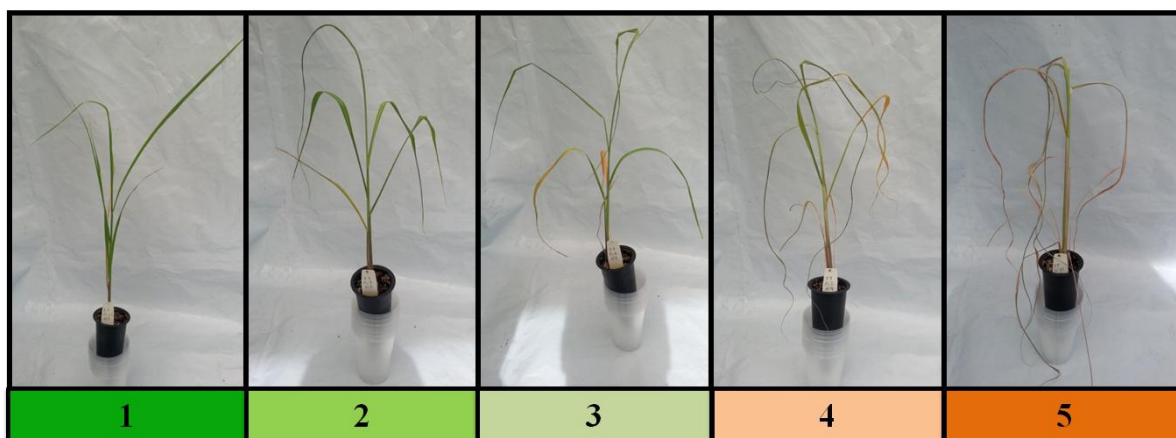


Figura 6 - Escala visual de notas para tolerância ao déficit hídrico em plântulas de cana-de-açúcar (1 - Altamente tolerante; 2 - Tolerante; 3 - Medianamente tolerante; 4 - Sensível; 5 - Altamente sensível). Fotos: A. Härter

Os principais critérios adotados para determinação do nível de tolerância foram o enrolamento foliar, murcha e descoloração das folhas. Neste sentido, as classes de tolerância são descritas como: **Nota 1** (Altamente tolerante) - plântulas com ausência de sintomas de déficit hídrico, com folhas verdes e de aparência tenra; **Nota 2** (Tolerante) – plântulas com sintomas iniciais de deficiência hídrica, leve murchamento das folhas e com enrolamento nas folhas mais jovens; **Nota 3** (Medianamente tolerante) - plântulas 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) –

plântulas com sintomas intensos de deficiência hídrica, folhas mais velhas secas e presença de descoloração em todas as folhas; **Nota 5** (Altamente sensível) – plântulas com sintomas severos de deficiência hídrica, com completo enrolamento foliar, descoloração e folhas totalmente secas (Figura 6).

Ao decorrer do teste, no momento em que as plântulas com maior nível de sensibilidade atingiram nota 5, estas foram identificadas, retiradas do teste e retornaram para o sistema de irrigação, visando reestabelecer o crescimento para utilização destes genótipos em experimentos futuros como padrões de sensibilidade. Do mesmo modo, no momento em que as famílias apresentassem mais de 30,0% das plântulas com notas 4 e 5, estas eram retiradas do teste e retornava-se com a irrigação.

Ao final do teste com cada família, foi realizada a pesagem individual das plântulas (plântula + substrato + tubete (peso conhecido)) (PSF), antes do retorno com irrigação, visando estimar a perda de água ao nível de indivíduo. Após o término da simulação de déficit hídrico as populações dos dois ambientes de teste foram conduzidas em casa de vegetação, realizando-se a poda das plântulas (um terço do comprimento total das folhas) e mantendo a irrigação por capilaridade, com um terço do tubete submerso em lâmina de água.

A variável tolerância ao déficit hídrico na fase de plântulas (TLP), estimada em DSI para cada plântula, foi tomada como caractere principal para avaliação do nível de tolerância. Esta variável foi determinada como sendo o número de dias sem irrigação que a plântula tolera até atingir nota igual a 5. No entanto, para as plântulas que ao final do teste não atingiram tal nível de sensibilidade, estimou-se a tolerância seguindo a equação 1, para ambos os ambientes de teste:

$$\bullet \quad TLP = (DTF + 5) - NP \quad (1)$$

Sendo:

- TLP: tolerância ao déficit hídrico na fase de plântulas, em dias sem irrigação (DSI);
- DTF: dias teste da família;
- NP: nota de tolerância ao déficit hídrico na fase de plântulas, determinada no último dia de teste da família;

Para apresentação dos resultados, foi elaborada uma curva de decréscimo da percentagem de plântulas tolerantes ao longo dos dias de teste, para cada família

em ambos os ambientes. As análises estatísticas descritivas foram realizadas a partir do gráfico de caixa (*Box-plot*), caracterizando as populações para tolerância em dias sem irrigação, com auxílio do *software* SimaPlot®, versão 11.0.

Para mensurar o nível de tolerância das famílias, avaliou-se a percentagem de plântulas dentro de cada classe de nota atribuída aos 14 DSI no fitotron e aos 20 DSI na casa de vegetação, comparando-se entre e dentro de cada família, em delineamento experimental inteiramente casualizado com três repetições. Para tolerância ao déficit hídrico na fase de plântula (TLP) as análises foram realizadas utilizando as informações individuais, tomando como repetição cada plântula dentro da família. Em ambos os casos, realizou-se análise de variância pelo teste F e as médias quando significativas foram comparadas pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade. Todas as análises comparativas foram realizadas com auxílio do *software* SAS Institute, versão 9.2.

4.3. Resultados e discussão

Para o teste conduzido no fitotron, até os 9 dias sem irrigação (DSI) não houve sinais de sensibilidade ao déficit hídrico para todas as famílias avaliadas, enquanto que aos 14 DSI a média de plântulas tolerantes foi de apenas 20%. A família 3 (IAC936033 x RB036145) manteve a maior proporção de plantas tolerantes ao longo do período de simulação do estresse (Figura 7).

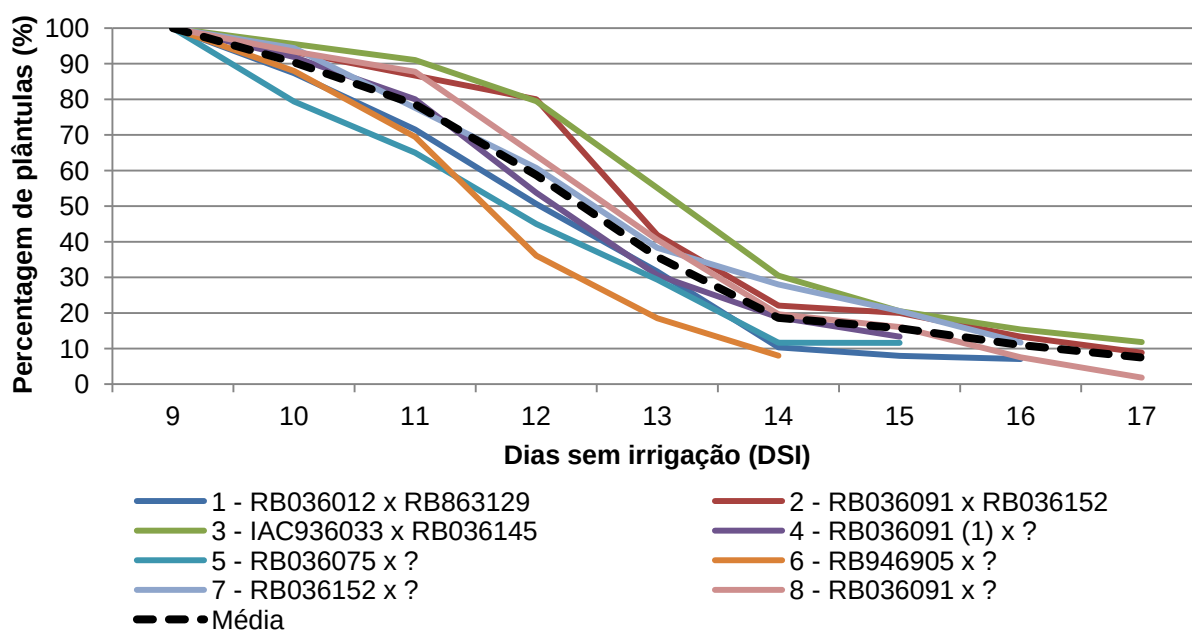


Figura 7 - Curva de decréscimo da percentagem de plântulas altamente tolerantes ao déficit hídrico (nota 1) ao longo de 17 dias sem irrigação (DSI) para oito famílias de cana-de-açúcar avaliadas em câmara de crescimento tipo fitotron.

As condições ambientais da casa de vegetação quando comparada ao fitotron são menos rigorosas, visto que até os 14 DSI 100% das plântulas apresentaram nota 1 (Figura 8). As famílias 10 (RB867515 x RB036147) e 13 (RB867515 x RB036147) apresentaram os menores decréscimos ao longo do teste, com mais de 20% de plântulas tolerantes até os 22 DSI. No entanto, com maior nível de sensibilidade, a família 11 (BJ7504 x RB72454) apresentou menos de 20% de plântulas tolerantes aos 19 DSI, sendo retirada do teste aos 20 DSI.

Em um estudo conduzido por Graça et al. (2010), foram observadas reduções do conteúdo relativo de água na folha e aumento da temperatura foliar a partir dos 7 DSI em variedades sensíveis ao déficit hídrico. Neste sentido, tais fatores contribuem para o enrolamento e desidratação das folhas (INMAN-BAMBER; LAKSHMANAN; PARK, 2012), contribuindo para que durante as avaliações visuais atribuam-se notas de menor tolerância.

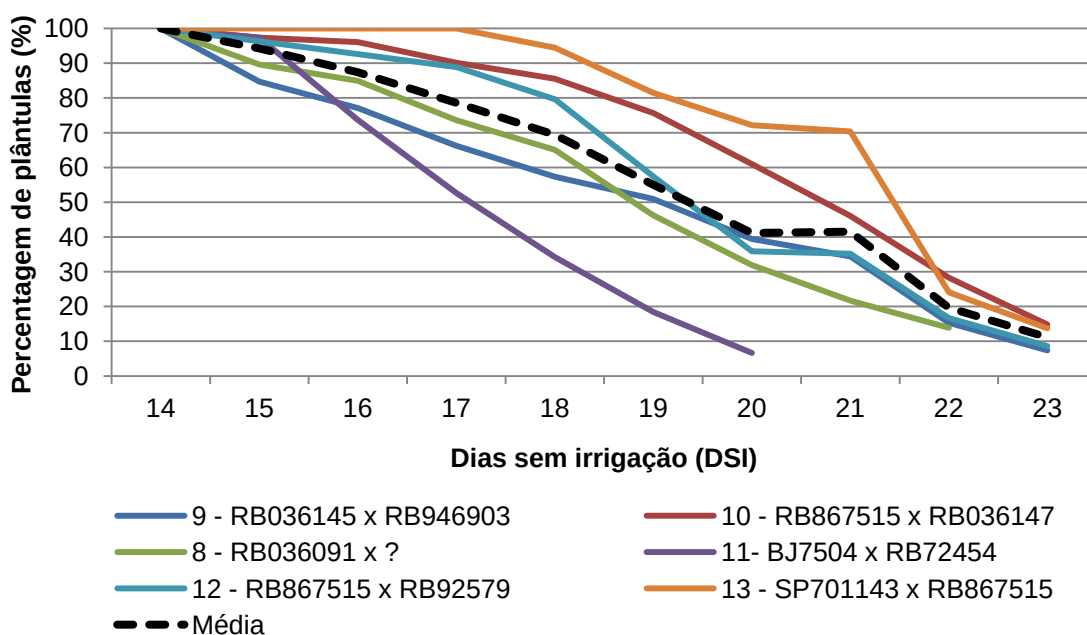


Figura 8 - Curva de decréscimo da porcentagem de plântulas altamente tolerantes ao déficit hídrico (nota 1) ao longo de 23 dias sem irrigação (DSI) para seis famílias de cana-de-açúcar avaliadas em casa de vegetação.

As diferenças observadas entre os ambientes de teste podem estar associadas com as condições de radiação do fitotron, visto que a intensidade de luz ($\text{cal cm}^{-2} \text{ hora}^{-1}$) disponibilizada manteve-se constante durante o período luminoso. Neste sentido, é importante ressaltar que a simulação do déficit hídrico deve ser gradual, com demais condições ambientais amenas, para que os mecanismos de tolerância ao déficit hídrico sejam ativados na planta (HANSON; HITZ, 1982),

permitindo discriminar melhor uma variação genotípica entre os indivíduos (PIMENTEL, 2004).

A partir da distribuição das notas de tolerância dentro das famílias avaliadas foi possível observar que houve variabilidade entre e dentro de todas as famílias avaliadas no fitotron aos 14 DSI (Figura 9). De acordo com Piperidis; Piperidis; D'Hont (2010) e Melo (2014), a alta variabilidade existente na população segregante em cana-de-açúcar é esperada, devido ao nível de heterozigose dos genitores, alto nível de ploidia e da ocorrência frequente de aneuploidia nesta espécie.

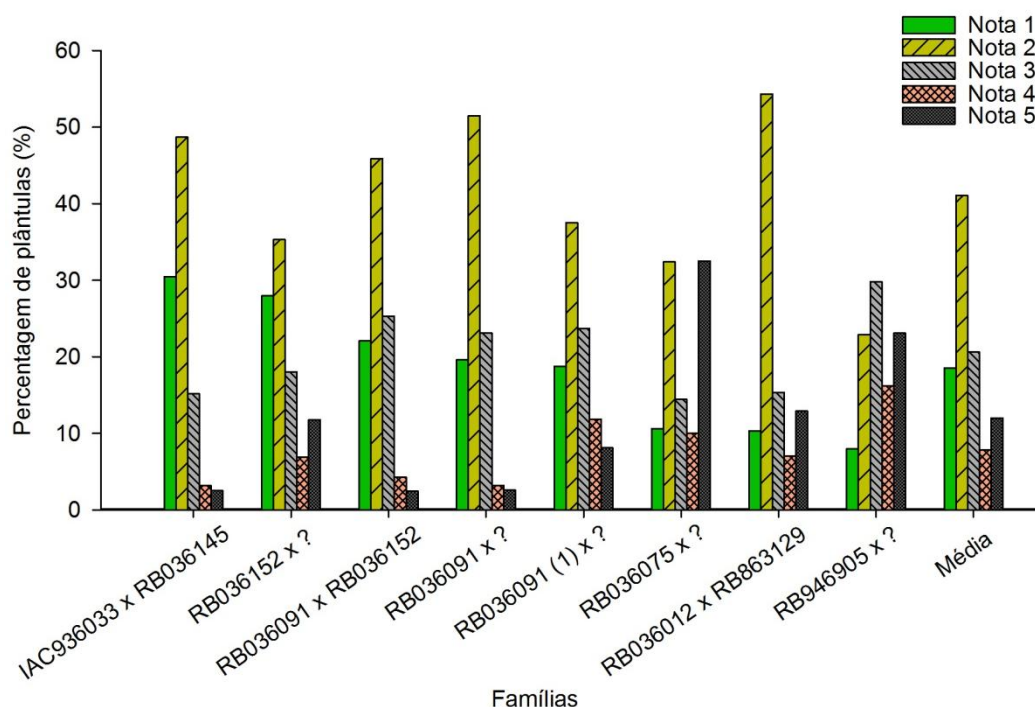


Figura 9 - Percentagem de plântulas por classe de tolerância ao déficit hídrico em famílias de cana-de-açúcar aos 14 dias sem irrigação (DSI), avaliadas em câmara de crescimento tipo fitotron. (Nota 1 - Altamente tolerante; 2 - Tolerante; 3 - Medianamente tolerante; 4 - Sensível; 5 - Altamente sensível)

As famílias 2, 3, 4, 7 e 8 apresentaram maior número de plântulas com nota 1 (Altamente tolerante), com percentagem média acima de 18,5% aos 14 DSI (Figura 9 e Tabela 3). Ainda para a classe tolerante, a família 6 apresentou menor percentagem de plântulas com nota 2 (22,9%), no entanto diferiu-se estatisticamente apenas da família 1. Para a classe intermediária (nota 3), não houve diferença entre as famílias avaliadas neste ambiente. Dentre as classes de menor tolerância (nota 4 e 5), as famílias 5 e 6 obtiveram mais de 40,0% das plântulas com este nível de sensibilidade, evidenciando menor tolerância destas famílias.

Tabela 3 - Percentagem média de plântulas por classe de tolerância aos 14 dias sem irrigação (DSI) e tolerância média ao déficit hídrico em plântulas (TLP) de cana-de-açúcar avaliadas em câmara de crescimento tipo fitotron.

Família	ID	Nota 1		Nota 2		Nota 3		Nota 4		Nota 5		TLP (DSI)	
IAC936033 x RB036145	3	30,5	a B	48,7	ab A	15,2	^{ns} BC	3,2	b C	2,5	c C	17,8	a
RB036091 x RB036152	2	22,1	ab AB	45,9	ab A	25,3	AB	4,3	b B	2,5	c B	17,0	ab
RB036091 x ?	8	19,7	abc B	51,5	ab A	23,1	B	3,2	b C	2,6	c C	16,8	b
RB036012 x RB863129	1	10,3	bc B	54,3	a A	15,4	B	7,1	ab B	12,9	abc B	15,9	c
RB036152 x ?	7	28,0	a AB	35,3	ab A	18,0	AB	6,9	ab B	11,8	bc B	15,7	c
RB036091 (1) x ?	4	18,8	abc B	37,5	ab A	23,7	AB	11,9	ab B	8,1	bc B	15,6	c
RB036075 x ?	5	10,6	bc B	32,4	ab A	14,4	AB	10,0	ab B	32,5	a A	14,5	d
RB946905 x ?	6	8,0	c ^{ns}	22,9	b	29,8		16,2	a	23,1	ab	14,2	d
Média	-	18,5		41,1		20,6		7,8		12,0		15,9	
CV¹ (%)	-	23,9		25,3		37,8		45,2		59,4		15,8	

¹ CV: Coeficiente de variação. * Médias seguidas de mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha (somente entre classes de tolerância) não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade. (Nota 1 - Altamente tolerante; 2 - Tolerante; 3 - Medianamente tolerante; 4 - Sensível; 5 - Altamente sensível).

Para a análise das famílias dentro de cada classe de tolerância, observa-se que as famílias 3 e 7 apresentaram uma proporção superior a 25,0% de plântulas altamente tolerantes. No entanto, as famílias 3 e 8 contribuíram com a menor percentagem de plantas sensíveis, com menos de 6,0% das plântulas com nota 4 e 5, possibilitando assim a seleção de um maior número de indivíduos com alto nível de tolerância dentro destes cruzamentos.

No programa de melhoramento genético de cana-de-açúcar em Coimbatore, na Índia, Hemaprabha et al. (2006) conduziram um trabalho de seleção de progênies para tolerância ao déficit hídrico em condições de campo, observando alta variabilidade entre as famílias para a percentagem de clones sobreviventes, com valores de 27,0 a 97,0% de sobrevivência entre as famílias mais contrastantes. Estes resultados confirmam a alta variabilidade genética da espécie para tolerância ao déficit hídrico.

O coeficiente de variação entre as classes de notas variou de 23,9 a 59,4%, para nota 1 e 5, respectivamente. Estes altos valores ocorrem devido à ampla variabilidade existente na segregação das primeiras gerações desta espécie, esperando-se variações desta magnitude (PIPERIDIS; PIPERIDIS; D'HONT, 2010).

A variável tolerância ao déficit hídrico em plântula (TLP) apresentou média de 15,9 DSI, com coeficiente de variação de 15,8%. Seguindo o comportamento observado para as classes de notas, as famílias 2 e 3 foram superiores em tolerância, com valores acima de 17 DSI para TLP. Do mesmo modo, as famílias 5 e 6 evidenciaram baixa tolerância média, com valores inferiores a 15 DSI. Dentre as famílias com nível de tolerância intermediário (1, 4 e 7), apesar de obter tolerância média de 15,7 dias, a família 7 destaca-se com uma alta proporção de plântulas tolerantes (28,0%).

A distribuição de notas para o ensaio conduzido em casa de vegetação evidencia alta variabilidade dentro e entre as famílias avaliadas (Figura 10). Aos 20 DSI, houve maior proporção de plântulas tolerantes comparado aos demais níveis de tolerância para todas as famílias, exceto para a família 11, qual continha maior parte da população com alto nível de sensibilidade (nota 4 e 5).

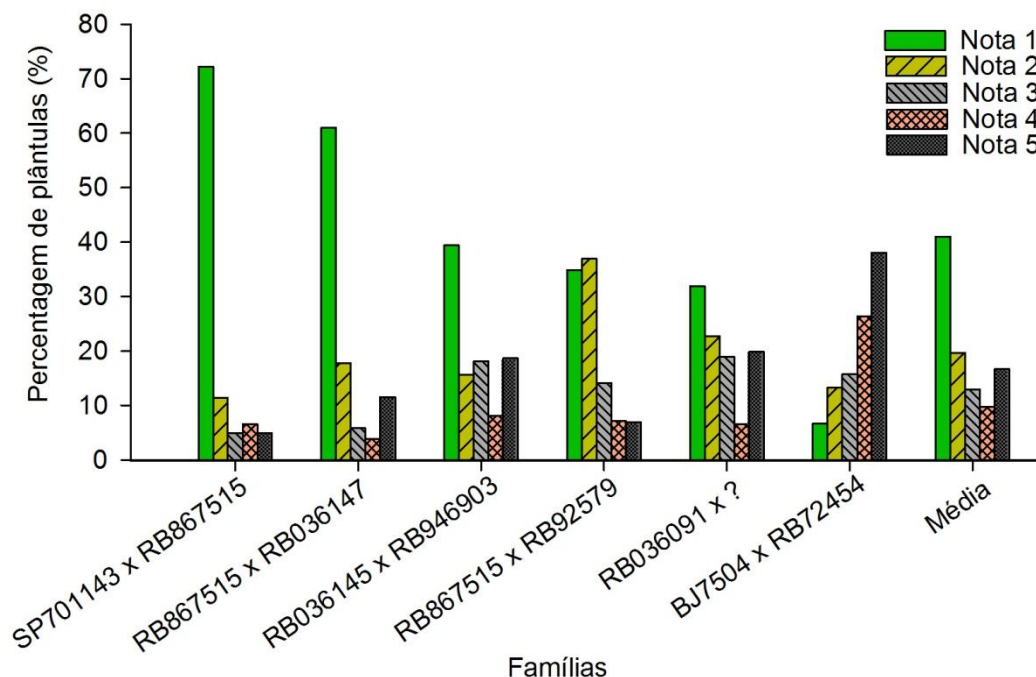


Figura 10 - Percentagem de plântulas por classe de tolerância ao déficit hídrico em famílias de cana-de-açúcar aos 20 dias sem irrigação (DSI), avaliadas em casa de vegetação. (Nota 1 - Altamente tolerante; 2 - Tolerante; 3 - Medianamente tolerante; 4 - Sensível; 5 - Altamente sensível).

Para a análise das famílias dentro de cada classe de nota, houve destaque das famílias 10 (RB867515 x RB036147) e 13 (SP701143 x RB867515), com uma proporção superior a 60,0% de plântulas altamente tolerantes aos 20 DSI (Tabela 4).

A família 12 apresentou maior número de indivíduos com nota 2, diferindo das demais com valores de 22,8 a 11,4%. Para nota 3, as famílias 8 e 9 foram superiores as famílias 10 e 13, com mais de 18,0% de plântulas nesta classe. De modo geral, dentro das notas de maior sensibilidade, as famílias 10, 12 e 13 obtiveram as menores percentagens de plântulas altamente sensíveis, com menos de 12,0% nesta classe. Entretanto, a família 11 (BJ7504 x RB72454) demonstra elevada proporção de plântulas sensíveis e altamente sensíveis, com 26,3 e 38,1%, para notas 4 e 5, respectivamente.

De acordo com Wagih; Ala; Musa (2003), experimentos para screening da resposta ao déficit hídrico devem ser conduzidos nas fases iniciais de desenvolvimento, pois além de facilitar a condução experimental, representa-se a fase crítica de desenvolvimento e necessidade hídrica. No entanto, até o momento a principal lacuna é o desenvolvimento de metodologias para avaliação precoce de caracteres de interesse, em um número elevado de plantas e com seleção para condições adversas (NEGIN; MOSHELION, 2017).

Tabela 4 – Percentagem média de plântulas por classe de tolerância aos 20 dias sem irrigação (DSI) e tolerância média ao déficit hídrico em plântulas (TLP) de cana-de-açúcar avaliadas em casa de vegetação.

Família	ID	Nota 1			Nota 2			Nota 3			Nota 4		Nota 5		TLP (DSI)			
SP701143 x RB867515	13	72,1	a	A	11,4	b	B	4,9	b	C	6,6	ab	BC	4,9	b	C	24,4	a
RB867515 x RB036147	10	61,0	a	A	17,8	b	B	5,8	b	B	3,9	b	B	11,6	b	B	23,3	ab
RB867515 x RB92579	12	34,9	b	A	36,9	a	A	14,2	ab	B	7,1	ab	B	6,9	b	B	23,1	b
RB036145 x RB946903	9	39,4	b	A	15,6	b	B	18,1	a	B	8,1	ab	B	18,7	ab	B	22,3	bc
RB036091 x ?	8	31,9	b	A	22,8	b	A	18,9	a	AB	6,6	ab	B	19,8	ab	AB	21,4	c
BJ7504 x RB72454	11	6,6	c	B	13,3	b	AB	15,7	ab	AB	26,3	a	AB	38,1	a	A	19,9	d
Média	-	41,0			19,6			12,9			9,8			16,7			22,4	
CV¹ (%)	-	18,7			21,5			32,1			75,4			45,3			11,6	

¹ CV: Coeficiente de variação. * Médias seguidas de mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha (somente entre classes de tolerância) não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade. (Nota 1 - Altamente tolerante; 2 - Tolerante; 3 - Medianamente tolerante; 4 - Sensível; 5 - Altamente sensível).

Assim como observado nos resultados da distribuição de plântulas por classe de nota aos 20 DSI (Figura 10), para a variável TLP, as famílias 10 e 13 destacaram-se por apresentar maior nível de tolerância, com valores acima da média geral, diferindo das famílias 8 e 11, que mostraram baixa tolerância. As famílias 9 e 12 apresentaram TLP intermediária, com valores próximos a média geral, o qual foi de 22,4 com coeficiente de variação de 11,6%. Segundo Wagih; Ala; Musa (2003), avaliações visuais de tolerância ao déficit hídrico são consideradas rápidas, baratas e relativamente precisas, podendo ser utilizada com um bom preditor para screening de um grande número de genótipos.

De acordo com resultados observados por Verissimo (2017), em estudo de seleção para tolerância ao frio em progênies de cana-de-açúcar, observou-se que a variedade RB867515 quando utilizada como genitor conduziu a maiores níveis de tolerância em suas progênies. Neste sentido, estes resultados estão de acordo com os maiores níveis de tolerância observados nas famílias 10 (RB867515 x RB036147), 12 (RB867515 x RB92579) e 13 (SP701143 x RB867515), avaliadas em casa de vegetação. Embora a tolerância ao déficit hídrico e ao frio possuam restrições ambientais distintas, os mecanismos de tolerância para ambos os estresses estão ligados por rotas metabólicas comuns, principalmente na síntese de osmoprotetores e antioxidantes celulares (XIN; BROWSE, 2000; HAN; YANG, 2015).

A partir da mediana é possível observar a formação de quatro grupos de tolerância no ambiente fitotron (Figura 11). As famílias 2, 3 e 8 apresentaram maior nível de tolerância com mediana de 18 DSI. Já as famílias 1 e 7 formam o primeiro grupo intermediário, com 50,0% da população acima de 17 DSI, enquanto que com 16 DSI as famílias 4 e 5 demonstram menor tolerância. Por fim, com maior nível de sensibilidade, a família 6 apresentou metade da população com tolerância inferior a 15 DSI.

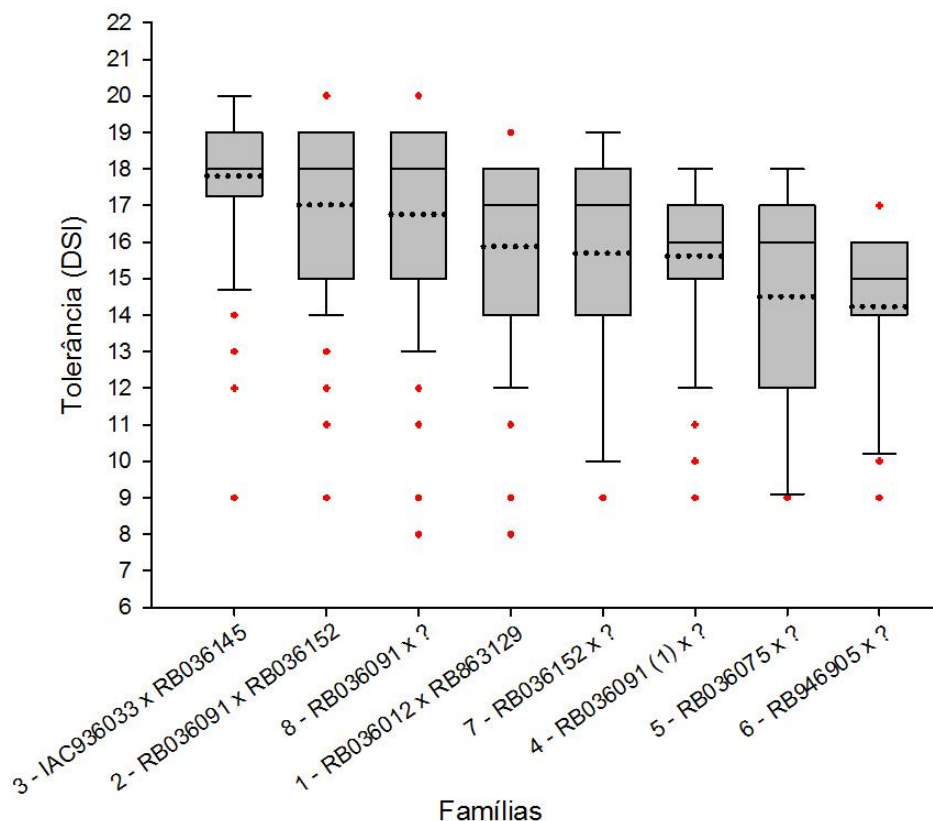


Figura 11 - Distribuição da tolerância ao déficit hídrico em plântulas de cana-de-açúcar avaliadas em câmara de crescimento tipo fitotron.

As maiores amplitudes de variação foram observadas nas famílias 5 e 7, com intervalo interquartil de 4 DSI e distância entre limites de 9 DSI. Estes resultados indicam uma maior variabilidade dentro destes cruzamentos, aumentando as possibilidades de seleção. No entanto, dentre o grupo de maior tolerância, as famílias 2 e 8 apresentaram maior variação entre quartil (4 DSI), porém, a família 3 (IAC936033 x RB036145) possui maior distância entre limites e intervalo de 19 a 20 DSI entre o 3º quartil e o limite superior. Logo, em termos práticos, seria possível selecionar 25,0% de plântulas dentro desta população com elevado nível de tolerância ao déficit hídrico.

Os valores atípicos (*outliers*) representam os pontos discrepantes dentro de um conjunto de dados, os quais permanecem fora dos limites de distribuição no *boxplot*. Deste modo, é possível observar a presença destes valores em todas as famílias avaliadas no fitotron.

Para o teste em casa de vegetação, as famílias 10, 12 e 13 destacam-se com média alta e mediana acima de 23,5 DSI (Figura 12). Dentre estas famílias, a 10 (RB867515 x RB036147) apresenta maior variabilidade, com intervalo entre limites de 7 DSI.

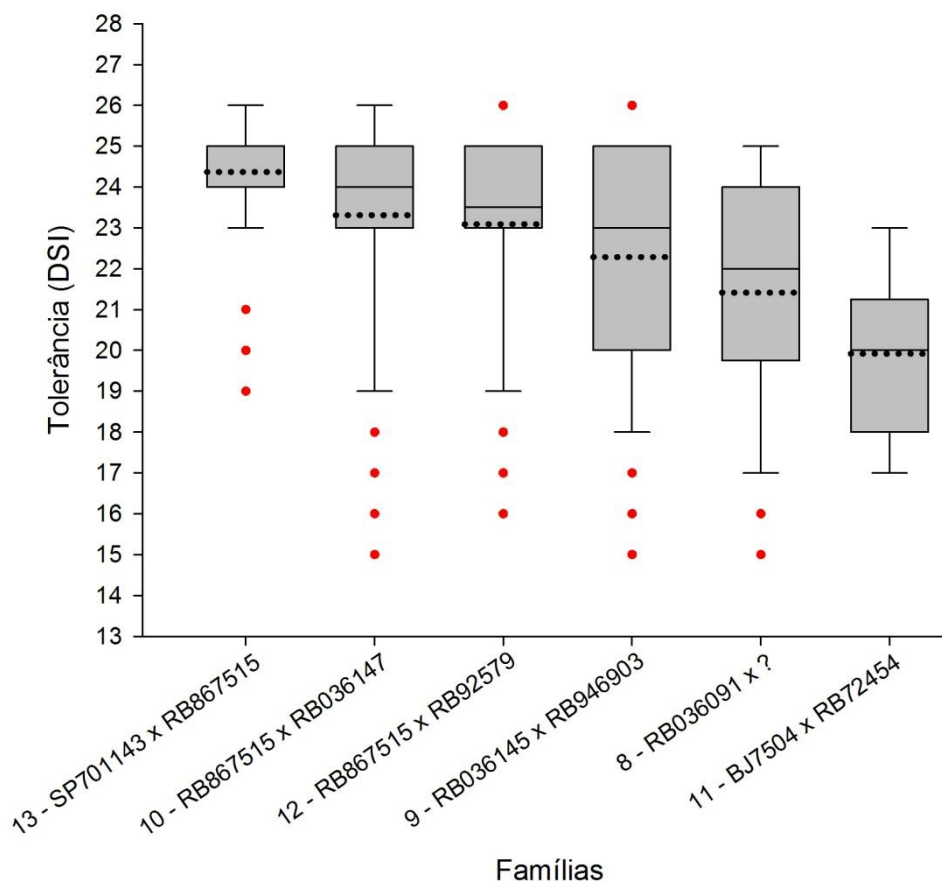


Figura 12 - Distribuição da tolerância ao déficit hídrico em plântulas de cana-de-açúcar avaliadas em casa de vegetação.

As famílias 10 e 13 evidenciam alto potencial de seleção de plântulas tolerantes, devido que 25,0% destas populações posicionarem-se acima de 25 DSI de tolerância, observado entre o 3º quartil e o limite superior.

Assim como observado para o ambiente fitotron, os resultados obtidos em casa de vegetação mostram a presença de valores atípicos em todas as famílias, exceto para 11 (BJ7504 x RB72454). Neste sentido, as famílias 9 e 12 apesar de possuir desempenho moderado, incluem dois genótipos com o máximo de tolerância observada entre as famílias.

Em termos de seleção, os valores discrepantes dentro da população são de interesse para o melhorista, pois mesmo em uma população com desempenho médio inferior pode haver genótipos superiores, também chamados de “transgressivos” (SILVEIRA, 2014). Estes desvios ocorrem quando a dissimilaridade entre os genitores é elevada, gerando indivíduos na população segregante com alto valor para seleção (SANGHERA et al., 2015).

4.4. Conclusões

- A metodologia testada é adequada para avaliar a tolerância ao déficit hídrico em plântulas de cana-de-açúcar;
- Há variabilidade para tolerância ao déficit hídrico nas famílias de cana-de-açúcar avaliadas.

5. Capítulo 2 - Tolerância ao déficit hídrico em progênies de cana-de-açúcar e associação de caracteres de tolerância entre fases de seleção

5.1. Introdução

O Brasil apesar de destinar maior parte da produção da cana-de-açúcar para a indústria de etanol e açúcar refinado (CONAB, 2017), a produção de derivados representa uma importante parcela econômica para esta cadeia produtiva. Neste contexto, aproximadamente 40% do total de estabelecimentos que produzem derivados de cana-de-açúcar no Brasil estão situados no Rio Grande do Sul (RS), tendo como principais produtos o melado, a rapadura e a aguardente, evidenciando assim a importância desta cultura para o RS (VERISSIMO, 2012). Além disso, em épocas de baixa oferta de forragem, a cana-de-açúcar é amplamente utilizada na alimentação animal, sendo um importante suplemento em dietas de bovinos de leite e de corte (RUGERI, 2015).

A região Sul do Brasil possui diferenciação climática bem definida entre as estações do ano, apresentando como principais estresses ambientais a ocorrência de geadas no período invernal e a estiagem no verão (GROSS; CASSOL, 2015). No RS, apesar da inexistência de estação chuvosa, já que a precipitação pluvial é bem distribuída nas quatro estações do ano, a deficiência hídrica se concentra no verão devido à alta demanda evaporativa da atmosfera, principalmente nos meses de dezembro e janeiro (LEIVAS; BERLATO; FONTANA, 2006). Neste sentido, o período de máximo crescimento vegetativo e maior demanda hídrica da cana-de-açúcar coincide com a falta de água, afetando o crescimento da cultura e reduzindo a produtividade final (RAMESH, 2000).

O déficit hídrico na cana-de-açúcar pode reduzir em até 60,0% a produtividade de colmos e de açúcar (BASNAYAKE et al., 2015), sendo que essa variação vai depender do nível de tolerância do genótipo e do período de estiagem. A falta de água conduz à 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; SUKAR, 2005). As respostas mais comuns ao estresse hídrico na cana-de-açúcar são o enrolamento foliar, fechamento estomático, inibição do crescimento de caule e folha, senescência e redução da área foliar (INMAN-BAMBER; LAKSHMANAN; PARK, 2012).

Os estudos para a seleção de progênies de cana-de-açúcar com tolerância ao déficit hídrico são escassos. De modo geral, estudos desta natureza são conduzidos avaliando-se variedades comerciais em ambiente protegido (SILVA et al., 2012b; MACHADO et al., 2009) ou seleção de progênies a campo (SILVA et al., 2008), qual conduz uma menor precisão ambiental devido a variabilidade espacial do solo e às condições meteorológicas.

O melhoramento genético direcionado para tolerância ao déficit hídrico em cana-de-açúcar tem avançado no desenvolvimento de variedades com bom desempenho em campo (MATSUOKA; FERRO; ARRUDA, 2009). No entanto, há necessidade de adequações nas metodologias de avaliação e seleção, visando diminuir o tempo e o gasto na obtenção de novos clones com alta performance e tolerância ao déficit hídrico.

Neste sentido, o objetivo do presente trabalho foi avaliar o nível de tolerância ao déficit hídrico em progênies de cana-de-açúcar na fase adulta e estimar a associação dos caracteres de tolerância entre as fases de seleção.

5.2. Material e métodos

Para avaliar a associação da tolerância entre as fases de plântula e planta adulta, foram selecionadas 380 plântulas de seis famílias com cruzamentos biparentais contrastantes para tolerância ao déficit hídrico na fase de plântulas, formando a população avaliada na fase adulta (Tabela 5).

Tabela 5 – Famílias selecionadas em fase de plântulas e número de plantas avaliadas em fase adulta para tolerância ao déficit hídrico.

Família	Nº plantas em fase adulta
RB036012 x RB863129	89
RB036091 x RB036152	80
IAC936033 x RB036145	76
RB867515 x RB036147	71
BJ7504 x RB72454	36
SP701143 x RB867515	28
Total	380

Após o término dos testes na fase de plântulas, as populações foram conduzidas até os 130 DAE em casa de vegetação com irrigação por capilaridade, com um terço do tubete submerso em lâmina de água.

Para condução dos testes em fase adulta foram utilizados recipientes flexíveis de polietileno de baixa densidade com volume de 10 litros, com a base perfurada e preenchidos com substrato comercial, cuja marca e lote pertencem ao mesmo material utilizado nos testes realizados na fase de plântulas. Neste sentido, não foram realizadas análises físico-químicas adicionais, utilizando-se como referência a mesma análise demonstrada no primeiro capítulo deste trabalho (Tabela 1, pág. 28).

Para suprir as necessidades nutricionais das plantas durante a fase adulta, foram adicionados e homogeneizados 10 gramas de fertilizante mineral formulado 10-20-20 por kg de substrato, totalizando 1,0 g de N, 2,0 g de P_2O_5 e 2,0 g de K_2O por kg de substrato comercial. Para uniformização da quantidade de substrato disponível para cada planta, foram pesados 4,0 kg exatos de substrato em balança digital para preenchimento de cada recipiente.

O transplante das plântulas foi realizado aos 130 DAE, alocando-se uma plântula por recipiente. Após esta etapa, o ensaio foi conduzido em casa de vegetação sem controle de temperatura e umidade, por um período de 120 dias sem realizar adubação de cobertura.

Foi utilizado o delineamento experimental inteiramente casualizado com quatro repetições, distribuindo aleatoriamente os recipientes de modo que todas as famílias e as classes de tolerância estivessem divididas igualmente dentro das repetições. Adicionalmente, foram transplantadas e distribuídas entre as repetições 12 mudas da variedade RB867515 e 12 mudas da RB855156 com 60 dias (após o plantio das gemas), utilizados como genótipos de referência neste estudo. As mudas destas variedades foram produzidas a partir de minitoletes de uma gema, plantadas em tubetes utilizando o mesmo substrato comercial.

A distribuição das plantas no interior da casa de vegetação seguiu espaçamento entre plantas de 0,5 metros, distribuídos em linhas duplas, com espaçamento combinado de 0,5 x 1,4 m. O sistema de irrigação foi conduzido por gotejamento, utilizando-se fitas gotejadoras modelo Drip, marca Amanco, com espaçamento entre orifício de 50 cm e diâmetro interno de 16,1 mm, com vazão aproximada de $4,0 \text{ litros m}^{-1} \text{ hora}^{-1}$ a 0,4 bar de pressão, em uma frequência de irrigação diária por 60 minutos.

Aos 240 DAE foram realizadas avaliações biométricas, como: altura do colmo (AC), diâmetro do colmo (DC), número de perfilhos (NP), número de entrenós (NE), número total de folhas (NTF), número de folhas abertas (NFA, com no mínimo 20% de área verde), comprimento (CF) e largura (LF) da folha +3, utilizados para o cálculo da área foliar conforme metodologia descrita por Hermann; Câmara (1999), a partir da equação 2:

$$\bullet \quad AF = (CF \times LF \times 0,75) \times (NFA + 2) \quad (2)$$

O teste com simulação de déficit hídrico em fase adulta foi iniciado aos 250 DAE, com uniformização prévia do teor de umidade do substrato, a partir do encharcamento dos recipientes em lâmina de água por 5 minutos (Figura 13A).

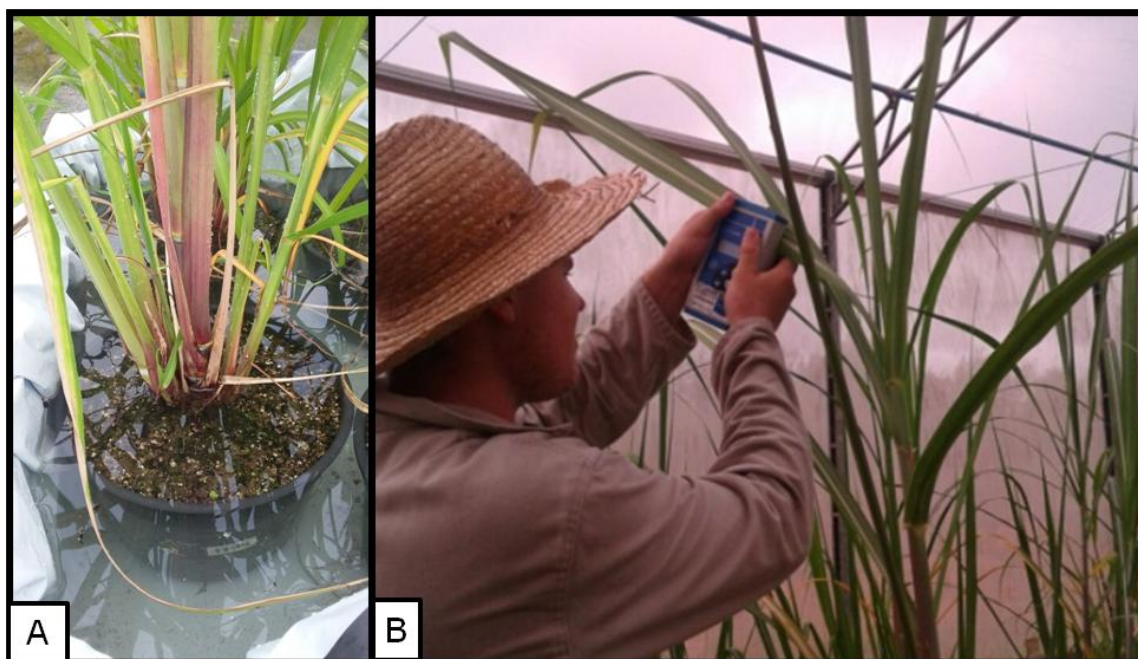


Figura 13 - Uniformização do teor de umidade do substrato (A) e avaliação do teor de clorofila na folha (B).

Para o monitoramento das condições ambientais, foram realizadas medições de temperatura mínima, média, máxima ($^{\circ}\text{C}$) e umidade relativa do ar (%), utilizando um sensor meteorológico data logger, marca Novus®, modelo LogBox-THT_LCD, com intervalo de aquisição de 10 minutos. Os dados estão apresentados graficamente com intervalo de 3 horas entre medidas (Figura 14).

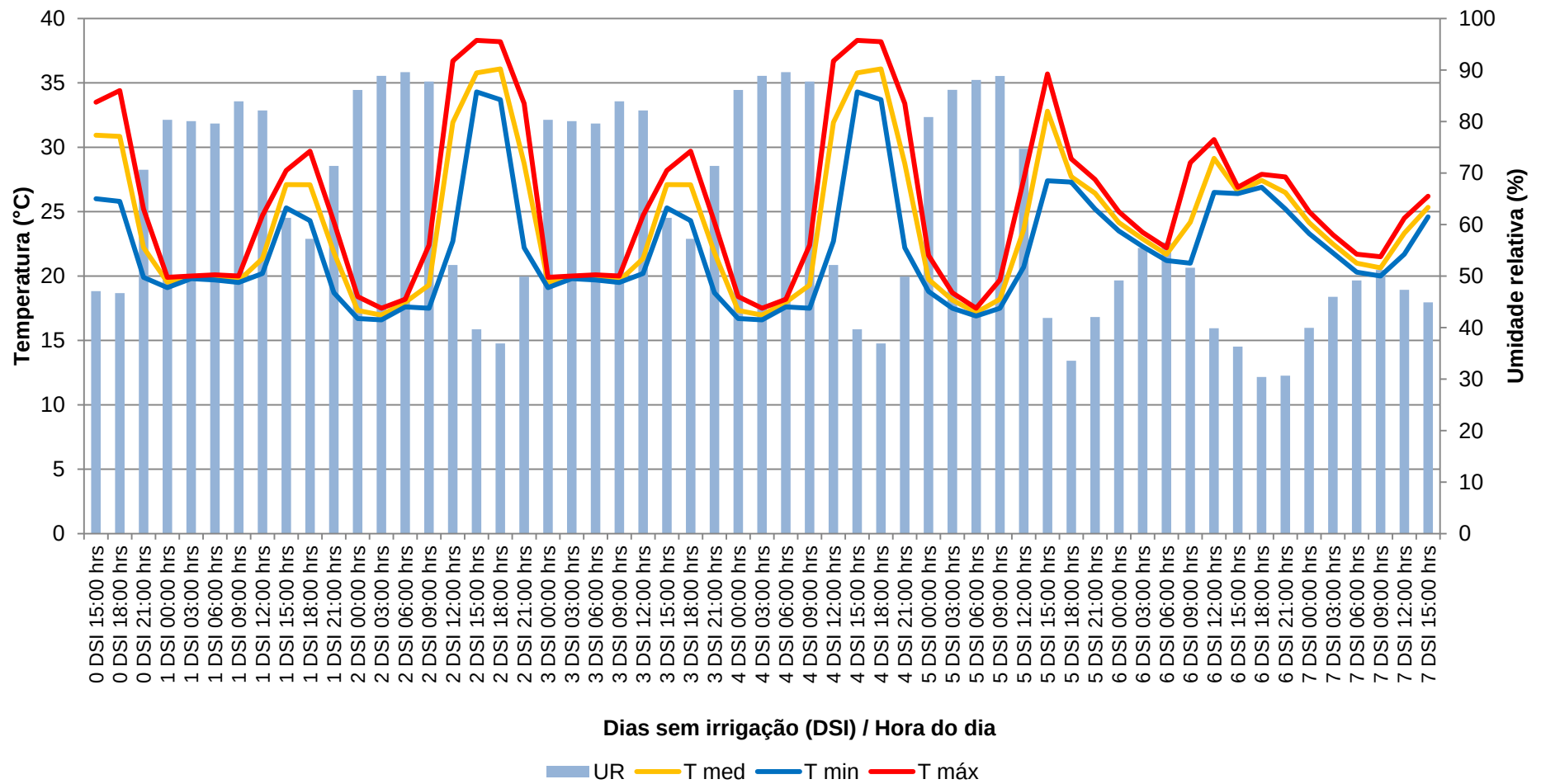


Figura 14 - Temperatura mínima, média, máxima e umidade relativa do ar durante o período de simulação do déficit hídrico para a fase adulta em casa de vegetação. *DSI: Dias sem irrigação.

A temperatura média durante o período de teste foi de 24,0 °C, com mínima de 16,6 °C aos 2 dias sem irrigação (DSI) e máxima de 38,3°C aos 4 DSI. A maior amplitude térmica diária foi de 21,7 °C aos 4 DSI. A umidade relativa do ar média foi de 62,8%, variando de 30,4% aos 6 DSI a 89,6% aos 4 DSI, com maior amplitude registrada aos 5 DSI com variação diária de 55,3%.

Após a uniformização da umidade do substrato, o teste de tolerância ao déficit hídrico na fase adulta foi conduzido com a suspensão da irrigação por 7 DSI. Durante este período, foram realizadas avaliações diárias em nível de indivíduo quanto à tolerância, através de avaliação visual a partir da escala de notas descritas no primeiro capítulo deste trabalho (Figura 6, pág. 34), adaptando-a para as avaliações em fase adulta.

No primeiro (0 DSI) e último (7 DSI) dia de teste, foram avaliados o teor de clorofila A (CLA), B (CLB) e total (CLT) de cada planta, bem como a perda de clorofila total (PCL), obtido através da diferença dos valores de CLT aos 0 e 7 DSI. Os teores de clorofila foram obtidos a partir da média das aferições realizadas nas porções intermediárias das folhas +1, +2 e +3, no período matutino entre 10:00 e 11:00 horas, através do medidor de clorofila ClorofiLOG®, da marca FALKER, modelo CFL 1030 (Figura 13B). O ClorofiLOG® fornece resultados em unidades adimensionais, descritos em Índice de Clorofila Falker (ICF) (Falker, 2008).

Assim como para a fase de plântulas, a variável tolerância ao déficit hídrico para fase adulta (TLA), estimada em DSI para cada planta, foi tomada como caractere principal para avaliação do nível de tolerância. Esta variável foi determinada como sendo o número de dias sem irrigação (DSI) que a planta tolera até atingir nota igual a 5. No entanto, para as plantas que ao final do teste não atingiram tal nível de sensibilidade, estimou-se a tolerância conforme equação 4:

$$\bullet \quad TLA = (DTF + 5) - NA \quad (3)$$

Sendo:

- TLA: tolerância ao déficit hídrico na fase adulta, em DSI;
- DTF: dias de teste com a família, igual a 7 DSI para todas as populações;
- NA: nota de tolerância ao déficit hídrico na fase adulta, determinada no último dia de teste da família;

Para a fase adulta, a simulação de déficit hídrico foi conduzida até os 7 DSI para todas as famílias. Para a fase de plântulas, adotou-se um critério de condução

das famílias conforme a proporção de plântulas sensíveis, encerrando o teste quando se atingia 30,0% de plântulas com nota 4 e 5. No entanto, devido a posição aleatória das plantas dentro do experimento, não foi realizada a retirada de plantas e/ou famílias com maior sensibilidade. Diante disso, o critério de finalização do teste na fase adulta foi o limite de 20,0% de plantas com nota 1 na média das famílias, qual foi obtido aos 7 DSI.

Assim como definido para a elaboração da escala de notas, foram criadas cinco classes de tolerância, utilizada para agrupar as plantas conforme resultados obtidos nos testes de déficit hídrico em fase de plântula. Neste sentido, conforme tabela 6, um total de 380 plântulas foram distribuídas nestes cinco níveis de tolerância. Deste modo, as análises estatísticas foram realizadas tomando-se como tratamento as famílias avaliadas na fase adulta e as classes de tolerância.

Tabela 6 - Definição de classes e agrupamento de plantas de acordo com a tolerância ao déficit hídrico na fase de plântulas em seis famílias de cana-de-açúcar

Classe de tolerância	Classificação	Níveis de tolerância		Nº de plântulas agrupadas
		Fitotron	C. Vegetação	
Classe 1	Altamente tolerante	20 a 19 DSI	26 a 25 DSI	98
Classe 2	Tolerante	18 DSI	24 DSI	100
Classe 3	Medianamente tolerante	17 DSI	23 DSI	62
Classe 4	Sensível	16 a 15 DSI	22 a 21 DSI	65
Classe 5	Altamente sensível	14 a 10 DSI	20 a 16 DSI	55
Total	-	-	-	380

As famílias e os grupos de tolerância foram analisados pelo método *boxplot*, caracterizando as populações para as variáveis tolerância ao déficit hídrico em fase adulta (TLA) e teor de clorofila total (CLT), com auxílio do *software* SigmaPlot®, versão 11.0.

Para avaliar o nível e a fonte de variabilidade, foram estimados os coeficientes de variação fenotípicos para cada família (CVF_{Fam}), médio dentro de famílias ($CVF_{DentroFam}$), entre as famílias ($CVF_{EntreFam}$), massal (CVF_{massal}) e ambiental (CV_{amb}), para as variáveis TLP, TLA e CLT, conforme as seguintes equações (4 a 8):

$$\bullet \quad CVF_{Fam} = \frac{DP_{Família}}{\mu_{Família}} \times 100 \quad (4)$$

$$\bullet \quad CVF_{DentroFam} = \frac{DP_{Médio\ Dentro\ das\ Famílias}}{\mu_{Famílias}} \times 100 \quad (5)$$

$$\bullet \quad CVF_{EntreFam} = \frac{DP_{Entre\ média\ das\ Famílias}}{\mu_{Famílias}} \times 100 \quad (6)$$

$$\bullet \quad CVF_{Massal} = \frac{DP_{Massal}}{\mu_{Geral}} \times 100 \quad (7)$$

$$\bullet \quad CV_{Ambiental} = \frac{DP_{Erro\ experimental}}{\mu_{Geral}} \times 100 \quad (8)$$

Onde:

- CVF: Coeficiente de variação fenotípico;
- CV: Coeficiente de variação;
- DP: Desvio padrão;
- μ : Média aritmética;

Para avaliação do nível de tolerância das famílias, foi analisada a percentagem de plantas dentro de cada classe de nota (nota em fase adulta, NA) atribuída aos 7 dias sem irrigação (DSI), comparando-se entre e dentro de cada família, em delineamento experimental inteiramente casualizado, com quatro repetições.

Na comparação de famílias e classes de tolerância, foram analisadas as variáveis tolerância ao déficit hídrico na fase adulta (TLA), teor de clorofila A (CLA), clorofila B (CLB), clorofila total (CLT) e perda de clorofila total (PCL), utilizando-se informações individuais para análise estatística, tomando-se cada planta como uma repetição dentro da família ou classe de tolerância. Para todas as análises comparativas, procedeu-se a análise de variância pelo teste F e as médias quando significativas foram comparadas pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

A associação de caracteres dentro e entre as fases de seleção foi realizada através da correlação de Spearman, testando as significâncias dos coeficientes pelo teste T. Todas as análises comparativas e de associação foram realizadas com auxílio do *software* SAS Intitute, versão 9.2.

A avaliação da eficiência da seleção foi realizada através da estimativa dos índices de coincidência (IC) para os diferentes grupos de tolerância, avaliando-se a percentagem de indivíduos que se mantiveram no mesmo grupo de tolerância entre as fases de seleção, conforme equação 9:

$$\bullet \quad IC = \frac{NPC}{NTP} \times 100 \quad (9)$$

Onde:

- IC: Índice de coincidência (%);
- NPC: Número de plantas coincidentes entre as fases de seleção para determinado grupo de tolerância definido na fase de plântula (Tabela 6);
- NTP: Número total de plantas dentro do grupo de tolerância definido na fase de plântulas (Tabela 6).

A eficiência de seleção, adaptada a partir dos índices de coincidência, foi estimada conforme análise dos grupos contrastantes. Supondo-se que em uma etapa de seleção a população do grupo tolerante (Classe 1 e 2, conforme tabela 6) avançaria para a próxima fase e a população do grupo sensível (Classe 3, 4 e 5) seria descartada, foi estimada a eficiência de seleção e de descarte na fase de plântula, conforme equações 10 e 11:

$$\bullet \quad ES = \frac{NTPTFAOT}{NTPOT} \times 100 \quad (10)$$

$$\bullet \quad ED = \frac{NTPSFAOS}{NTPOS} \times 100 \quad (11)$$

Onde:

- ES: Eficiência de seleção;
- NTPTFAOT: Número total de plantas tolerantes em fase adulta de origem tolerante;
- NTPOT: Número total de plantas de origem tolerante;
- ED: Eficiência de descarte;
- NTPSFAOS: Número total de plantas sensíveis em fase adulta de origem sensível;
- NTPOS: Número total de plantas de origem sensível.

5.3. Resultados e discussão

Os testes realizados em fase adulta evidenciam alta variabilidade dentro e entre as famílias avaliadas (Figura 15). A maior proporção de plantas altamente tolerantes foi observada para a família 13 (SP701143 x RB867515), com mais de 40,0% de plantas com nota 1 aos 7 dias sem irrigação (DSI). Em contrapartida, a família 11 (BJ7504 x RB72454) evidencia alta sensibilidade, apresentando cerca de 30,0% das plantas com nota 4 e 5, ressaltando que tais resultados corroboram com o comportamento observado na fase de plântulas.

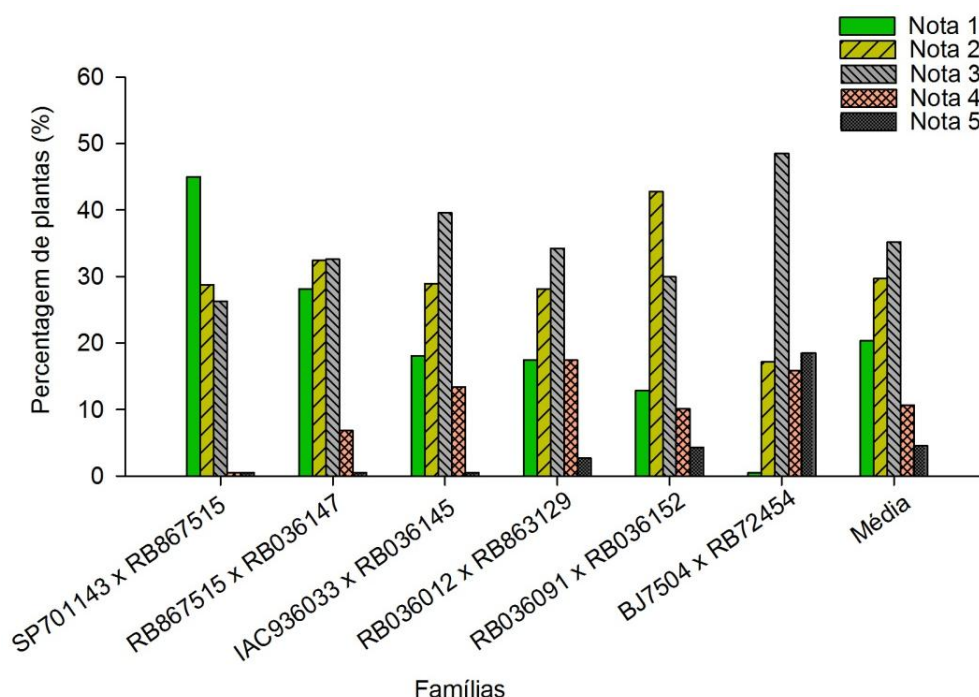


Figura 15 - Percentagem de plantas por classe de tolerância ao déficit hídrico em famílias de cana-de-açúcar aos 7 dias sem irrigação (DSI), avaliadas na fase adulta. (Nota 1 - Altamente tolerante; 2 - Tolerante; 3 - Medianamente tolerante; 4 - Sensível; 5 - Altamente sensível).

Em um estudo conduzido por Wagih; Ala; Musa (2003), para a seleção de clones de cana-de-açúcar, utilizando uma escala de notas com nove níveis para tolerância ao déficit hídrico, foi observada aproximadamente 30,0% de clones tolerantes, 60,0% de clones intermediários e 30,0% de clones sensíveis. Estes resultados diferem das proporções médias observadas aos 7 DSI, com aproximadamente 50,0% de plantas no grupo tolerante, porém, ressalta-se que estas diferenças ocorreram devido as variações genéticas das populações e da diferença entre os ambientes.

Para a análise das famílias entre e dentro das classes de tolerância, houve efeito significativo para todos os casos, exceto para o contraste das famílias dentro da nota 3 (Tabela 7).

Tabela 7 - Percentagem média de plantas por classe de nota aos sete dias sem irrigação (DSI) para seis famílias de cana-de-açúcar avaliadas em fase adulta aos 7 dias sem irrigação (DSI).

Família	ID	Nota 1			Nota 2			Nota 3		Nota 4			Nota 5			
SP701143 x RB867515	13	45,0	a	A	28,8	ab	AB	26,3	^{ns}	AB	0,0	b	B	0,0	b	B
RB867515 x RB036147	10	28,1	ab	A	32,4	ab	A	32,6		A	6,8	ab	AB	0,0	b	B
IAC936033 x RB036145	3	18,1	bc	BC	29,0	ab	AB	39,6		A	13,4	ab	BC	0,0	b	C
RB036012 x RB863129	1	17,4	bc	AB	28,2	ab	A	34,3		A	17,5	a	AB	2,7	b	B
RB036091 x RB036152	2	12,9	bc	AB	42,8	a	A	29,9		AB	10,1	ab	B	4,3	b	B
BJ7504 x RB72454	11	0,0	c	B	17,2	b	B	48,5		A	15,9	ab	B	18,5	a	AB
Média	-	20,3			29,7			35,2			10,6			4,3		
CV¹ (%)	-	47,5			31,6			44,9			51,9			129,7		

¹ CV: Coeficiente de variação. * Médias seguidas de mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade. (Nota 1 - Altamente tolerante; 2 - Tolerante; 3 - Medianamente tolerante; 4 - Sensível; 5 - Altamente sensível).

As famílias 10 e 13 apresentaram valores iguais a 28,0 e 45,0% de plantas com nota 1, respectivamente, mostrando elevada tolerância. Para nota 2, apenas a família 2 difere da família 11, com diferença aproximada de 25,0%, enquanto que para nota 4 este caso ocorreu para as famílias 1 e 13, quais diferiram em 17,5%. A família 13 (SP701143 x RB867515) além de possuir superioridade para classe altamente tolerante, não apresentou nenhuma planta com nota 4 e 5. Estes resultados corroboram com Silva et al. (2008), observando maiores níveis de tolerância em progênies oriundas de cruzamentos envolvendo a variedade SP701143, apresentando alto rendimento de colmos sob estresse hídrico.

A família 11 (BJ7504 x RB72454) apresentou maior sensibilidade ao déficit hídrico, com aproximadamente 35,0% de plantas com nota 4 e 5, ressaltando que as demais famílias não diferiram entre si em relação a nota 5. Comparando-se as notas dentro de cada família, é possível observar que apenas a família 13 diferiu a proporção de plantas com nota 1 para notas 4 e 5. A família 11 possui maior proporção de plantas com nível intermediário (nota 3), no entanto, tal proporção não difere da percentagem de plantas sensíveis (nota 5).

Em estudos realizados por Graça et al. (2010), a partir de 4 DSI foi observado aumento da temperatura foliar, diminuição da condutância estomática, redução das taxas de transpiração e fotossíntese para variedades com maior nível de sensibilidade ao déficit hídrico. Estes fatores podem ter contribuído para o aumento dos sintomas de déficit hídrico, como murcha e enrolamento das folhas, acarretando na atribuição de altas notas visuais aos 7 DSI no presente trabalho.

Em relação a média geral das famílias, a maior parte das plantas obtiveram nota igual a 3 (35,2%), sendo que a menor proporção foi de 4,3% para nota 5. O coeficiente de variação (CV) foi elevado para todas as classes de notas, com maior valor observado para nota 5, com 129,7%. Os altos valores de CV estão relacionados com a variabilidade intrínseca aos genótipos dentro das famílias. Além disso, o menor número de plantas avaliadas em fase adulta pode ter influenciado em uma maior variação das proporções de nota entre as repetições.

A partir do resumo da análise de variância para as famílias em fase adulta, verifica-se que houve efeito significativo para as variáveis tolerância ao déficit hídrico na fase adulta (TLA), teor de clorofila A (CLA) e teor de clorofila total (CLT) (Tabela 8). As estimativas dos coeficientes de variação foram distintas entre as variáveis,

com menor valor para TLA, com 10,46%, enquanto que PCL apresentou CV igual a 81,47%, refletindo em efeitos não significativos para esta variável.

Tabela 8 - Resumo da análise da variância para tolerância ao déficit hídrico na fase adulta (TLA), teor de clorofila A (CLA), clorofila B (CLB), clorofila total (CLT) e perda de clorofila total (PCL) avaliada em seis famílias de cana-de-açúcar aos 7 dias sem irrigação (DSI).

FV	GL	Quadrado médio				
		TLA	CLA	CLB	CLT	PCL
Família	5	11,57 **	3332,88 *	545,46 ^{ns}	6524,03 *	4027,80 ^{ns}
Resíduo	374	0,98	1532,54	292,61	3023,68	2207,23
Total	379	-	-	-	-	-
Média	-	9,49	274,28	80,79	355,08	57,81
CV¹ (%)	-	10,43	14,27	21,17	15,49	81,27

^{**},^{*}: Significativo a 1,0 e 5,0% de probabilidade, respectivamente, pelo teste F. ^{ns}: Não significativo.

¹CV: Coeficiente de variação.

Para a variável TLA, as famílias 10 (RB867515 x RB036147) e 13 (SP701143 x RB867515) apresentaram maior tolerância média, com valores superiores a 9,8 DSI, diferindo da família 11 com tolerância média de 8,5 DSI (Tabela 9). Em relação à CLA e CLT, o comportamento médio das famílias foi similar em ambas as variáveis, destacando-se a família 2, com valores de 280,0 e 363,4 ICF, para CLA e CLT, nesta ordem, diferindo da família 11 com CLA de 254,2 e CLT de 327,4 ICF.

Tabela 9 - Tolerância ao déficit hídrico na fase adulta (TLA), teor de clorofila A (CLA), clorofila B (CLB), clorofila total (CLT) e perda de clorofila (PCL) para seis famílias de cana-de-açúcar aos 7 dias sem irrigação (DSI).

Família	ID	TLA	CLA	CLB	CLT	PCL
SP701143 x RB867515	13	10,2 a	271,3 ab	77,7 ^{ns}	348,9 ab	73,8 ^{ns}
RB867515 x RB036147	10	9,8 ab	276,2 ab	81,0	357,1 ab	54,4
RB036091 x RB036152	2	9,5 b	280,0 a	83,3	363,4 a	50,0
IAC936033 x RB036145	3	9,5 b	276,0 ab	81,6	357,6 ab	65,4
RB036012 x RB863129	1	9,5 b	275,9 ab	81,8	357,8 ab	50,5
BJ7504 x RB72454	11	8,5 c	254,2 b	73,2	327,4 b	67,9
Média	-	9,5	272,3	79,8	352,0	60,4
CV¹ (%)	-	10,4	14,3	21,2	15,5	81,3

¹ CV: Coeficiente de variação. ^{ns}: Não significativo. * Médias seguidas de mesma não diferem entre si pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

Em trabalhos conduzidos por Gonçalves et al. (2010) e Jangpromma et al. (2010), citam-se reduções expressivas nos teores de clorofila em plantas submetidas ao déficit hídrico. O estresse hídrico afeta a concentração de pigmentos de clorofila nas folhas, reduzindo a capacidade fotossintética, o que pode promover redução do crescimento e da produtividade final da cana-de-açúcar (VIEIRA et al., 2014).

Não há trabalhos na literatura que citam o comportamento da variedade BJ7504 sob efeito de estresses abióticos, no entanto, Veríssimo (2017) observou baixa tolerância ao frio de famílias oriundas da variedade RB72454, podendo também este genitor contribuir para os menores níveis de tolerância observados na família 11 (BJ7504 x RB72454).

De modo geral, observando-se os resultados das famílias mais contrastantes (família 11 e 13), houve associação das variáveis fisiológicas (CLA e CLT) com a variável TLA. Sendo assim, pode-se inferir que a avaliação visual a partir da escala de notas é válida para avaliação da tolerância ao déficit hídrico, considerando os critérios de avaliação descritos na escala de notas. Segundo por Wagih; Ala; Musa (2003), avaliações visuais de tolerância ao déficit hídrico possuem boa precisão para seleção de genótipos de cana-de-açúcar.

A partir das estimativas dos coeficientes de variação fenotípica (CV) é possível inferir sobre a fonte de variação (entre/dentro de família ou ambiental) (Tabela 10). Para a variável tolerância ao déficit hídrico na fase de plântulas (TLP), a maior variação é observada para as famílias 1, 10 e 11, com CV acima de 10%. Nesta variável, a variação média dentro e entre famílias foi de 10,09 e 8,55%, respectivamente, com variação populacional de 12,27% e ambiental de 4,90%.

Tabela 10 - Estimativa dos coeficientes de variação fenotípica (CV) para seis famílias de cana-de-açúcar, dentro e entre famílias, populacional e ambiental para tolerância ao déficit hídrico na fase de plântulas, fase adulta e teor de clorofila total.

Família	ID	TLP	TLA	CLT
RB867515 x RB036147	10	15,56	9,74	17,83
BJ7504 x RB72454	11	11,03	11,96	13,99
RB036012 x RB863129	1	10,08	10,74	14,30
IAC936033 x RB036145	3	9,52	10,58	15,14
SP701143 x RB867515	13	7,86	7,56	13,47
RB036091 x RB036152	2	7,41	10,56	15,26
CV médio dentro de famílias	-	10,09	10,11	14,89
CV entre famílias	-	8,55	6,04	3,67
CV populacional (massal)	-	12,27	11,14	15,60
CV ambiental	-	4,90	10,43	15,49

¹ TLP: Tolerância ao déficit hídrico na fase de plântulas; TLA: Tolerância ao déficit hídrico na fase adulta e CLT: Teor de clorofila total aos sete dias sem irrigação.

Veríssimo (2017) observou coeficientes de variação fenotípicos entre famílias na ordem de 19,0 a 27,0%, para parâmetros de tolerância ao frio em progênie de cana-de-açúcar. Esta maior variação está relacionada com o número de famílias avaliadas, visto que para o estudo de Veríssimo (2017) foram avaliadas 53 famílias de cana-de-açúcar a nível de campo.

Para a variável tolerância ao déficit hídrico na fase adulta (TLA) houve pouca variação entre as famílias (6,04%), com baixos valores para as estimativas dos demais parâmetros, variando de 10,11 a 11,14%. Para clorofila total (CLT), a maior variação foi observada para a família 10 (RB867515 x RB036147), com 17,83%, no entanto, para as demais famílias a variação manteve-se próximo da média dentro de famílias, qual foi de 14,89%. Ainda para CLT, a variação entre famílias foi de 3,67, com variação populacional de 15,60% e ambiental de 15,49%. De maneira geral, as estimativas dos $CV_{ambiental}$ remetem para uma boa precisão experimental, devido aos valores deste parâmetro manter-se abaixo de 16,0% (FERREIRA et al., 2005).

Em termos de seleção, as famílias que apresentam maior CV possibilitam a obtenção de genótipos contrastantes. Hemaprabha et al. (2006) destacam sobre a alta variabilidade do gênero *Saccharum* spp. para tolerância ao déficit hídrico, visto que durante a seleção de progênie em ambiente com restrição hídrica, estes autores observaram CV médio dentro de famílias acima de 25,0%.

A partir das análises exploratórias via *boxplot*, as famílias 2 (RB036091 x RB036152), 10 (RB867515 x RB036147) e 13 (SP701143 x RB867515) apresentaram 50,0% das plantas com tolerância ao déficit hídrico superior a 10 DSI (Figura 16). A família 3 (IAC936033 x RB036145) apesar de possuir média alta, a mediana foi de 9,5 DSI, mas o limite superior equivale as famílias de maior tolerância.

Em demais estudos conduzidos com a seleção de progênie para tolerância a estresses abióticos, são observados maiores níveis de tolerância em famílias com a presença de variedades da sigla IAC e/ou da variedade RB867515 como genitores, evidenciando o potencial destes materiais como fonte de alelos favoráveis no aumento da tolerância à estresses abióticos (SILVA et al., 2008; VERISSIMO, 2017). Neste sentido, tais resultados estão de acordo com os maiores níveis de tolerância observados nas famílias 3 (IAC936033 x RB036145), 10 (RB867515 x RB036147) e 13 (SP701143 x RB867515).

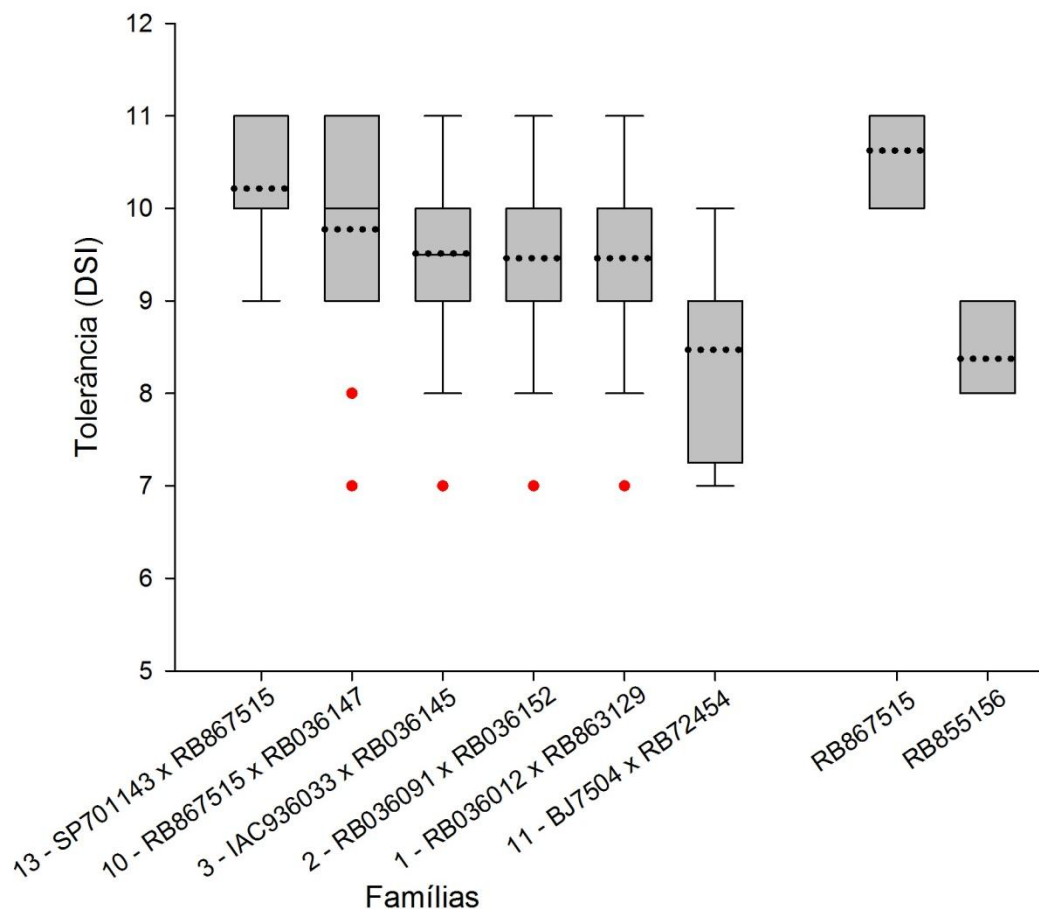


Figura 16 - Tolerância ao déficit hídrico em fase adulta (TLA) para seis famílias de cana-de-açúcar e variedades padrão.

As famílias 1 (RB036012 x RB863129) e 11 (BJ7504 x RB72454) apresentaram menor tolerância, possuindo 50,0% da população com valores inferiores a 9 DSI. No entanto, apesar da mediana baixa, a família 1 possui intervalo do 3º quartil ao limite superior equivalente a família 2, de maior mediana, evidenciando deste modo a possibilidade de seleção de plantas com elevada tolerância dentro desta família.

Os valores atípicos foram constatados dentro das famílias 1, 2, 3 e 10, variando de 7 a 8 DSI. Para as variedades padrões, observa-se que houve diferença entre estas, com baixa variação na distribuição dos valores (1 DSI), destacando-se a variedade RB867515 com mediana igual a 11 DSI, enquanto que a RB855156 manteve-se com 8 DSI. Em estudo conduzido por Rodolfo Junior et al. (2016), foi observado maiores teores de prolina livre nas folhas da variedade RB867515 comparado a RB855156, no entanto, em relação a eficiência do uso da água, a variedade RB855156 apresentou maior nível de tolerância.

Em relação à distribuição dos dados, verifica-se que a maior amplitude foi observada nas famílias 1, 2 e 3, com valores de 8 a 11 DSI. Estas famílias também apresentam variação simétrica do conjunto de dados, com tendência a distribuição normal.

Para a variável teor de clorofila total (CLT) observa-se que os maiores valores para mediana referem-se às famílias 1, 2, 3 e 10, com 50,0% das plantas apresentando CLT superior a 355 ICF (Figura 17). As famílias 11 e 13, apesar de apresentar mediana menor que 330 ICF, o limite inferior foi superior à família 10, a qual possuiu mediana alta. A maior amplitude de variação foi observada para a família 10 (RB867515 x RB036147), com intervalo interquartílico de aproximadamente 80 ICF e variação entre limites de 265 a 460 ICF, indicando maior contraste dos genótipos dentro desta família.

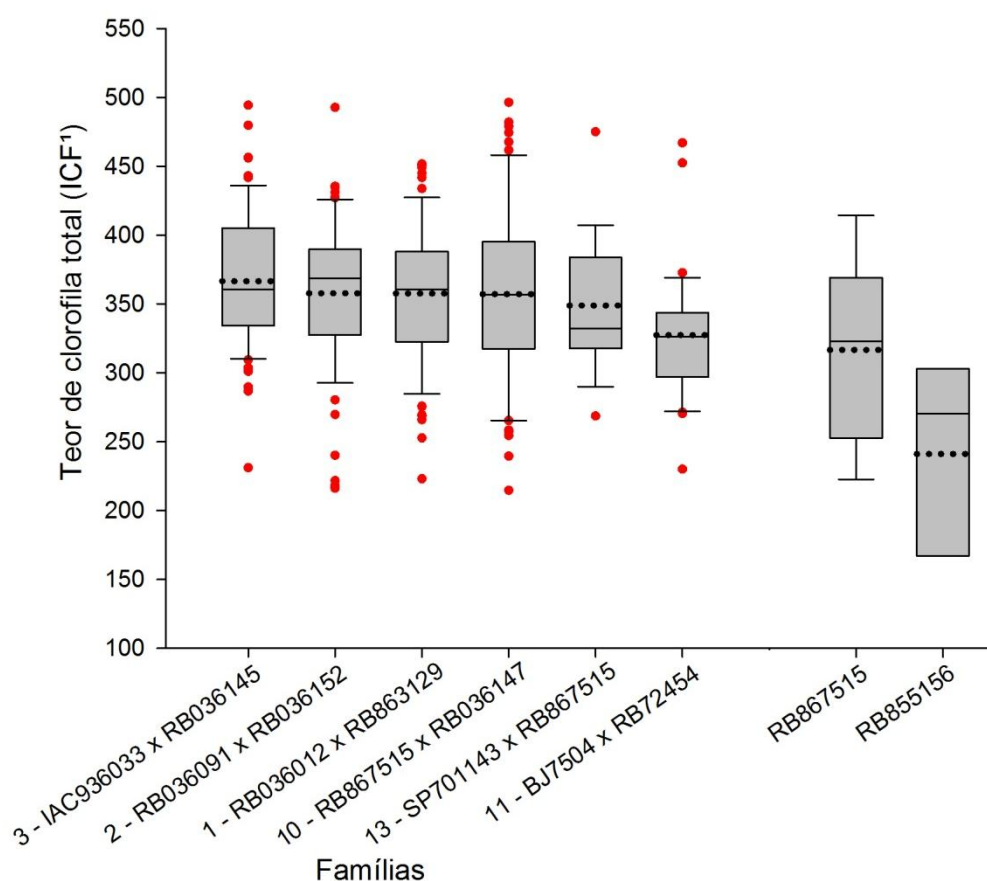


Figura 17 - Teor de clorofila total (CLT) para seis famílias de cana-de-açúcar avaliadas em fase adulta e variedades padrão aos 7 dias sem irrigação (DSI). ¹ ICF: Índice de clorofila Falker.

Em estudos conduzidos por Silva et al. (2012a), observaram destaque da variedade RB867515 para tolerância ao déficit hídrico, apresentando elevados teores de clorofila total sob condições de estresse. Ressalta também que esta variedade possui a maior área de cultivo no País, com ampla distribuição em

diversas regiões, principalmente por apresentar características de maior rusticidade (OLIVEIRA; DAROS, 2014).

Para todas as famílias avaliadas foi observada a ocorrência de valores fora dos limites da caixa *boxplot* (*outliers*), não ocorrendo tais valores apenas para as variedades padrões. Além da variação intrínseca aos genótipos dentro das famílias, a variável CLT apresenta grande variação mesmo para avaliação dentro de materiais estáveis (clones), como observado para as variedades RB867515 e RB855156, com variação de até 180 ICF dentro da mesma variedade. Em estudos com estresse salino em cana-de-açúcar, Willadino et al. 2011 observaram valores de coeficiente de variação para clorofila total próximos a 20,0%.

Ao observar os desvios acima do limite superior, é possível notar que independentemente do nível médio de tolerância, todas as famílias possuem genótipos que superam as variedades utilizadas como padrão, em valores de CLT aos 7 DSI, indicando o potencial para seleção de clones superiores dentro destas populações avaliadas.

A análise de variância referente à comparação das classes de tolerância revelou efeito significativo para as variáveis avaliadas na fase adulta, conforme tabela 11. Os valores de coeficientes de variação foram relativamente baixos, variando de 9,4 a 20,9%, exceto para a variável perda de clorofila total (PCL), com erro experimental de 80,6%. O elevado CV para PCL pode estar relacionado com os valores de CLT avaliados antes do teste com déficit hídrico, visto que há variação entre genótipos mesmo sob condições hídricas não restritivas (SILVA et al., 2007; SILVA et al., 2012a).

Tabela 11 - Resumo da análise da variância para tolerância ao déficit hídrico na fase adulta (TLA), teor de clorofila A (CLA), clorofila B (CLB), clorofila total (CLT) e perda de clorofila total (PCL) avaliada em cinco grupos de tolerância aos 7 dias sem irrigação (DSI).

FV	GL	Quadrado médio				
		TLA	CLA	CLB	CLT	PCL
Classe	4	32,1 **	9285,6 **	1170,4 **	16957,0 **	7235,4 *
Resíduo	375	0,8	1462,9	285,5	2902,7	2171,2
Total	379					
Média	-	9,5	274,3	80,8	355,1	57,8
CV¹ (%)	-	9,4	13,9	20,9	15,2	80,6

**, *: Significativo a 1,0 e 5,0% de probabilidade, respectivamente, pelo teste F. ¹CV: Coeficiente de variação.

A comparação de médias para tolerância ao déficit hídrico na fase adulta (TLA) evidencia a formação de três grupos para as classes de tolerância, incluindo

as classes altamente tolerante (AT) e tolerante (T) em um primeiro grupo de maior tolerância, com TLA acima de 9,9 DSI, seguido pela classe medianamente tolerante (MT), com 9,5 DSI, e por último o grupo formado pelas classes sensível (S) e altamente sensível (AS), de menor tolerância com valores inferiores a 8,9 DSI (Tabela 12).

Tabela 12 - Tolerância ao déficit hídrico na fase adulta (TLA), teor de clorofila A (CLA), clorofila B (CLB), clorofila total (CLT) e perda de clorofila total (PCL) para cinco classes de tolerância aos 7 dias sem irrigação (DSI).

Classe	TLA	CLA	CLB	CLT	PCL
AT¹	10,0 a*	285,8 a	85,4 a	371,3 a	44,2 b
T	9,9 a	285,5 ab	84,0 a	369,5 ab	51,7 ab
MT	9,5 b	266,8 c	77,7 ab	344,5 bc	61,2 ab
S	8,9 c	267,0 bc	79,1 ab	346,1 abc	66,5 ab
AS	8,5 c	259,7 c	75,3 b	335,0 c	70,0 a
Média	9,5	274,3	80,8	355,1	57,8

¹ AT: Altamente tolerante; T: Tolerante; MT: Medianamente tolerante; S: Sensível; AS: Altamente sensível. * Médias seguidas de mesma letra não diferem significativamente entre si ao nível de 5% de significância, pelo teste de Tukey.

Para a variável clorofila A (CLA), observa-se que houve diferença superior a 25,0 ICF entre as classes AT e T comparadas à classe AS, no entanto a classe S não diferiu das demais. Em relação à clorofila B (CLB), foi observada diferença das classes tolerantes (AT e T) para a classe AS, enquanto que as classes MT e S são equivalentes às demais.

Em relação à clorofila total (CLT), a classe AT difere somente das classes MT e AS, enquanto que a classe S não difere das demais. Em termos de seleção, comparando-se os valores observados entre as classes AT e AS, têm-se um ganho médio superior a 35,0 ICF. Neste contexto, Rodolfo Junior et al. (2016) estudando três variedades de cana-de-açúcar, observaram diferenças estatísticas entre o sistema irrigado e de sequeiro para uma variação de 15,0 ICF, enfatizando a elevada diferença dos níveis de clorofila entre as classes AT e AS, observadas no presente estudo aos 7 DSI.

A variável perda de clorofila (PCL) seguiu distribuição crescente, conforme a redução da tolerância, no entanto, houve diferença somente entre as classes AT e AS com valores de 44,2 e 70,0 ICF, respectivamente. Em valores proporcionais, há um aumento de aproximadamente 40,0% para PCL, comparando-se as classes AS e

AT. Neste contexto, Silva et al. (2012b) observou uma diferença de até 8,0 índice SPAD (teor de clorofila) entre os tratamentos sem estresse e com 80,0% de restrição hídrica.

A tolerância ao déficit hídrico está relacionada a mecanismos fisiológicos capazes de manter o crescimento da planta em condição restritiva, tais como fechamento estomático, manutenção do teor de clorofila e da atividade fotossintética (MACHADO et al., 2009).

Para a análise gráfica da tolerância entre as classes, observa-se que para AT e T 50,0% das plantas apresentam tolerância igual a 10 DSI (Figura 18). As demais classes apresentam mediana igual a 9 DSI, no entanto apenas a classe MT não possui plantas com tolerância inferior a este valor, dentro das estimativas de distribuição do *boxplot*.

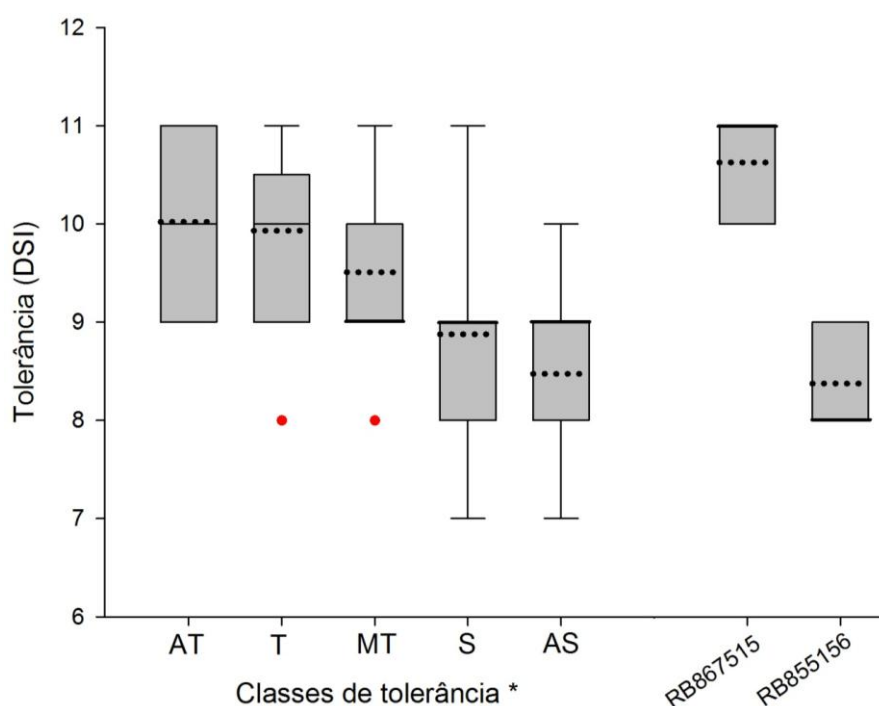


Figura 18 - Tolerância ao déficit hídrico na fase adulta (TLA) para cinco classes de tolerância e variedades padrão. * AT: Altamente tolerante; T: Tolerante; MT: Medianamente tolerante; S: Sensível; AS: Altamente sensível.

A distribuição de dados é similar entre as classes S e AS, as quais apresentam maior amplitude de variação, porém para AS não há desvios superiores a 10 DSI. A presença de plantas com elevada tolerância (10 a 11 DSI) na classe S reforça os resultados observados para os valores de CLB e CLT nesta classe, com valores semelhantes às de maior tolerância (AT e T) (Figura 19).

Em termos de seleção é possível observar que as classes definidas como tolerantes na fase de plântulas (AT e T) apresentam superioridade no comportamento em fase adulta (TLA), com ausência de desvios inferiores a 9 DSI para a classe AT. Em termos de descarte de parte da população, as classes S e AS apresentam parte dos genótipos com desvios de tolerância superiores à média das classes tolerantes, no entanto, na prática devido ao tamanho elevado da população inicial, estas perdas são pouco representativas.

Para a distribuição dos valores de clorofila total (CLT), observa-se que a posição da mediana varia aproximadamente 40,0 ICF das classes tolerantes (AT e T) para as demais (Figura 19). Destaca-se que os limites inferiores das classes AT e T foram superiores a 320,0 ICF, enquanto que para as demais classes tais limites ficaram abaixo de 275,0 ICF, evidenciando a presença de plantas com baixa tolerância nestas classes.

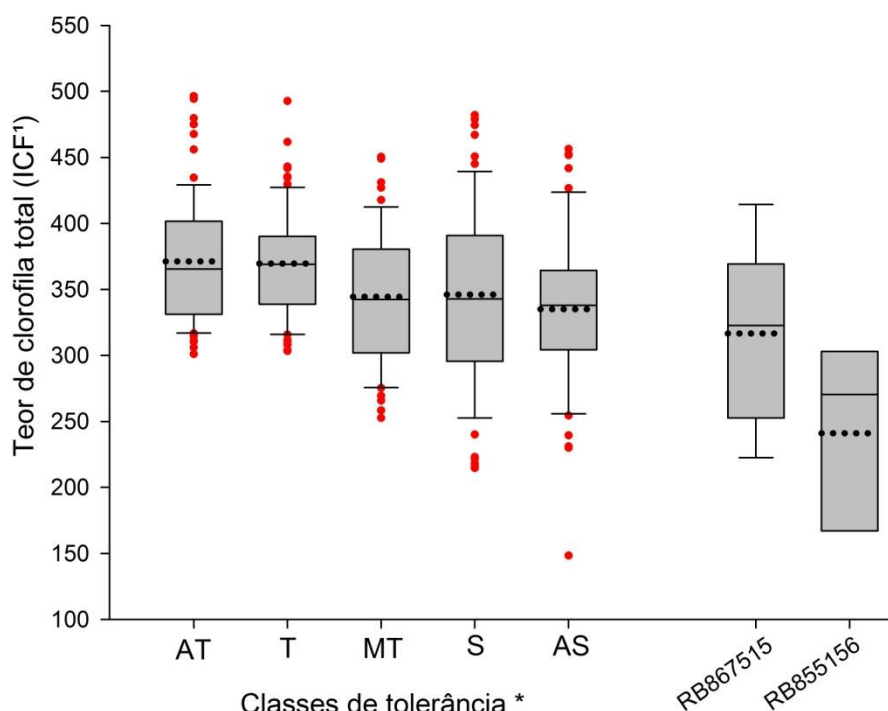


Figura 19 - Teor de clorofila total (CLT) em fase adulta para cinco classes de tolerância aos 7 dias sem irrigação (DSI). *AT: Altamente tolerante; T: Tolerante; MT: Medianamente tolerante; S: Sensível; AS: Altamente sensível; ¹ ICF: Índice de clorofila Falker.

Condições de déficit hídrico causam alteração na pigmentação das folhas, devido ao aumento da síntese de enzimas, ácido abscísico e etileno, as quais afetam a molécula de clorofila (SILVA et al., 2007). Do mesmo modo, ocorre o aumento na síntese da enzima clorofilase que é responsável pela degradação da clorofila, alterando a relação clorofila *a*, *b* e total, fato este que pode ser utilizado

como ferramenta indicadora de situações de déficit hídrico (TAIZ; ZEIGER, 2013), facilitando o processo de seleção de genótipos de cana-de-açúcar (SILVA et al., 2007).

Os valores discrepantes foram observados para todas as classes de tolerância, com maior amplitude de distribuição nas classes S e AS. Nestas classes, alguns genótipos com baixa tolerância em plântula podem possuir algum mecanismo diferencial de tolerância que é expresso somente na fase adulta (PIMENTEL, 2004), apresentando maiores níveis de clorofila na folha sob estresse hídrico.

Os resultados dos coeficientes de correlação de Spearman evidenciam a associação entre as variáveis avaliadas na fase de plântulas, conforme tabela 13. Nota em plântula (NP) apresenta correlação negativa com TLP, com valor de -0,871, fato esperado devido as estimativas de TLP procederem de NP.

A correlação de NP com a variável peso final em plântula (PSF) foi de -0,458, enquanto que TLP com PSF foi de 0,591, confirmando que o teor de umidade no substrato está relacionado à tolerância ao déficit hídrico. Este resultado evidencia que os mecanismos de redução de perda de água conferem maiores níveis de tolerância ao déficit hídrico, sendo uma importante estratégia metabólica para manutenção da turgescência foliar (PIMENTEL, 2004).

Para os caracteres biométricos observa-se que houve correlação significativa em 33 combinações, dentre os nove caracteres avaliados. As combinações que apresentaram correlação moderada, com $r > 0,30$ foram: número de entrenós (NE) x altura do colmo (AC) (0,597); comprimento da folha +3 (CF) x AC (0,373); número de folhas (NF) x AC (0,359); área foliar (AF) x AC (0,318), AF x número de entrenós (NE) (0,367); AF x CF (0,459); AF x LF (0,401); AF x NF (0,300); largura da folha (LF) x diâmetro do colmo (DC) (0,373) e brix médio (BM) x NF (0,323). Em estudo conduzido por Pincelli; Silva (2012) foram observadas correlações positivas de LF, NF e AF com maior produção de massa seca da parte aérea, com 56 dias de estresse a 22,0% de umidade relativa à capacidade de campo total.

Entre os parâmetros de clorofila, verifica-se que houve correlação para todas as combinações, com valores variando de -0,393, para PCL x CLB, a 0,988 para CLT x CLA. Para os caracteres biométricos, houve associação entre as variáveis CLA x AF (-0,109), PCL x AC (0,117) e PCL x LF (-0,120). Estes resultados, embora de baixa magnitude, indicam que uma maior altura de planta e menor comprimento de folhas contribuem para menores teores de clorofila, em estresse hídrico.

Tabela 13 - Coeficientes de correlação de Spearman entre caracteres biométricos e de tolerância ao déficit hídrico avaliados na fase de plântula e fase adulta em progênies de cana-de-açúcar.

	NP	TLP	PSF	AC	DC	NE	NP	CF	LF	NF	AF	BM	NA	TLA	CLA	CLB	CLT	PCL
NP	-																	
TLP	-0,871**	-																
PSF	-0,458**	0,591**	-															
AC	0,086	-0,032	-0,033	-														
DC	0,025	-0,068	-0,248**	0,009	-													
NE	0,050	-0,011	-0,042	0,597**	0,004	-												
NP	-0,007	-0,008	0,139**	-0,134**	-0,163**	0,03931	-											
CF	-0,059	0,099	-0,014	0,373**	0,206**	0,268**	-0,101*	-										
LF	-0,027	0,026	-0,103*	0,122*	0,373**	0,128**	-0,057	0,201**	-									
NF	-0,052	0,052	-0,0539	0,359**	-0,009	0,273**	-0,043	0,056	0,143**	-								
AF	0,088	-0,081	-0,116*	0,318**	0,209**	0,367**	-0,100*	0,459**	0,401**	0,300**	-							
BM	0,122	-0,083	0,009	0,256**	0,094	0,262**	0,131**	0,125*	0,154**	0,323**	0,285**	-						
NA	0,462**	-0,497**	-0,221**	0,185**	-0,046	0,241**	0,233**	0,129**	-0,025	-0,068	0,285**	0,081	-					
TLA	-0,462**	0,497**	0,221**	-0,185**	0,046	-0,241**	-0,233**	-0,130**	0,025	0,068	-0,285**	-0,081	-0,999**	-				
CLA	-0,188**	0,244**	0,278**	-0,077	-0,092	-0,008	0,084	-0,001	0,088	-0,089	-0,109*	-0,001	-0,149**	0,149**	-			
CLB	-0,174**	0,203**	0,236**	-0,004	-0,029	0,023	0,029	-0,027	0,094	-0,023	-0,087	0,048	-0,167**	0,167**	0,889**	-		
CLT	-0,187**	0,233**	0,265**	-0,054	-0,075	0,004	0,070	-0,005	0,093	-0,069	-0,100	0,016	-0,155**	0,155**	0,988**	0,945**	-	
PCL	0,125*	-0,183**	-0,116*	0,117*	0,106	0,008	-0,088	-0,120*	0,003	0,070	0,035	0,086	0,012	-0,012	-0,516**	-0,393**	-0,486**	-

¹ Nota de tolerância em fase de plântula (NP); Tolerância em fase de plântula (TLP); Peso final em plântula (PSF); Altura do colmo (AC); Diâmetro do colmo (DC); Número de entrenós (NE); Número de perfilhos (NP); Comprimento da folha +3 (CF); Largura da folha +3 (LF); Número de folhas abertas (NF); Área foliar (AF); °Brix médio (BM); Nota de tolerância em fase adulta (NA); Tolerância em fase adulta (TLA); Clorofila A (CLA); Clorofila B (CLB); Clorofila Total (CLT) e Perda de clorofila (PCL). **, * Significativo a 1 e 5% respectivamente, pelo teste T (N=380).

As variáveis nota de tolerância ao déficit hídrico na fase adulta (NA) e tolerância na fase adulta (TLA) apresentaram correlação de -0,999. Tal associação linear deve-se em razão da estimativa de TLA estar baseada em NA. As demais variáveis biométricas que apresentaram correlação com TLA foram AC, NE, NP (número de perfilhos), CF e AF, com maior magnitude para AF (-0,2885). Como forma de validar a metodologia de avaliação visual, é possível observar que houve correlação significativa da TLA com a variável clorofila A (CLA), B (CLB) e total (CLT), com valores de 0,149, 0,167 e 0,155, nesta ordem. A partir de estudos conduzidos por Silva et al. (2013), avaliando o efeito do déficit hídrico em parâmetros fisiológicos da cana-de-açúcar, foram observadas correlações de até 0,93 entre as medidas de clorofila total e taxa fotossintética, evidenciando que o teor de clorofila pode ser considerado uma medida importante na avaliação do déficit hídrico em cana-de-açúcar.

Wagih; Ala; Musa (2003) destacam que as avaliações visuais de tolerância ao déficit hídrico em cana-de-açúcar possuem boa precisão, apresentando associação com demais caracteres morfológicos e de rendimento final. Conforme Tarn et al. (1992), a seleção visual é provavelmente o método mais eficiente e econômico para selecionar genótipos para vários caracteres agrônômicos em grandes populações de melhoramento nas primeiras gerações de seleção. De acordo com Negin; Moshelion (2017), atualmente diversos estudos estão incluindo avaliações visuais para fenotipagem da tolerância a estresses abióticos em diversas culturas.

Apesar dos parâmetros de clorofila possuírem baixa magnitude de correlação com TLA ($>0,20$), ressalta-se que o teor de clorofila é considerado como um parâmetro alternativo para mensurar a tolerância ao déficit hídrico. Os principais parâmetros fisiológicos avaliados em testes com déficit hídrico são a temperatura foliar, assimilação de CO_2 , turgescência foliar, condutância estomática, eficiência fotossintética, entre outros (INMAN-BAMBER; SMITH, 2012; SILVA et al., 2012b; ZHAO; GLAZ; COMSTOCK, 2013; SILVA et al., 2013; RODOLFO JÚNIOR et al., 2016; GRAÇA et al., 2010). No entanto, como observado em grande parte destes estudos, tais avaliações demandam equipamentos específicos, quais geralmente possuem baixa capacidade de aquisição de dados e faixa diária restrita para leitura destes parâmetros. Neste sentido, a inclusão destas variáveis incide diretamente sobre o tamanho da população experimental, dificultando a execução em fases iniciais, com elevado número de genótipos. Para isso, as avaliações de clorofila

tornam-se práticas e exequíveis, além de possuir associação positiva com as avaliações visuais de tolerância.

Os resultados observados entre as fases de seleção evidenciam a associação significativa de uma série de variáveis avaliadas na fase adulta com a variável TLP (Tabela 13). Dentre estas, estão: NA, TLA e todas as variáveis correspondentes ao teor de clorofila (CLA, CLB, CLT e PCL), com magnitudes variando de -0,183 para PCL a 0,497 para TLA. Deste modo, a variável TLP pode ser utilizada como parâmetro de seleção na fase de plântulas, conduzindo genótipos com maiores níveis de tolerância ao déficit hídrico para próximas fases de seleção. Também entre fases, a variável PSF além de apresentar correlação com as mesmas variáveis que TLP, associa-se com as variáveis DC, NP, LF e AF, com maior valor observado para CLA, de -0,278. Neste sentido, mesmo sendo uma variável com mensuração específica (pesagem), o PSF pode ser utilizado como critério de seleção para determinados caracteres.

De maneira geral, pode-se inferir que os valores de correlação entre as fases de seleção foram altos, principalmente para TLP e TLA, considerando a alta complexidade genética e metabólica do caráter tolerância ao déficit hídrico (PIMENTEL, 2004, FERREIRA et al., 2017) e mecanismos de tolerância diferencialmente expressos durante as fases fenológicas (TAIZ; ZIEGER, 2013).

De acordo com Fritsche-Neto; Borém (2011), boa parte das informações geradas por fisiologistas sobre estresse hídrico têm tido uso limitado no melhoramento de plantas, pois tais informações dificilmente podem ser convertidas em índices de seleção para predição do comportamento de genótipos superiores, os quais garantem agilidade e aplicabilidade destes parâmetros no estudo de populações.

Para os índices de coincidência (IC) considerando as cinco classes de tolerância, houve alta divergência entre as fases de seleção, com média para IC de 34,2% (Tabela 14). Para as classes tolerante e medianamente tolerante observam-se valores superiores a 45,0% de IC, enquanto que para as demais classes obtiveram-se valores inferiores a 30,0%.

Tabela 14 - Índice de coincidência (IC) entre as fases de seleção em plântula e planta adulta para cinco classes de tolerância

Classes	Estimativa do IC (%)
Altamente tolerante	29,6
Tolerante	48,0
Medianamente tolerante	45,2
Sensível	21,5
Altamente sensível	20,0
Média de classes	34,2

No entanto, baseado na complexidade do caráter tolerância ao déficit hídrico, dificilmente seriam obtidos valores superiores a estes entre as fases de seleção considerando-se cinco classes distintas, visto que quando se reduz para três classes, a média de coincidência é de aproximadamente 60,0% (Tabela 15).

A partir da figura 20, observa-se que para a classe AT definida na fase de plântulas, não foram observadas a presença de plantas com baixos níveis de tolerância na fase adulta (S e AS). Do mesmo modo, dentro da classe AS não foram observadas plantas com nível de tolerância referente à classe AT na fase adulta.

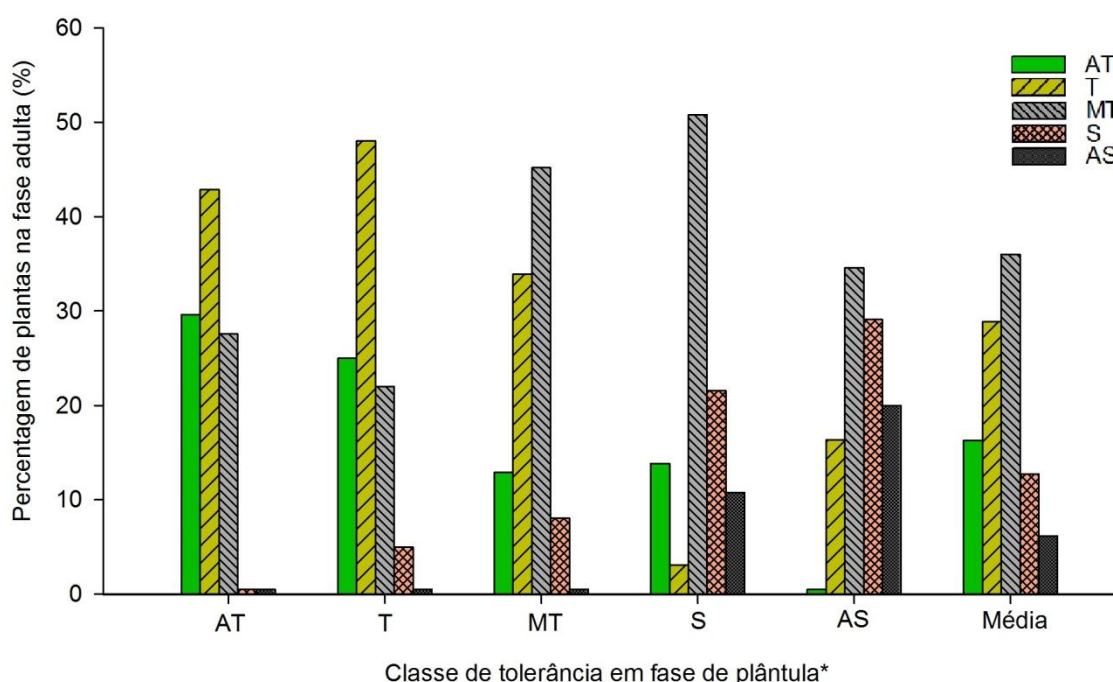


Figura 20 - Tolerância na fase adulta em percentagem de plantas por classe de tolerância definida na fase de plântulas. *AT: Altamente tolerante; T: Tolerante; MT; Medianamente tolerante; S: Sensível; AS: Altamente sensível.

Supondo-se que a distribuição das classes de tolerância fosse análoga em todos os níveis (20% das plantas em cada nível), selecionando apenas a classe AT na fase de plântulas em uma taxa de seleção de 20,0%, obter-se-ia altos ganhos de

seleção para tolerância, visto que mais de 70,0% da população apresentaria níveis AT e T na próxima fase de seleção.

Considerando-se três níveis para os IC entre as fases de seleção, observa-se que 72,73% das plântulas classificadas com maior nível de tolerância, permaneceram nesta classe na fase adulta (Tabela 15). Para o nível intermediário (MT) e o de maior sensibilidade (S + AS), as estimativas dos IC foram iguais ou inferiores a 45,16%.

Tabela 15 - Índice de coincidência (IC) entre fases de seleção em plântula e planta adulta para três classes de tolerância.

Parâmetro	Estimativa (%)
IC ¹ Tolerante (AT* + T)	72,73
IC Intermediário (MT)	45,16
IC Sensível (S + AS)	40,00
IC médio	57,89

¹ IC: Índice de coincidência. *AT: Altamente tolerante; T: Tolerante; MT; Medianamente tolerante; S: Sensível; AS: Altamente sensível.

Estudando estratégias de seleção em cana-de-açúcar, Brasileiro (2013) obteve índices de coincidência entre diferentes métodos de seleção variando de 17,0 a 75,0% a nível clonal, e de 56,0 a 100,0% para famílias.

As baixas estimativas para as classes de menor tolerância evidenciam a presença de plantas com diferencial de tolerância para a fase adulta, no entanto destaca-se que, uma menor percentagem de plântulas tolerantes apresentou sensibilidade na fase adulta.

Melo (2014) avaliando a concordância entre modelos de seleção precoce, obteve IC de aproximadamente 40,0%, entre o modelo de seleção antecipada e o tradicional. Já Pedrozo et al. (2008), obtiveram maiores índices de coincidência com a seleção baseada na altura e diâmetro do colmo, com valores de 63,0 e 48,0%, respectivamente, com taxa de seleção de 40,0%, para as primeiras fases do melhoramento tradicional. No entanto, ressalta-se que os trabalhos citados anteriormente são baseados apenas em caracteres biométricos, não havendo até o momento informações sobre índices de coincidência para caracteres de tolerância a estresses abióticos em progênies de cana-de-açúcar.

As estimativas de eficiência de seleção baseiam-se em dois pontos decisivos no melhoramento de plantas, a seleção e o descarte de genótipos. Neste estudo, a seleção é baseada no avanço das plântulas que apresentaram comportamento altamente tolerante e tolerante para próxima fase. Em relação ao descarte, incluem-

se as plântulas com nível de tolerância moderado, sensível e altamente sensível. Considerando-se estes critérios, é possível observar uma alta eficiência da metodologia testada, visto que os valores para ambas as estimativas foram de aproximadamente 73,0% de eficiência (Tabela 16).

Tabela 16 - Eficiência de seleção e de descarte entre as fases de seleção em plântula e planta adulta para duas classes de tolerância.

Parâmetro	Estimativa (%)
Eficiência de seleção	72,73
Eficiência de descarte	73,08
Eficiência média	72,89

De modo prático, pode-se inferir que em uma etapa de seleção realizada na fase de plântulas simulando déficit hídrico, menos de 30% dos genótipos selecionados apresentariam baixo nível de tolerância na fase adulta. Neste sentido, ressalta-se que a exclusão dos genótipos inferiores o mais cedo possível, por meio da seleção em gerações iniciais, evita que tais genótipos sejam mantidos nos ensaios de campo, proporcionando reduções consideráveis de custos pela menor utilização de insumos, área de plantio e mão de obra (MARIS, 1988).

5.4. Conclusões

- Há variabilidade para tolerância ao déficit hídrico nas progênies de cana-de-açúcar avaliadas;
- Há correlação positiva da tolerância ao déficit hídrico entre a fase de plântulas e fase adulta;
- Os índices de coincidência indicam que a metodologia proposta é eficiente para seleção avançada visando tolerância ao déficit hídrico em cana-de-açúcar.

6. Considerações finais

A variabilidade é imprescindível para qualquer etapa de seleção, independente da característica de interesse. Neste sentido, metodologias que avaliem esta variabilidade com eficiência, baixo custo e tempo hábil são de suma importância. A metodologia utilizada neste trabalho permitiu identificar com eficiência a variabilidade dentro e entre as famílias em curto espaço de tempo, podendo ser indicada como método de seleção precoce em cana-de-açúcar.

Além da economia de tempo, a seleção precoce em ambiente controlado aumenta a precisão experimental e reduz gastos com genótipos de baixo valor genético, os quais podem ser excluídos na primeira fase de seleção.

A metodologia testada neste trabalho pode ser utilizada como modelo para demais características de seleção, visto que a intensidade e o tempo de estresse devem ser suficientes para diferenciação dos genótipos testados. Os demais testes de seleção precoce podem ser realizados tanto para estresses abióticos (tolerância ao frio, alumínio tóxico no solo, salinidade do solo, temperaturas altas, etc.) como para estresses bióticos (ferrugem marrom (*Puccinia melanocephala*), ferrugem alaranjada (*Puccinia kuehni*), carvão (*Sporisorium scitaminea*), etc.).

A seleção praticada em fase inicial limita o uso de repetições dos indivíduos testados, logo, novos testes devem ser realizados em fases subsequentes de seleção, podendo-se assim, com um menor número de genótipos, fazer o uso de repetições e diferentes níveis de estresse, viabilizando a realização de demais avaliações que confirmem a tolerância com maior nível de precisão.

Os genótipos testados na fase adulta estão em fase de multiplicação a campo. Os próximos passos serão a avaliação do comportamento agrônomo dos genótipos com maior nível de tolerância, e posteriormente inserir estes materiais na rede de ensaios conduzida em diversos municípios do RS.

A manutenção da atividade agrícola familiar esta indubitavelmente atrelada ao desenvolvimento de tecnologias de baixo custo e alto impacto, buscando sempre reduzir os riscos na produção e aumentar os níveis de produtividade. Este trabalho é um passo inicial para elucidar as oportunidades e servir de subsídio para demais estratégias de seleção, buscando a obtenção e disponibilização de genótipos com maior adaptação as condições ambientais do RS.

Referências

- BANDINELLI, M. G.; BISOGNIN, D. A.; STORCK, L.; GNOCATO, F. S.; KIELSE, P.; ASCOLI, C. C. Correlação de caracteres de planta e tubérculo nas primeiras gerações de seleção de batata. **Horticultura Brasileira**, v. 35, n. 01, 2017.
- BARBOSA, M. H. P.; RESENDE, M. D. V.; DIAS, L. A. D. S.; BARBOSA, G. V. D. S.; OLIVEIRA, R. A. D.; 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, n. SPE, p. 87-98, 2012.
- BARBOSA, G. V. S. **Contribuição do melhoramento genético da cana-de-açúcar para a agroindústria canavieira de alagoas**. 2014. 116 f. Tese de doutorado. Ciências agrárias. Universidade Federal do Paraná. Paraná. 2014.
- BARTELS, D.; SUKAR, R. Drought and salt tolerance in plants. Critical Reviews. **Plant Sciences**, v. 24, pag. 23–58. 2005.
- 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.
- BNDES/CGEE. **Bioetanol de cana-de-açúcar: energia para o desenvolvimento sustentável**. Rio de Janeiro: BNDES, 2008. 316 p.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). Agrostat: **Estatísticas de Comércio Exterior do Agronegócio Brasileiro**. Brasília, DF, 2015. Disponível em: <<http://sistemasweb.agricultura.gov.br/pages/AGROSTAT.html>>. Acesso em: 15 ago. 2017.
- BRASILEIRO, B. P.. **Estratégias de seleção em cana-de-açúcar**. 2013. 76 pag.. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento). Universidade Federal de Viçosa (UFV). Viçosa. 2013.
- BRESSIANI, J. A. **Seleção seqüencial em cana-de-açúcar**. Piracicaba : 2001. 159p. Tese (Doutorado em Agronomia), Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo.

BULL, T. **The sugarcane plant**. In "Manual of cane growing", HOGARTH, M, ALLSOPP, P., eds. Bureau of Sugar Experimental Stations, Indooroopilly, Australia. p.71-83, 2000.

BURNQUIST, W. L., REDSHAW, K., GILMOUR, R. F. Evaluating sugarcane R&D performance: evaluation of three breeding programs. In: **International Society of Sugar Cane Technologists 10th Germplasm and Breeding/7th Molecular Biology Workshop**, 27., 2010, Vera Cruz. Proceedings... Vera Cruz: ISSCT, 2010. p. 1-15.

CASTRO, R. D.; PETERNELLI, L.A.; RESENDE, M.D.; MARINHO, C.D. Selection between and within full-sib sugarcane families using the modified BLUPIS method (BLUPISM). **Genetics and Molecular Research**, v.15, 2016.

CARVALHO, S. A. D. de; FURTADO, A. T.. O Melhoramento Genético de Cana-de-açúcar no Brasil e o Desafio das Mudanças Climáticas Globais. **Revista Gestão & Conexões**, v. 2, p. 22-46, 2013.

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

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

CONAB (Companhia Nacional de Abastecimento). **Acompanhamento da Safra Brasileira de Cana-de-açúcar**. Segundo levantamento, safra 2017/18, n. 2. Brasília, p. 1-73, ago. 2017.

CORDEIRO, A. P. A; BERLATO, M. A.; FONTANA, D. C.; ALVES, R. C. M. Tendências climáticas das temperaturas do ar no estado do Rio Grande do Sul, sul do Brasil. **Revista Brasileira de Geografia Física**, v. 9, n. 3, p. 868-880, 2016.

COX, M.; HOGARTH, M.; SIMITH, G. Cane breeding and improvement. In: HOGARTH, M.; ALLSOPP, P (ed.). **Manual of cane growing**. PK Editorial Servise, Brisbane, p.91-108, 2000.

DOORENBOS, J.; KASSAM, A. H. **Efeito da água no rendimento das culturas**. Campina Grande: UFPB, 1994. 306p.

FALKER AUTOMAÇÃO AGRÍCOLA LTDA. Equipamento eletrônico portátil para medição do teor de clorofila em plantas. BUAES, A.G.; DELVAN, F.H.; SILVA, M.A.M. **Patente Brasileira**, Int. Cl. G01N 21/25, BR PI0705579-0 A2, 09/12/2008.

FAOSTAT. **Food and agricultural commodities production**. Disponível em <<http://faostat.fao.org/DesktopDefault.aspx?PageID=339&lang=en>>. 2016. Acesso em: janeiro de 2018.

FERREIRA, A.; BARBOSA, M. H. P.; CRUZ, C. D.; HOFFMANN, H. P.; VIEIRA, M. A. S.; BASSINELLO, A. I.; SILVA, M. F. Repetibilidade e número de colheitas para seleção de clones de cana-de-açúcar. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 40, n. 8, p. 761-767, 2005.

FERREIRA, T. H., 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. 1077, 2017.

FONTANA, D.C.; BERLATO, M. A. Relação entre El Niño Oscilação Sul (ENOS), precipitação e rendimento do milho no Estado do Rio Grande do Sul. **Pesquisa Agropecuária Gaúcha**, v.2, p.39- 46, 1996.

FRITSCHÉ-NETO, R.; BORÉM, A. **Melhoramento genético de plantas para condições de estresses abióticos**. Suprema, 250 p. 2011.

GAVA, G. J. DE C.; SILVA, M. DE A.; SILVA, R. C. DA; JERONIMO, E. M.; CRUZ, J. C. S.; KÖLLN, O. T. Produtividade de três cultivares de cana-de-açúcar sob manejos de sequeiro e irrigado por gotejamento. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.15, n.3, p.250–255, 2011.

GONÇALVES, E. R. ; FERREIRA, V. M. ; SILVA, J. V. ; ENDRES, L. ; BARBOSA, T. P. ; DUARTE, W. de G. . Trocas gasosas e fluorescência da clorofila a em variedades de cana-de-açúcar submetidas à deficiência hídrica. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 14, p. 378-386, 2010.

GRAÇA, J. P. D.; RODRIGUES, F. A.; FARIAS, J. R. B.; OLIVEIRA, M. C. N. D.; 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.

GROSS, J. A. **Uso da terra e economia nos estabelecimentos agropecuários dos municípios do Rio Grande do Sul afetados pelas estiagens**. 2013. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Geografia Bacharelado) - Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), Santa Maria, 2013.

GROSS, J. A.; CASSOL, R. Índice de anomalia de chuva do estado o Rio Grande do Sul. **Ambiência**, v. 11, n. 3, p. 529-543, 2015.

HAN, C.; YANG, P. Studies on the molecular mechanisms of seed germination. **Proteomics**, v. 15, 1671–1679. 2015.

HANSON, A. D.; HITZ, W. D. Metabolic responses of mesophytes to plant water deficits. **Annual Review of Plant Physiology**, v. 33, n. 1, p. 163-203, 1982.

HEMAPRABHA, G.; NAGARAJAN, R.; ALARMELU, S.; NATARAJAN, U. S. Parental potential of sugarcane clones for drought resistance breeding. **Sugar Tech**, v. 8, n. 1, p. 59-62, 2006.

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, pag. 9–16. 2013.

HERMANN, E. R.; CÂMARA, G. M. S. Um método simples para estimar a área foliar de cana-de-açúcar. **STAB: Açúcar, Álcool e Subprodutos**, Piracicaba, v. 17, n. 1, p. 32-34, 1999.
HIMMELBACH, A.; YANG, Y.; GRILL, E. Relay and control of abscisic acid signaling. **Current Opinion in Plant Biology**, v. 6, pag. 470–479. 2003.

IBGE (Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística). **Levantamento sistemático da produção agrícola**: Julho de 2014. Acessado em 28 de setembro de 2015.
Disponível em:
<http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/indicadores/agropecuaria/lspa/default_publicompleta.shtm>.

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

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

JANGPROMMA, N.; SONGSRI, P.; THAMMASIRIRAK, S.; JAISIL, P. Rapid assessment of chlorophyll content in sugarcane using a SPAD Chlorophyll Meter across different water stress conditions. **Asian Journal of Plant Sciences**, V. 9, n. 6, p. 368-374, 2010.

LAWLOR, D.W.; CORNIC, G. Photosynthetic carbon assimilation and associated metabolism in relation to water deficits in higher plants. **Plant and Cell Environment** v.25, p.275-294, 2002.

LEIVAS, J. F.; BERLATO, M. A.; FONTANA, D.. Risco de deficiência hídrica decendial na metade sul do Estado do Rio Grande do Sul. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 10, p. 397-407, 2006.

LOBELL, D. B.; SCHLENKER, W.; COSTA-ROBERTS, J. Climate trends and global crop production since 1980. **Science**, v 333, 616–620. 2011.

LUSH, J. L. Family merit and individual merit as basis for selection. **American Naturalist**, V. 80, p. 318-342, 1947.

KUMAR, V.; JAIN, M. The CRISPR–Cas system for plant genome editing: advances and opportunities. **Journal of experimental botany**, v. 66, n. 1, p. 47-57, 2014.

MACHADO, R.; RIBEIRO, R.; MARCHIORI, P.; MACHADO, D.; MACHADO, E.; LANDELL, M. G Biometric and physiological responses to water deficit in sugarcane at different phenological stages. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.44, n.12, p.1575-1582. 2009

MANZATTO, C. V.; BACA, J. F. M.; PEREIRA, S. E. M. Zoneamento agroecológico da cana-de-açúcar: abordagem metodológica para integração temática de grandes áreas territoriais. In: PRADO, R. B.; TURETTA, A. P. D.; ANDRADE, A. G. de (Org.). **Manejo e conservação do solo e da água no contexto das mudanças ambientais**. Rio de Janeiro: Embrapa Solos, 2010. 486 p. p. 193-214.

MARIS, B. Correlations within and between characters between and within generations as a measure for the early generation selection in potato breeding. **Euphytica**, v. 37: pag. 205-209. 1988.

MATSUOKA, S.; FERRO, J.; ARRUDA, P. The Brazilian experience of sugarcane ethanol industry. **In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant**, Wallingford, v. 45, n. 2, p. 372-381, Apr. 2009.

MASOABI, M.; LLOYD, J.; KOSSMANN, J.; VAN DER VYVER, C. Ethyl Methanesulfonate Mutagenesis and In Vitro Polyethylene Glycol Selection for Drought Tolerance in Sugarcane (*Saccharum* spp.). **Sugar Tech**, v. 20, n. 1, p. 50-59, 2018.

MCRAE, T.A.; ERQUIAGA, D.L.; JENSEN, L.F. RATTEY, A.R.; STRINGER, J.K. BSES sugarcane breeding program in the Burdekin. In: **Australian Society of Sugar Cane Technologists Conference**, 20., Ballina, 1998. Proceedings. Brisbane: Watson Ferguson, 1998. p. 196-203.

MELO, D. S.; PINTO, C. A. B. P.; PEIXOUTO, L. S.; NEDER, D. G.; ASSIS, J. C. Early selection of full-sib potato families. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 35, pag. 1101-1109, 2011.

MELO, L. J. O. T.. **Sistema simplificado de seleção para a fase inicial do melhoramento genético da cana-de-açúcar**. 2014. 142 pag.. Tese (Doutorado em Agronomia). Universidade Federal do Paraná (UFPR). Curitiba. 2014.

MOLINARI, H. B. C.. **Expressão estresse-induzida do gene *P5CS* em plantas transgênicas de cana-de-açúcar submetidas ao déficit hídrico**. 2006. 90 pag.. Tese (Doutorado em Agronomia). Universidade Federal do Paraná (UFPR). Curitiba. 2006.

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. **Programa de melhoramento genético de cana-de-açúcar da UFPR**, Relatório Técnico Ano 2014. 1ª ed. Curitiba, Editora Graciosa. 89 p.

PATADE, V. Y.; SUPRASANNA, P.; BAPAT, V. A.; KULKARNI, U. G. Selection for abiotic (salinity and drought) stress tolerance and molecular characterization of tolerant lines in sugarcane. **Barc Newsletter**, v. 273, p. 244, 2006.

PEDROZO, C. A.; BARBOSA, M. H. P.; RESENDE, M. D. V.; PETERNELLI, L. A.; COSTA, P. M. A.; SILVA, F. L. Eficiência da seleção em fases iniciais do melhoramento da cana-de-açúcar. **Revista Ceres**, v. 55, n. 1, 2008.

PIMENTEL, C. **A Relação da Planta com a Água**. Rio de Janeiro. 191 p. Seropédica. 2004.

PINCELLI, R. P.; SILVA, M. A. Alterações morfológicas foliares em cultivares de cana-de-açúcar em resposta à deficiência hídrica. **Bioscience Journal**, p. 546-556, 2012.

PIPERIDIS, N.; PIPERIDIS, G.; D'HONT, A. Molecular cytogenetics. In: HENRY, R. J.; KOLE, C. (Eds.) **Genetics, genomics and breeding of sugarcane**. New York: Science Publishers, 2010. p. 9-18.

RAMESH, P. Effect of drought on nutrient utilization, yield and quality of sugarcane (*Saccharum officinarum*) varieties. **Indian Journal of Agronomy**, Nova Delhi, v. 45, n. 2, p. 401-406, 2000.

RAMPINO, P.; PATALEO, S.; GERARDI, C.; MITA, G.; PERROTTA, C. Drought stress response in wheat: physiological and molecular analysis of resistant and sensitive genotypes. **Plant Cell Environ.** N. 29, 2143–2152. 2006.

RAUF, S.; AL-KHAYRI, J. M.; ZAHARIEVA, M.; MONNEVEUX, P.; KHALIL, F. Breeding strategies to enhance drought tolerance in crops. In: **Advances in plant breeding strategies: agronomic, abiotic and biotic stress traits**. Springer, Cham. p. 397-445. 2016.

ROACH, B. T.; DANIELS, J. A Review of the origin and improvement of sugarcane. In: **COPERSUCAR International Sugarcane Breeding Workshop**. São Paulo: COPERSUCAR, 1987. p. 1-31.

RODOLFO JUNIOR, F.; JUNIOR, W. Q. R.; RAMOS, M. L. G.; ROCHA, O. C.; BATISTA, F. P. S.; LIMA, C. A. Respostas fisiológicas em variedades de cana soca submetidas ao déficit hídrico. **Irriga**, v. 21, n. 4, p. 806-816, 2016.

RUGERI, A. P. **Identificação do uso e desempenho de genótipos de cana-de-açúcar no estado do Rio Grande do Sul**. 2015. 90p. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

SANGHERA, G. S.; KUMAR, R.; TYAGI, V.; THIND, K. S.; SHARMA, B. Genetic divergence among elite sugarcane clones (*Saccharum officinarum* L.) based on cane yield and quality traits from northern India. **Journal of Experimental Biology and Agricultural Sciences**. v. 3, n. 2, p. 185-190, 2015.

SILVA, M. A.; JIFON, L.; SILVA, J. A. C.; SHARMA, V. Use of physiological parameters as fast tools to screen for drought tolerance in sugarcane. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, v. 19, n. 3, p. 193-201, 2007.

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

SILVA, G. O.; PEREIRA, A. S. Seleção em gerações iniciais para caracteres agrônômicos em batata. **Horticultura Brasileira**, v. 29, pag. 449-455. 2011.

SILVA, S. D. A. E. ; GOMES, C. B.; UENO, B.; NAVA, D. E. ; ALMEIDA, I. R.; THEISEN, G.; DUTRA, L. F.; VERISSIMO, M. A. A.; PANZIERA, W. ; DAROS, E.; OLIVEIRA, R. A. de ; BESPALHOK FILHO, J. C.. **Recomendações de variedades de cana-de-açúcar para o estado do Rio Grande do Sul**. Comunicado técnico, n 292. Embrapa Clima Temperado. 22 pag. 2012a.

SILVA, P. P.; SOARES, L.; DA COSTA, J. G.; DA SILVA VIANA, L.; 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-SÁ, M. F.; BARBOSA, M. H. P.; SAT'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, 2012b.

SILVA, M. D. A.; JIFON, J. L.; SANTOS, C. M. D.; JADOSKI, C. J.; SILVA, J. A. G. D. Photosynthetic capacity and water use efficiency in sugarcane genotypes subject to water deficit during early growth phase. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 56, n. 5, p. 735-748, 2013.

SILVA, S. D. A.; MONTERO, C. R. S.; SANTOS, R. C.; NAVA, D. E.; GOMES, C. B.; ALMEIDA, I. R. **Sistema de produção de cana-de-açúcar para o Rio Grande do Sul**. 247 p. Sistemas de Produção, Embrapa Clima Temperado, INFOTECA-E. 2016.

SILVEIRA, L. C. I. DA. **Melhoramento genético da cana-de-açúcar para obtenção de cana energia**. 2014. 84 pag.. Tese (Doutorado em Agronomia). Universidade Federal do Paraná (UFPR) Curitiba. 2014.

SINGH, P.N.; SHUKLA, S.K.; BHATNAGAR, V.K. Optimizing soil moisture regime to increase water use efficiency of sugarcane (*Saccharum spp.* Hybrid complex) in subtropical India. **Agricultural Water Management**, v.90, p.95 - 100, 2007.

SNYMAN, S.J.; MHLANGA, P.; WATT, M. P. Rapid screening of sugarcane plantlets for in vitro mannitol-induced stress. **Sugar Tech**, v. 18, pag. 437–440. 2016.

SOARES, F. U. **Estudo do potencial climático para cana-de-açúcar (*Sacharum spp.*) no Rio Grande do Sul por meio de Geoprocessamento: Estudo de caso no município de Jaguari**. Dissertação (Mestrado) Programa de Pós-Graduação em Geomática - Universidade Federal de Santa Maria. 2008. 77 p.

SUGIHARTO, B. Biochemical and molecular studies on sucrose-phosphate synthase and drought inducible-protein in sugarcane (*Saccharum officinarum*). **Jurnal Ilmu Dasar**, v. 5, p. 62-67, 2004.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**. 5. ed. Porto Alegre: Artmed, 2013. 918p.

TARN, T. R.; TAI, G. C. C.; JONG, H.; MURPHY, A. M.; SEABROOK, J. E. A. Breeding potatoes for long-day, temperate climates. **Plant Breeding Reviews** v. 9, pág. 217-332. 1992.

VERISSIMO, M. A. A. **Desempenho agrônômico de genótipos de cana-de-açúcar no estado do Rio Grande do Sul**. Dissertação (Mestrado) Programa de Pós-Graduação em Sistemas de Produção Agrícola Familiar. Universidade Federal de Pelotas. 2012.81p.

VERISSIMO, M. A. A. **Seleção em cana-de-açúcar avaliada em condições naturais de estresse por frio no sul do Brasil**. 2017. 72 f. Tese (Doutorado em Agronomia). Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2017.

VERISSIMO, M. A. A.; OLIVEIRA, R. A.; SILVA, S. D. A. E.; DAROS, E.; HARTE, A.. Genetic parameters and performance of sugarcane families under cold stress in southern Brazil. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, 2017.

VIEIRA, G. H. S.; MANTOVANI, E. C.; SEDIYAMA, G. C.; DELAZARI, F. T. Indicadores morfo-fisiológicos do estresse hídrico para a cultura da cana-de-açúcar em função de lâminas de irrigação. **Bioscience Journal**, v. 30, n. 3, 2014.

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.

WILLADINO, L., OLIVEIRA FILHO, R. A., SILVA JUNIOR, E. A., NETO, A. G., CAMARA, T. R. Estresse salino em duas variedades de cana-de-açúcar: enzimas do sistema antioxidativo e fluorescência da clorofila. **Revista Ciência Agronômica**, v. 42, n. 2, p. 417-422, 2011.

XIN, Z.; BROWSE, J. Cold comfort farm: the acclimation of plants to freezing temperatures. **Plant, Cell & Environment**, v. 23, n. 9, p. 893-902, 2000.

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.