



GHEYSA COELHO SILVA

**DIVERSIDADE GENÉTICA E CAPACIDADE
COMBINATÓRIA EM CANA-DE-AÇÚCAR
UTILIZANDO INFORMAÇÕES DE PEDIGREE
E DE MARCADORES MOLECULARES**

LAVRAS-MG

2012

GHEYSA COELHO SILVA

**DIVERSIDADE GENÉTICA E CAPACIDADE COMBINATÓRIA EM
CANA-DE-AÇÚCAR UTILIZANDO INFORMAÇÕES DE PEDIGREE E
DE MARCADORES MOLECULARES**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento de Plantas, área de concentração em Genética e Melhoramento de Plantas, para a obtenção do título de Doutor.

Orientador

Dr. João Bosco dos Santos

Coorientador

Dr. José Airton Rodrigues Nunes

**LAVRAS-MG
2012**

**Ficha Catalográfica Elaborada pela Divisão de Processos Técnicos da
Biblioteca da UFLA**

Silva, Gheysa Coelho.

Diversidade genética e capacidade combinatória em cana-de-açúcar utilizando informações de pedigree e de marcadores moleculares / Gheysa Coelho Silva. – Lavras : UFLA, 2012.

112 p. : il.

Tese (doutorado) – Universidade Federal de Lavras, 2012.

Orientador: João Bosco dos Santos.

Bibliografia.

1. *Saccharum* spp. 2. Marcadores EST-SSR. 3. Genealogia. 4. BLUP. 5. Preditores lineares não viesados. 6. Valores genéticos. I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.

CDD – 631.523

**DIVERSIDADE GENÉTICA E CAPACIDADE COMBINATÓRIA EM
CANA-DE-AÇÚCAR UTILIZANDO INFORMAÇÕES DE PEDIGREE E
DE MARCADORES MOLECULARES**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento de Plantas, área de concentração em Genética e Melhoramento de Plantas, para a obtenção do título de Doutor.

APROVADA em 13 de julho de 2012.

Dr. José Airton Rodrigues Nunes	UFLA
Dr. César Augusto Brasil P. Pinto	UFLA
Dr. Adriano Teodoro Bruzi	UFLA
Dr. Márcio Henrique Pereira Barbosa	UFV

Dr. João Bosco dos Santos
Orientador

**LAVRAS-MG
2012**

Aos meus pais, Berenildes e Luizinho, pelo amor incondicional, pela educação familiar e por ter me ensinado o verdadeiro sentido da humildade.

A Deus, pela plenitude da vida.

DEDICO

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal de Lavras, em especial ao programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento de Plantas pela oportunidade de realização do Doutorado, e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela concessão da bolsa de estudos.

Aos professores João Bosco dos Santos e José Airton, pela orientação, serenidade, paciência, confiança e por todos os ensinamentos transmitidos.

Ao professor Márcio Balestre pelo apoio nos programas utilizados para as análises estatísticas e valiosas sugestões para tese.

Aos professores do programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento de Plantas pelos ensinamentos.

Aos amigos Lidiane, Izabel, Paulo, Jerônimo, Fernando, Fernandão, Rafaela, Álvaro, André, Val, Mirella e Jú por terem sido uma verdadeira família em Lavras.

Aos amigos do laboratório de Genética molecular da UFLA, Igor, Rafaela, Karla, Letícia, Paulo, Filipe e Marynei por toda a ajuda e amizade.

Ao amigo Lamartine, pela disposição, por estar sempre disposto a nos auxiliar e passar seus conhecimentos com toda a competência.

Aos funcionários do departamento de biologia Zélia, Rafaela, Irondina e Du, pelo carinho e convivência amigável.

A “painho” e “mainha” e ao meu irmão Gustavo pelo apoio incondicional durante todas as etapas na minha vida, e pelo exemplo de vida indispensável para a conquista deste título.

Ao meu namorado Williams, pela compreensão irrestrita, carinho, amizade, paciência, enfim, por estar ao meu lado.

A todos que contribuíram pelo êxito deste trabalho, meus sinceros agradecimentos.

RESUMO GERAL

Os objetivos do trabalho foram verificar a diversidade genética de clones elites utilizados no Programa de melhoramento genético da cana-de-açúcar da Rede Interuniversitária para o Desenvolvimento do Setor Sucroalcooleiro (RIDESA), por meio da similaridade genética, utilizando marcadores moleculares EST-SSR, e do coeficiente de parentesco, utilizando informações de pedigree, e verificar se a inclusão da informação do coeficiente de parentesco e da similaridade genética obtida por EST-SSR, na análise dialélica via modelos mistos, melhora a acurácia das predições e ocasiona mudanças no ranqueamento das estimativas da CGC e CEC. Para verificar a diversidade genética dos clones elites foi extraído o DNA para avaliação molecular com *primers* EST-SSR polimórficos. Os marcadores moleculares ESTB13, ESTA68, ESTC38, ESTB47, ESTB160, ESTC52, ESTB158, ESTC24, SCC01 e ESTC49 apresentaram os maiores valores de PIC. A similaridade genética estimada pelo coeficiente de Jaccard variou de 0,32 (entre RB8495 e RB912850; e RB9350 com L60-14 e Co62175) a 0,71 (entre SP83-2847 e SP83-5073). O coeficiente de parentesco variou de 0 a 0,70 (entre RB835054 e RB835089). O agrupamento dos clones por meio da similaridade genética baseada nos marcadores, usando o Método UPGMA, gerou um dendrograma no qual os 63 clones elites de cana-de-açúcar foram agrupados em quatro grupos, divididos em subgrupos os que apresentaram algum grau de similaridade. Por outro lado, o agrupamento dos mesmos clones elites por meio do coeficiente de parentesco baseado no pedigree, usando o Método UPGMA, gerou um dendrograma com 26 grupos. Quando se dispõe de informações completas, precisas e confiáveis de pedigree as estimativas do coeficiente de parentesco são bem estimadas e refletem uma similaridade por descendência confiável podendo ser utilizada nos planejamentos de cruzamento no programa de melhoramento. Os BLUPs da CGC e CEC, considerando os caracteres TCH, TBH, Pol % cana, ART % cana e Pureza % cana, para cada modelo de análise do dialélico foram correlacionados pelo coeficiente de correlação de Spearman. Foi obtida a porcentagem de coincidência dos BLUPs associados a cada estimativa da CGC e CEC, para todos os caracteres, em cada modelo. Verificase que as estimativas de variância associadas à CGC e CEC para todos os caracteres, considerando todos os modelos analisados foram positivas, o que evidencia existência de variabilidade genética. A inclusão das informações de similaridade genética por descendência e por estado nas predições da CGC não proporciona melhorias na predição da estimativa de CGC. A similaridade genética obtida pelo coeficiente de parentesco proporciona predições mais acuradas para as estimativas da capacidade específica de combinação, quando

comparada às predições obtidas pela similaridade no estado, estimada pela coeficiente de jaccard. As estimativas das capacidades de combinações dos genótipos preditas sem informação e com informação da similaridade genética por descendência e no estado apresentaram alta porcentagem de coincidência.

Palavras-chave: *Saccharum* spp. Divergência genética. Marcadores EST-SSR. BLUP. Genealogia.

GENERAL ABSTRACT

The objectives were to assess the genetic diversity of elite clones used in the breeding program of cane sugar from the Interuniversity Network for the Development of Ethanol Industry (RIDESA), by genetic similarity, using molecular markers EST-SSR, and the coefficient of relatedness, using pedigree information, and verify that the inclusion of information coefficient of parentage and genetic similarity obtained by EST-SSR, the Diallel analysis via mixed models, improves the accuracy of prediction and causes changes in the ranking of estimates of GCA and SCA. To verify the genetic diversity of clones elite DNA was extracted for assessment with molecular polymorphic EST-SSR primers. Molecular markers ESTB13, ESTA68, ESTC38, ESTB47, ESTB160, ESTC52, ESTB158, ESTC24, SCC01 and ESTC49 presented major PIC values. The genetic similarity estimated by Jaccard coefficient ranged from 0.32 (between RB912850 and RB8495, and RB9350 with L60-14 and Co62175) to 0.71 (between SP83 and SP83-2847-5073). The kinship coefficient ranged from 0 to 0.70 (between RB835054 and RB835089). The grouping of clones by genetic similarity based markers using UPGMA method, generated a dendrogram in which the 63 elite clones of cane sugar were grouped into four groups, divided into subgroups who had some degree of similarity. Moreover, the grouping of these clones by means elite relationship coefficient based on pedigree using the method UPGMA generated dendrogram with 26 groups. When you have complete, accurate and confiáveis pedigree estimates of the coefficient of kinship are well estimated and reflect a similarity by descent reliable and can be used in the planning of the crossing improvement program. The BLUPs of GCA and SCA, considering the characters TCH, TBH, Pol% cane, cane and Purity ART%% cane for each model diallel analysis were correlated by Spearman correlation coefficient. We obtained the percentage of coincidence of BLUPs associated with each estimate GCA and SCA for all traits in each model. It appears that the estimates of variance associated with GCA and SCA for all traits, considering all the models analyzed were positive, which shows existence of genetic variability. The inclusion of information on genetic similarity by descent and by state predictions of the CGC does not provide improvements in the prediction of estimated CGC. The genetic similarity coefficient obtained by kinship provides more accurate predictions for the estimates of specific combining ability when compared to the predictions obtained by similarity in the state, estimated by Jaccard coefficient. Estimates of capacity of combinations of genotypes predicted without information and with

information from genetic similarity by descent and the state had a high percentage of coincidence.

Keywords: Saccharum spp. Genetic divergence. EST-SSR markers. BLUP. Genealogy.

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1.....	11
1 INTRODUÇÃO GERAL.....	11
2 REFERENCIAL TEÓRICO.....	14
2.1 Base genética da cana-de-açúcar.....	14
2.2 Divergência genética.....	15
2.2.1 Avaliação da divergência genética.....	17
2.2.1.1 Marcadores moleculares.....	17
2.2.1.2 Coeficiente de parentesco.....	22
2.3 Análise dialélica.....	24
2.4 Metodologia de modelos mistos.....	26
REFERÊNCIAS.....	30
CAPÍTULO II.....	44
Diversidade genética de clones elites de cana-de-açúcar detectada por marcadores EST-SSR e coeficiente de parentesco.....	44
1 INTRODUÇÃO.....	45
2 MATERIAIS E MÉTODOS.....	48
2.1 Clones de cana-de-açúcar.....	48
2.2 Obtenção do material vegetal e extração de DNA.....	53
2.3 Reação com marcadores EST-SSR.....	54
2.4 Análise dos padrões de amplificadas em géis de poliacrilamida.....	59
2.5 Análise da similaridade genética.....	59
2.6 Análise do polimorfismo.....	60
2.7 Coeficiente de parentesco.....	60
2.8 Coeficiente de correlação.....	61
3. RESULTADOS.....	61
3.1 Análise do polimorfismo detectado.....	61

3.2 Similaridade genética, coeficiente de parentesco e análise de agrupamento ..	65
4. DISCUSSÃO	68
5 CONCLUSÕES	72
REFERÊNCIAS	73
CAPÍTULO III.....	79
Capacidades de combinação em cana-de-açúcar utilizando informação de parentesco e similaridade genética no estado	79
1 INTRODUÇÃO	81
2 MATERIAIS E MÉTODOS	83
2.1 Genótipos de cana-de-açúcar	83
2.2 Obtenção das matrizes de similaridade genética	89
2.3 Análise dialélica via modelos mistos	89
2.4 Coeficiente de correlação de Spearman e coeficiente de coincidência.....	91
3 RESULTADOS	92
4 DISCUSSÃO	110
5 CONCLUSÕES	113
REFERÊNCIAS	114
APENDICE.....	117

CAPÍTULO I

1 INTRODUÇÃO GERAL

A cana-de-açúcar (*Saccharum* spp.) é uma cultura de grande importância no cenário internacional, por ser relevante fonte de matéria-prima para a produção de açúcar e biocombustíveis. Estima-se para o Brasil, uma produção de 602,2 milhões de toneladas de cana-de-açúcar na safra 2012/2013, representando um acréscimo de 5,4% em relação à safra 2011/2012, em uma área total de 8,57 milhões de hectares com uma produtividade média nacional de 70,29 ton/hectare (COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO - CONAB, 2012).

O bom desempenho da cana-de-açúcar, no cenário econômico e social brasileiro, se deve em parte à eficiência dos programas de melhoramento que têm concentrado esforços para o lançamento de novas variedades com características agronômicas que atendam à demanda do setor sucroalcooleiro. Entretanto, a complexidade genética da cana-de-açúcar decorrente de seu alto nível de poliploidia e aneuploidia, com cerca de 100 - 130 cromossomos, aliada à natureza multigênica e/ou multialélica da maioria dos caracteres agronômicos, tem dificultado parcialmente o melhoramento genético desta cultura (GRIVET; ARRUDA, 2001).

O desenvolvimento de marcadores moleculares, construção de mapas genéticos e a utilização de métodos que propiciem melhor acurácia de predições de valores genéticos podem auxiliar na elaboração de estratégias a serem introduzidas nos programas de melhoramento de forma a acelerar o desenvolvimento de novas variedades. Dessa forma, diferentes tipos de marcadores estão sendo utilizados para a construção de um mapa genético mais bem detalhado, na identificação de variedades, e na caracterização de genitores utilizados em cruzamentos nos diversos programas de melhoramento genético da cana-de-açúcar (GARCIA et al., 2006; OLIVEIRA et al., 2009; SILVA et al., 2012).

Dentre os diferentes tipos de marcadores moleculares disponíveis para plantas, marcadores do tipo microssatélites tem-se mostrado úteis em diversas aplicações, principalmente devido a sua reprodutibilidade, natureza multialélica, herança codominante, abundância e boa cobertura no genoma. Estes marcadores são unidades muito curtas (2 a 5 pb) repetidas em fita, e cujas sequências que o flanqueiam apresentam-se conservadas a ponto de permitir o desenho de um par de iniciadores de síntese específica (*primers*) para a sua amplificação via reação em cadeia da polimerase (*Polimerase Chain Reaction*) (FALEIRO, 2007). Os microssatélites derivados de etiquetas de sequências expressas (ESTs), chamados de microssatélites funcionais (EST-SSRs) são considerados de grande utilidade para acessar a diversidade ao nível de genes expressos em coleções de germoplasma e também no mapeamento genético, visto que o polimorfismo gerado permite o mapeamento direto de genes expressos, os quais podem proporcionar a identificação de marcadores funcionais associados a características de interesse (OLIVEIRA et al., 2009; UKOSKIT et al., 2012).

Cabe ressaltar que mesmo antes da abordagem dos marcadores moleculares, o grau de parentesco entre cultivares poderia ser estimado pelo coeficiente de parentesco (f_{xy}) ou coeficiente de Malécot (1948), também chamado de coancestralidade ou coeficiente de *kinship*, fornecendo uma estimativa das relações genéticas entre dois genótipos baseado na análise de genealogia (COX et al., 1985; FALCONER; MACKAY, 1996; KEMPTHORNE, 1969).

As informações a respeito da similaridade genética podem auxiliar os melhoristas no intuito de direcionar os cruzamentos visando à obtenção das melhores combinações híbridas. Pela teoria da genética quantitativa, os pares que são mais divergentes poderiam maximizar a heterose, desde que haja divergência, e revelar as melhores combinações híbridas (MELCHINGER, 1999). Dessa forma, uma alternativa para o uso destas informações seria através da metodologia de modelos lineares mistos para a predição de valores genéticos (BERNARDO, 1994).

Neste sentido, a utilização do melhor preditor linear não viesado (BLUP) possibilita, além da predição mais acurada do mérito genético, a inclusão do coeficiente de parentesco para todos os indivíduos avaliados, se toda a informação de parentesco for conhecida (HENDERSON, 1974, 1984). Quando se dispõe de pouca ou nenhuma informação sobre o indivíduo, informação de parentes pode contribuir para a predição do seu valor genético. A magnitude dessa contribuição é determinada pelo grau de parentesco entre os indivíduos envolvidos na análise, sendo que, quanto maior o grau de relacionamento genético, maior será a contribuição (PANTER; ALLEN, 1995; VLECK, 1993; WOOD; CHRISTIAN; ROTHSFIELD, 1991).

Os objetivos deste trabalho foram verificar a diversidade genética de clones elites utilizados no Programa de melhoramento genético da cana-de-açúcar da Rede Interuniversitária para o Desenvolvimento do Setor Sucroalcooleiro (RIDESA), por meio da similaridade genética e do coeficiente de parentesco, utilizando marcadores moleculares EST-SSR e verificar se a inclusão da informação do coeficiente de parentesco e da similaridade genética obtida por EST-SSR, na análise dialélica via modelos mistos, melhora a acurácia das predições e ocasiona mudanças no ranqueamento das estimativas da capacidade geral de combinação e da capacidade específica de combinação.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Base genética da cana-de-açúcar

A cana-de-açúcar é uma planta perene, em sua forma natural, pertencente à família Poaceae, tribo Andropogoneae, sendo as variedades utilizadas atualmente espécies e híbridos do gênero *Saccharum*, originado de diferentes locais da Nova Guiné, Índia, China, Japão e África (MATSUOKA; GARCIA; ARIZONO, 2005).

Embora por centenas de anos a maior parte do açúcar produzido tenha sido proveniente da espécie *Saccharum officinarum* ($2n = 80$), outras espécies do gênero foram usadas na produção comercial na Índia e China. Assim acredita-se que a cana-de-açúcar atualmente cultivada possui em maior ou menor parte a contribuição de *Saccharum robustum* Brandes e Jesweit ex Grassi ($2n = 60-205$), *Saccharum spontaneum* L. ($2n = 40-128$), podendo ser incluídas ainda *Saccharum barberi* Jesweit ($2n = 81-124$) e *Saccharum sinensi* Roxb ($2n = 111-120$). Mesmo sendo do gênero, a espécie *Saccharum edule* Hassk ($60-80$) não tem participação, sendo usada como vegetal pelos nativos da Nova Guiné (STEVENSON, 1965).

Além dos cruzamentos interespecíficos, acredita-se que a cana seja proveniente de um grupo de cruzamento bastante próximo, denominado de “Complexo *Saccharum*”, que compreende diferentes gêneros, *Saccharum*, *Erianthus* sect. *Ripidium*, *Sclerostachya* e *Narenga*, podendo ser acrescidos *Miscanthus* sect e *Diandra* Keng (MATSUOKA; GARCIA; ARIZONO, 2005), hipóteses estas que têm sido testadas com o auxílio de marcadores moleculares e sequenciamento de DNA (HODKINSON et al., 2002).

O resultado deste processo é que as canas usadas comercialmente são híbridos interespecíficos (obtidos do cruzamento de diferentes espécies) polianeuploides (com cromossomos duplicados ou ausentes), geralmente com o número de cromossomos acima de 100 (HOARAU et al., 2001;

JANNOO et al., 2004). O genoma da cana-de-açúcar, com padrão genético de difícil análise, é o responsável pela complexa herança apresentada por seus caracteres dificultando, em parte, o seu melhoramento genético (TEIXEIRA, 2006; TOMKINS et al., 1999).

2.2 Divergência genética

As diferenças entre os seres vivos baseiam-se na diversidade genética que está codificada nos genes, porém, apenas uma pequena porção da variabilidade genética total dentro de cada espécie é utilizada em plantas comerciais (WEI; RATTEY, 2003). Geralmente uma das primeiras preocupações de um melhorista é a existência de variabilidade genética no germoplasma (BOREM; MIRANDA, 2005), que pode aumentar as chances de encontrar indivíduos superiores nas gerações segregantes (CRUZ; REGAZZI; CARNEIRO, 2004).

Na cultura da cana-de-açúcar a maioria das variedades hoje plantadas são híbridos provenientes dos programas de melhoramento brasileiros que usam preferencialmente as variedades nacionais como genitores (BARBOSA, 2001).

A utilização generalizada de variedades comerciais adaptadas aos sistemas agrícolas, frequentemente oriundos de ancestrais muito próximos, com pequena distância genética entre si, pode levar ao estreitamento da base genética e ao fenômeno genético denominado vulnerabilidade genética (ALMEIDA et al., 2005; BOREM; MIRANDA, 2005). Assim, o conhecimento da diversidade genética, entre variedades comerciais em programas de melhoramento de plantas, é de fundamental importância para os melhoristas na identificação e organização dos recursos genéticos disponíveis, visando à utilização desses na produção de novas variedades promissoras (PALOMINO et al., 2005).

Ainda hoje os melhoristas tem se baseado predominantemente, e com sucesso, numa base genética comum obtida no início do século, através

de cruzamentos interespecíficos e retrocruzamento para *Saccharum officinarum* (MATSUOKA; GARCIA; ARIZONO, 2005).

No entanto, Ferreira et al. (2005) mencionam que o uso de genitores com parentesco próximo pode estreitar a base genética trazendo perdas devido à depressão por endogamia. Estes autores encontraram, em cana-de-açúcar, valores expressivos de depressão endogâmica para os caracteres toneladas de Brix por hectare (TBH), toneladas de colmo por hectare (TCH), comprimento, diâmetro e peso médio dos colmos em plantas obtidas por autofecundação. Segundo Ronzelli Júnior (1996), tanto as autofecundações quanto os cruzamentos entre parentes (endogamia) conduzem à homozigose, sendo a endogamia associada aos efeitos depressivos em razão do aparecimento de características deletérias. Concordando com esta afirmação, outros autores também citam os efeitos negativos da depressão por endogamia em diferentes espécies (BISON et al., 2004; RODRIGUES et al., 2001).

Para Ronzelli Júnior (1996), muitos desses caracteres recessivos deletérios encontram-se ocultados pelos alelos dominantes nas formas heterozigóticas, e aparecem após os cruzamentos endogâmicos, e devem estar associados às espécies alógamas, que possuem significativo grau de heterozigose entre os indivíduos. Recomendando, neste caso, o uso de indivíduos não aparentados em cruzamentos, evitando estes efeitos indesejáveis.

Silva et al. (2005) estudaram a divergência de clones de cana-de-açúcar da série RB91, concluindo em seu trabalho que a base genética era bastante estreita, o que poderia causar baixos ganhos no melhoramento genético da cana-de-açúcar. Segundo esses autores, o uso de indivíduos divergentes geneticamente pode contribuir positivamente para o melhoramento genético da cana-de-açúcar.

O cálculo da divergência genética tem sido amplamente utilizado com o objetivo de identificar as combinações híbridas de maior efeito

heterótico, aumentando a possibilidade de encontrar genótipos superiores em suas gerações segregantes (CRUZ; REGAZZI; CARNEIRO, 2004).

Muitos trabalhos, com diferentes culturas, enfatizam a importância da divergência genética entre os indivíduos dentro de programas de melhoramento genético e na escolha de parentais com o objetivo de aumentar a heterose nas populações segregantes - berinjela (SILVA et al., 2001), capim elefante (SHIMOYA et al., 2002), milho pipoca (CARPENTIERI-PIPOLO, SILVA; SEIFERT, 2003), aveia (MACHIORO et al., 2003), trigo (CRUZ et al., 2004), feijão (TEIXEIRA et al., 2004), cacau (ALMEIDA et al., 2005), jaborandi (MOURA et al., 2005), pimenta e pimentão (SUDRE et al., 2005).

2.2.1 Avaliação da divergência genética

Atualmente vários métodos podem ser utilizados no estudo da divergência genética, dentre eles os marcadores moleculares, o coeficiente de parentesco e a metodologia de análise multivariada (BONATO et al., 2006; MIRANDA et al., 2001).

2.2.1.1 Marcadores moleculares

O mais eficiente e mais moderno método de avaliação da divergência genética é, sem dúvida, o uso marcadores moleculares (BERED et al., 2002). Para Borém e Caixeta (2006), a natureza poligênica dos caracteres de importância agrônômica e a interação genótipo-ambiente constituem um dos maiores desafios do melhoramento, limitando o progresso genético. Sendo assim, novas tecnologias como a identificação e seleção baseada diretamente no genótipo do indivíduo pode resultar em maior progresso genético, o que poderia ser obtido pelo uso de marcadores moleculares, pelo fato destes basearem-se no DNA dos indivíduos. Esta metodologia tem sido usada em diversas áreas da agricultura e muitos trabalhos enfatizam a sua eficiência, em soja (BONATO et al., 2006), trigo

(BERED et al., 2002), milho (CARVALHO et al., 2002), feijão (CASTANHEIRA; SANTOS, 2004; HAGIWARA; SANTOS; CARMO, 2001; PALOMINO et al., 2005), cacau (DIAS; ROCHA; PICOLO, 2005; FALEIRO et al., 2004a, 2004b; TEIXEIRA-CABRAL et al., 2004; YAMADA et al., 2001, 2003) entre outras.

Em cana-de-açúcar esta metodologia tem sido amplamente utilizada, no estudo da contribuição das espécies e gêneros na origem da cana-de-açúcar (AITKEN et al., 2007; JANOO et al., 2004); na identificação dos genes e enzimas responsáveis por caracteres de importância agrônômica (AITKEN et al., 2004; BONNETT et al., 2004; GRIVET; GLASZMANN; ARRUDA, 2001; JORDAN et al., 2004; MING et al., 2001); e também na divergência genética entre variedades comerciais.

Selvi et al. (2005) caracterizaram 28 cultivares de cana-de-açúcar cultivadas nas regiões tropicais e subtropicais da Índia através de marcadores AFLP, e verificaram que onze primers selecionados nesse estudo foram suficiente para separar todos as cultivares individualmente e sugeriram sua utilização na identificação de cultivares de cana-de-açúcar. Observaram também que a diversidade genética entre essas cultivares foi muito mais elevada que as medidas de diversidade dentro de cada uma das regiões destes dois grupos adaptáveis. Os autores constataram ainda, que o agrupamento das cultivares também correspondeu às relações de suas genealogias.

Lima et al. (2002) utilizaram marcadores AFLP e dados de genealogia para investigar um grupo de 79 cultivares e quatro espécies de *Saccharum* quanto as relações genéticas observaram uma correlação estatisticamente significativa ($r=0,42$ $P<0,001$), sugerindo que as informações dos marcadores utilizados podem ajudar na quantificação do grau de relações com maior precisão entre cultivares de cana-de-açúcar.

Matsuoka et al. (2005) utilizaram SSR para caracterizar 32 clones de cana-de-açúcar e verificaram que os marcadores polimórficos permitiram identificar os genótipos avaliados. Eles enfatizaram que estes tipos de

marcadores podem ser utilizados de forma rápida na identificação de clones de cana-de-açúcar.

Queme, Molina e Melgar (2005) também utilizaram marcadores SSR para avaliar 48 cultivares de cana-de-açúcar através do coeficiente de Dice e obtiveram variação entre cada par de genótipos de 0 a 0,52, com uma média de 0,11, o qual indicou a existência de variabilidade genética.

Quirino (2003) investigou a existência de polimorfismo de sequências nucleotídicas SNPs (Single nucleotide polymorphisms) em fragmentos genômicos homólogos a genes de resistência em cana-de-açúcar. A comparação de sequências entre cultivares possibilitou a identificação de quatro a seis fragmentos distintos e concluiu que a utilização de SNPs como marcadores moleculares baseados em PCR, em cana-de-açúcar, mostrou-se mais complexa quando comparada a plantas diplóides.

Sindhu et al. (2011) utilizaram sequências marcadas com microssatélites para investigar a diversidade genética em 22 híbridos de cana-de-açúcar (complexo *Saccharum* spp), que representam todas as regiões agro-ecológicas climáticas da Índia tropical, detectaram uma variação de 0,574 a 0,889 de similaridade por meio do coeficiente de Jaccard. Os híbridos foram agrupados em cinco grupos distintos, indicando a influência da adaptação das variedades às condições agro-climáticas em particular. O estudo também identificou 12 marcadores únicos que podem ser úteis na identificação varietal e rouging nos lote de sementes.

A utilização de marcadores moleculares em cana-de-açúcar também tem sido empregada com outros propósitos desde a década 90 do século XX. Zucchi, Vieira e Arizona (1996) utilizaram RAPD para estudar variação somaclonal na cultivar RB835486 e concluíram que as variações em função do polimorfismo observado foram de natureza genética.

Na atualidade, os projetos de sequenciamento de etiquetas de sequências expressas (ESTs) de culturas de importância, tais como a cana-de-açúcar (UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS - UNICAMP, 2012), arroz (NATIONAL KEY LABORATORY OF CROP GENETIC

IMPROVEMENT, 2012) e sorgo têm permitido o desenvolvimento de microssatélites de forma rápida e econômica pela simples mineração de sequências repetitivas nos bancos de dados. Tais microssatélites por derivarem de ESTs são chamados de microssatélites funcionais (EST-SSRs) e são considerados de grande utilidade para acessar a diversidade ao nível de genes expressos em coleções de germoplasma e também no mapeamento genético, visto que o polimorfismo gerado permite o mapeamento direto de genes expressos, os quais podem proporcionar a identificação de marcadores funcionais associados a características de interesse.

Os EST-SSR por representarem parte de um gene transcrito, amplificam regiões conservadas do genoma e, portanto, apresentam uma maior transferibilidade entre espécies correlacionadas sendo utilizados como marcadores âncoras no mapeamento comparativo (OLIVEIRA et al., 2009).

Os primeiros estudos utilizando ESTs de cana-de-açúcar foram desenvolvidos pelo grupo da África do Sul, utilizando amostras de palmito e colmo (CARSON; BOTHA, 2000). Apesar de terem analisado apenas uma pequena coleção de sequências (< 500 ESTs), os dados foram suficiente para nos mostrar a diversidade das funções fisiológicas envolvidas na cana-de-açúcar e também que a análise de ESTs é um poderoso método na investigação do transcriptoma desta cultura. As primeiras observações foram que enquanto os entrenós da cana acumulam grandes quantidades de açúcar, os genes associados ao metabolismo de sacarose não se mostraram como abundantes nesse tecido. Esse trabalho inicial foi seguido de estudos envolvendo biblioteca de subtração visando a identificação de genes preferencialmente expressos em entrenós maduros de cana. E mais uma vez, os genes identificados não possuem relação com o metabolismo de sacarose (CARSON; HUCKETT; BOTHA, 2002).

A maior coleção de ESTs de cana-de-açúcar sequenciados provém do projeto SUCEST (Sugarcane Expressed Sequence Tag). A partir de seu banco de dados foi possível identificar genes associados ao estresse por frio (NOGUEIRA et al., 2003) e também por estresse oxidativo (KURAMA et

al., 2002); genes inibidores de protease associados a resistência a patógeno (FALCO; SILVA-FILHO, 2003; MELLO; TANAKA; SILVA-FILHO, 2003; SOARES-COSTA et al., 2002), especificidade de tecido envolvida na transdução de sinal (PAPINI-TERZI et al., 2005) e também avaliar especificidade de transposons (ARAUJO et al., 2005).

A Austrália também contribui na pesquisa em genômica de cana-de-açúcar. Seu principal objetivo é a identificação de genes envolvidos na maturação de entrenós, e consequentemente no processo de acumulação de sacarose (CASU et al., 2003, 2004). Todos esses estudos basearam-se em uma coleção de 7.409 ESTs de entrenós maduros, um tecido não estudado no projeto SUCEST (VETTORE et al., 2001, 2003). Esses dados, aliados a uma pequena coleção (1.089) de ESTs de entrenós imaturos e análise por cDNA microarrays, permitiu ao grupo avaliar genes diferencialmente regulados na maturação do entrenó. Esses estudos confirmaram que genes associados ao metabolismo de sacarose não são diferencialmente expressos nos entrenós. Porém, um gene codificante para um transportador de hexose foi o que apresentou a maior expressão diferencial em entrenós maduros. Sua expressão nas células companheiras e no parênquima vascular permite uma especulação no seu envolvimento no acúmulo de sacarose em cana-de-açúcar (CASU et al., 2003). A análise desses ESTs por cDNA microarrays também foi utilizada para investigar outros genes associados à maturação do entrenó (CASU et al., 2004). Os autores encontraram como diferencialmente expressos nesses tecidos, genes associados com a síntese e processamento de proteínas, além de metabolismo primário. A maturidade do entrenó é associada com a abundância de transcritos envolvidos com lignificação e suberização, e também com a redução de expressão de histonas associadas com a replicação de DNA, o que provavelmente reflete uma menor taxa de divisão celular nesse tecido.

Claramente, um rápido progresso tem sido feito nesses anos para o entendimento do transcriptoma da cana-de-açúcar. Porém são poucos os relatos que usam populações segregantes para determinada característica a

fim de se identificar genes ligados a tal. Recentemente Casu et al. (2005) publicaram resultados preliminares de um estudo de expressão gênica baseando nessa estratégia. Em seu artigo, os autores relatam que análises envolvendo uma população segregante para teor de sacarose estão em andamento.

2.2.1.2 Coeficiente de parentesco

Informações sobre a base genética do germoplasma e as relações entre o material elite que será melhorado, com a escolha de parentais para a obtenção de híbridos, é essencial em programas de melhoramento (HALLAUER; MIRANDA FILHO, 1981). Uma ferramenta proposta para auxiliar o melhorista nessa tarefa é o conhecimento *a priori* do grau de parentesco entre os possíveis genitores. O grau de parentesco entre as variedades pode ser estimado pelo coeficiente de parentesco (f_{xy}) (KEMPTHORNE, 1969), também chamado de coancestralidade ou coeficiente de *kinship* (FALCONER, 1987), fornecendo uma estimativa das relações genéticas entre dois genótipos baseado na análise de genealogia (COX et al., 1985).

O coeficiente de parentesco entre dois genótipos é a probabilidade de que um alelo, ao acaso, de um indivíduo seja idêntico na origem a um alelo, ao acaso, do mesmo loco de outro indivíduo (MALECOT, 1948). O cálculo além de requerer a genealogia detalhada de todos os genótipos, admite que os ancestrais originais do germoplasma em estudo não são relacionados ($f_{xy} = 0$). Também admite-se que cada parental contribui com igual proporção de alelos para sua progênie, portanto, não há seleção, fato este que muitas vezes não corresponde à realidade (CARTER et al., 1993).

O cálculo do coeficiente de parentesco usado para espécies autógamas teve que ser adaptado para sua utilização na cultura da cana-de-açúcar. Como todos os ancestrais, cultivares e parentais em cana-de-açúcar são heterozigotos foi admitido o valor de $f_{xy} = 0,5$ no parentesco do genótipo

consigo mesmo (CHANG; LO, 1993), diferentes das espécies autógamas, em que este valor é 1,0. Deren (1995), avaliando a diversidade genética das *Saccharum* spp. cultivadas nos EUA fez outra modificação; ele calculou um valor médio de f_{xy} entre todos os parentais masculinos envolvidos em policruzamento para estimar sua contribuição genética, pois, em policruzamentos, apenas os parentais femininos são conhecidos. O autor concluiu que dez ancestrais contribuíram com 90% ou mais do germoplasma dos cultivares de Louisiana e, que o coeficiente de parentesco médio dos cultivares tanto de Louisiana quanto da Flórida aumentou.

Garcia et al. (1999) calcularam o coeficiente de parentesco entre 137 variedades brasileiras de cana-de-açúcar, obtendo uma média de 0,0586, com valores variando de 0,0 a 0,5039. A variedade que mostrou o maior parentesco médio com as demais variedades avaliadas foi a NA56-79 ($f_{xy}=0,1551$), indicando que ela foi muito utilizada em programas de melhoramento genético em anos recentes.

Muitas vezes a cana-de-açúcar apresenta genealogia incompleta ou desconhecida. Além disso, as pressuposições assumidas para cálculo do f_{xy} normalmente não são atendidas. Portanto, seria de muita utilidade algum método que pudesse determinar o grau de parentesco entre variedades de cana-de-açúcar, independentemente do conhecimento de sua genealogia. Ao contrário do parentesco medido a partir da análise genealógica, a análise por marcadores moleculares fornece uma medida direta da diversidade.

Sabe-se que várias espécies vegetais de importância agrônômica e comercial possuem ploidia elevada. No melhoramento vegetal, a análise do parentesco entre dois genótipos tem auxiliado muitos melhoristas na identificação de grupos parentais promissores e combinações a serem exploradas em programas de melhoramento, como é o caso da batata (MENDOZA; HAYNES, 1974), do trigo (KIM; WARD, 1997), da cana-de-açúcar (DEREN, 1995) e do milho (LÜBBERSTEDT et al., 2000). As estimativas de coeficiente de parentesco têm sido apenas indicadores preliminares das combinações mais divergentes, entretanto, têm sido úteis

nos programas de melhoramento em estágios iniciais, cujo acúmulo de informações fenotípicas e moleculares das populações ainda são escassas.

Lima et al. (2002) utilizaram o procedimento PROC INBREED incluído no programa SAS (STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM INSTITUTE - SAS INSTITUTE, 2000) na análise de parentesco em cana-de-açúcar. Neste trabalho, os autores adotaram algumas pressuposições, como f_{xy} igual a zero para ancestrais distantes e coeficientes de endogamia também iguais a zero, em virtude da característica heterozigota dos genótipos da cultura da cana-de-açúcar, além de considerar a segregação bivalente da espécie.

2.3 Análise dialélica

Um dos principais desafios encontrados pelos melhoristas de plantas é a escolha das combinações parentais que vão gerar as populações segregantes a serem submetidas à seleção. Diversos métodos têm sido propostos para escolha de populações em espécies autógamas e alógamas (BAENZIGER; PETERSON, 1992). Dentre eles, destacam-se os cruzamentos dialélicos.

Os cruzamentos dialélicos podem ser utilizados para avaliação da capacidade geral (CGC) e específica de combinação (CEC) dessas linhagens. Porém, com poucos genótipos tem-se uma grande quantidade de cruzamentos, o que torna a técnica pouco utilizada nas fases iniciais dos programas de melhoramento. Uma das alternativas a essa grande quantidade de genótipos nas fases iniciais de avaliação seria a realização de cruzamentos “top cross”. Contudo, esse método é menos preciso na estimativa da CGC em relação aos dialelos parciais (ARAÚJO, 2000). Além disso, não é possível obter as estimativas da CEC entre as linhagens que auxiliam o melhorista na seleção de genótipos superiores.

Em algumas culturas, a exemplo do milho, outra alternativa seria a realização de uma pré-seleção, ou screening, com base nas distâncias

genéticas em linhagens parcialmente endogâmicas com objetivo de cruzar apenas os genótipos promissores em cruzamentos dialélicos. A vantagem de se realizar dialélicos em linhagens parcialmente endogâmicas está no seu potencial na obtenção de híbridos que podem ser diretamente utilizados, muito antes que essas linhagens estejam com alto grau de endogamia como linhagens S6 ou S7 (AMORIM; AMORIM; SANTOS, 2006; CARLONE; RUSSEL, 1988). Além disso, existe alta correlação entre o desempenho dos indivíduos em gerações precoces e gerações avançadas, o que viabiliza ainda mais a avaliação de cruzamentos dialélicos em linhagens com moderada endogamia (BERNARDO, 1991).

Em cana-de-açúcar, entretanto, os cruzamentos dialélicos têm apresentado algumas dificuldades, pois alguns clones apresentam incompatibilidade, quando cruzados e/ou são macho-estéreis. Outro problema é a ocorrência de autofecundação, uma vez que os métodos de emasculação artificial não são totalmente eficientes (HOGARTH, 1980).

Sprague e Tatum (1942) propuseram o uso dos cruzamentos dialélicos para estimar a CGC e CEC. A CGC refere-se à performance média de uma cultivar ou um clone em combinações híbridas ao passo que a CEC é usada para designar aqueles casos em que certas combinações híbridas são melhores ou piores que o esperado, com base na performance média de cultivares ou clones envolvidos. A CGC está associada a genes de efeitos principalmente aditivos, além dos efeitos epistáticos aditivos x aditivos. Por sua vez a CEC depende, basicamente, de genes com efeitos dominantes e de vários tipos de interações (CRUZ; REGAZZI, 1994).

Estudos de genética quantitativa têm mostrado que a CGC é mais importante que a CEC para a maioria dos caracteres de importância econômica na cana-de-açúcar, como teor de açúcar, resistência a doenças tais como carvão, ferrugem e mal de Fiji; e conteúdo de fibra. A principal exceção é a tonelada de colmos por hectare, em que ambas as variâncias têm apresentado valores similares (HOGARTH; COX; BULL, 1997).

Por outro lado, Miller (1977) não encontrou diferença significativa da CGC para as características massa média de colmos, número de colmos, diâmetro de colmos, Brix, toneladas de colmos por hectare e toneladas de açúcar por hectare, enquanto a CEC foi significativa para todas essas características. Esse resultado é bastante incomum quando comparado a outros trabalhos (BRESSIANI et al., 2001; HOGARTH; COX; BULL, 1997). Talvez esses resultados possam ter ocorrido em consequência da autofecundação nos cruzamentos tendo em vista que Miller (1977) não utilizou nenhum método para preveni-la, conforme ressaltado por Hogarth (1980).

O fato de prevalecer a CGC para diversas características em cana-de-açúcar implica selecionar os genitores com base em sua performance. De outra forma, como a CEC tem-se mostrado tão importante quanto a CGC na expressão da característica toneladas de colmos por hectare, torna-se pouco provável prever com precisão a performance dos cruzamentos. Nesse caso, grande número de cruzamentos deveria ser realizado e avaliado em experimentos com repetição para identificar as melhores famílias e prosseguir com a seleção em nível de indivíduos para obtenção dos clones.

2.4 Metodologia de modelos mistos

A metodologia dos modelos mistos foi inicialmente proposta por Henderson em 1949, e consiste na predição de valores genéticos tratados como efeitos aleatórios corrigidos para os demais efeitos fixos contidos no modelo. Por meio dessa metodologia pode-se obter o melhor preditor linear não viesado (BLUP) dos valores genéticos, além do melhor estimador linear não viesado (BLUE) dos efeitos fixos (HENDERSON, 1974, 1975). As propriedades do BLUP evidenciam sua superioridade teórica como preditor de valores aleatórios. Essa superioridade tem sido evidenciada principalmente através do uso de simulações (ANDRÉ, 1999; BUENO FILHO, 1997). White e Hodge (1989) apresentam várias propriedades úteis

do BLUP quando utilizado no melhoramento genético vegetal, dentre as quais se destacam: a) a estimação e predição não viesada através de um procedimento único (BLUE e BLUP); b) a possibilidade de se levar em conta os efeitos de seleção e endogamia ao longo das gerações desde que o grau de parentesco entre os indivíduos avaliados seja conhecido; c) a correlação entre os valores genéticos verdadeiros e os preditos é máxima entre as classes de preditores lineares não viesados; d) a possibilidade de se prever o valor genético de indivíduos observados ou não; e) as variâncias e os erros do BLUP são menores em relação aos outros métodos.

A predição dos valores genéticos requer o conhecimento prévio dos componentes de variância e covariâncias envolvidos. Existem vários métodos de estimação de componentes de variância que podem ser utilizados (LYNCH; WALSH, 1998; RESENDE, 2002; SEARLE; CASELA; McCULLOCH, 1992). Dentre estes podemos destacar o método da máxima verossimilhança restrita (REML) proposto por Patterson e Thompson (1971).

Uma vez que o BLUP permite a inclusão de matrizes de variância e covariância genética na análise, as matrizes de similaridade genética obtidas por marcadores moleculares ou coeficiente de parentesco podem ser, perfeitamente, utilizadas.

Estão disponíveis, atualmente, diversas técnicas de biologia molecular para detecção de variabilidade genética diretamente no DNA. As diferenças encontradas podem ser utilizadas para estudos de divergência entre indivíduos e substituem, com vantagem, medidas baseadas em genealogias. Tais diferenças podem ser detectadas por hibridação, com uso de marcadores do tipo RFLP, e por amplificação, que tem como princípio o emprego de reações de PCR para o aumento de sequências específicas. Os principais marcadores deste tipo são o SSR (microsaélites), o RAPD e o AFLP (LIU, 1998).

Os coeficientes de similaridade são medidas que quantificam o quanto dois indivíduos são parecidos. Esses coeficientes podem ser divididos em duas categorias: medidas de similaridade e de dissimilaridade. Para a

primeira, quanto maior o valor observado, mais parecidos são os indivíduos, para a segunda, quanto maior o valor observado, menos parecidos são os indivíduos (MEYER, 2002). Para cada tipo de variável (quantitativa e qualitativa) são definidos diferentes coeficientes de similaridade (SNEATH; SOKAL, 1973). A partir dessas medidas são calculados os coeficientes de parentesco entre os indivíduos, permitindo posteriormente o emprego da metodologia de modelos mistos (BERNARDO, 1993; MEYER, 2002).

Quando se dispõe de informações de genealogia, uma alternativa é a utilização do coeficiente de parentesco (f_{xy}) ou coeficiente de Malécot (1948), também chamado de coancestralidade ou coeficiente de *kinship*, que fornece uma estimativa das relações genéticas entre dois genótipos (COX et al., 1985; FALCONER, 1987; KEMPTHORNE, 1969).

Na análise dialélica usual admite que os valores genéticos são fixos, o que pode induzir a distorções nas avaliações e influir na obtenção de estimativas dos valores genéticos (HENDERSON, 1974, 1975, 1984). André (1999) e Martins (1995) argumentam que, se considerarmos a segregação alélica, em que cada genótipo é um veículo de alelos que segregam e se unem para formar novos genótipos, temos que os indivíduos tirados de cada cruzamento representam uma amostra dos possíveis descendentes.

O BLUP possibilita, além da predição mais precisa do mérito genético, a inclusão do coeficiente de endogamia para todos os indivíduos avaliados, se toda a informação de parentesco for conhecida (HENDERSON, 1974, 1984). Quando se dispõe de pouca ou nenhuma informação sobre o indivíduo, informações de parentes podem contribuir para a predição do seu valor genético. A magnitude dessa contribuição é determinada pelo grau de parentesco entre os indivíduos envolvidos na análise, sendo que, quanto maior for o grau de relacionamento genético, maior será esta contribuição (PANTER; ALLEN, 1995).

Bernardo (1994) comparou os resultados obtidos para o melhor preditor linear não viesado (BLUP) obtidos por meio de informações de parentesco de dois grupos de linhagens de milho. Para tanto, empregou

genealogia e dados de marcadores moleculares do tipo RFLP (“restriction fragment length polymorphism”), sendo que o principal objetivo do trabalho consistiu em avaliar a eficiência do melhor preditor não viesado (BLUP) para prever cruzamentos não realizados. Não foram verificadas alterações significativas nos resultados obtidos usando as genealogias ou os dados de marcadores moleculares. Desta forma, a utilização da informação de marcadores moleculares seria uma alternativa viável, desde que não se disponha de informações confiáveis da genealogia das linhagens avaliadas, o que normalmente ocorre na prática.

A utilização do BLUP para predição do desempenho genético de híbridos não testados tem um grande potencial para fornecer auxílio ao melhoramento genético, apesar da correlação entre o desempenho genotípico do cruzamento predito e o seu valor fenotípico ser baixo em muitos casos, essa abordagem apresenta vantagens (BERNARDO, 1994). Este autor considera relevante o uso de técnicas preditivas como alternativa viável para diminuir custos e tempo com a avaliação de híbridos em um programa de melhoramento de grande porte, onde são avaliados milhares de combinações híbridas anualmente e apenas uma pequena quantidade é aproveitada como híbridos comerciais.

REFERÊNCIAS

AITKEN, K. et al. Characterization of intergeneric hybrids of *Erianthus rockii* and *Saccharum* using molecular markers. **Genetic Resources and Crop Evolution**, Melbourne, v. 57, n. 7, p. 1395-1405, July 2007.

_____. QTL identified for yield components in a cross between a sugarcane (*Saccharum* spp.) varieties Q165A and *S. officinarum* clone IJ76-514. In: INTERNATIONAL CROP SCIENCE CONGRESS, 4., 2004, Melbourne. **Proceedings...** Melbourne: The Regional Institute, 2004. Disponível em: <<http://www.cropscience.org.au>>. Acesso em: 26 ago. 2007.

ALMEIDA, C. M. C. V. et al. Variability in genetic resources of cacao in Rondônia, Brazil. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, Londrina, v. 5, n. 3, p. 318-324, 2005.

AMORIM, E. P.; AMORIM, U. B. O.; SANTOS, J. B. dos. Genetic distance based on SSR and grain yield of inter an intrapopulational maize single cross hybrids. **Maydica**, Bergamo, v. 51, n. 3, p. 507-513, 2006.

ANDRÉ, C. M. G. **Avaliação da melhor predição linear não tendenciosa (BLUP) associada ao uso de marcadores moleculares na análise dialélica**. 1999. 101 p. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 1999.

ARAÚJO, P. G. et al. Transcriptionally active transposable elements in recent hybrid sugarcane. **Plant Journal**, Oxford, v. 44, n. 5, p. 707-717, Dec. 2005.

ARAÚJO, P. M. **Dialelo parcial circulante interpopulacional e cruzamentos “top cross” na avaliação de linhagens parcialmente endogâmicas de milho**. 2000. 170 p. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas) - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Piracicaba, 2000.

BAENZIGER, P. S.; PETERSON, C. J. Genetic variation: its origin and use for breeding self-pollinated species. In: STALKER, H. T.; MURPHY, J. P.

(Ed.). **Plant breeding in the 1990s**. Wallingford: CAB International, 1992. p. 69-100.

BARBOSA, M. H. P. Study of genetic divergence in sugarcane varieties grown in Brazil using the parentage coefficient. **International Sugar Journal**, London, v. 103, n. 1231, p. 294-295, 2001.

BERED, F. et al. Genetic variability in wheat (*Triticum aestivum* L.) germoplasm revealed by RADP markers. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, Londrina, v. 2, n. 4, p. 499-506, 2002.

BERNARDO, R. Correlation between tests cross performance of lines early and last selfing generation. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 82, n. 1, p. 17-21, Mar. 1991.

_____. Estimation of coefficient of coancestry using molecular markers in maize. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 85, n. 8, p. 1055-1062, Feb. 1993.

_____. Prediction of maize single-cross performance using RFLPs and information from related hybrids. **Crop Science**, Madison, v. 34, n. 1, p. 20-25, Jan./Feb. 1994.

BISON, O. et al. Inbreeding depression in *Eucalyptus* clones. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, Londrina, v. 4, n. 4, p. 459-464, 2004.

BONATO, A. L. V. et al. Prediction of genetic variability through AFLP-based measure of genetic distance in soybean. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, Londrina, v. 6, n. 1, p. 30-39, Jan./Feb. 2006.

BONNETT, G. et al. Identification of genes contributing to high sucrose accumulation in sugarcane. In: INTERNATIONAL CROP SCIENCE CONGRESS, 4., 2004, Melbourne. **Proceedings...** Melbourne: The Regional Institute, 2004. Disponível em: <<http://www.cropscience.org.au>>. Acesso em: 26 ago. 2007.

BOREM, A.; CAIXETA, E. T. **Marcadores moleculares**. Viçosa, MG: UFV, 2006. 374 p.

BOREM, A.; MIRANDA, G. V. **Melhoramento de plantas**. 4. ed. Viçosa, MG: UFV, 2005. 525 p.

BRESSIANI, J. A. et al. Combining ability in eight selected clones of sugarcane (*Saccharum* sp). **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, Londrina, v. 2, n. 3, p. 411-416, 2001.

BUENO FILHO, J. S. de S. **Modelos mistos na predição de valores genéticos aditivos em testes de progênes florestais**. 1997. 118 f. Tese (Doutorado em Estatística e Experimentação Agronômica) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Piracicaba, 1997.

CARLONE, M. R.; RUSSEL, W. A. Evaluation of S2 maize lines reproduced from several generations by random mating within lines: II., comparisons of testcross performance of original and advanced S2 and S8 lines. **Crop Science**, Madison, v. 28, n. 6, p. 916-920, Nov./Dec. 1988.

CARPENTIERI-PIPOLO, V.; SILVA, F. A. M.; SEIFERT, A. L. Popcorn parental selection based on genetic divergence. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, Londrina, v. 3, n. 4, p. 261-268, 2003.

CARSON, D. L.; BOTHA, F. C. Genes expressed in sugarcane maturing internodal tissue. **Plant Cell Reports**, Berlin, v. 20, n. 10, p. 1075-1081, Oct. 2002.

CARSON, D. L.; HUCKETT, B. I.; BOTHA, F. C. Sugarcane ESTs differentially expressed in immature and maturing internodal tissue. **Plant Science**, Shannon, v. 162, n. 2, p. 289-300, Feb. 2002.

CARTER, D. et al. **ISIS user's manual XXIV**. Version 1.0. La Palma: I. Newton Group, 1993. 664 p.

CARVALHO, V. P. et al. Assessment of genetic diversity in maize (*Zea mays* L.) landraces using inter simple sequence repeat (ISSR) markers. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, Londrina, v. 2, n. 4, p. 557-568, 2002.

CASTANHEIRA, A. L. M.; SANTOS, J. B. RADP markers assessment of self-pollinated inbreeding methods for common bean segregant populations. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, Londrina, v. 4, n. 1, p. 1-6, 2004.

CASU, R. E. et al. Genomics approaches for the identification of genes determining important traits in sugarcane. **Field Crops Research**, Amsterdam, v. 92, n. 1, p. 137-147, Jan. 2005.

_____. Identification of a novel sugar transporter homologue strongly expressed in maturing stem vascular tissues of sugarcane by expressed sequence tag and microarray analysis. **Plant Molecular Biology**, Dordrecht, v. 52, n. 2, p. 371-386, May 2003.

_____. Identification of differentially expressed transcripts from maturing stem of sugarcane by in silico analysis of stem expressed sequence tags and gene expression profiling. **Plant Molecular Biology**, Dordrecht, v. 54, n. 4, p. 503-517, Mar. 2004.

CHANG, Y. S.; LO, C. C. Genetic relationship among major sugar cane cultivars in Taiwan. **Report of the Taiwan Sugar Research Institute**, Taipei, v. 140, n. 1, p. 1-10, 1993.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **Acompanhamento de safra brasileira: cana-de-açúcar**, 1º levantamento. Brasília, 2012. 19 p.

COX, T. S. et al. Relationship between coefficient of parentage and genetic similarity indices in the soybean. **Crop Science**, Madison, v. 25, p. 529-532, 1985.

CRUZ, C. D.; REGAZZI, A. J. **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético**. Viçosa, MG: UFV, 1994. 390 p.

CRUZ, C. D.; REGAZZI, A. J.; CARNEIRO, P. C. S. **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético**. 3. ed. Viçosa, MG: UFV, 2004. 460 p.

CRUZ, P. J. et al. Genetic dissimilarity among wheat genotypes for lodging-associated traits. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, Londrina, v. 4, n. 3, p. 427-433, 2004.

DEREN, C. W. Genetic base of U.S. Mainland sugarcane. **Crop Science**, Madison, v. 35, p. 1195-1199, 1995.

DIAS, L. A. S.; ROCHA, R. B.; PICOLO, E. A. T. Distinctness of cacao cultivars using yield component data and RADP markers. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, Londrina, v. 5, n. 1, p. 47-54, 2005.

FALCO, M. C.; SILVA-FILHO, M. C. Expression of soybean proteinase inhibitors in transgenic sugarcane plants: effects on natural defense against *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae). **Plant Physiology and Biochemistry**, New Delhi, v. 41, n. 8, p. 761-766, Aug. 2003.

FALCONER, D. S. **Introdução à genética quantitativa**. Viçosa, MG: UFV, 1987. 279 p.

FALCONER, D. S.; MACKAY, T. F. **Introduction to quantitative genetics**. 4th ed. Essex: Longman, 1996. 464 p.

FALEIRO, F. G. **Marcadores moleculares aplicados a programas de conservação e uso de recursos genéticos**. Planaltina: EMBRAPA Cerrados, 2007. 102 p.

FALEIRO, F. G. et al. Genetic diversity of cacao accessions selected for resistance to witches' broom based on RADP markers. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, Londrina, v. 4, n. 1, p. 12-17, 2004a.

_____. Variability in cacao selected by producers for resistance to witches' broom base on microsatellite markers. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, Londrina, v. 4, n. 2, p. 290-297, 2004b.

FERREIRA, F. M. et al. Effects of inbreeding on the selection of sugar cane clones. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, Londrina, v. 5, n. 1, p. 174-182, 2005.

GARCIA, A. A. F. et al. Development of an integrated map of a sugarcane (*Saccharum* spp.) commercial cross, based on a maximum-likelihood approach for estimation of linkage and linkage phases. **Theoretical Applied Genetics**, Berlin, v. 112, n. 2, p. 298-314, Apr. 2006.

GRIVET, L.; ARRUDA, P. Sugarcane genomics: depicting the complex genome of an important tropical crop. **Current Opinion in Plant Biology**, London, v. 5, n. 1, p. 122-127, Feb. 2001.

GRIVET, L.; GLASZMANN, J. C.; ARRUDA, P. Sequence polymorphism from EST data in sugarcane: a fine analysis of 6-phosphogluconate dehydrogenase genes. **Genetic and Molecular Biology**, Ribeirão Preto, v. 24, n. 1/4, p. 161-167, 2001.

HAGIWARA, W. E.; SANTOS, J. B.; CARMO, S. L. M. Use of RADP to aid selection in common bean backcross breeding programs. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, Londrina, v. 1, n. 4, p. 335-362, 2001.

HALLAUER, A. R.; MIRANDA FILHO, J. B. **Quantitative genetics in maize breeding**. Ames: Iowa State University, 1981. 468 p.

HENDERSON, C. R. **Applications of linear models in animal breeding**. Ontario: University of Guelph, 1984. 462 p.

_____. Best linear unbiased estimation and prediction under a selection model. **Biometrics**, Washington, v. 31, n. 2, p. 423-447, Apr./June 1975.

_____. General flexibility of linear models for sire evaluation. **Journal of Dairy Sciences**, Champaign, v. 57, n. 8, p. 963-972, Aug. 1974.

HOARAU, J. Y. et al. Genetic dissection of a modern sugarcane cultivar (*Saccharum* spp.): I., genome mapping with AFLP markers. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 103, n. 1, p. 84-97, Feb. 2001.

HODKINSON, T. R. et al. Phylogenetics of *Miscanthus*, *Saccharum* and related genera (Saccharinae, Andropogoneae, Poaceae) based on DNA sequences from ITS nuclear ribosomal DNA and plastid trnL intron and trnL-F intergenic spacers. **Journal of Plant Research**, Tokyo, v. 115, n. 5, p. 381-392, Sept. 2002.

HOGARTH, D. M. The effect of occidental selfing on the analysis of a diallel cross with sugarcane. **Euphytica**, Dordrecht, v. 29, p. 737-746, 1980.

HOGARTH, D. M.; COX, M. C.; BULL, J. K. Sugarcane improvement: past achievements and future prospects. In: KANG, M. S. (Ed.). **Crop improvement for the 21st century**. Baton Rouge: Louisiana State University, 1997. p. 29-56.

JANNOO, N. et al. Molecular investigation of the genetic base of sugarcane cultivars. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 99, n. 1/2, p. 171-184, Apr. 2004.

JORDAN, D. R. et al. Markers associated with stalk number and suckering in sugarcane collocate with tillering and rhizomatousness QTLs in sorghum. **Genome**, Ottawa, v. 47, n. 5, p. 988-993, May 2004.

KEMPTHORNE, O. **An introduction to genetic statistics**. Ames: Iowa State University, 1969. 545 p.

_____. _____. Ames: Iowa State University, 1973. 545 p.

KIM, H. S.; WARD, R. W. Genetic diversity in Eastern U.S. soft winter wheat (*Triticum aestivum* L. em Thell.) based on RFLPs and coefficient of parentage. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 94, n. 3, p. 472-479, Sept. 1997.

KURAMAE, E. E. et al. Mining the enzymes involved in the detoxification of reactive oxygen species (ROS) in sugarcane. **Molecular Plant Pathology**, London, v. 4, n. 2, p. 251-259, Mar. 2002.

LIMA, M. L. A. et al. Analysis of genetic similarity detected by AFLP and coefficient of parentage among genotypes of sugarcane (*Saccharum* spp.). **Theoretical Applied Genetics**, Berlin, v. 104, n. 1, p. 30-38, Feb. 2002.
LIU, B. H. **Statistical genomics: linkage, mapping and QTL analysis**. Boca Raton: CRC, 1998. 611 p.

LÜBBERSTEDT, T. H. et al. Relationships among early European maize inbreds: IV., genetic diversity revealed with AFLP markers and comparison with RFLP, RAPD, and pedigree data. **Crop Science**, Madison, v. 40, n. 4, p. 783-791, Apr. 2000.

LYNCH, M.; WALSH, B. **Genetics and analysis of quantitative traits**. Sunderland: Sinauer Associates, 1998. 948 p.

MALÉCOT, G. **Les mathématiques de l'hérédité**. Paris: Masson, 1948. 63 p.

MARCHIORO, V. S. et al. Dissimilaridade genética entre genótipos de aveia. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 27, n. 2, p. 285-294, mar./abr. 2003.

MARTINS, E. N. **Desenvolvimento de uma estratégia computacional para seleção de coelhos, usando a melhor predição linear não-viesada**. 1995. 117 f. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 1995.

MATSUOKA, M. et al. Microsatellite markers for cultivar identification in sugarcane (*Saccharum* spp.). In: INTERNATIONAL SOCIETY OF SUGAR CANE TECHNOLOGISTS, 25., 2005, Atagua. **Proceedings...** Atagua: ISSCT, 2005. v. 2, p. 597-601.

MATSUOKA, S.; GARCIA, A. A. F.; ARIZONO, H. Melhoramento da cana-de-açúcar. In: BOREM, A. (Ed.). **Melhoramento de espécies cultivadas**. Viçosa, MG: UFV, 2005. p. 205-251.

- MELCHINGER, A. E. Genetic diversity and heterosis. In: COORS, J. G.; PANDEY, S. (Ed.). **The genetics and exploitation of heterosis in crops**. Madison: ASA, 1999. p. 99-118.
- MELLO, M. O.; TANAKA, A. S.; SILVA-FILHO, M. C. Molecular evolution of Bowman-Birk type proteinase inhibitors in flowering plants. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, Orlando, v. 27, n. 1, p. 103-112, 2003.
- MENDOZA, H. A.; HAYNES, F. L. Genetic basis of heterosis for yield in the autotetraploid potato. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 45, p. 21-25, 1974.
- MEYER, A. S. **Comparação dos coeficientes de similaridade usados em análise de agrupamento com dados de marcadores moleculares dominantes**. 2002. 106 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Piracicaba, 2002.
- MILLER, J. D. Combining ability and yield component analyses in a five parent diallel cross in sugar cane. **Crop Science**, Madison, v. 17, p. 545-547, 1977.
- MING, R. et al. QTL analysis in a complex autopolyploid: genetic control of sugar content in sugarcane. **Genome Research**, New York, v. 11, n. 12, p. 2075-2084, Dec. 2001.
- MIRANDA, G. V. et al. Genetic diversity among elite Brazilian soybean cultivars with arrow genetic base. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, Londrina, v. 1, n. 2, p. 115-123, 2001.
- MOURA, E. F. et al. Genetic diversity of *Policarpus microphyllus* accessions using leaf traits. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, Londrina, v. 5, n. 3, p. 348-354, 2005.
- NATIONAL KEY LABORATORY OF CROP GENETIC IMPROVEMENT. **General information**. Disponível em: <<http://redb.ncpgr.cn>>. Acesso em: 10 ago. 2012.

NOGUEIRA, F. T. S. et al. RNA expression profiles and data mining of sugarcane response to low temperature. **Plant Physiology**, Bethesda, v. 132, n. 4, p. 1811-1824, Aug. 2003.

OLIVEIRA, K. M. et al. Characterization of new polymorphic functional markers for sugarcane. **Genome**, Ottawa, v. 52, n. 2, p. 191-209, 2009.

PALOMINO, E. C. et al. Genetic diversity of common bean genotypes of Carioca commercial group using RADP markers. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, Londrina, v. 5, n. 1, p. 80-85, 2005.

PANTER, D. M.; ALLEN, F. L. Using best linear unbiased predictions to enhance breeding for yield in soybean: I., choosing parents. **Crop Science**, Madison, v. 35, n. 2, p. 397-405, Mar./Apr. 1995.

PAPINI-TERZI, F. S. et al. Transcription profiling of signal transduction-related genes in sugarcane tissues. **DNA Research**, Oxford, v. 12, n. 1, p. 27-38, Feb. 2005.

PATTERSON, H. D.; THOMPSON, R. Recovery of inter-block information when block sizes are unequal. **Biometrika**, London, v. 58, n. 3, p. 545-554, Dec. 1971.

QUEME, J. L.; MOLINA, L.; MELGAR, M. Analysis of genetic similarity among 48 sugarcane varieties using microsatellite DNA sequence. In: INTERNATIONAL SOCIETY OF SUGAR CANE TECHNOLOGISTS, 25., 2005, Atagua. **Proceedings...** Atagua: ISSCT, 2005. v. 2, p. 592-596.

QUIRINO, M. S. **Polimorfismo de seqüência nucleotídica em fragmentos genômicos de cana-de-açúcar homólogos a genes de resistência**. 2002. 52 p. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Piracicaba, 2003.

RESENDE, M. D. V. **Genética biométrica e estatística no melhoramento de plantas perenes**. Brasília: EMBRAPA Informação Tecnológica, 2002. 975 p.

RODRIGUES, M. C. et al. Comparison among inbreeding systems in maize. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, Londrina, v. 1, n. 2, p. 105-114, 2001.

RONZELLI JÚNIOR, P. **Melhoramento genético de plantas**. Curitiba: [s.n.], 1996. 219 p.

SEARLE, S.; CASELA, G.; MCCULLOCH, C. E. **Variance components**. New York: J. Willey, 1992. 501 p.

SELVI, A. et al. Genomic constitution and genetic relationship among the tropical and sub-tropical Indian sugarcane varieties revealed by AFLP. **Crop Science**, Madison, v. 45, n. 5, p. 1750-1757, May 2005.

SHIMOYA, A. et al. Divergência genética entre acessos de um banco de germoplasma de capim elefante. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 37, n. 7, p. 971-980, jul. 2002.

SILVA, C. M. et al. Genetic diversity among sugarcane clones (*Saccharum* spp.). **Acta Scientiarum Agronomy**, Maringá, v. 27, n. 2, p. 315-319, 2005.

SILVA, D. C. et al. DNA fingerprinting based on simple sequence repeat (SSR) markers in sugarcane clones from the breeding program RIDESA. **African Journal of Biotechnology**, Pretoria, v. 11, n. 21, p. 4722-4728, Mar. 2012.

SILVA, D. J. H. et al. Stability of genetic divergence among eggplant accesses in three stages of development. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, Londrina, v. 1, n. 2, p. 135-143, 2001.

SINDHU, R. et al. Genetic diversity in sugarcane hybrids (*Saccharum* spp. complex) grown in tropical India based on STMS markers. **Journal of Plant Biochemistry and Biotechnology**, Oxford, v. 20, n. 1, p. 118-124, Jan. 2011.

SNEATH, S.; SOKAL, R. R. **Numeric taxonomy: the principles and practice of numerical classification**. Sacramento: W. H. Freeman, 1973. 573 p.

SOARES-COSTA, A. et al. A sugarcane cystatin: recombinant expression, purification, and antifungal activity. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, Orlando, v. 296, n. 5, p. 1194-1199, Sept. 2002.

SPRAGUE, G. F.; TATUM, L. A. General versus specific combining ability in single crosses of corn. **Journal of the American Society of Agronomy**, Madison, v. 34, n. 10, p. 923-932, 1942.

STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM INSTITUTE. **SAS language and procedures**: usage. Version 8.1. Cary, 2000. 1 CD-ROM.

STEVENSON, G. C. **Genetics and breeding of sugar cane**. London: Longmans, 1965. 283 p.

SUDRE, C. P. et al. Divergência genética entre acessos de pimenta e pimentão utilizando técnicas multivariadas. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 23, n. 1, p. 22-27, jan./mar. 2005.

TEIXEIRA, A. B. et al. Genetic divergence in snap-bean (*Phaseolus vulgaris* L.) evaluated by different methodologies. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, Londrina, v. 4, n. 1, p. 57-62, 2004.

TEIXEIRA, L. H. M. **Mapeamento funcional em cana-de-açúcar utilizando ests como marcadores moleculares**. 2006. 96 p. Dissertação (Mestrado em Genética e Biologia Molecular) - Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2006.

TEIXEIRA-CABRAL, T. A. et al. Single-locus inheritance and partial linkage map of *Coffea arabica* L. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, Londrina, v. 4, n. 3, p. 416-421, 2004.

TOMKINS, J. P. et al. A bacterial artificial chromosome library for sugarcane. **Theoretical and Applied Genetic**, Berlin, v. 99, n. 3/4, p. 419-424, 1999.

UKOSKIT, K. et al. Novel expressed sequence tag- simple sequence repeats (EST-SSR) markers characterized by new bioinformatic criteria reveal high genetic similarity in sugarcane (*Saccharum* spp.). **Breeding Lines**, London, v. 11, n. 6, p. 1337-1363, 2012.

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS. **Cana de açúcar**. Disponível em: <<http://sucest.lad.dcc.unicamp.br/en>>. Acesso em: 10 ago. 2012.

VETTORE, A. L. et al. Analysis and functional annotation of an expressed sequence tag collection for tropical crop sugarcane. **Genome Research**, Cold Spring Harbor, v. 13, n. 12, p. 2725-2735, Dec. 2003.

_____. The libraries that made SUCEST. **Genetics and Molecular Biology**, Ribeirão Preto, v. 24, n. 1, p. 1-7, Mar. 2001.

VLECK, L. D. van. **Selection index in introduction to mixed model methods for genetic improvement of animals: the green book**. Boca Raton: CRC, 1993. 481 p.

WEI, X.; RATTEY, A. R. **Travel to the 12th Australasian Plant Breeding Conference**. Melbourne: Bureau of Sugar Experiment Station, 2003. 24 p.

WHITE, T. L.; HODGE, G. R. **Predicting breeding values with applications in forest tree improvement**. Dordrecht: Kluwer Academic, 1989. 376 p.

WOOD, C. M.; CHRISTIAN, L. L.; ROTHSFIELD, M. F. Use of animal model in situations of limited numbers and high degrees of relationships. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 69, n. 6, p. 1420-1427, June 1991.

YAMADA, M. M. et al. Genetic variability and heterozygosity of cocoa accessions of Parinari (Pa) population, base on microsatellite markers. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, Londrina, v. 3, n. 4, p. 289-296, 2003.

_____. Genetic variability in cultivated cacao population in Brazil, detected by isozymes and RADP markers. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, Londrina, v. 1, n. 4, p. 377-384, 2001.

ZUCCHI, M. I.; VIEIRA, M. L. C.; ARIZONA, H. Uso de RAPD na análise da variação somaclonal de cana-de-açúcar. In: CONGRESSO NACIONAL DA SOCIEDADE DOS TÉCNICOS AÇUCAREIROS E ALCOOLEIROS DO BRASIL, 6., 1996, Maceió. **Anais...** Maceió: STAB, 1996. p. 282-286.

CAPÍTULO II

Diversidade genética de clones elites de cana-de-açúcar detectada por marcadores EST-SSR e coeficiente de parentesco

RESUMO

O objetivo deste trabalho foi verificar a diversidade genética de clones elites utilizados no Programa de melhoramento genético da cana-de-açúcar da Rede Interuniversitária para o Desenvolvimento do Setor Sucroalcooleiro (RIDESA), por meio da similaridade genética, utilizando marcadores moleculares EST-SSR, e do coeficiente de parentesco, utilizando informações de pedigree. Para isso, foi extraído o DNA para avaliação molecular com *primers* EST-SSR polimórficos. O critério de seleção levou em consideração informações da literatura, indicando uma associação dos *loci* com caracteres quantitativos ou com base em sua capacidade para a discriminação de variedades em estudos de diversidade. As estimativas de similaridade genética foram obtidas usando-se o coeficiente de Jaccard. Foram estimados os erros associados a cada similaridade (s_{sg}). A matriz de similaridade foi analisada pelo método hierárquico UPGMA para construção de um dendrograma. O conteúdo de informação polimórfica foi obtido para análise do polimorfismo de cada *loco*. Foram identificados 471 fragmentos, dos quais 445 foram polimórficos, utilizados para estimar a similaridade genética entre os 63 clones elites de cana-de-açúcar. Os marcadores moleculares ESTB13, ESTA68, ESTC38, ESTB47, ESTB160, ESTC52, ESTB158, ESTC24, SCC01 e ESTC49 apresentaram os maiores valores de PIC. A similaridade genética estimada pelo coeficiente de Jaccard variou de 0,32 (entre RB8495 e RB912850; e RB9350 com L60-14 e Co62175) a 0,71 (entre SP83-2847 e SP83-5073). O coeficiente de parentesco variou de 0 a 0,70 (entre RB835054 e RB835089). O agrupamento dos clones por meio da similaridade genética baseada nos marcadores, usando o Método UPGMA, gerou um dendrograma no qual os 63 clones elites de cana-de-açúcar foram agrupados em quatro grupos, divididos em subgrupos os que apresentaram algum grau de similaridade. Por outro lado, o agrupamento dos mesmos clones elites por meio do coeficiente de parentesco baseado no pedigree, usando o Método UPGMA, gerou um dendrograma com 26 grupos. Quando se dispõe de informações completas, precisas e confiáveis de pedigree as estimativas do coeficiente de parentesco são bem estimadas e refletem uma similaridade por descendência confiável podendo ser utilizada nos planejamentos de cruzamento no programa de melhoramento.

Palavras-chave: *Saccharum* spp. Divergência genética. Pedigree.

ABSTRACT

The aim of this study was to assess the genetic diversity of elite clones used in the breeding program of cane sugar from the Interuniversity Network for Development Sector Sucroal-cooleiro (RIDESA), through genetic similarity using molecular markers EST- SSR, and the coefficient of relatedness, using pedigree information. For this, DNA was extracted for assessment with molecular polymorphic EST-SSR primers. The selection criteria took into consideration information from the literature, indicating an association of loci with quantitative traits, or based on their ability to discriminate varieties in diversity studies. The genetic similarity estimates were obtained using the Jaccard coefficient. We estimated the errors associated with each similarity (ssg). The similarity matrix was analyzed by UPGMA to construct a dendrogram. The polymorphic information content was obtained for analysis of polymorphism of each locus. We identified 471 fragments, of which 445 were polymorphic, used to estimate the genetic similarity among the 63 elite clones of cane sugar. Molecular markers ESTB13, ESTA68, ESTC38, ESTB47, ESTB160, ESTC52, ESTB158, ESTC24, SCC01 and ESTC49 presented maiors PIC values. The genetic similarity estimated by Jaccard coefficient ranged from 0.32 (between RB912850 and RB8495, and RB9350 with L60-14 and Co62175) to 0.71 (between SP83 and SP83-2847-5073). The kinship coefficient ranged from 0 to 0.70 (between RB835054 and RB835089). The grouping of clones by itself milaridade-based genetic markers using UPGMA method, generated a dendrogram in which the 63 elite clones of cane sugar were grouped into four groups, divided into subgroups who had some degree of similarity. Moreover, the grouping of these clones by means elite relationship coefficient based on pedigree using the method UPGMA generated dendrogram with 26 groups. When you have complete, accurate and confiáveis pedigree estimates of the coefficient of kinship are well estimated and reflect a similarity by descent reliable and can be used in the planning of the crossing improvement program.

Keywords: *Saccharum* spp., Genetic diversity, pedigree.

1 INTRODUÇÃO

A cana-de-açúcar plantada comercialmente é resultado de uma série limitada de cruzamentos e retrocruzamentos derivados das espécies domesticadas *Saccharum officinarum* L e a espécie selvagem *Saccharum spontaneum*. O resultado deste processo é que as variedades utilizadas comercialmente são híbridos interespecíficos polianeuploides (com cromossomos duplicados ou ausentes), geralmente com o número de cromossomos acima de 100 (HOARAU et al., 2001; JANNOO et al., 2004). No entanto, como poucas cultivares parentais participaram nos cruzamentos iniciais, preocupações são cada vez mais crescentes sobre a base genética das cultivares modernas de cana-de-açúcar (DEREN, 1995; LU et al., 1994; ROACH; DANIELS, 1987).

Um programa de melhoramento bem sucedido depende do conhecimento amplo e compreensão da diversidade genética do germoplasma disponível. Vários métodos têm sido utilizados para investigar a variação genética da cana-de-açúcar. Os tradicionais, que combinam características agronômicas e morfológicas, são bastante utilizadas (LOPES; BESPALHOK FILHO; OLIVEIRA, 2008; SILVA et al., 2011; SOUZA et al., 2011; STEVENSON, 1965). Mas, como são inúmeras as características agroindustriais influenciadas por fatores ambientais, apresentando variação contínua e um elevado grau de plasticidade, e que muitas vezes não refletem a diversidade real do germoplasma da *Saccharum* spp, merece destaque a utilização da similaridade genética baseada em informações de marcadores moleculares e a similaridade obtida via coeficiente de parentesco, determinado via genealogia.

Os marcadores microssatélites (SSRs) são seqüências de DNA repetidas em fita, variando de um a seis nucleotídeos de comprimento (KALIA et al., 2011). Estes marcadores são freqüentemente encontrados nos genomas dos organismos eucariontes, e geralmente são altamente polimórficos e co-dominantes (CHEN et al., 2009; XU; CROUCH, 2008).

Esses marcadores podem ser obtidos através de bibliotecas genômicas ou sequências depositadas nos banco de dados de EST (Etiquetas de Sequências Expressas). Este permite o desenvolvimento de marcadores de baixo custo e elimina a necessidade de sequenciamento de DNA (PINTO et al., 2004). Vários estudos têm utilizado marcadores microssatélites para análise genética em cana-de-açúcar (CORDEIRO et al., 2001; CORDEIRO; PAN; HENRY, 2003; CORDEIRO; TAYLOR; HENRY, 2000; DUARTE et al., 2010; OLIVEIRA et al., 2009; PINTO et al., 2004; SILVA et al., 2012; UKOSKIT; THIPMONGKOLCHAROEN; CHATWACHIRAWONG, 2012).

O coeficiente de parentesco f_{xy} entre dois indivíduos (X e Y) foi definido como a probabilidade de que um alelo, tomado ao acaso do indivíduo X seja idêntico por descendência ao alelo do indivíduo Y (FALCONER; MACKAY, 1996; LYNCH; WALSH, 1998). Inicialmente, tais considerações foram postuladas a organismos diplóides. Mais tarde, em um contexto mais generalizado, Kempthorne (1973) estendeu a definição probabilística a organismos poliplóides, com número par ($2k$) de cromossomos.

Em cana-de-açúcar, alguns autores utilizam algumas pressuposições para o cálculo destas estimativas. Lima et al. (2002) utilizaram o procedimento proc inbreed do programa SAS (Statistical Analysis System) para analisar o parentesco entre 83 cultivares de cana-de-açúcar adotando algumas pressuposições, como f_{xy} igual a zero para ancestrais distantes e coeficientes de endogamia também iguais a zero, em virtude da característica heterozigota dos genótipos da cultura da cana-de-açúcar, além de considerar a segregação bivalente da espécie.

Dante do exposto, objetivou-se com este trabalho verificar a diversidade genética de clones elites utilizados no Programa de melhoramento genético da cana-de-açúcar da Rede Interuniversitária para o Desenvolvimento do Setor Sucroalcooleiro (RIDESA), por meio da

similaridade genética, utilizando marcadores moleculares EST-SSR, e do coeficiente de parentesco, utilizando informações de pedigree.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Clones de cana-de-açúcar

Os 63 clones elites de cana-de-açúcar utilizados neste estudo foram fornecidos pelo Programa de melhoramento genético da cana-de-açúcar da Rede Interuniversitária para o Desenvolvimento do Setor Sucroalcooleiro (RIDESA) por intermédio da Estação de Floração e Cruzamento em Serra do Ouro, no município de Murici, Estado de Alagoas.

A seleção dos clones elites, identificados na Tabela 1, foi realizada com base na importância de utilização destes como genitores nas campanhas de cruzamentos da RIDESA.

Tabela 1 – Identificação dos 63 clones elites de cana-de-açúcar com respectivos pedigree e origem

Clones elites	Pedigree	Origem
Co62175	Co 951 x Co 419 (POJ2878 x Co 290)	Coimbatore, Índia
IAC52-326	(POJ2878 x Co 290) Co 419 x ?	Campinas, Brasil
IAC87-3396	Co740 x SP70-1143 ((CP27-108 x ?)IAC48-65 x ?)	Campinas, Brasil
L60-14	CP52-01 x CP48-103	Louisiana, EUA
Q124	Trojan x Co 475 (Black Cheribon x Chunnee)POJ213 x ?)	Austrália
RB721012	Co213 x Co214(Saretha x S. spontaneum)Striped Mauritius x M4600) Co331 x ?	Brasil

RB72454	(F31-932 x POJ2878(S. spontaneum x S. officinarum)Kassoer x POJ100(Bandjarmassin H x Lathers)POJ2364 x EK28(POJ100 x EK2)F36-819 x CP36-46 (POJ2725 x CP11-65) CP53-76 x ?	Brasil
RB735200	(Black Cheribon x Chunnee)POJ213 x ?) Co213 x Co214(Saretha x S. spontaneum)Striped Mauritius x M4600) Co 331 x ?	Brasil
RB75126	C 278 x ?	Brasil
RB768647	CP45-110 x ?	Brasil
RB806043	((POJ2878 x Co 290)Co 419 x Co 419)NA56-79 x ?	Brasil
RB813804	CP48-124 x ?	Brasil
RB825336	H53-3989 x ?	Brasil
RB825548	F150 x ?	Brasil
RB83102	(Co 419 x Co 419)NA56-79 x SP70-1143 ((CP27-108 x ?) IAC48-65 x ?)	Brasil
RB8317	POJ2878 x H56-6724	Brasil
RB835054	(F31-932 x POJ2878(S. spontaneum x S. officinarum)Kassoer x POJ100(Bandjarmassin H x Lathers)POJ2364 x EK28(POJ100 x EK2)F36-819 x CP36-46 (POJ2725 x CP11-65) CP53-76 x ?) RB72454 x NA5679 (Co419 x Co419 (POJ2878 x Co 290)	Brasil
RB835089	(F31-932 x POJ2878(S. spontaneum x S. officinarum)Kassoer x POJ100(Bandjarmassin H x Lathers)POJ2364 x EK28(POJ100 x EK2)F36-819 x CP36-46 (POJ2725 x CP11-65) CP53-76 x ?) RB72454 x NA5679 (Co419 x Co419 (POJ2878 x Co 290)	Brasil
RB835486	(CP52-01 x CP48-103) L60-14 x ?	Brasil
RB845197	(F31-932 x POJ2878(S. spontaneum x S. officinarum)Kassoer x POJ100(Bandjarmassin H x Lathers)POJ2364 x EK28(POJ100 x EK2)F36-819 x CP36-46 (POJ2725 x CP11-65) CP53-76 x ?) RB72454 x SP70-1143 ((CP27-108 x ?) IAC48-65 x ?)	Brasil
RB845210	(F31-932 x POJ2878(S. spontaneum x S. officinarum)Kassoer x POJ100(Bandjarmassin H x Lathers)POJ2364 x EK28(POJ100 x EK2)F36-819 x CP36-46 (POJ2725 x CP11-65) CP53-76 x ?) RB72454 x SP70-1143 ((CP27-108 x ?) IAC48-65 x ?)	Brasil

RB845257	(F31-932 x POJ2878(S. spontaneum x S. officinarum)Kassoer x POJ100(Bandjarmassin H x Lathers)POJ2364 x EK28(POJ100 x EK2)F36-819 x CP36-46 (POJ2725 x CP11-65) CP53-76 x ?) RB72454 x SP70-1143 ((CP27-108 x ?) IAC48-65 x ?)	Brasil
RB8495	((CP27-108 x ?) IAC48-65 x ?) SP70-1143 x ?	Brasil
RB855035	(CP52-01 x CP48-103) L60-14 x SP70-1284 (CB41-76 x ?)	Brasil
RB855036	(F31-932 x POJ2878(S. spontaneum x S. officinarum)Kassoer x POJ100(Bandjarmassin H x Lathers)POJ2364 x EK28(POJ100 x EK2)F36-819 x CP36-46 (POJ2725 x CP11-65) CP53-76 x ?) RB72454 x SP70-1143 ((CP27-108 x ?) IAC48-65 x ?)	Brasil
RB855046	((CP27-108 x ?) IAC48-65 x ?) SP70-1143 x RB72454 (F31-932 x POJ2878(S. spontaneum x S. officinarum)Kassoer x POJ100(Bandjarmassin H x Lathers)POJ2364 x EK28(POJ100 x EK2)F36-819 x CP36-46 (POJ2725 x CP11-65) CP53-76 x ?)	Brasil
RB855113	((CP27-108 x ?) IAC48-65 x ?) SP70-1143 x RB72454 (F31-932 x POJ2878(S. spontaneum x S. officinarum)Kassoer x POJ100(Bandjarmassin H x Lathers)POJ2364 x EK28(POJ100 x EK2)F36-819 x CP36-46 (POJ2725 x CP11-65) CP53-76 x ?)	Brasil
RB855156	(F31-932 x POJ2878(S. spontaneum x S. officinarum)Kassoer x POJ100(Bandjarmassin H x Lathers)POJ2364 x EK28(POJ100 x EK2)F36-819 x CP36-46 (POJ2725 x CP11-65) CP53-76 x ?) RB72454 x TUC717 (CP62-258 x CP52-68)	Brasil
RB855206	(F31-932 x POJ2878(S. spontaneum x S. officinarum)Kassoer x POJ100(Bandjarmassin H x Lathers)POJ2364 x EK28(POJ100 x EK2)F36-819 x CP36-46 (POJ2725 x CP11-65) CP53-76 x ?) RB72454 x TUC717 (CP62-258 x CP52-68)	Brasil
RB855453	(CP62-258 x CP52-68)TUC717 x ?	Brasil
RB855463	(F31-932 x POJ2878(S. spontaneum x S. officinarum)Kassoer x POJ100(Bandjarmassin H x Lathers)POJ2364 x EK28(POJ100 x EK2)F36-819 x CP36-46 (POJ2725 x CP11-65) CP53-76 x ?) RB72454 x ?	Brasil

RB855511	(Co 419 x Co 419) NA56-79 x ?) SP71-1406 x ?	Brasil
RB855536	((CP27-108 x ?) IAC48-65 x ?) SP70-1143 x RB72454 (F31-932 x POJ2878(S. spontaneum x S. officinarum)Kassoer x POJ100(Bandjarmassin H x Lathers)POJ2364 x EK28(POJ100 x EK2)F36-819 x CP36-46 (POJ2725 x CP11-65) CP53-76 x ?)	Brasil
RB855595	((CP27-108 x ?) IAC48-65 x ?) SP70-1143 x TUC717 (CP62-258 x CP52-68)	Brasil
RB867515	(F31-932 x POJ2878(S. spontaneum x S. officinarum)Kassoer x POJ100(Bandjarmassin H x Lathers)POJ2364 x EK28(POJ100 x EK2)F36-819 x CP36-46 (POJ2725 x CP11- 65) CP53-76 x ?) RB72454 x ?	Brasil
RB912825	CP72-1312 x ?	Brasil
RB912850	CP56-59 x ?	Brasil
RB9252119	((F31-932 x POJ2878(S. spontaneum x S. officinarum)Kassoer x POJ100(Bandjarmassin H x Lathers)POJ2364 x EK28(POJ100 x EK2)F36-819 x CP36-46 (POJ2725 x CP11- 65) CP53-76 x ?) RB72454 x TUC717 (CP62- 258 x CP52-68)) RB855206 x ?	Brasil
RB925345	H59-1966 x ?	Brasil
RB92579	(Badila x 28NG251) Co270 x ?) RB75126 x RB72199 (Co 421 x Co 310) NCo334 x ?)	Brasil
RB92606	Q104 x RB72454 (F31-932 x POJ2878(S. spontaneum x S. officinarum)Kassoer x POJ100(Bandjarmassin H x Lathers)POJ2364 x EK28(POJ100 x EK2)F36-819 x CP36-46 (POJ2725 x CP11-65) CP53-76 x ?)	Brasil
RB928064	((CP27-108 x ?) IAC48-65 x ?) SP70-1143 x ?	Brasil
RB931555	SP71-6113 x ?	Brasil
RB9350	Q107 x RB72199 (Co421 x Co310)NCo334 x ?)	Brasil
RB93509	(F31-932 x POJ2878(S. spontaneum x S. officinarum)Kassoer x POJ100(Bandjarmassin H x Lathers)POJ2364 x EK28(POJ100 x EK2)F36-819 x CP36-46 (POJ2725 x CP11- 65) CP53-76 x ?) RB72454 x ?	Brasil
RB935915	RB835486 x RB835079	Brasil
RB945961	RB855206 x ?	Brasil
RB946022	RB855511 x RB855077	Brasil

RB946903	((B34104 x M213/40) N253/40 x?) RB765418 x RB72454 (F31-932 x POJ2878(S. spontaneum x S. officinarum)Kassoer x POJ100(Bandjarmassin H x Lathers)POJ2364 x EK28(POJ100 x EK2)F36-819 x CP36-46 (POJ2725 x CP11-65) CP53-76 x ?)	Brasil
RB947501	(S. spontaneum x S. officinarum)Kassoer x POJ100(Bandjarmassin H x Lathers)POJ2364 x EK28(POJ100 x EK2)POJ2878 x Co 290)Co 419 x Co 419)NA56-79 x ?)SP71-1406 x RB72454(F31-932 x POJ2878(S. spontaneum x S. officinarum)Kassoer x POJ100(Bandjarmassin H x Lathers)POJ2364 x EK28(POJ100 x EK2)F36-819 x CP36-46 (POJ2725 x CP11-65) CP53-76 x ?)	Brasil
RB956911	(F31-932 x POJ2878(S. spontaneum x S. officinarum)Kassoer x POJ100(Bandjarmassin H x Lathers)POJ2364 x EK28(POJ100 x EK2)F36-819 x CP36-46 (POJ2725 x CP11-65) CP53-76 x ?) RB72454 x TUC71-7)(CP62-258 x CP52-68)) RB855206 x RB855035 (CP521 x CP48103) L6014 x SP701284 (CB4176 x ?)	Brasil
RB966928	(F31-932 x POJ2878(S. spontaneum x S. officinarum)Kassoer x POJ100(Bandjarmassin H x Lathers)POJ2364 x EK28(POJ100 x EK2)F36-819 x CP36-46 (POJ2725 x CP11-65) CP53-76 x ?) RB72454 x TUC717 (CP62-258 x CP52-68)RB855156 x RB815690 ((CP27-108 x?)IAC49/131 x NA56-79(Co419 x Co419)	Brasil
SP70-1143	(CP27-108 x ?) IAC48-65 x ?	São Paulo, Brasil
SP77-5181	HJ57-41 x ?	São Paulo, Brasil
SP79-1011	(S. spontaneum x S. officinarum)Kassoer x POJ100(Bandjarmassin H x Lathers) POJ2364 x EK28)POJ2878 x Co 290)Co419 x Co419) NA5679 x Co775 (POJ2878 x CO371)	São Paulo, Brasil
SP80-1816	(CP5530 x CP5376) SP71-1088 x H575028 (H49134 x ?)	São Paulo, Brasil
SP80-1842	(CP5530 x CP5376) SP71-1088 x H575028 (H49134 x ?)	São Paulo, Brasil
SP80-3280	(CP5530 x CP5376) SP71-1088 x H575028 (H49134 x ?)	São Paulo, Brasil

SP81-3250	(CP62-374 x CP57-526) CP701547 x SP71-1279 (CB49-260 x ?)	São Paulo, Brasil
SP83-2847	HJ5741 x SP70-1143 ((CP27-108 x ?) IAC48-65 x ?)	São Paulo, Brasil
SP83-5073	SP71-1406 x SP71-1088 (CP5530 x CP5376)	São Paulo, Brasil
TUC71-7	CP62-258 x CP52-68	Argentina
TUC77-42	CP71-321 x US72-19	Argentina

?: parental proveniente de policruzamento.

2.2 Obtenção do material vegetal e extração de DNA

Para a realização das análises com marcadores microssatélites (EST-SSR), uma amostra contendo quatro entrenós com uma gema cada, de cada genótipo de cana-de-açúcar, foi plantada, individualmente, em copos plásticos com capacidade de 500 ml contendo substrato comercial, em casa de vegetação do Departamento de Biologia da Universidade Federal de Lavras/MG. Após a brotação, com aproximadamente 30 dias, procedeu-se a coleta de tecido foliar para extração do DNA.

As análises moleculares foram realizadas no Laboratório de Genética Molecular do Departamento de Biologia da Universidade Federal de Lavras (UFLA), no município de Lavras, MG.

A extração do DNA genômico foi realizada, de acordo com os procedimentos utilizados por Pereira et al. (2007), a partir de 2g de tecido foliar jovem dos genitores identificados na Tabela 1.

As folhas foram maceradas com 10 ml de tampão de extração (2% de CTAB, 100 mM de TRIS (pH 8.0), 20 mM EDTA (pH 8.0), 1,4M NaCl e 1% PVP (polivinilpirrolidona) a 65°C em um almofariz. Ao material macerado foi adicionado 30 µl de β-mercaptoetanol, colocado em um tubo falcon de 50 ml que foi incubado por cerca de trinta minutos em banho-maria a 65°C homogeneizando-se a suspensão a cada 10 minutos. Após, foi adicionada uma mistura de clorofórmio: álcool isoamil, na proporção de 24:1 em volume igual ao do tampão de extração. Depois de homogeneizado, as

fases orgânicas e aquosas foram separadas por centrifugação e foi coletado o sobrenadante. Em seguida, os ácidos nucleicos foram precipitados, após colocar 30 ml da mistura de 6 álcool 95%: 1 acetato de amônia 7,5M e colocados no freezer por 24 horas. Após a precipitação, os ácidos nucleicos foram transferidos para tubos de microcentrífuga e reidratados em tampão TE (1mM TRIS, 0.1mM EDTA). Realizou-se uma segunda extração com clorofórmio-fenol-álcool isoamil 20:20:1 onde a solução foi centrifugada e coletado o sobrenadante, colocando-se em microtubos de 2 ml, acrescentando-se 900 µl 20 álcool 95%: 1 acetato de sódio 3M e mantida no freezer por mais 24 horas.

Novamente a solução foi centrifugada e após a precipitação, o DNA foi reidratado em tampão TE e quantificado, usando-se o fluorímetro HOFFER TKO100. O DNA quantificado foi então diluído em água pura para a concentração de 10ng/µL para ser utilizado nas reações.

2.3 Reação com marcadores EST-SSR

Cinquenta e quatro loci microssatélites ou SSR (Simple Sequence Repeat) foram utilizados na genotipagem da população em estudo. O critério de seleção levou em consideração informações da literatura, indicando uma associação dos loci com caracteres quantitativos ou com base em sua capacidade para a discriminação de variedades em estudos de diversidade. Os loci foram obtidos de bibliotecas de sequências expressas (EST-SSR), desenvolvidos por Oliveira et al. (2009) e Pinto et al. (2004).

Para cada reação foram utilizados 20 ng de DNA, 100 µM de cada um dos dNTPs, 1U de taq DNA polimerase, tampão composto de 50 mM de TRIS pH 8,3, 20mM de KCl, 2mM de MgCl₂, 10µg de BSA, 0,25% de Ficoll 400, 10mM de tartrazine e água pura. O volume final para cada reação foi de 12µl. A amplificação foi realizada em termociclador modelo Mastercycler Eppendorf, em que foi empregado o seguinte programa: cinco minutos, a 95°C, para desnaturação do DNA; oito ciclos, em que foram

usados 20 segundos, à temperatura de 94°C para desnaturação; 20 segundos para anelamento do primer, cujas temperaturas variaram de 50°C a 65°C de acordo com o primer; 1 minuto a 72°C para extensão de DNA; 24 ciclos que diferiram dos primeiros apenas na temperatura de anelamento de 52°C a 65°C e uma extensão final, por quatro minutos, a 72°C.

Os produtos de amplificação foram submetidos à eletroforese vertical por 2 horas a 120 V em gel de poliacrilamida 6% corado em nitrato de prata e fotografado com câmera digital. Após a verificação do polimorfismo os locos considerados polimórficos foram utilizados para genotipagem.

Tabela 2 - Identificação dos loci EST-SSR para cana-de-açúcar e temperatura de anelamento ajustada (T°C)

EST-SSR	Sequência Forward (5'-3')	Sequência Reverse (5'-3')	T (°C)	¹ GenBank
ESTAI7	ATCCGTCCGCGTTCCTCAG	GGCTCGCCGTTCCACCATTCA	60	34894358
ESTA44	GAACCCTGACCCGAGCCCTGAG	CTCCCGCCACTTCCTATCCCTTCC	64	50924658
ESTA53	TGGAAATGGCAGCTGGTCTCGT	ATGCACGTACCAGAGGGAGATTTG	55	2944040
ESTA63	CGCCAGCGCTATGACGAC	GCAATTAACGCCAGACAGATACG	56	55701047
ESTA66	GCTGCTGCTGGTGGACTGCT	CGCGACGCCGAAGTTGC	62	50901454
ESTA68	ACAGTGTTGACCAGTAGGAAGAAT	CAGGTACTTGGCGGTCTTG	50	40362980
ESTA70	GATGGAACCTGAAGATGAAGAGCA	CCGGCCGGAGCACAGACG	64	51038054
ESTB13	CAGGAGCGTGAAGAAGATGG	GACCAAGTGCTTCCATCTGAC	55	79318240
ESTB16	CGCGCCCGTGCTTGTTCG	ACGCATTTGGGCTGGTTCG	55	60593387
ESTB17	CTCCTCCTTGGCGGGCTCGTC	AGCAGGAGCCGCCGAGAAG	64	42733518
ESTB25	GGCCTGAAATCTGAATCCTC	TCCACCCCGATGATTAGC	50	56784702
ESTB39	CGCGTGTCCTCCCAAGTT	GAAGATCGTCGTGCGGCTGTCA	64	53792830
ESTB40	AAGTCCAAGGCCAAGTCCAG	GACCTGAACCGACCGACTGA	55	34898416
ESTB43	TGGCGTCGCACATCATCCT	CGGGGAGGTAGTCGGTGAAG	60	50882442
ESTB45	ACGAAGCGGCGGTCCTC	TATTGCAGCCCACGCCTTCT	55	50929735
ESTB47	ATGATCATGCCGCTCTTGGTG	CTCCACCCGTCCCGCTACC	62	50933107
ESTB60	AGCCGCAATGAATCCAACCTG	CTCTAGCTCCGACGATGATACCTC	55	50924506
ESTB63	TCCCTGCAGCGATCAAGAACT	TCAAGGCCGAACGGATTACAA	62	37594657
ESTB64	CACGTGCCTGAACCTTGATTG	CCTATAGGGGTTGCACGAGTTGT	55	87162631
ESTB65	CGATCCCAGGCCAGTTCAT	CTTGTTTCGCTACTGCTACCGTGTT	55	50947773
ESTB81	GCAGTACAGGGGCGTGAGG	CGTCGACGTCGCTGCTCT	60	83658836

Continuação Tabela 2..

ESTB92	TCTGAATGGATGTCGCCCTGTG	TTTGCGGGCTTCTCTGCTTTCT	60	22208506
ESTB93	TTCTCTGCCAAGTTATCCACCTC	CTCTCGTGCGCGTGACATC	55	3122234
ESTB97	GCCACCATCGTCGGGAAGA	CGCGCCACCACCAACTACA	58	4099914
ESTB104	AAGGCGTTTTCGTTCTACA	CTTGAGAGGGAGGAGGCTGAT	55	71017891
ESTB116	GCTGCTGGCCAAGGAGTTC	CGGTCCGGTAGCAATCCAG	58	50902306
ESTB118	CTTGCTAGGGTTTCTTGAGTCGT	CATGGCTTTTGGCTTGCTTCT	55	32351469
ESTB122	CGACGGCGATGAAGAAGACCAG	GTGAGGGTTCGGAGGTGGAAC	61	50931511
ESTB130	GCCCAGGTAATTATCCAGACTC	GCTGTTGCTCACTGGTTCC	50	42409013
ESTB136	GGCACTGAGCGGGACCACCAC	GCTGCGGCTGCGGGAGAC	61	50920393
ESTB146	AGCTAGCGAGGCCACCAAGTCCAG	CCCTCGCCTCGCCCACCAT	64	50929299
ESTB147	AGCAGCAGGGCGGCAACAACC	GGGCGCGACAGGGGCTTCTC	64	47847699
ESTB148	CCCCCTTGTTCCCTGTTCCCCTCTT	GTACCCGTCGTCCTGCTCCTCATC	64	110742879
ESTB149	CGAGAGGAGCTACCGGTCAGTGTC	CGAGCTCGTTGCGGTTGTGG	61	9622886
ESTB150	GCCTTCTTCTTCATCCTTCTCT	CTCCGTGCTGTATCTTCTCTG	60	34894718
ESTB155	ACTAAGGCCTCGGTTTGGTTTC	ATTTCCATGCCAGCACAGTAGC	61	50928999
ESTB158	CCTGCCGACGGGGAAGT	CGGTTCAATCAAATCCCTCTCCTC	59	75282487
ESTB160	CAGCAGCAGCAGTAGGGAAGT	AAACTACTCGCCCCATCATC	60	92879198
ESTC23	GCCAGAAGAAGAAGCAGGAGAACG	TCACCGTTCAGCTCCTTCCACTTC	55	47497872
ESTC24	TCCTCCCCCTCCTCTCCTG	GCAGTCGGGGCAGAAGGA	64	18481632
ESTC36	CGAATAGGACAGGGGAGGAAGAGG	CGGCGGCGGTTCTTGACG	61	18483249
ESTC38	TTACCCGCGGAAAGTGAG	CGTCCTGCTCGCCATTC	61	33340598
ESTC39	CGCGCCGGAGGTGTTTGT	GGCGCATGTCCCCTCACC	64	50939609

Continuação Tabela 2..					
ESTC49	AAGGAGTGGGAACGGCGGATACG	GCCAGCCCCCTTGCCTTCCTC	61	1060935	
ESTC52	TTACCCGCGGAAAGTGAGC	GCGGATGTCCTTATTGCTGTTTAC	50	15230679	
ESTC54	CGCACCCCATCCATCCTCTC	AATCGTCGCCTCTCCTCACCTCAC	61		
ESTC66	AGTACAGGCTGCTCTCAATCAA	TCTGTCATCTGTGTTTCGTTCTG	61	38605539	
ESTC119	GGAATTAAGCTTTGCCGACACCAC	GGCAGCACCTCCCCTTCACC	64	50905839	
SCC01	GATGCTTGGGTCGTGATTTT	TCGCGTCCACCAATGAACC	50	-	
SCC05	TCGTCTTCCTCCTCTTGCTCTGGTC	CATCCTCCTCTGCTGCTCTCGTCTC	60	-	
SCB07	ACGAGAACCACAGCCACCAG	GGAGGTAGTCGGTGAAGTGC	50	-	
SCA10	TCTAAGCCAAGCCGATTCCGTT	CAGCAGCCCAACCCACAGTCG	65	-	
SCC04	GGGACCTGAAGATGACTGC	TCCTGCCTGCCTCATCATAC	60	-	
MCSA175G03	GAGTCAGTTGGTGCCGAGATTG	CGAACAGGTTAAAGCCCATGTC	50	-	

¹Genbank - banco de dados de sequências de DNA e de aminoácidos do Centro Nacional de Informação Biotecnológica dos EUA (NATIONAL CENTER FOR BIOTECHNOLOGY INFORMATION - NCBI, 2012).

2.4 Análise dos padrões de amplificadas em géis de poliacrilamida

A natureza complexa do genoma da cana-de-açúcar com sua alta poliploidia e ocorrência concomitante de aneuploidia torna difícil determinar a dosagem em que um alelo está presente no genoma. Entretanto, considerando a natureza codominante do microsatélite, para cada alelo apenas dois padrões podem ser observados nos indivíduos da população, presença ou ausência. Assim, todos os alelos identificados foram reunidos em uma matriz de dados binária, onde a presença foi codificada como “1” e a ausência foi codificada como “0”.

2.5 Análise da similaridade genética

Apenas bandas polimórficas foram utilizadas na construção da matriz binária. Com o objetivo de explorar as relações genéticas entre os clones elites, as estimativas de similaridade genética foram obtidas usando-se o coeficiente de Jaccard (CRUZ; CARNEIRO, 2003) de acordo com a expressão:

$$sg_{ij} = a_{ij}/(a_{ij}+b_{ij}+c_{ij})$$

em que:

sg_{ij} : similaridade genética entre os indivíduos i e j ;

a_{ij} : número de bandas presentes em ambos os indivíduos;

b_{ij} : número de bandas presentes em i e ausente em j ;

c_{ij} : número de bandas presentes em j e ausente em i .

Os erros associados a cada similaridade (s_{sg}) foram estimados utilizando a expressão: $s_{sg} = \sqrt{((s_{sg})_{ij} (1 - (s_{sg})_{ij}) / (n - 1))}$, onde n é o número total dos padrões de bandas a , b e c entre cada par de genótipos (SKROCH; TIVANG; NIENHUIS, 1992).

A matriz de similaridade foi analisada pelo método hierárquico UPGMA (Unweighted Pair-Group Method using Arithmetic Average) para construção de um dendrograma, como sugerido por Sneath e Sokal (1973).

Os clones elites geneticamente diferentes foram identificados no dendrograma considerando a estimativa do valor da similaridade máximo significativo ($sg_{\text{máx}}$). O $sg_{\text{máx}}$ foi estimado através do teste t usando a expressão: $sg_{\text{máx}} = 1 - t_{(n-3, \alpha = 0,05)} \cdot \bar{s}_{sg}$, sendo o valor de t com n-3 graus de liberdade e \bar{s}_{sg} a média erro da gs_{ij} (HAGIWARA et al., 2001).

As análises foram realizadas utilizando o software NTSYS-PC, versão 2.0 (ROHLF, 1992).

2.6 Análise do polimorfismo

O conteúdo de informação polimórfica (PIC – polymorphism information content) foi obtido para análise do polimorfismo de cada *loco*, em função do número de alelos detectados e a frequência relativa de cada alelo no conjunto total de genótipos avaliados. Os valores do PIC foram calculados baseados na fórmula:

$$PIC = 1 - \sum P_i^2$$

em que,

P_i é a frequência do alelo i em relação a n alelos.

2.7 Coeficiente de parentesco

Foram estimados os coeficientes de parentesco de Malecot, o qual reflete a similaridade genética por descendência, a partir da informação de genealogia apresentada na Tabela 1. Para isso, foi utilizando o procedimento "proc inbreed" do software SAS (STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM INSTITUTE - SAS INSTITUTE, 2000). O PROC INBREED possui dois modos de operação. Um deles executa a análise de parentesco pressupondo que todos os indivíduos pertencem a uma mesma geração. O outro divide toda a genealogia em gerações não sobrepostas e analisa cada geração

separadamente, assumindo que os pais dos indivíduos da atual geração são definidos na geração anterior.

A partir das informações de genealogia dos genótipos dispostos na Tabela 1, optou-se por utilizar o segundo modo de operação do proc inbreed do SAS (Tabela A). Para construção do pedigree foram utilizadas informações de genealogia disponíveis nos boletins técnicos de lançamento de variedades da Rede Interuniversitária para o Desenvolvimento do Setor Sucroalcooleiro (RIDESA).

2.8 Coeficiente de correlação

Para determinar o nível de correlação entre a similaridade genética baseada nos marcadores EST-SSR e no coeficiente de parentesco (f_{xy}) via genealogia, foi realizada uma análise de correlação de matrizes com teste de Mantel, para testar a significância das associações entre as matrizes de similaridades (MANLY, 1991; SMOUSE; LONG; SOKAL, 1986). Mil permutações aleatórias foram utilizadas para testar a significância das correlações matriciais. As análises foram realizadas utilizando o software NTSYS-PC, versão 2.0 (ROHLF, 1992).

3. RESULTADOS

3.1 Análise do polimorfismo detectado

Cada par de oligonucleotídeos selecionados geraram um grande número de bandas. Um total de 471 fragmentos foram identificados, dos quais 445 foram polimórficos, utilizados para estimar a similaridade genética entre os 63 clones elites de cana-de-açúcar (Tabela 3). Uma média de 93,1% de polimorfismo foi obtida entre os 54 pares de oligonucleotídeos EST-SSR utilizados, e os valores de PIC variaram de 0,32 (SCB07) a 0,88 (ESTB13) com média de 0,67 (Tabela 2). Os marcadores moleculares ESTB13 (0,88),

ESTA68 (0,86), ESTC38 (0,85), ESTB47 (0,84), ESTB160 (0,84), ESTC52 (0,83), ESTB158 (0,81), ESTC24 (0,81), SCC01 (0,81) e ESTC49 (0,80) apresentaram os maiores valores de PIC. Um exemplo dos perfis obtidos pelos marcadores EST-SSR é mostrado na Figura 1.

Tabela 3 - Número total de bandas observadas, número de bandas polimórficas observadas, polimorfismo percentual e conteúdo de informação polimórfica (PIC) utilizando 54 pares de oligonucleotídeos EST-SSR em clones elites de cana-de-açúcar

EST-SSR	Nº Total de bandas	Nº bandas polimórficas	Polimorfismo (%)	PIC
ESTA17	11	11	100	0,77
ESTA44	6	6	100	0,58
ESTA53	8	8	100	0,68
ESTA63	6	6	100	0,61
ESTA66	11	11	100	0,67
ESTA68	10	8	80	0,86
ESTA70	8	8	100	0,51
ESTB13	5	4	80	0,88
ESTB16	16	16	100	0,63
ESTB17	6	5	83,3	0,72
ESTB25	9	9	100	0,49
ESTB39	12	12	100	0,79
ESTB40	7	7	100	0,70
ESTB43	4	3	75	0,49
ESTB45	12	12	100	0,71
ESTB47	10	9	90	0,84
ESTB60	8	7	87,5	0,23
ESTB63	10	10	100	0,77
ESTB64	8	8	100	0,55
ESTB65	4	4	100	0,69
ESTB81	8	8	100	0,71
ESTB92	8	7	87,5	0,60
ESTB93	10	10	100	0,41
ESTB97	9	9	100	0,71
ESTB 104	6	5	83,3	0,74
ESTB 116	10	9	90	0,65
ESTB 118	11	11	100	0,56
ESTB 122	4	4	100	0,48

ESTB 130	8	8	100	0,65
----------	---	---	-----	------

Continuação Tabela 3...

ESTB 136	13	13	100	0,58
ESTB 146	11	8	72,7	0,73
ESTB 147	8	7	87,5	0,51
ESTB 148	10	8	80	0,60
ESTB 149	10	9	90	0,74
ESTB 150	10	10	100	0,78
ESTB155	9	9	100	0,58
ESTB 158	8	8	100	0,81
ESTB 160	13	13	100	0,84
ESTC23	4	3	75	0,41
ESTC24	9	8	88,9	0,81
ESTC36	8	7	87,5	0,68
ESTC38	7	6	85,7	0,85
ESTC39	5	4	80	0,77
ESTC49	7	6	85,7	0,80
ESTC52	8	7	87,5	0,83
ESTC54	12	12	100	0,73
ESTC66	8	8	100	0,76
ESTC119	14	14	100	0,78
SCC01	15	15	100	0,81
SCC05	8	8	100	0,64
SCB07	10	9	90	0,32
SCA10	7	7	100	0,61
SCC04	5	3	60	0,73
MCSA175G03	8	8	100	0,77
Total	472	445	93,1	0,67

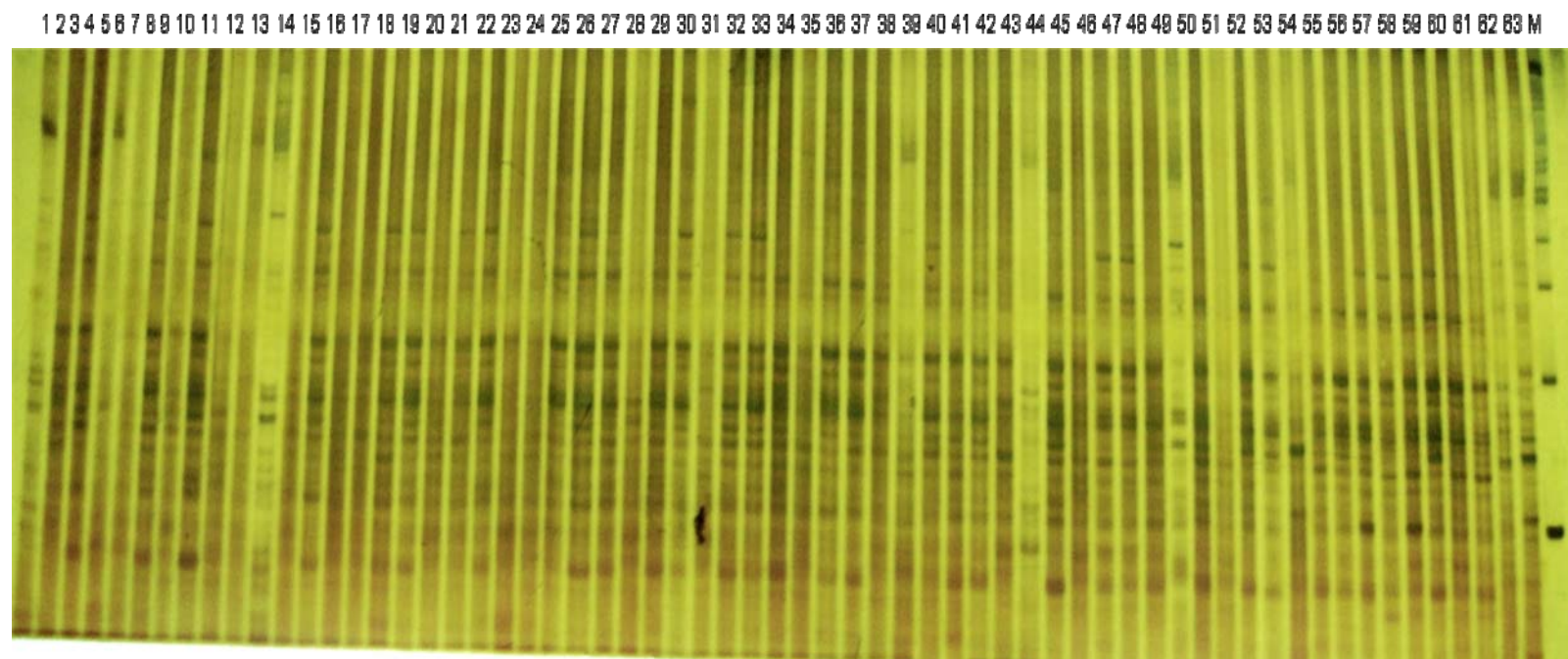


Figura 1- Perfil EST-SSR de 63 clones elites de cana-de-açúcar gerado pelo ESTB93

3.2 Similaridade genética, coeficiente de parentesco e análise de agrupamento

A similaridade genética estimada pelo coeficiente de Jaccard variou de 0,32 (entre RB8495 e RB912850; e RB9350 com L60-14 e Co62175) a 0,71 (entre SP83-2847 e SP83-5073) com média de 0,49 nas 1.953 combinações obtidas, usando as informações dos marcadores moleculares EST-SSR. Dentre essas combinações, as que apresentaram os maiores valores de similaridade genética foram SP83-2847 e SP83-5073 (0,71), RB855463 e RB855453 (0,70), RB946903 e RB946022 (0,70) e, RB966828 e RB956911 (0,69).

O coeficiente de parentesco variou de 0 a 0,70 (entre RB835054 e RB835089), com média de 0,05 nas 1.953 combinações obtidas, usando informações de pedigree.

O agrupamento dos clones por meio da similaridade genética baseada nos marcadores, usando o Método UPGMA, gerou um dendrograma (Figura 2) mostrando um coeficiente de correlação cofenética (r_{cof}) de 0,77, significativo a 1% pelo teste de Mantel (MANTEL, 1967). Neste dendrograma, os 63 clones elites de cana-de-açúcar foram agrupados em quatro grupos, divididos em subgrupos os que apresentaram algum grau de similaridade. Estes resultados indicam que existe ampla diversidade genética entre a grande maioria dos clones elites avaliados. Nesta Figura, a linha vertical representa o valor máximo de similaridade ($sg_{m\acute{a}x}$) ao nível de 1% de probabilidade, indicando que no lado direito os clones são consideradas semelhantes.

Por outro lado, o agrupamento dos mesmos clones elites por meio do coeficiente de parentesco baseado no pedigree, usando o Método UPGMA, gerou um dendrograma mostrando um coeficiente de correlação cofenética (r_{cof}) de 0,85, significativo a 1% pelo teste de Mantel (MANTEL, 1967). Os clones de cana-de-açúcar foram agrupados em 26 grupos (Figura 3), divergindo, em número de grupos do agrupamento obtido pela similaridade

genética advinda dos marcadores moleculares, porém apresentando coincidências em nível de grupos e entre clones semelhantes em grupo distintos, nos agrupamentos com base na SG e f_{xy} . O grande número de grupos pelo f_{xy} deve-se ao fato do baixo parentesco entre os genitores, a maioria próximo de zero.

Não se observou correlação entre a similaridade genética e coeficiente de parentesco ($r = 0,08$). Os clones Co62175 e RB806043, permaneceram no mesmo grupo (grupo I) quando gerado a partir das informações de marcadores moleculares e pedigree. O mesmo ocorreu para RB72454 e RB855046; e SP80-1816, SP80-1842, SP80-3280, agrupados no grupo II (Figura 2 e 3). Já os clones RB835486, RB855035 e RB956911 agrupados no grupo III (Figura 2) permaneceram agrupados, porém no grupo IV (Figura 3).

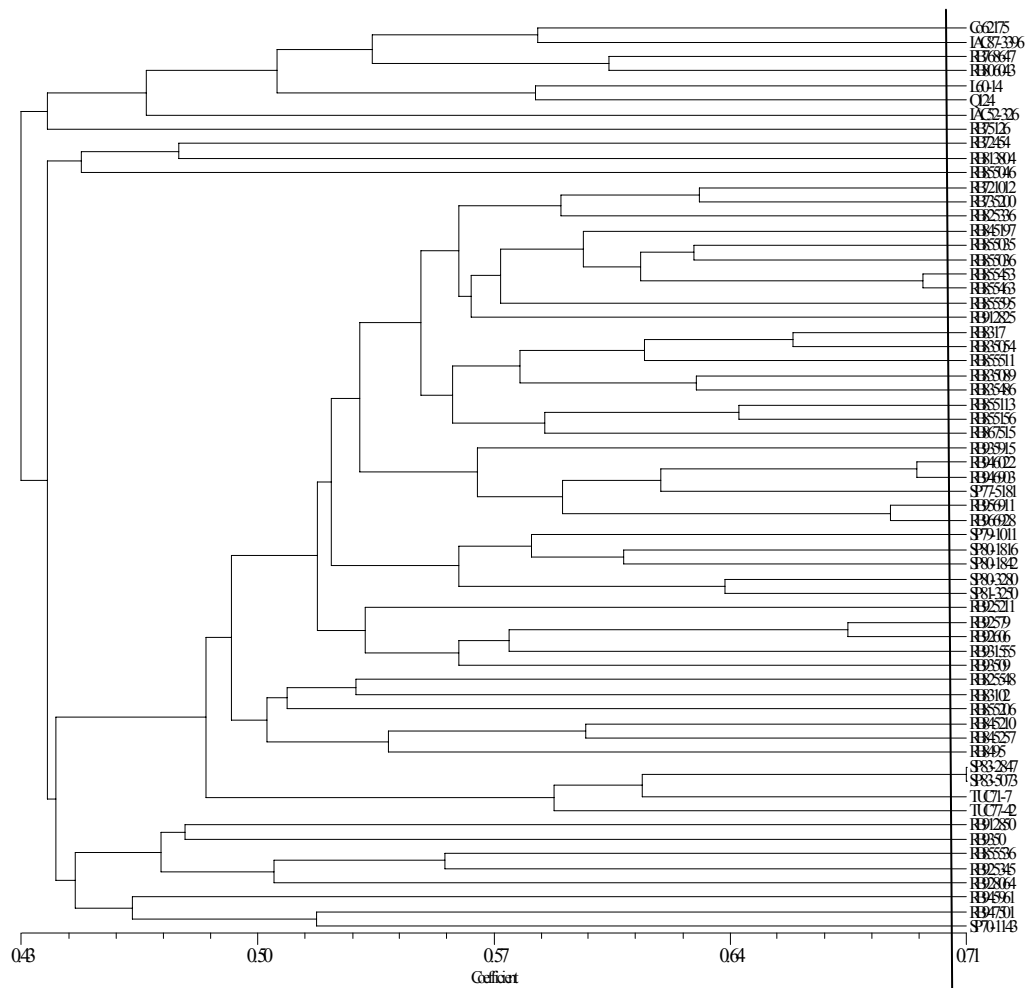


Figura 2- Dendrograma obtido pelo método UPGMA, a partir da similaridade genética obtida pelo método de Jaccard, para os 63 clones elites de cana-de-açúcar avaliados ($r_{\text{cof}} = 0,77$).

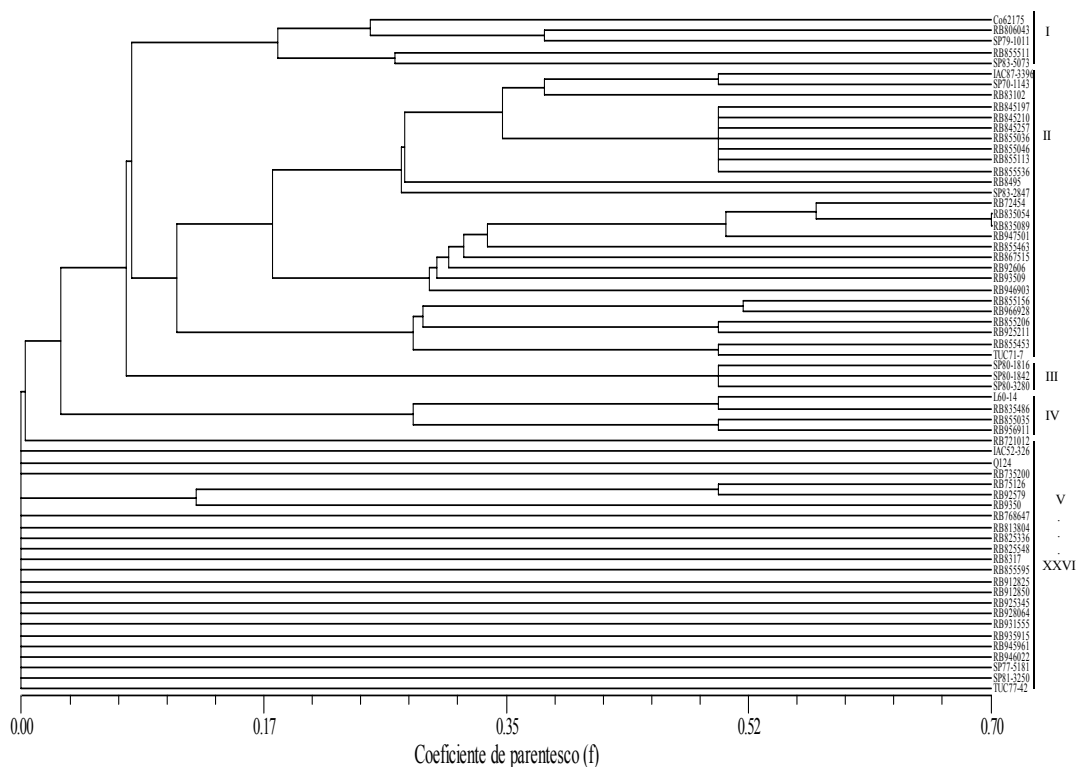


Figura 3 – Dendrograma obtido pelo método UPGMA, a partir da similaridade genética obtida pelo coeficiente de parentesco (f_{xy}), para os 63 clones elites de cana-de-açúcar avaliados.

4. DISCUSSÃO

Os marcadores EST-SSR são derivados de regiões de DNA expresso (mRNA), e o desenvolvimento destes marcadores irá permitir uma melhor eficiência no melhoramento de plantas, quando utilizado para a seleção assistida (WANG et al., 2007). Além disso, a maior transferibilidade destes marcadores, devido a sua presença nas regiões conservadas é uma outra vantagem importante, especialmente em culturas com um genoma complexo, como cana-de-açúcar (SWAPNA et al., 2010). No que se refere ao nível de polimorfismo, marcadores EST-SSR mostraram uma menor variação em comparação com marcadores derivados de bibliotecas genômicas (CHO et

al., 2000), possivelmente devido a uma maior conservação de sequências de DNA em regiões transcritas. Marcadores microssatélites tornaram-se extremamente úteis na análise genética da cana, porque permitem a discriminação genética de indivíduos, além de se poder inferir sobre a magnitude de variação entre clones com base no parentesco entre eles (CORDEIRO et al., 2001; DUARTE et al., 2010; OLIVEIRA et al., 2009; PINTO et al., 2004, 2006; SILVA et al., 2012).

A utilidade de uma técnica de marcador de DNA pode ser definida pela sua razão de multiplex (número de marcas que podem ser gerados em uma única reação) e do PIC (número efetivo de alelos que podem ser detectados por marcador em um conjunto de indivíduos, ou seja, o poder discriminatório do marcador) (POWELL et al., 1996; VUYLSTEKE et al., 2000). Os valores de polimorfismo percentuais e PIC relatados neste estudo são típicas para a cultura da cana-de-açúcar. Resultados semelhantes foram obtidos em outros estudos de cana de açúcar (CORDEIRO; PAN; HENRY, 2003; OLIVEIRA et al., 2009; PAN, 2006; PINTO et al., 2004, 2006), sugerindo que eles são adequados para análises de diversidade e para uso em proteção de novas cultivares.

A capacidade de alguns marcadores para gerar perfis genéticos únicos em cana é devido à natureza poliplóide do genoma, que permitiu a detecção de vários tipos alélicos em um único acesso (CORDEIRO et al., 2001; DUARTE et al., 2010; MACCHERONI et al., 2009; PINTO et al., 2004). No entanto, poliploidia também torna mais difícil calcular estatísticas genéticas de populações e para identificar genótipos complexos. Porém, a natureza codominante dos microssatélites permite identificar a composição alélica de cada clone. Assim, ao se considerar a presença ou ausência de cada alelo nos clones, estima-se a similaridade genética, considerada como parentesco por estado. Essa estimativa engloba a variabilidade genética global dos locos amostrados, isto é, a intra e interloco.

Uma correlação significativa, pelo teste de Mantel, com baixo valor, foi observada ($r = 0,08$) entre as estimativas de SG e f_{xy} . Este resultado não

corroborar com outros estudos de correlação entre SG e f_{xy} em cana-de-açúcar. Entretanto, é importante ressaltar que os clones avaliados são os elites utilizados no programa de melhoramento, portanto, resultado de intensas seleções. Consequentemente, deve ter havido acentuado desvio de parentesco previsto pela genealogia (CARTER et al., 1993). Como a similaridade foi estimada a partir de informações de sequências expressas e presente nos clones selecionados, ela deve representar uma informação mais real do parentesco. Pode-se questionar-se o número relativo de loci utilizados, embora em cada, houve a oportunidade de se identificar ampla variação intraloco. Outro ponto que necessita ser ressaltado é o fato de que na estimativa do coeficiente de parentesco, alguns ancestrais eram desconhecidos. Isso acarretou uma subestimativa desses coeficientes como se pode notar por uma média de f_{xy} de apenas 0,05 especificamente, entre 26 grupos com $f_{xy}= 0,18$ possuem falta de informação de um parental (no caso dos policruzamentos) (Tabela 1 e Figura 3). Além disso, cabe ressaltar também que alguns autores utilizam algumas pressuposições na estimativa do coeficiente de parentesco para culturas poliplóides, no caso específico com poliplóidia incerta. Lima et al. (2002) analisaram a similaridade genética entre 83 cultivares de cana-de-açúcar utilizando marcadores AFLP e coeficiente de parentesco assumindo algumas pressuposições, como f_{XY} igual a zero para ancestrais distantes e coeficientes de endogamia também iguais a zero, em virtude da característica heterozigota dos genótipos da cultura da cana-de-açúcar, além de considerar a segregação bivalente da espécie. Os autores observaram uma correlação significativa, com valor de baixo a moderado ($r = 0,42$) entre as estimativas de SG e f_{xy} .

Alwala et al. (2006) compararam a similaridade genética entre nove genótipos de cana-de-açúcar, clones experimentais e cultivares, adaptados ao clima subtropical de Louisiana, assumindo também algumas pressuposições para coeficiente de parentesco, como f_{xy} igual a 0 (zero) para ancestrais distantes e coeficientes de endogamia igual a 0,5. Verificaram uma

correlação significativa, com valor moderado ($r = 0,42$) entre as estimativas de SG-AFLP x f_{xy} e ($r = 0,41$) entre as estimativas de SG-TRAP x f_{xy} .

O coeficiente de parentesco, embora altamente informativo em um programa de melhoramento, apresenta erros inerentes durante a sua estimativa, resultando em valores de f_{xy} com alguns viés. Isto é, em parte, devido a algumas suposições genéticas, que são assumidas no cálculo de f_{xy} . Supõe-se que todos os antepassados não estão intimamente relacionados, que nem sempre é verdade quando considerada a história das cultivares de cana-de-açúcar (BREMER, 1961a). A suposição de que o genótipo recebe a mesma quantidade de alelos de cada pai também é questionável. A cana-de-açúcar é poliplóide e altamente heterozigótica, além do fato bem conhecido que quando se utiliza *S. officinarum* como fêmea, a sua meiose não é equivalente, resultando na vantagem de um parental sobre o outro (BREMER, 1961b). Outro ponto a ser considerado durante o cálculo de f_{xy} é que as alterações na frequência dos alelos são pouco conhecidas, devido ao efeito de deriva genética e o processo de seleção. Ambos os fenômenos podem influenciar a precisão de f_{xy} . Como, por exemplo, a transmissão de alelos, especialmente aqueles que controlam características qualitativas com alta herdabilidade, é claramente influenciada pela intensidade da seleção num programa de melhoramento. Este fato resulta em um viés de contribuição do pai, destacando os alelos favoráveis para o caráter na progênie resultante (COX et al., 1985; SOUZA; SORRELS, 1989). Portanto, as estimativas de SG obtidas a partir de marcadores moleculares irá fornecer mais informações do que aqueles disponíveis através de informações de pedigree, quando este apresentar acentuado viés por falta de informações para construção do pedigree e conseqüentemente erro no cálculo destas estimativas.

No entanto, ao observar os agrupamentos a partir da similaridade genética e do coeficiente de parentesco nas Figura 1 e 2, respectivamente, pode-se verificar que os clones RB835054 e RB835089 apresentaram coeficiente de similaridade de 0,62 (Figura 1) e coeficiente de parentesco de

0,69 (Figura 2). Já os clones SP83-2847 e SP83-5073 que apresentaram a maior similaridade pelo coeficiente de Jaccard (0,71) mostrou um coeficiente de parentesco igual a 0 (zero). Porém cabe ressaltar que os clones RB835054 e RB835089 possuem informações de pedigree desde a primeira geração, diferentemente dos clones SP83-2847 e SP83-5073 (Tabela 1).

Existe baixa previsibilidade da similaridade genética para identificar genitores e híbridos. Porém, é válido para identificar grupos heteróticos, entre quais se pode concentrar os esforços para realizar os cruzamentos (BARATA; CARENA, 2006; LEGESSE et al., 2007; PINTO et al., 2003; REIF et al., 2003; WARBURTON et al., 2005).

Outro ponto que deve ser considerado é a utilização da similaridade genética para auxiliar nas estimativas das capacidades de combinação, especialmente em cana-de-açúcar, em que nem todos os cruzamentos são possíveis.

Neste contexto, também pode-se utilizar as informações de parentesco dos genitores. Entretanto, nem sempre essas informações estão disponíveis, enquanto a sg_{ij} é facilmente estimada, bastando utilizar um marcador e os DNA, dos genitores.

5 CONCLUSÕES

As estimativas de similaridade genética utilizando marcadores moleculares podem fornecer informações mais precisas para os melhoristas do que o método do pedigree, quando incompleto, permitindo que os melhoristas promovam cruzamentos mais confiáveis a curto prazo ou realizem um planejamento estratégico a longo prazo num programa de melhoramento.

REFERÊNCIAS

ALWALA, S. et al. Target region amplification polymorphism for assessing genetic diversity in sugarcane germplasm collections. **Crop Science**, Madison, v. 46, n. 1, p. 448-445, Jan. 2006.

BARATA, C.; CARENA, M. J. Classification of North Dakota maize inbred lines into heterotic groups based on molecular and testcross data. **Euphytica**, Wageningen, v. 151, n. 3, p. 339-349, June 2006.

BREMER, G. Cytological crossing research of sugar cane. **Euphytica**, Wageningen, v. 10, p. 229-243, 1961a.

_____. Problems in breeding and cytology of sugar cane. **Euphytica**, Wageningen, v. 10, p. 59-78, 1961b.

CARTER, D. et al. **ISIS user's manual XXIV**. Version 1.0. La Palma: I. Newton Group, 1993. 664 p.

CHEN, P. H. et al. SSR marker- based analysis of genetic relatedness among sugarcane cultivars (*Saccharum* spp. hybrids) from breeding programs in China and other countries. **Sugar Technology**, London, v. 11, n. 4, p. 347-354, Dec. 2009.

CHO, Y. G. et al. Diversity of microsatellites derived from genomic libraries and GenBank sequences in rice (*Oryza sativa* L.). **Theoretical Applied Genetics**, Berlin, v. 100, n. 5, p. 713-722, Sept. 2000.

CORDEIRO, G. M. et al. Microsatellite markers from sugarcane (*Saccharum* spp.) ESTs cross transferable to Erianthus and sorghum. **Plant Science**, Shannon, v. 160, n. 6, p. 1115-1123, May 2001.

CORDEIRO, G. M.; PAN, Y. B.; HENRY, R. J. Sugarcane microsatellites for the assessment of genetic diversity in sugarcane germplasm. **Plant Science**, Shannon, v. 165, n. 1, p. 181-189, July 2003.

CORDEIRO, G. M.; TAYLOR, G. O.; HENRY, R. J. Characterisation of microsatellite markers from sugarcane (*Saccharum* sp.), a highly polyploid species. **Plant Science**, Shannon, v. 155, n. 2, p. 161-168, June 2000.

COX, T. S. et al. Relation-ships between coefficient of parentage and genetic similarity indices in the soybean. **Crop Science**, Madison, v. 25, p. 529-532, 1985.

CRUZ, C. D.; CARNEIRO, P. C. S. **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético**. Viçosa, MG: UFV, 2003. 585 p.

DEREN, C. W. Genetic base of U.S. mainland sugar cane. **Crop Science**, Madison, v. 35, p. 1195-1199, 1995.

DUARTE, L. S. C. et al. Genetic similarity among genotypes of sugarcane estimated by SSR and coefficient of parentage. **Sugar Technology**, London, v. 12, n. 2, p. 145-149, Apr. 2010.

FALCONER, D. S.; MACKAY, T. F. **Introduction to quantitative genetics**. 4th ed. Essex: Longman, 1996. 464 p.

HAGIWARA, W. E. et al. Use of RAPD to aid selection in common bean backcross breeding programs. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, Londrina, v. 1, n. 4, p. 355-362, 2001.

HOARAU, J. Y. et al. Genetic dissection of a modern sugarcane cultivar (*Saccharum* spp.): I., genome mapping with AFLP markers. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 103, n. 1, p. 84-97, Feb. 2001.

JANNOO, N. et al. Molecular investigation of the genetic base of sugarcane cultivars. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 99, n. 1/2, p. 171-184, 2004.

KALIA, R. K. et al. Microsatellite markers: an overview of the recent progress in plants. **Euphytica**, Wageningen, v. 177, n. 3, p. 309-334, Feb. 2011.

KEMPTHORNE, O. **An introduction to genetic statistics**. Ames: Iowa State University, 1973. 545 p.

LEGESSE, B. W. et al. Relationship between hybrid performance and AFLP based genetic distance in highland maize inbred lines. **Euphytica**, Wageningen, v. 162, n. 3, p. 313-323, 2007.

LIMA, M. L. A. et al. Analysis of genetics similarity detected by AFLP and coefficient of parentage among genotypes of sugarcane (*Saccharum* spp.). **Theoretical Applied Genetics**, Berlin, v. 104, n. 1, p. 30-38, Mar. 2002.

LOPES, V.; BESPALHOK FILHO, J. C.; OLIVEIRA, R. Genetic divergence and parent selection of sugarcane clones. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, Londrina, v. 8, n. 2, p. 225-231, 2008.

LU, Y. H. et al. Molecular diversity and genome structure in modern sugarcane varieties. **Euphytica**, Wageningen, v. 78, n. 3, p. 217-226, 1994.

LYNCH, M.; WALSH, B. **Genetics and analysis of quantitative traits**. Sunderland: Sinauer Associates, 1998. 948 p.

MACCHERONI, W. et al. Development of a dependable microsatellite-based fingerprinting system for sugarcane. **Sugar Cane International**, Farmington, v. 27, n. 2, p. 8-13, 2009.

MANLY, B. F. J. **Randomization and Monte Carlo methods in biology**. London: Chapman & Hall, 1991. 281 p.

MANTEL, N. The detection of disease clustering and a generalized regression approach. **Cancer Research**, Baltimore, v. 27, p. 209-220, 1967.

NATIONAL CENTER FOR BIOTECHNOLOGY INFORMATION.
GenBank overview. Disponível em:
<<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank>>. Acesso em: 10 jul. 2012.

OLIVEIRA, K. M. et al. Characterization of new polymorphic functional markers for sugarcane. **Genome**, Ottawa, v. 52, n. 1, p. 191-209, Jan. 2009.

PAN, Y. Highly polymorphic microsatellite DNA markers for sugarcane germplasm evaluation and variety identity testing. **Sugar Technology**, London, v. 8, n. 4, p. 246-256, Dec. 2006.

PEREIRA, H. S. et al. Informações fenotípicas e marcadores microssatélites de QTL na escolha de populações segregantes de feijoeiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 42, n. 5, p. 707-713, maio 2007.

PINTO, L. R. et al. Characterization of novel sugarcane expressed sequence tag microsatellites and their comparison with genomic SSRs. **Plant Breeding**, Berlin, v. 125, n. 4, p. 378-384, 2006.

_____. Genetic-diversity assessed by microsatellites in tropical maize populations submitted to a high-intensity reciprocal recurrent selection. **Euphytica**, Wageningen, v. 134, n. 2, p. 277-286, 2003.

_____. Survey in the sugarcane expressed sequence tag database (SUCEST) for simple sequence repeats. **Genome**, Ottawa, v. 47, n. 5, p. 795-804, Oct. 2004.

POWELL, W. et al. Genepool variation in genus *Glycine* subgenus *Soja* revealed by polymorphic nuclear and chloroplast microsatellites. **Genetics**, Austin, v. 144, n. 2, p. 793-803, Oct. 1996.

REIF, J. C. et al. Use of SSRs for establishing heterotic groups in subtropical maize. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 107, n. 5, p. 947-957, 2003.

ROACH, B. T.; DANIELS, J. A review of the origin and improvement of sugar cane. In: COPERSUCAR INTERNATIONAL SUGAR CANE BREEDING WORKSHOP, 1., 1987, São Paulo. **Anais...** São Paulo: Copersucar, 1987. 1 CD-ROM.

ROHLF, F. J. **Numerical taxonomy and multivariate analysis system.**

New York: Exeter, 1992. Disponível em:

<<http://www.academia.edu/752267/NTSYS->

[Pc_Numerical_Taxonomy_and_Multivariate_Analysis_System](http://www.academia.edu/752267/NTSYS-Pc_Numerical_Taxonomy_and_Multivariate_Analysis_System)>. Acesso em: 10 jun. 2012.

SILVA, C. S. et al. Divergência genética entre genótipos de cana-de-açúcar. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, Recife, v. 6, n. 1, p. 52-58, 2011.

SILVA, D. C. et al. DNA fingerprinting based on simple sequence repeat (SSR) markers in sugarcane clones from the breeding program RIDESA. **African Journal of Biotechnology**, Nairobi, v. 11, n. 21, p. 4722-4728, Mar. 2012.

SKROCH, P. W.; TIVANG, J.; NIENHUIS, J. Analysis of genetic relationships using RAPD marker data. In: SYMPOSIUM ON APPLICATIONS OF RAPD TECHNOLOGY TO PLANT BREEDING, 1., 1992, Minneapolis. **Proceedings...** Madison: Crop Science Society of America, 1992. p. 26-30.

SMOUSE, P. E.; LONG, J. C.; SOKAL, R. R. Multiple regression and correlation extensions of the Mantel test of matrix correspondence. **Systematic Zoology**, New York, v. 35, p. 627-632, 1986.

SNEATH, P. H. A.; SOKAL, R. R. **Numerical taxonomy.** San Francisco: Freeman, 1973. 573 p.

SOUZA, A. E. R. et al. Seleção de famílias RB visando à alta produtividade e precocidade na maturação em cana-de-açúcar. **Bragantia**, Campinas, v. 70, n. 4, p. 788-795, 2011.

SOUZA, E.; SORRELLS, M. E. Pedigree analysis of North American oat cultivars released from 1951 to 1985. **Crop Science**, Madison, v. 29, p. 595-601, 1989.

STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM INSTITUTE. **SAS language and procedures:** usage. Version 8.1. Cary, 2000. 1 CD-ROM.

STEVENSON, G. C. **Genetics and breeding of sugar cane**. London: Longmans, 1965. 283 p.

SWAPNA, M. et al. Single-strand conformational Polymorphism of EST-SSRs: a potential tool for diversity analysis and varietal identification in sugarcane. **Plant Molecular Biology Reporter**, Athens, v. 29, n. 3, p. 505-513, 2010.

UKOSKIT, K.; THIPMONGKOLCHAROEN, P.;
CHATWACHIRAWONG, P. Novel expressed sequence tag- simple sequence repeats (EST-SSR) markers characterized by new bioinformatic criteria reveal high genetic similarity in sugarcane (*Saccharum* spp.). **Breeding Lines**, Oxford, v. 11, n. 6, p. 1337-1363, 2012.

VUYLSTEKE, M. et al. Characterization of AFLP data as a tool in genetic diversity assessments among maize (*Zea mays* L.) inbred lines. **Molecular Breeding**, Dordrecht, v. 6, n. 3, p. 265-276, June 2000.

WANG, H. et al. EST-SSR DNA polymorphism in durum wheat (*Triticum durum* L.) collections. **Journal of Applied Genetics**, Poznan, v. 48, n. 1, p. 35-42, Feb. 2007.

WARBURTON, M. L. et al. Genetic characterization of 218 elite CIMMYT maize inbred lines using RFLP markers. **Euphytica**, Wageningen, v. 142, n. 1/2, p. 97-106, 2005.

XU, Y. B.; CROUCH, J. H. Marker-assisted selection in plant breeding: from publications to practice. **Crop Science**, Madison, v. 48, n. 2, p. 391-407, Feb. 2008.

CAPÍTULO III

Capacidade de combinação em cana-de-açúcar utilizando informação de pedigree e similaridade genética

RESUMO

O objetivo deste trabalho foi verificar se a inclusão da informação do coeficiente de parentesco e da similaridade genética obtida por EST-SSR, na análise dialélica via modelos mistos, melhora a acurácia das predições e ocasiona mudanças no ranqueamento das estimativas da CGC e CEC. Para isso, utilizou-se as matrizes de similaridade genética no estado, obtida por marcadores moleculares EST-SSR, e similaridade genética por descendência (coeficiente de parentesco), obtida por informações de pedigree. As análises dialélicas foram realizadas conforme o método IV proposto por Griffing, utilizando-se o software SAS® PROC IML System. Foram utilizadas as estimativas de similaridades genéticas no estado (coeficiente de Jaccard) e as estimativas de similaridade genéticas por descendência (coeficiente de parentesco) para a construção das matrizes A_1 e A_2 . Com isso, foram considerados três modelos de análise do dialelo admitindo ausência de relacionamento genético, com informação de parentesco via pedigree e com informação da similaridade genética por estado advinda dos marcadores moleculares. Os BLUPs da CGC e CEC, considerando os caracteres TCH, TBH, Pol % cana, ART % cana e Pureza % cana, para cada modelo de análise do dialelo foram correlacionados pelo coeficiente de correlação de Spearman. Foi obtida a porcentagem de coincidência dos BLUPs associados a cada estimativa da CGC e CEC, para todos os caracteres, em cada modelo. Verifica-se que as estimativas de variância associadas à CGC e CEC para todos os caracteres, considerando todos os modelos analisados foram positivas, o que evidencia existência de variabilidade genética. A inclusão das informações de similaridade genética por descendência e por estado nas predições da CGC não proporciona melhorias na predição da estimativa de CGC. A similaridade genética obtida pelo coeficiente de parentesco proporciona predições mais acuradas para as estimativas da capacidade específica de combinação, quando comparada às predições obtidas pela similaridade no estado, estimada pela coeficiente de jaccard. As estimativas das capacidades de combinações dos genótipos preditas sem informação e com informação da similaridade genética por descendência e no estado apresentaram alta porcentagem de coincidência.

Palavras-chave: Análise dialélica. BLUP. Marcadores moleculares. Genealogia. Modelos mistos.

ABSTRACT

The objective of this study was to determine whether the inclusion of information relationship coefficient and genetic similarity obtained by EST-SSR, the Diallel analysis via mixed models, improves the accuracy of prediction and causes changes in the ranking of the estimates of GCA and SCA. For this, we used the genetic similarity matrices in the state, obtained by EST-SSR markers, and genetic similarity by descent (kinship coefficient) obtained from pedigree information. Dialélicas Analyses were performed according to the method suggested by Griffing IV, using the SAS PROC IML ® System. We used the estimates of genetic similarities in the state (Jaccard coefficient) and estimates of genetic similarity by descent (kinship coefficient) for the construction of the matrices A1 and A2. With this, we considered three models diallel analysis assuming no genetic relationship with kinship information via pedigree information and genetic similarity by the state arising from molecular markers. The BLUPs of GCA and SCA, considering the characters TCH, TBH, Pol% cane, cane and Purity ART%% cane for each model diallel analysis were correlated by Spearman correlation coefficient. We obtained the percentage of coincidence of BLUPs associated with each estimate GCA and SCA for all traits in each model. It appears that the estimates of variance associated with GCA and SCA for all traits, considering all the models analyzed were positive, which shows existence of genetic variability. The inclusion of information on genetic similarity by descent and by state predictions of the CGC does not provide improvements in the prediction of estimated CGC. The genetic similarity coefficient obtained by kinship provides more accurate predictions for the estimates of specific combining ability when compared to the predictions obtained by similarity in the state, estimated by Jaccard coefficient. Estimates of capacity of combinations of genotypes predicted without information and with information from genetic similarity by descent and the state had a high percentage of coincidence.

Keywords: Diallel analysis. BLUP. Molecular markers. Genealogy. Mixed models.

1 INTRODUÇÃO

Um dos principais desafios encontrados pelos melhoristas de plantas é a escolha das combinações parentais que vão gerar as populações segregantes a serem submetidas à seleção. Diversos métodos têm sido propostos para escolha de populações em espécies autógamas e alógamas (BAENZIGER; PETERSON, 1992). Dentre eles, destacam-se os cruzamentos dialélicos.

O método de cruzamentos dialélicos permite estimar os efeitos da capacidade geral de combinação (CGC), que proporcionam informações sobre a concentração de alelos predominantemente aditivos, além dos efeitos epistáticos aditivos x aditivos, e os efeitos da capacidade específica de combinação (CEC), que evidenciam a importância dos efeitos não aditivos ou predominantemente de vários tipos de interações (CRUZ; REGAZZI, 1997). Desse modo, a CGC refere-se à performance média de uma cultivar ou um clone em combinações híbridas, ao passo que a CEC é usada para designar aqueles casos em que certas combinações híbridas são melhores ou piores que o esperado, com base na performance média de cultivares ou clones envolvidos (CRUZ; REGAZZI, 1994).

Estudos de genética quantitativa em cana-de-açúcar têm mostrado que a CGC é mais importante que a CEC para a maioria dos caracteres de importância econômica, como teor de açúcar, resistência a doenças tais como carvão, ferrugem e mal de Fiji, e conteúdo de fibra. A principal exceção é a tonelada de colmos por hectare, em que ambas as variâncias têm apresentado valores similares (HOGARTH; COX; BULL, 1997).

Em estudo realizado por Bastos et al. (2003) verificou-se, mediante um dialelo 8 x 8 em que obtiveram os híbridos F_1 's e seus respectivos recíprocos, conforme o método 1 de Griffing (1956), que os efeitos gênicos aditivos foram predominantes na expressão das variáveis número de colmos, Brix e porcentagem de florescimento, ao passo que os efeitos gênicos não

aditivos foram mais importantes para as variáveis toneladas de cana por hectare e toneladas de Brix por hectare.

O fato de prevalecer a CGC para diversas características em cana-de-açúcar possibilita selecionar os genitores com base em sua performance. De outra forma, como a CEC tem-se mostrado tão importante quanto a CGC na expressão da característica toneladas de colmos por hectare, torna-se pouco provável predizer com precisão a performance dos cruzamentos. Neste caso, grande número de cruzamentos deveria ser realizado e avaliado em experimentos com repetição para identificar as melhores famílias e prosseguir com a seleção em nível de indivíduos para obtenção dos clones (BASTOS et al., 2003).

Em cana-de-açúcar, no entanto, os cruzamentos dialélicos têm apresentado algumas dificuldades, pois alguns clones apresentam incompatibilidade, quando cruzados e/ou são macho-estéreis. Outro problema é a ocorrência de autofecundação, uma vez que os métodos de emasculação artificial não são totalmente eficientes (HOGARTH, 1980). Essas são as principais causas dos desbalanceamentos freqüentes nos dialelos em cana-de-açúcar.

Sob considerações de desbalanceamento, uma forma de obter predições das CEC e CGC mais acuradas seria por meio da abordagem de modelos lineares mistos proposto por Henderson (1984). Outra vantagem associada a esse método é a possibilidade de inclusão de informação de parentesco por ocasião da análise. Detalhes a respeito desses procedimentos são apresentados em Bernardo (1995), Henderson (1984) e Lynch e Walsh (1998).

Alguns estudos, utilizando metodologias de modelos lineares mistos têm sido realizados com objetivo de predizer capacidades de combinação (CGC e CEC) com base na distância genética dos genitores e/ou com base no coeficiente de parentesco (NUNES; RAMALHO; FERREIRA, 2008) em feijão (BALESTRE, 2009; FERREIRA, 2010) e em milho.

Objetivou-se com este trabalho verificar se a inclusão da informação do coeficiente de parentesco e da similaridade genética obtida por EST-SSR, na análise dialélica via modelos mistos, melhora a acurácia das predições e ocasiona mudanças no ranqueamento das estimativas da CGC e CEC.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Genótipos de cana-de-açúcar

Os procedimentos para obtenção de tecido vegetal e genotipagem, dos 61 genitores, identificados na Tabela 1, estão descritos nos itens 2.2, 2.3 e 2.4 do capítulo II.

O experimento de progênes de irmãos germanos da série RB03 foi conduzido a campo, nos anos agrícolas de 2004 a 2006, em área experimental do Programa de Melhoramento Genético da Cana-de-açúcar/RIDES/UFPR, cedida pela Destilaria COCAMAR (Cooperativa dos Cafeicultores de Maringá Ltda.) e localizada no Município de São Tomé, PR, região noroeste do Estado.

Oitenta famílias foram avaliadas em delineamento experimental em blocos incompletos, considerando cinco repetições por família. Destas, foram utilizadas 72 famílias neste estudo. Utilizou-se os dados fenotípicos referentes aos caracteres agronômicos tonelada de cana por hectare (TCH), tonelada de brix por hectare (TBH), e os tecnológicos pol (%) cana, açúcares redutores totais (ART (%) cana) e Pureza (%) do caldo da cana. Os detalhes experimentais e a descrição da obtenção dos caracteres citados anteriormente estão descritos em Oliveira (2007).

Tabela 1 – Identificação dos 61 genótipos de cana-de-açúcar utilizados neste estudo

Nº	Genitores	Pedigree	Origem
1	Co62175	Co 951 x Co 419 (POJ2878 x Co 290)	Coimbatore,
2	IAC52-326	(POJ2878 x Co 290) Co 419 x ?	Campinas,
3	IAC87-3396	Co740 x SP70-1143 ((CP27-108 x	Campinas,
4	L60-14	CP52-01 x CP48-103	Louisiana,
5	Q124	Trojan x Co 475	Austrália
6	RB721012	(Black Cheribon x Chunnee)POJ213 x ? Co213 x Co214(Saretha x S. spontaneum)Striped Mauritius x M4600) Co331 x ?	Brasil
7	RB72454	(F31-932 x POJ2878(S. spontaneum x S. officinarum)Kassoer x POJ100(Bandjarmassin H x Lathers)POJ2364 x EK28(POJ100 x EK2)F36-819 x CP36- 46 (POJ2725 x CP11-65) CP53-76 x ?	Brasil
8	RB735200	(Black Cheribon x Chunnee)POJ213 x ? Co213 x Co214(Saretha x S. spontaneum)Striped Mauritius x M4600)	Brasil
9	RB75126	C 278 x ?	Brasil
10	RB768647	CP45-110 x ?	Brasil
11	RB806043	(Co 419 x Co 419) NA56-79 x ?	Brasil
12	RB813804	CP48-124 x ?	Brasil
13	RB825336	H53-3989 x ?	Brasil
14	RB825548	F150 x ?	Brasil
15	RB83102	(Co 419 x Co 419) NA56-79 x SP70-1143 ((CP27-108 x ?) IAC48-65 x ?)	Brasil
16	RB8317	POJ2878 x H56-6724	Brasil
17	RB835054	(F31-932 x POJ2878(S. spontaneum x S. officinarum)Kassoer x POJ100(Bandjarmassin H x Lathers)POJ2364 x EK28(POJ100 x EK2)F36-819 x CP36- 46 (POJ2725 x CP11-65) CP53-76 x ?) RB72454 x NA5679 (Co419 x Co419 (POJ2878 x Co 290)	Brasil

18	RB835089	(F31-932 x POJ2878(S. spontaneum x S. officinarum)Kassoer x POJ100(Bandjarmassin H x Lathers)POJ2364 x EK28(POJ100 x EK2)F36-819 x CP36-46 (POJ2725 x CP11-65) CP53-76 x ?) RB72454 x NA5679 (Co419 x Co419 (POJ2878 x Co 290)	Brasil
19	RB835486	(CP52-01 x CP48-103) L60-14 x ?	Brasil
20	RB845197	(F31-932 x POJ2878(S. spontaneum x S. officinarum)Kassoer x POJ100(Bandjarmassin H x Lathers)POJ2364 x EK28(POJ100 x EK2)F36-819 x CP36-46 (POJ2725 x CP11-65) CP53-76 x ?) RB72454 x SP70-1143 ((CP27-108 x ?) IAC48-65 x ?)	Brasil
21	RB845210	(F31-932 x POJ2878(S. spontaneum x S. officinarum)Kassoer x POJ100(Bandjarmassin H x Lathers)POJ2364 x EK28(POJ100 x EK2)F36-819 x CP36-46 (POJ2725 x CP11-65) CP53-76 x ?) RB72454 x SP70-1143 ((CP27-108 x ?) IAC48-65 x ?)	Brasil
22	RB845257	(F31-932 x POJ2878(S. spontaneum x S. officinarum)Kassoer x POJ100(Bandjarmassin H x Lathers)POJ2364 x EK28(POJ100 x EK2)F36-819 x CP36-46 (POJ2725 x CP11-65) CP53-76 x ?) RB72454 x SP70-1143 ((CP27-108 x ?) IAC48-65 x ?)	Brasil
23	RB8495	((CP27-108 x ?) IAC48-65 x ?) SP70-1143 x ?	Brasil
24	RB855035	(CP52-01 x CP48-103) L60-14 x SP70-1284 (CB41-76 x ?)	Brasil
25	RB855036	(F31-932 x POJ2878(S. spontaneum x S. officinarum)Kassoer x POJ100(Bandjarmassin H x Lathers)POJ2364 x EK28(POJ100 x EK2)F36-819 x CP36-46 (POJ2725 x CP11-65) CP53-76 x ?) RB72454 x SP70-1143 ((CP27-108 x ?) IAC48-65 x ?)	Brasil

26	RB855046	((CP27-108 x ?) IAC48-65 x ?) SP70-1143 x RB72454 (F31-932 x POJ2878(S. spontaneum x S. officinarum)Kassoer x POJ100(Bandjarmassin H x Lathers)POJ2364 x EK28(POJ100 x EK2)F36-819 x CP36-46 (POJ2725 x CP11-65) CP53-76 x ?)	Brasil
27	RB855113	((CP27-108 x ?) IAC48-65 x ?) SP70-1143 x RB72454 (F31-932 x POJ2878(S. spontaneum x S. officinarum)Kassoer x POJ100(Bandjarmassin H x Lathers)POJ2364 x EK28(POJ100 x EK2)F36-819 x CP36-46 (POJ2725 x CP11-65) CP53-76 x ?)	Brasil
28	RB855156	(F31-932 x POJ2878(S. spontaneum x S. officinarum)Kassoer x POJ100(Bandjarmassin H x Lathers)POJ2364 x EK28(POJ100 x EK2)F36-819 x CP36-46 (POJ2725 x CP11-65) CP53-76 x ?) RB72454 x TUC717 (CP62-258 x CP52-68)	Brasil
29	RB855206	(F31-932 x POJ2878(S. spontaneum x S. officinarum)Kassoer x POJ100(Bandjarmassin H x Lathers)POJ2364 x EK28(POJ100 x EK2)F36-819 x CP36-46 (POJ2725 x CP11-65) CP53-76 x ?) RB72454 x TUC717 (CP62-258 x CP52-68)	Brasil
30	RB855453	(CP62-258 x CP52-68) TUC717 x ?	Brasil
31	RB855463	(F31-932 x POJ2878(S. spontaneum x S. officinarum)Kassoer x POJ100(Bandjarmassin H x Lathers)POJ2364 x EK28(POJ100 x EK2)F36-819 x CP36-46 (POJ2725 x CP11-65) CP53-76 x ?) RB72454 x ?	Brasil
32	RB855511	(Co 419 x Co 419) NA56-79 x ?) SP71-1406 x ?	Brasil
33	RB855536	((CP27-108 x ?) IAC48-65 x ?) SP70-1143 x RB72454 (F31-932 x POJ2878(S. spontaneum x S. officinarum)Kassoer x POJ100(Bandjarmassin H x Lathers)POJ2364 x EK28(POJ100 x EK2)F36-819 x CP36-46 (POJ2725 x CP11-65) CP53-76 x ?)	Brasil

34	RB855595	((CP27-108 x ?) IAC48-65 x ?) SP70-1143 x TUC717 (CP62-258 x CP52-68) (F31-932 x POJ2878(S. spontaneum x S. officinarum)Kassoer x POJ100(Brasil
35	RB867515	Bandjarmassin H x Lathers)POJ2364 x EK28(POJ100 x EK2)F36-819 x CP36-46 (POJ2725 x CP11-65) CP53-76 x ? RB72454 x ?	Brasil
36	RB912825	CP72-1312 x ?	Brasil
37	RB912850	CP56-59 x ?	Brasil
38	RB9252119	((F31-932 x POJ2878(S. spontaneum x S. officinarum)Kassoer x POJ100(Bandjarmassin H x Lathers)POJ2364 x EK28(POJ100 x EK2)F36-819 x CP36-46 (POJ2725 x CP11-65) CP53-76 x ?) RB72454 x TUC717 (CP62-258 x CP52-68)) RB855206 x ?	Brasil
39	RB925345	H59-1966 x ?	Brasil
40	RB92579	(Badila x 28NG251) Co270 x ?) RB75126 x RB72199 (Co 421 x Co 310) NCo334 x ?)	Brasil
41	RB92606	Q104 x RB72454 (F31-932 x POJ2878(S. spontaneum x S. officinarum)Kassoer x POJ100(Bandjarmassin H x Lathers)POJ2364 x EK28(POJ100 x EK2)F36-819 x CP36-46 (POJ2725 x CP11-65) CP53-76 x ?)	Brasil
42	RB928064	((CP27-108 x ?) IAC48-65 x ?) SP70-1143 x ?	Brasil
43	RB9350	Q107 x RB72199 (Co421 x Co310)NCo334 x ?)	Brasil
44	RB93509	(F31-932 x POJ2878(S. spontaneum x S. officinarum)Kassoer x POJ100(Bandjarmassin H x Lathers)POJ2364 x EK28(POJ100 x EK2)F36-819 x CP36-46 (POJ2725 x CP11-65) CP53-76 x ?) RB72454 x ?	Brasil
45	RB935915	RB835486 x RB835079	Brasil
46	RB945961	RB855206 x ?	Brasil
47	RB946022	RB855511 x RB855077	Brasil

48	RB946903	((B34104 x M213/40) N253/40 x?) RB765418 x RB72454 (F31-932 x POJ2878(S. spontaneum x S. officinarum)Kassoer x POJ100(Bandjarmassin H x Lathers)POJ2364 x EK28(POJ100 x EK2)F36-819 x CP36-46 (POJ2725 x CP11-65) CP53-76 x ?) (S. spontaneum x S. officinarum)Kassoer x POJ100(Bandjarmassin H x Lathers)POJ2364 x EK28(POJ100 x EK2)POJ2878 x Co 290)Co 419 x Co 419)NA56-79 x ?) SP71-1406 x RB72454 (F31-932 x POJ2878(S. spontaneum x S. officinarum)Kassoer x POJ100(Bandjarmassin H x Lathers)POJ2364 x EK28(POJ100 x EK2)F36-819 x CP36-46 (POJ2725 x CP11-65) CP53-76 x ?)	Brasil
49	RB947501	RB72454 (F31-932 x POJ2878(S. spontaneum x S. officinarum)Kassoer x POJ100(Bandjarmassin H x Lathers)POJ2364 x EK28(POJ100 x EK2)F36-819 x CP36-46 (POJ2725 x CP11-65) CP53-76 x ?) (F31-932 x POJ2878(S. spontaneum x S. officinarum)Kassoer x POJ100(Bandjarmassin H x Lathers)POJ2364 x EK28(POJ100 x EK2)F36-819 x CP36-46 (POJ2725 x CP11-65) CP53-76 x ?)	Brasil
50	RB956911	RB72454 x TUC71-7)(CP62-258 x CP52-68)) RB855206 x RB855035 (CP521 x CP48103) L6014 x SP701284 (CB4176 x ?) (F31-932 x POJ2878(S. spontaneum x S. officinarum)Kassoer x POJ100(Bandjarmassin H x Lathers)POJ2364 x EK28(POJ100 x EK2)F36-819 x CP36-46 (POJ2725 x CP11-65) CP53-76 x ?)	Brasil
51	RB966928	RB72454 x TUC717 (CP62-258 x CP52-68) RB855156 x RB815690 ((CP27-108 x?)IAC49/131 x NA56-79(Co419 x Co419)	Brasil
52	SP70-1143	((CP27-108 x ?) IAC48-65 x ?)	São Paulo,
53	SP77-5181	HJ57-41 x ? (S. spontaneum x S. officinarum	São Paulo,
54	SP79-1011)Kassoer x POJ100(Bandjarmassin H x Lathers) POJ2364 x EK28)POJ2878 x Co 290)Co419 x Co419) NA5679 x Co775 (POJ2878 x CO371)	São Paulo, Brasil
55	SP80-1816	(CP5530 x CP5376) SP71-1088 x H575028 (H49134 x ?)	São Paulo, Brasil

56	SP80-1842	(CP5530 x CP5376) SP71-1088 x H575028 (H49134 x ?)	São Paulo, Brasil
57	SP80-3280	(CP5530 x CP5376) SP71-1088 x H575028 (H49134 x ?)	São Paulo, Brasil
58	SP81-3250	(CP62-374 x CP57-526) CP701547 x SP71-1279 (CB49-260 x ?)	São Paulo, Brasil
59	SP83-2847	HJ5741 x SP70-1143 ((CP27-108 x ?) IAC48-65 x ?)	São Paulo, Brasil
60	SP83-5073	SP71-1406 x SP71-1088 (CP5530 x	São Paulo,
61	TUC71-7	CP62-258 x CP52-68	Argentina

?: parental derivado de policruzamento.

2.2 Obtenção das matrizes de similaridade genética

As matrizes de similaridade genética no estado, obtida por marcadores moleculares EST-SSR, e similaridade genética por descendência (coeficiente de parentesco), obtida por informações de pedigree estão descritas nos itens 2.5 e 2.7 do Capítulo II, respectivamente.

2.3 Análise dialélica via modelos mistos

As análises foram realizadas conforme o método IV proposto por Griffing (1956), utilizando-se o software SAS® PROC IML System (STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM INSTITUTE - SAS INSTITUTE, 2000). As estimativas dos efeitos fixos e os BLUPs das capacidades de combinações (CGC e CEC) foram obtidos de maneira semelhante à apresentada por Bernardo (1995). Utilizou-se o modelo de dialelo completo desbalanceado, considerando todos os genótipos dentro de um mesmo grupo.

O modelo linear considerado foi dado por:

$$y = X\beta + Z_1g + Z_2s + e$$

em que,

y é o vetor de dados fenotípicos;

β é o vetor dos efeitos fixos (média geral e blocos);

g é o vetor de efeitos da capacidade geral de combinação;

s é o vetor da capacidade específica de combinação;

e é o vetor dos erros experimentais;

X , Z_1 e Z_2 são as matrizes de incidência dos efeitos β , g e s , respectivamente.

A solução conjunta para os efeitos fixos e aleatórios foi obtida utilizando o procedimento REML/BLUP via algoritmo EM, pelo sistema de equações conforme Henderson (1984):

$$\begin{bmatrix} \beta \\ g \\ s \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} (X'X + X'Z_1'Z_1 + X'Z_2'Z_2)^{-1} X'Y \\ (Z_1'Z_1 + A_1)^{-1} Z_1'X\beta + A_1^{-1}(-1) Y_1 \\ (Z_2'Z_2 + A_2)^{-1} Z_2'X\beta + A_2^{-1}(-1) Y_2 \end{bmatrix}$$

com $Y_1 = \frac{\sigma_g^2}{\sigma_e^2}$ e $Y_2 = \frac{\sigma_s^2}{\sigma_e^2}$, sendo σ_e^2 , σ_g^2 e σ_s^2 estimativas do componente de variância associados aos efeitos residuais, das CGC e CEC. A_1 e A_2 são matrizes de relacionamento genético.

Foram utilizadas as estimativas de similaridades genéticas no estado (coeficiente de Jaccard) e as estimativas de similaridade genéticas por descendência (coeficiente de parentesco) para a construção das matrizes A_1 e A_2 de forma análoga à apresentada por Bernardo (1995) e Henderson (1984). Com isso, foram considerados três modelos de análise do dialelo admitindo ausência de relacionamento genético, denominado sem informação (SI), com informação de parentesco via pedigree (CI_f) e com informação da similaridade genética por estado advinda dos marcadores moleculares (CI_{SG}).

Para o modelo CI_f a matriz de parentesco aditivo A_1 corresponde a duas vezes o coeficiente de Malécot e para o modelo CI_{SG} a matriz de similaridade A_1 é a matriz de similaridade genética aditiva entre genitores obtida pelo coeficiente de Jaccard.

A^2 parentesco de dominância

Os intervalos de confiança dos componentes de variância para cada estimativa foram obtidos a partir da expressão:

$$IC(\sigma_i^2; 1 - \alpha) = \left[\frac{v\hat{\sigma}_i^2}{\chi^2_{(v, 1-\frac{\alpha}{2})}} < \sigma_i^2 < \frac{v\hat{\sigma}_i^2}{\chi^2_{(\frac{v}{2}, \frac{\alpha}{2})}} \right]$$

em que,

$\hat{\sigma}_i^2$: variância da estimativa

α : nível de significância pré-estabelecido, $\alpha=0,05$

v : graus de liberdade associados ao componente $\hat{\sigma}_i^2$ obtidos pela aproximação de Satterthwaite (1946), conforme a expressão $v = 2Z^2$, em

que $Z = \frac{\hat{\sigma}_i^2}{\sqrt{s(\hat{\sigma}_i^2)}}$ (SAS INSTITUTE, 2000);

$\chi^2_{(v, 1-\frac{\alpha}{2})}$ e $\chi^2_{(\frac{v}{2}, \frac{\alpha}{2})}$: quantis da distribuição de χ^2 para v graus de liberdade;

As estimativas de acurácia da capacidade geral de combinação (r_{gi}) e da capacidade específica de combinação (r_{sj}), para cada modelo descrito anteriormente, foram obtidas por:

$$r_{gi} = \sqrt{(1 - d_i \gamma_1)} \quad \text{e} \quad r_{sj} = \sqrt{(1 - d_j \gamma_2)}$$

em que,

d_i e d_j são o i -ésimo e o j -ésimo elemento da diagonal de $Z_1^i Z_{1\Box} + A_1^{-1} \gamma_1$ e $Z_2^j Z_{2\Box} + A_2^{-1} \gamma_2$ resultante da inversa da matriz conjunta de efeitos fixos e aleatórios, respectivamente.

2.4 Coeficiente de correlação de Spearman e coeficiente de coincidência

Os BLUPs da capacidade geral de combinação (CGC) e capacidade específica de combinação (CEC), considerando os caracteres agrônômicos TCH e TBH e os tecnológicos Pol % cana, ART % cana e Pureza % cana, para cada modelo de análise do dialelo foram correlacionados pelo coeficiente de correlação de Spearman. A porcentagem de coincidência dos

BLUPs associados a cada estimativa da CGC e CEC, para todos os caracteres, em cada modelo, foi obtida através da expressão de Hamblin e Zimmermann (1986).

3 RESULTADOS

Verifica-se que as estimativas de variância associadas à capacidade geral e específica de combinação para todos os caracteres, agrônômicos e industriais, considerando todos os modelos analisados foram positivas, o que evidencia existência de variabilidade genética (Tabela 2). Observa-se que os valores associados a variância da capacidade geral de combinação foram inferiores aos da capacidade específica de combinação para todos os caracteres avaliados, exceto para Pureza % cana, no modelo SI. Estes valores de menor magnitude evidencia predominância dos efeitos não aditivos.

Para os caracteres agrônômicos TCH e TBH as variância associada a capacidade geral de combinação foram superiores quando estimadas no modelo sem informação. Variância de igual magnitude, para capacidade geral de combinação, foi observado para Pol % cana nos modelos SI, CI_f e CI_{SG}. Para ART % cana estas estimativas foram semelhantes, mostrando uma superioridade quando estimada com a informação da similaridade genética no estado (CI_{SG}). A similaridade genética no estado proporcionou uma melhor estimativa da variância da capacidade geral de combinação para Pureza % cana em relação as estimativas obtidas nos modelos SI e CI_f (Tabela 2).

As variâncias associadas a capacidade específica de combinação foram maiores, para todos os caracteres avaliados, quando estimadas com informação de similaridade genética, apresentando valores de maior magnitude no modelo CI_{SG} (Tabela 2). Evidenciando que houve melhoria nas estimativas da CEC devido à diversidade genética.

Tabelas 2 - Componentes de variância e respectivos intervalos de confiança das estimativas da capacidade geral de combinação (σ_g^2) e capacidade específica de combinação (σ_s^2) para as os caracteres TCH, TBH, Pol % cana, ART % cana e Pureza % cana considerando os modelos sem informação (SI), com informação do parentesco (CI_f) e com informação da similaridade genética (CI_{SG})

Componentes de variâncias	TCH		
	SI	CI_f	CI_{SG}
σ_g^2	90,385 (34,522-418,320)	56,282 (17,249-585,358)	78,967 (26,887-534,842)
σ_s^2	477,654 (298,300-799,524)	569,568 (370,587-900,612)	665,310 (472,675-939,776)
Componentes de variâncias	TBH		
	SI	CI_f	CI_{SG}
σ_g^2	4,218 (1,651-18,168)	2,968 (1,012-19,991)	3,778 (1,362-20,955)
σ_s^2	21,639 (13,630-35,784)	25,476 (16,750-39,720)	30,221 (21,594-42,394)
Componentes de variâncias	Pol (%) cana		
	SI	CI_f	CI_{SG}
σ_g^2	0,238 (0,136-0,454)	0,238 (0,143-0,388)	0,238 (0,196-0,459)
σ_s^2	0,380 (0,238-0,634)	0,475 (0,322-0,712)	0,596 (0,408-0,881)
Componentes de variâncias	ART (%) cana		
	SI	CI_f	CI_{SG}
σ_g^2	0,158 (0,086-0,330)	0,151 (0,087-0,282)	0,173 (0,102-0,315)
σ_s^2	0,317 (0,199-0,526)	0,387 (0,262-0,582)	0,494 (0,172-0,370)
Componentes de variâncias	Pureza (%) cana		
	SI	CI_f	CI_{SG}
σ_g^2	1,870 (1,053-3,663)	1,764 (1,115-2,904)	2,147 (1,393-3,407)
σ_s^2	1,430 (0,689-3,733)	1,981 (1,105-3,940)	2,653 (1,414-5,713)

Para todos os caracteres avaliados os BLUPs da CGC foram de maior magnitude no modelo sem informação (SI) (Gráficos 1, 2, 3, 4 e 5). Contudo as correlações com o modelo CI_{SG} foram altamente significativas. Para TCH os BLUPs da CGC variaram de 13,89 (SP80-1816) a -11,17 (RB855536), 7,52 (SP80-1816) a -6,11 (RB855536) e 6,23 (SP80-1816) a -5,40 (RB855536), considerando os modelos SI, CI_f e CI_{SG} , respectivamente (Gráfico 1). Observa-se que os valores extremos correspondem aos mesmos genitores para os três modelos. Os alto valores, positivos e significativos, das correlações dos BLUPs da CGC para TCH confirmam as semelhanças entre as estimativas obtidas pelos diferentes modelos. Tal evidência é confirmada pela alta porcentagem de coincidência considerando 5%, 10% e 25% das estimativas superiores e inferiores (Tabelas 8, 9 e 10). Resultados semelhantes foram identificados para TBH que apresentou variação de 3,19 (SP80-1816) a -2,44 (RB855536), 1,84 (SP80-1816) a -1,45 (RB855536) e 1,48 (SP80-1816) a -1,15 (RB855536), considerando os modelos SI, CI_f e CI_{SG} , respectivamente (Gráfico 2), os quais apresentaram correlações altas, positivas e significativas.

Quanto aos caracteres industriais pol % cana e ART % cana, os valores de maior magnitude também foram apresentados pelo genitor SP80-1816 e as de menor magnitude pelo genitor RB855536, em todos os modelos (Gráficos 3 e 4). Já para pureza % cana as maiores estimativas de CGC foram apresentadas pelos genitores RB845210 para os modelos SI e CI_{SG} e pelo genitor RB835486 no modelo CI_f (Gráfico 5). As estimativas de menor magnitude, para todos os caracteres industriais foram apresentadas pelo genitor RB947501. Contudo, correlações de alta magnitude, positivas e significativas foram apresentadas entre os diferentes modelos para estes caracteres.

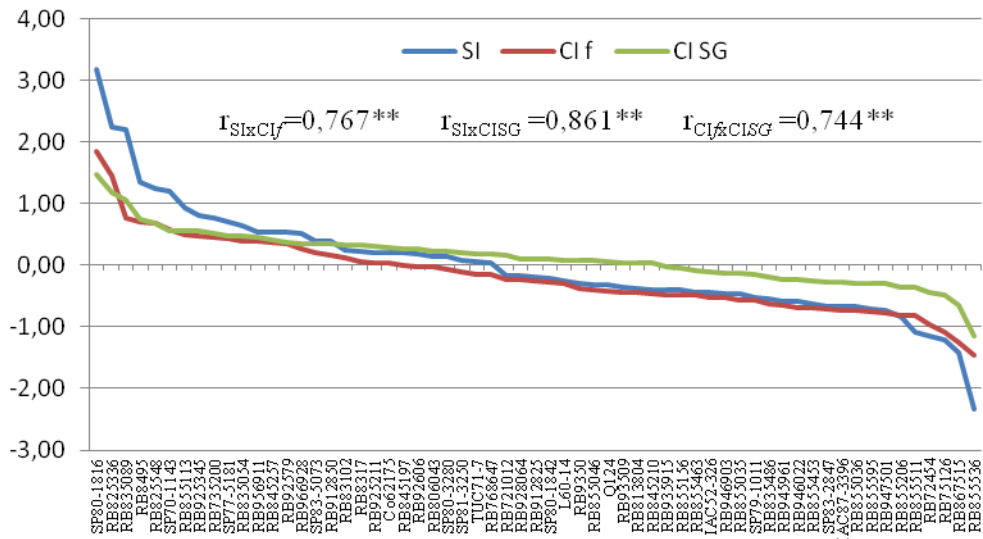


Gráfico 3 – BLUPs da CGC para Pol % cana considerando os modelos sem informação (SI), com informação do parentesco (CI_f) e com informação da similaridade genética (CI_{SG}) e valores das Correlações de Spearman (*r*) entre os modelos; **significativo a 1% de probabilidade pelo teste t.

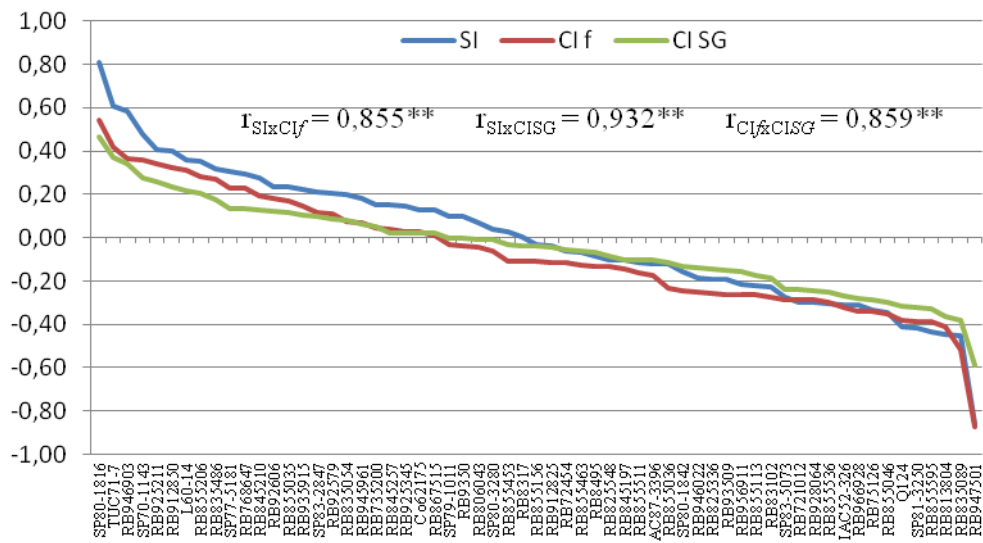


Gráfico 4 – BLUPs da CGC para ART % cana considerando os modelos sem informação (SI), com informação do parentesco (CI_f) e com informação da similaridade genética (CI_{SG}) e valores das Correlações de Spearman (*r*) entre os modelos; ***significativo a 1% de probabilidade pelo teste t.

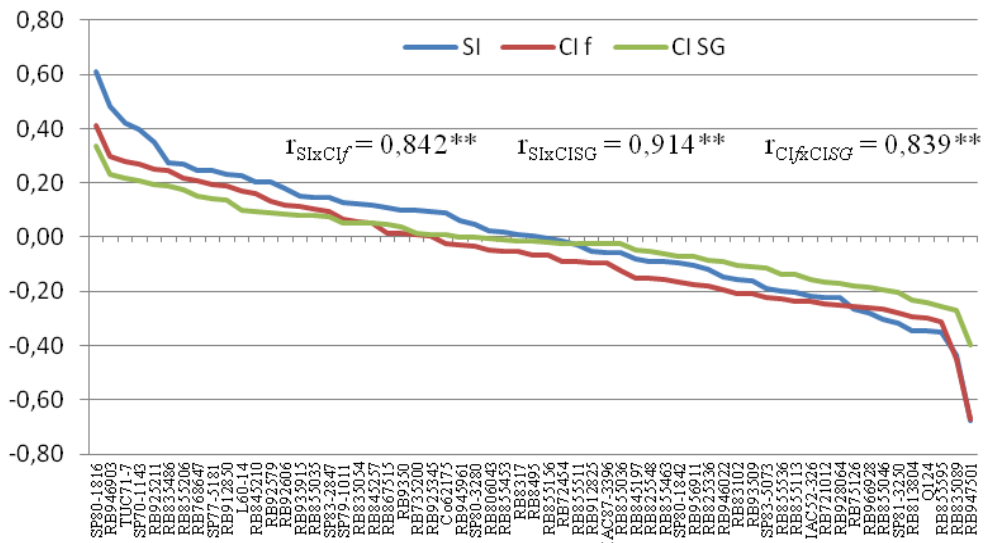
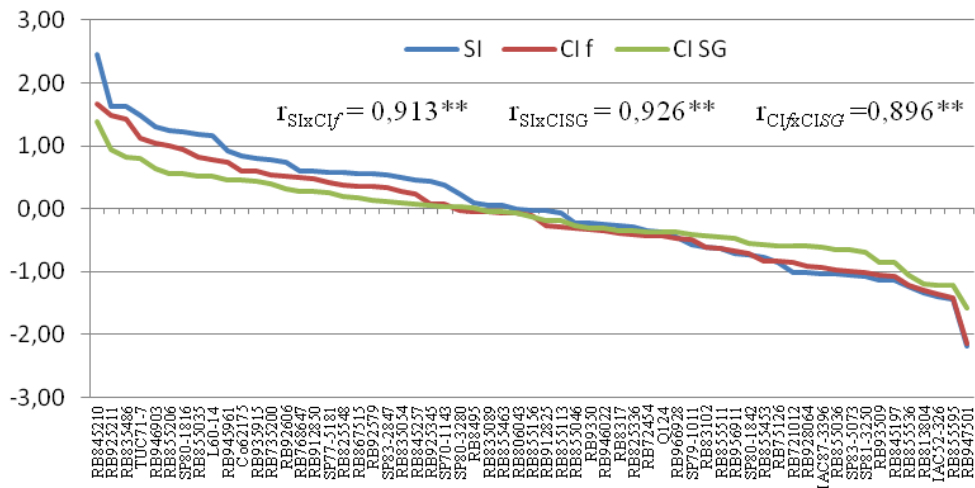


Gráfico 5 – BLUPs da CGC para Pureza % cana considerando os modelos sem informação (SI), com informação do parentesco (CI_f) e com informação da similaridade genética (CI_{SG}) e valores das Correlações de Spearman (r) entre os modelos; **significativo a 1% de probabilidade pelo teste t.



Verifica-se que os valores dos BLUPs associados a CEC foram superiores aos da CGC, os quais convergiram para um alto valor da variância da CEC. Os BLUPs da CEC, para todos os caracteres, apresentaram valores

de maior magnitude nos modelos com informação (CI_f e CI_{SG}) (Gráficos 6, 7, 8, 9 e 10). Contudo, as correlações entre todos os modelos avaliados foram positivas e altamente significativas. Corroborando com os valores de maior discrepâncias nos modelos com informação (CI_f e CI_{SG}), para os caracteres agrônômicos TCH e TBH, as correlações entre eles foram as mais expressivas (Gráficos 6 e 7). Evidenciando que mesmo sendo o modelo CI_f o mais acurado em relação a CEC, a alta correlação com o modelo CI_{SG} demonstra que ambos podem ser utilizados para melhorar a predição.

As melhores combinações de genitores, considerando o caractere TCH, em todos os modelos analisados foram SP80-1816 e RB825336, e RB867515 e RB835089, identificados na Gráfico 6 como 55 x 13 e 35 x 18, respectivamente. Vale ressaltar que a melhor combinação de genitores para TCH foi à mesma, considerando o caráter TBH (SP80-1816 e RB825336). A segunda melhor combinação foi apresentada pelos genitores SP77-5181 e SP70-1143 em todos os modelos analisados. Os altos valores de correlações associados às elevadas porcentagem de coincidência corroboram na escolha destas combinações de genitores.

Quanto aos caracteres industriais pol % cana e ART % cana, merecem destaque as combinações SP80-1816 x RB855156 e, RB946903 e RB925345, identificados nas Gráficos 8 e 9 como 55 x 28 e 48 x 39, respectivamente, por apresentarem as melhores estimativas CEC em todos os modelos analisados.

Gráfico 6 – BLUPS da CEC para TCH considerando os modelos sem informação (SI), com informação do parentesco (CI_f) e com informação da similaridade genética (CI_{SG}) e valores das Correlações de Spearman (r) entre os modelos; **significativo a 1% de probabilidade pelo teste t.

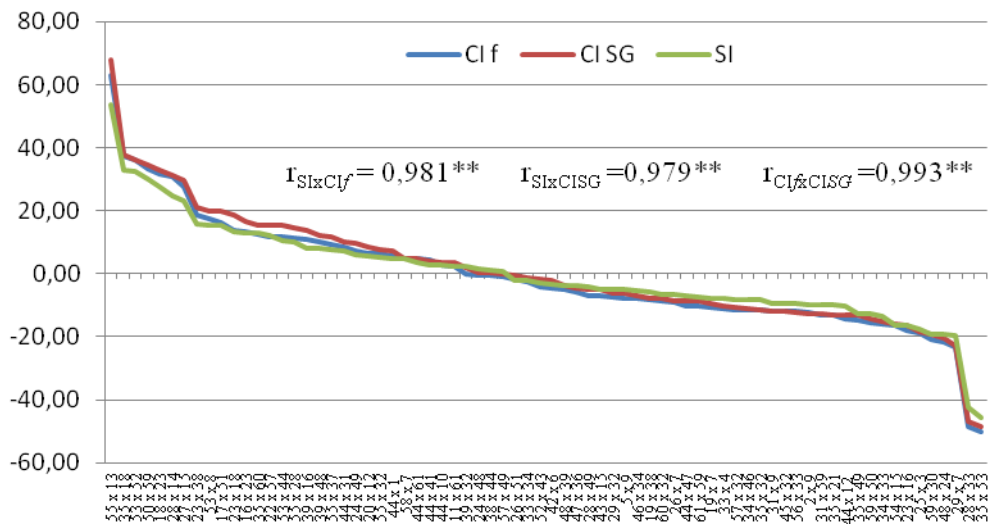


Gráfico 7 – BLUPs da CEC para TBH considerando os modelos sem informação (SI), com informação do parentesco (CI_f) e com informação da similaridade genética (CI_{SG}) e valores das Correlações de Spearman (r) entre os modelos; **significativo a 1% de probabilidade pelo teste t.

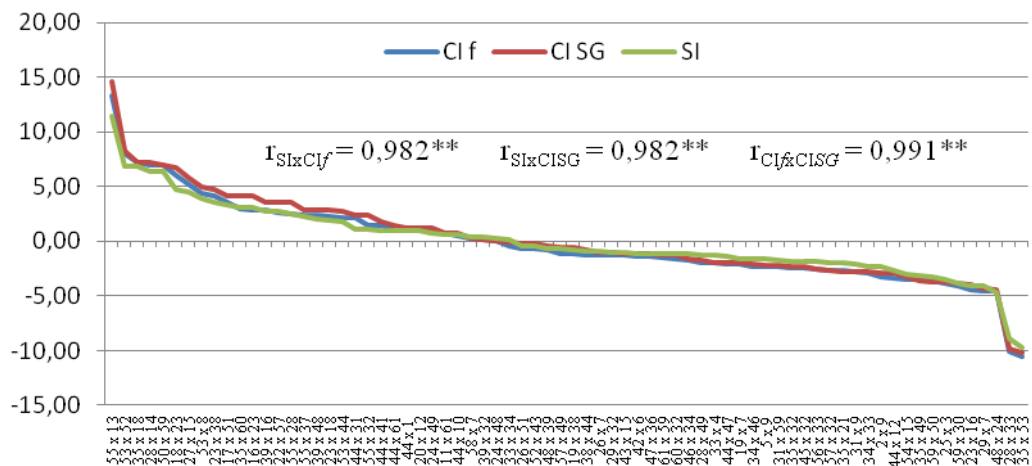


Gráfico 8 – BLUPs da CEC para Pol % cana considerando os modelos sem informação (SI), com informação do parentesco (CI_f) e com informação da similaridade genética (CI_{SG}) e valores das Correlações de Spearman (r) entre os modelos; **significativo a 1% de probabilidade pelo teste t.

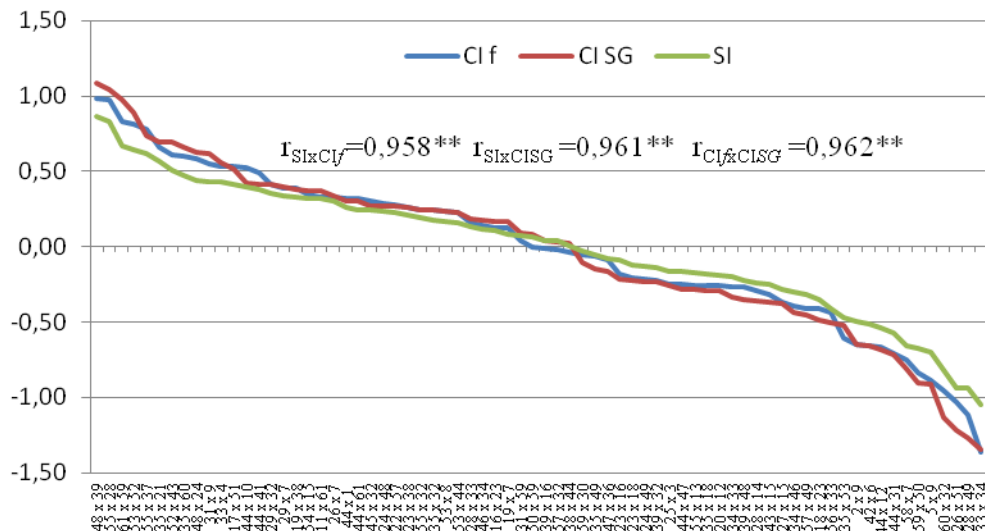


Gráfico 9 – BLUPs da CEC para ART % cana considerando os modelos sem informação (SI), com informação do parentesco (CI_f) e com informação da similaridade genética (CI_{SG}) e valores das Correlações de Spearman (r) entre os modelos; **significativo a 1% de probabilidade pelo teste t.

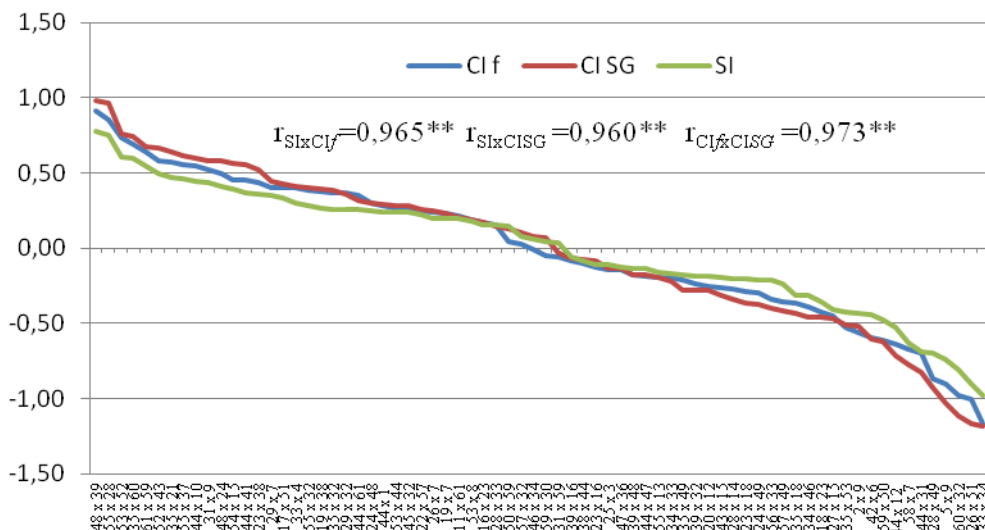
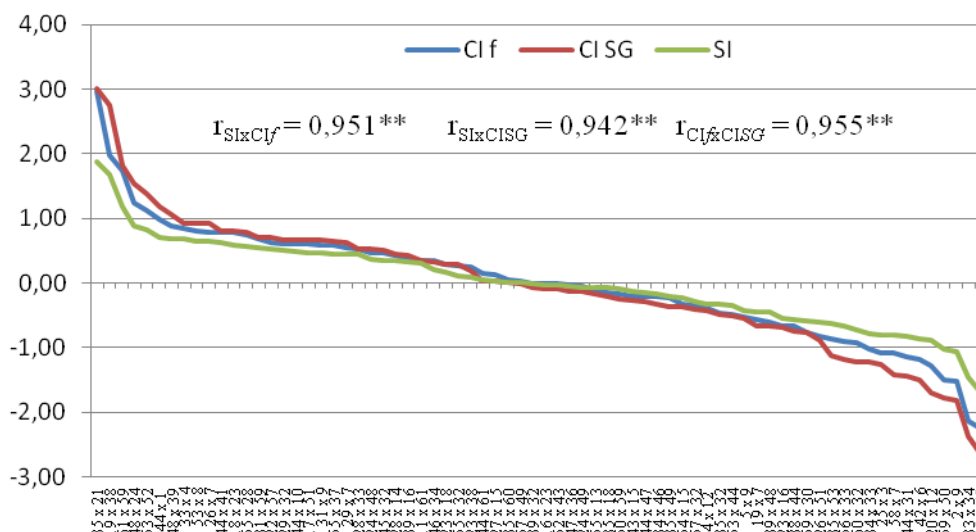


Gráfico 10 – BLUPs da CEC para Pureza % cana considerando os modelos sem informação (SI), com informação do parentesco (CI_f) e com informação da similaridade genética (CI_{SG}) e valores das Correlações de Spearman (r) entre os modelos; **significativo a 1% de probabilidade pelo teste t.



Na tabela 4 pode-se verificar que houve 100% de coincidência entre as 5% melhores estimativas BLUPs da CGC, entre o modelo SI, que foi o mais acurado, com o modelo CI_{SG} , para os caracteres TCH, TBH e ART % cana. Considerando 10% das melhores estimativas BLUPs, as maiores porcentagem de coincidência foram constatadas entre os modelos $SIxCI_{SG}$ para TCH (100%), TBH (83,33), Pol % cana (83,33) e Pureza % cana (83,33) (Tabela 5). E considerando 25% das melhores estimativas BLUPs, observa-se maior percentual de coincidência entre os modelos $SIxCI_{SG}$ para TCH (86,67%), TBH (86,67%) e ART % cana (86,67%) (Tabela 6).

Tabela 4 - Porcentagem de coincidência (C%) para 5% dos 61 genitores de cana-de-açúcar superiores e inferiores ranqueados pelos BLUPs da CGC considerando os modelos sem informação (SI), com informação do parentesco (CI_f) e com informação da similaridade genética no estado (CI_{SG}) para os caracteres TCH, TBH, Pol % cana (Pol), ART % cana (ART) e Pureza % cana (Puz)

Model	Caracteres
-------	------------

	TC	TB	Pol	AR	Puz	TC	TB	Pol	AR	Puz
	C% superiores					C% inferiores				
SIxCI _f	66,6	66,6	66,	66,6	66,	66,	66,6	66,6	66,	66,
SIxCI _s	100,	100,	66,	100,	66,	66,	66,6	100,	66,	33,
CI _f xCI	66,6	66,6	66,	66,6	33,	66,	100,	66,6	66,	66,

Tabela 5 - Porcentagem de coincidência (C%) para 10% dos 61 genitores de cana-de-açúcar superiores e inferiores ranqueados pelos BLUPs da CGC considerando os modelos sem informação (SI), com informação do parentesco (CI_f) e com informação da similaridade genética no estado (CI_{sG}) para os caracteres TCH, TBH, Pol % cana (Pol), ART % cana (ART) e Pureza % cana (Puz)

Modelos	Caracteres									
	TCH	TB	Pol	ART	Puz	TC	TB	Pol	AR	Puz
	C% superiores					C% inferiores				
SIxCI	83,3	66,	50,	66,6	50,	66,	66,	66,	66,	66,
SIxCI	100,	83,	83,	66,6	83,	66,	83,	66,	66,	83,
CI _f xC	83,3	50,	66,	66,6	66,	66,	66,	83,	66,	66,

Tabela 6 - Porcentagem de coincidência (C%) para 25% dos 61 genitores de cana-de-açúcar superiores e inferiores ranqueados pelos BLUPs da CGC considerando os modelos sem informação (SI), com informação do parentesco (CI_f) e com informação da similaridade genética no estado (CI_{sG}) para os caracteres TCH, TBH, Pol % cana (Pol), ART % cana (ART) e Pureza % cana (Puz)

Modelos	Caracteres									
	TC	TB	Pol	ART	Puz	TC	TB	Pol	AR	Puz
	C% superiores					C% inferiores				
SIxCI	53,	53,	80,	80,00	80,	60,	60,	73,	73,	86,
SIxCI	86,	86,	80,	86,67	73,	66,	66,	86,	86,	80,
CI _f xC	53,	53,	73,	73,33	73,	66,	73,	80,	66,	80,

Quanto a porcentagem de coincidência (C%) para 5%, 10% e 25% das 72 combinações de genitores de cana-de-açúcar superiores e inferiores ranqueadas pelos BLUPs da CEC considerando os modelos sem informação (SI), com informação do parentesco (CI_f) e com informação da similaridade genética no estado (CI_{sG}) para os caracteres TCH, TBH, Pol % cana, ART %

cana e Pureza % cana, verifica-se que os modelos mais acurados CI_f e CI_{SG} apresentaram os maiores percentuais de coincidência (Tabelas 7, 8 e 9).

Tabela 7 - Porcentagem de coincidência (C%) para 5% das 72 famílias de cana-de-açúcar superiores e inferiores ranqueados pelos BLUPs da CEC considerando os modelos sem informação (SI), com informação do parentesco (CI_f) e com informação da similaridade genética no estado (CI_{SG}) para os caracteres TCH, TBH, Pol % cana (Pol), ART % cana (ART) e Pureza % cana (Puz)

Modelos	Caracteres									
	TCH	TBH	Pol	ART%	Puz	TCH	TBH	Pol	ART	Puz
	C% superiores					C% inferiores				
$SI \times CI_f$	66,67	66,67	100,00	66,67	100,00	66,67	66,67	66,67	100,00	100,00
$SI \times CI_{SG}$	66,67	66,67	66,67	66,67	100,00	66,67	66,67	100,00	100,00	66,67
$CI_f \times CI_{SG}$	100,00	66,67	66,67	66,67	100,00	100,00	66,67	66,67	100,00	66,67

Tabela 8 - Porcentagem de coincidência (C%) para 10% das 72 famílias de cana-de-açúcar superiores e inferiores ranqueados pelos BLUPs da CEC considerando os modelos sem informação (SI), com informação do parentesco (CI_f) e com informação da similaridade genética no estado (CI_{SG}) para os caracteres TCH, TBH, Pol % cana (Pol), ART % cana (ART) e Pureza % cana (Puz)

Modelos	Caracteres									
	TC	TB	Pol	ART	Puz	TC	TB	Pol	AR	Puz
	C% superiores					C% inferiores				
$SI \times CI$	100,	100,	57,	57,1	71,	85,	66,	85,	100,	85,
$SI \times CI$	100,	100,	71,	71,4	85,	85,	66,	85,	85,7	57,
$CI_f \times C$	100,	100,	57,	57,1	71,	85,	66,	85,	85,7	71,

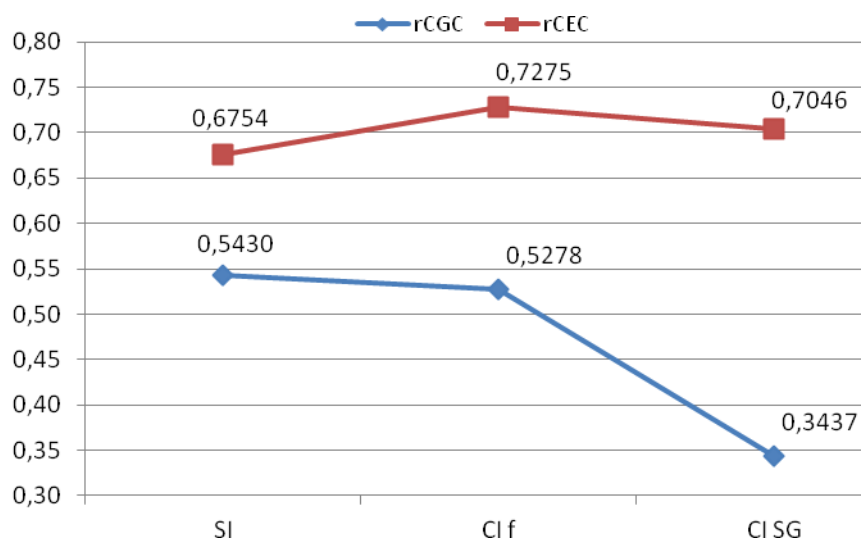
Tabela 9 - Porcentagem de coincidência (C%) para 25% das 72 famílias de cana-de-açúcar superiores e inferiores ranqueados pelos BLUPs da CEC considerando os modelos sem informação (SI), com informação do parentesco (CI_f) e com informação da similaridade genética no estado (CI_{SG}) para os caracteres TCH, TBH, Pol % cana (Pol), ART % cana (ART) e Pureza % cana (Puz)

Model	Caracteres
-------	------------

	TC	TB	Pol	AR	Puz	TC	TB	Pol	AR	Puz
	C% superiores					C% inferiores				
SIxCI _f	88,	88,	88,	77,	77,	88,	83,	83,	83,	94,
SIxCI _S	83,	94,	77,	77,	66,	88,	83,	83,	83,	83,
CI _f xC	94,	94,	83,	83,	72,	88,	88,	88,	88,	88,

É possível verificar para CGC, que o modelo sem informação (SI) foi o mais acurado (0,5430), porém semelhante em magnitude ao modelo com informação de parentesco (0,5278). Já Para CEC, o modelo com informação de parentesco (CI *f*) foi o mais acurado (0,7275) seguido do modelo com informação da similaridade genética no estado (CI_{SG}) (0,7046). Quanto à acurácia utilizando os coeficientes de parentesco (*f*) e similaridade genética no estado (SG), verifica-se que a utilização da SG pode acarretar em aumento da variância do erro de predição, consequentemente, perda da acurácia dos valores genéticos quando comparado a estimadores que eliminam esse viés.

Gráfico 11- Acurácia média dos BLUPs da CGC e CEC, considerando os caracteres TCH, TBH, Pol % cana, ART % cana e Pureza % cana, para os modelos sem informação (SI), com informação de parentesco (CI *f*) e com informação da similaridade genética no estado.



Os valores de acurácia para cada estimativa da CGC e CEC, considerando os caracteres TCH, TBH, Pol % cana, ART % cana e Pureza % cana, analisados nos modelos de dialelo SI, CI_f e CI_{SG} estão apresentados graficamente nas Gráficos 12, 13, 14, 15 e 16, respectivamente. É evidente para todos os caracteres de importância para a cultura da cana que os modelos com informação melhorou a acurácia das predições da capacidade específica de combinação. Já em relação à capacidade geral de combinação o modelo sem informação apresentou-se como o mais acurado. No entanto, para os caracteres industriais as acurácias dos modelos sem informação e com informação de parentesco foram de magnitude bastante semelhante (Gráficos 14, 15 e 16).

Gráfico 12 – Acurácias dos BLUPs da CGC para os 61 genitores (a) e CEC para as 72 famílias de cana-de-açúcar (b), para tonelada de cana por hectare (TCH) considerando os modelos de dialelo sem informação (SI), com informação de parentesco (CI_f) e com informação da similaridade genética em estado (CI_{SG}).

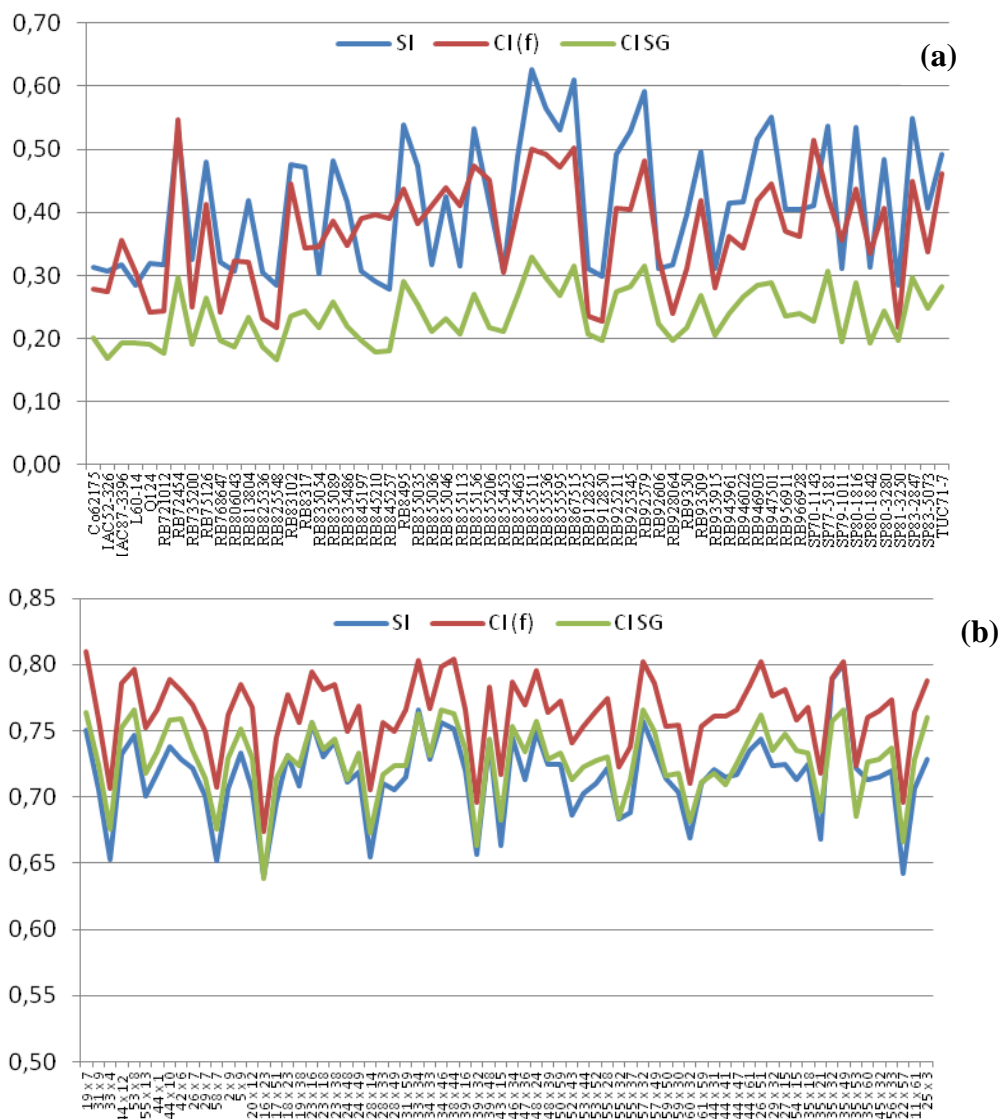


Gráfico 13 – Acurácias dos BLUPs da CGC para os 61 genitores (a) e CEC para as 72 famílias de cana-de-açúcar (b), para TBH considerando os modelos de dialelo sem informação (SI), com informação de parentesco (CI *f*) e com informação da similaridade genética em estado (CI SG).

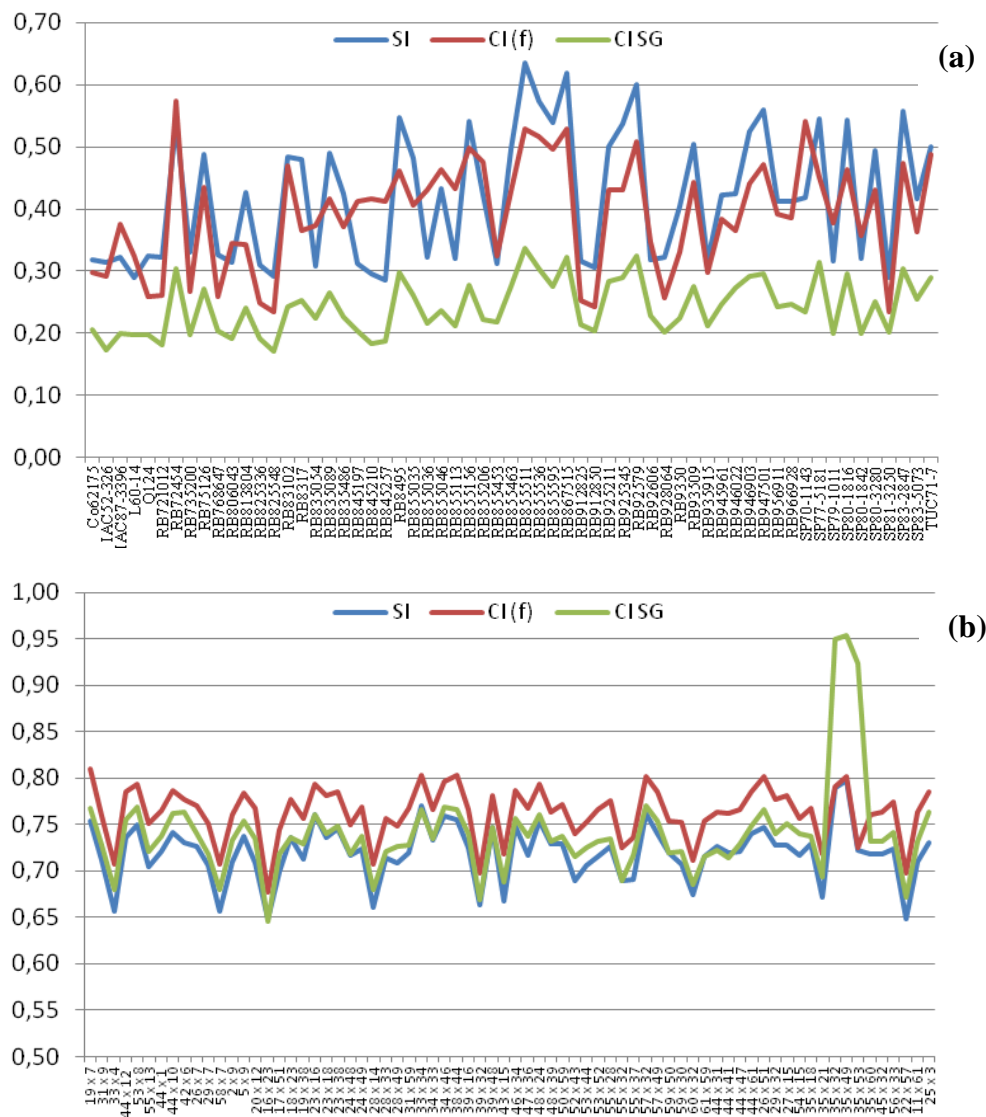


Gráfico 14 – Acurácias dos BLUPs da CGC para os 61 genitores (a) e CEC para as 72 famílias de cana-de-açúcar (b), para Pol%cana considerando os modelos de dialelo sem informação (SI), com informação de parentesco (CI *f*) e com informação da similaridade genética no estado (CI SG).

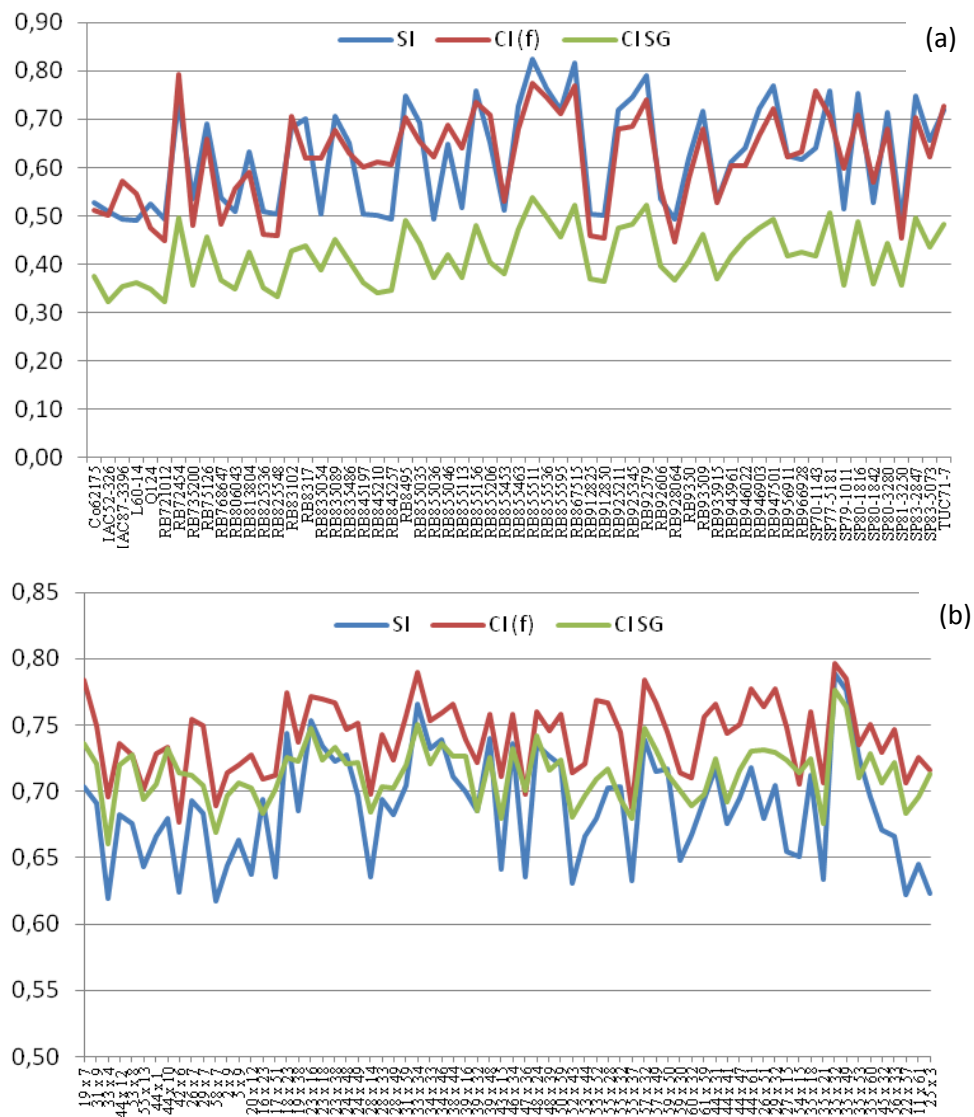


Gráfico 15 – Acurácias dos BLUPs da CGC para os 61 genitores (a) e CEC para as 72 famílias de cana-de-açúcar (b), para ART % cana considerando os modelos de dialelo sem informação (SI), com informação de parentesco (CI f) e com informação da similaridade genética no estado (CI SG)

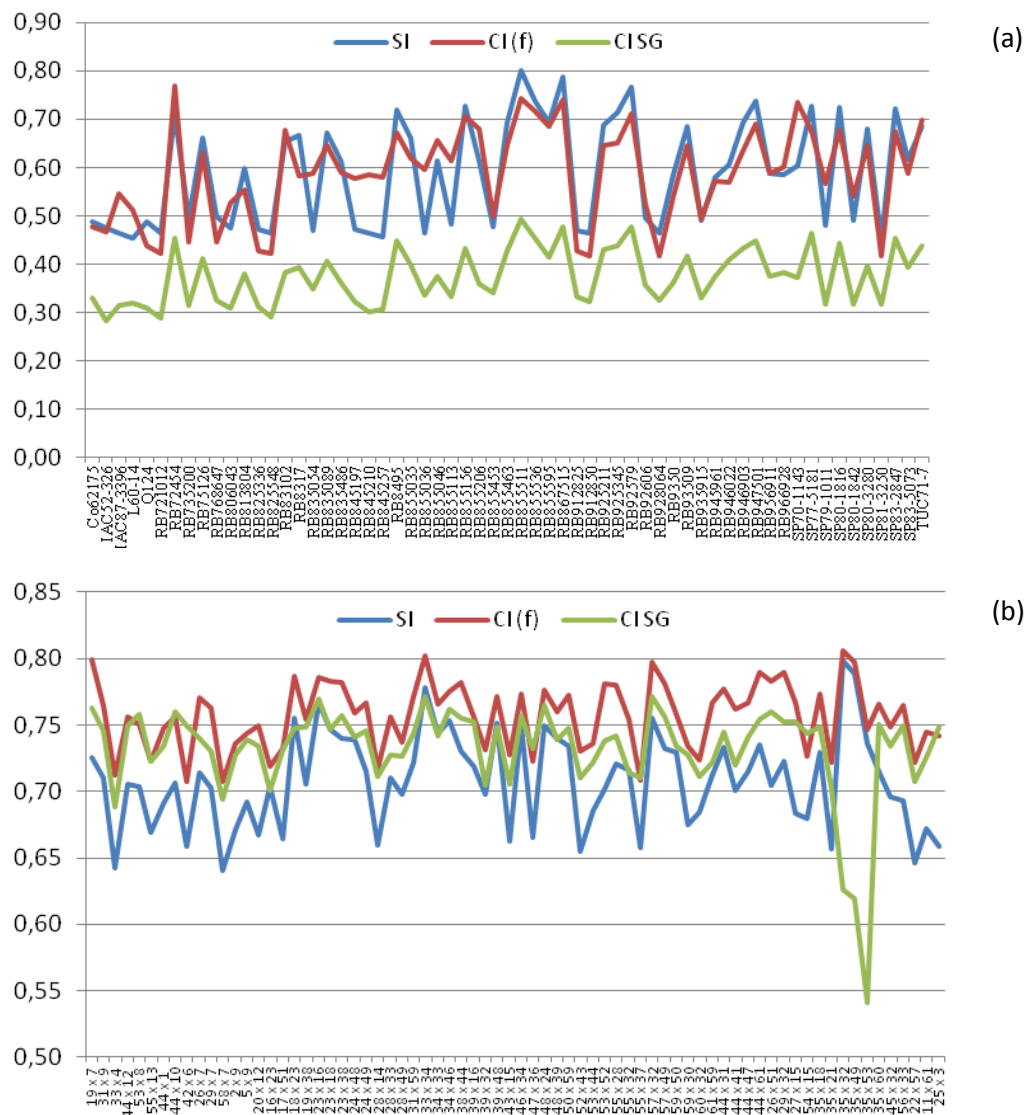


Gráfico 16 – Acurácia dos BLUPs da CGC (a) e CEC (b) para Pureza%cana considerando os modelos de dialelo sem informação (SI), com informação de parentesco (CI f) e com informação da similaridade genética em estado (CI SG).

As estimativas das capacidades de combinação (CEC e CGC) e suas respectivas variâncias são de extrema importância na tomada de decisão do programa de melhoramento e com isso, alguns comentários merecem destaque. Segundo Sprague e Tatum (1942), a CGC reflete o comportamento médio de um genitor em um conjunto de cruzamentos. Neste estudo, esse resultado não foi diferente, ou seja, a estimativa do componente da variância da CGC que reflete a variabilidade do desempenho dos genitores nos cruzamentos foi de menor magnitude.

Portanto, pode-se inferir, pelo exposto na Tabela 2, que o conjunto de famílias avaliado neste estudo não foi fortemente influenciado pela CGC dos genitores nos cruzamentos, convergindo em valores da variância aditiva (CGC) e não aditiva (CEC) bastantes distintos.

Os efeitos gênicos não aditivos foram predominantes para os caracteres de suma importância para a cultura TCH e TBH. Tal fato é consequência dos maiores valores dos componentes de variância associados à CEC, para essas variáveis (Tabela 3). No entanto, alguns estudos de genética quantitativa (HOGARTH, 1977; HOGARTH; WU; HEINZ, 1981; YANG; CHU, 1962), realizados com cana-de-açúcar, mostraram que os efeitos gênicos aditivos e não aditivos são igualmente importantes na expressão da TCH. Por outro lado, Bressiani et al. (2001) mostraram em seu trabalho que a CGC foi superior a CEC para TCH.

Outro comentário a ser considerado é a razão da utilização de um dialelo completo altamente desbalanceado como utilizado neste estudo, pois os cruzamentos avaliados não atendem a um esquema dialélico convencional. Foram realizadas combinações entre 61 genitores em que alguns foram mais efetivos que outros na obtenção das combinações, o que levaria à compreensão de utilização de um esquema de dialelo parcial para avaliação da CGC e CEC.

Tal fato pode ser explicado, pois quando se utiliza um esquema de dialelo parcial, parte da informação de parentesco é perdida na matriz A, ao passo que, quando se considera um dialelo completo, mesmo altamente

desbalanceado, essa informação pode ser recuperada, acarretando em maior acurácia na predição dos valores de CGC e CEC. Deve-se ressaltar que, na abordagem tradicional de cruzamentos dialélicos por meio do método dos quadrados mínimos ordinários (MQMO) ou até mesmo a utilização de modelos mistos sem a informação de parentesco, essa recuperação de informação não seria possível, pois não assume a covariância entre os genótipos. Com isso, é possível inferir que, quando não se dispõe de qualquer informação de parentesco a respeito dos genótipos que estão sendo avaliados, a informação de marcadores pode contribuir para a acurácia de predição dos valores genéticos. No entanto, alguns autores (BALESTRE et al., 2008; BAUER; REETZ; LEON, 2006) têm sugerido a utilização da similaridade no estado para a predição dos valores genéticos utilizando a metodologia da melhor predição linear não viesado (BLUP). Porém, observando-se os valores de acurácia para as predições da CEC e CGC (Gráfico 11), verifica-se que o coeficiente de f_{xy} proporcionou valores de acurácia de maior magnitude quando comparado com a SG.

Esse maior erro de predição ocasionado pela SG nos valores de CEC e CGC já era esperado devido à recuperação da informação genética que leva em consideração apenas o aspecto evolutivo (similaridade no estado) dos indivíduos e não seu parentesco. Assim, em maior ou menor peso, todos os valores de covariância genética são recuperados no preditor linear (BLUP) de cada valor de CEC e CGC, inclusive daqueles indivíduos que não partilham alelos herdados de genitores em comum.

Na predição da CEC, em particular, vale destacar a contribuição da SG, especialmente quando não se dispõe de informação de parentesco, já que a SG pode ser obtida a partir do DNA dos genitores. Essa contribuição torna-se especialmente importante quando se consideram as dificuldades de se realizarem cruzamentos em cana, tanto pela ocorrência de autofecundação quanto por incompatibilidade (HOGARTH, 1980).

A menor contribuição da SG para a estimativa CGC não é tão comprometedora, primeiro porque a CGC em geral é altamente

correlacionada com o desempenho *per se* dos genitores (BASTOS et al., 2003). Em segundo lugar, apesar da baixa acurácia da SG na estimativa dos BLUPs da CGC (Gráfico 11), eles sempre foram os mais altamente correlacionados com os BLUPs estimados sem informação (Gráfico 1, 2, 3, 4 e 5).

5 CONCLUSÕES

A inclusão das informações de similaridade genética por descendência e por estado nas predições da capacidade geral de combinação não proporciona melhorias na predição da estimativa de CGC.

A similaridade genética obtida pelo coeficiente de parentesco proporciona predições mais acuradas para as estimativas da capacidade específica de combinação, quando comparada às predições obtidas pela similaridade no estado, estimada pela coeficiente de jaccard.

As estimativas das capacidades de combinações dos genótipos preditas sem informação e com informação da similaridade genética por descendência e no estado apresentaram alta porcentagem de coincidência.

REFERÊNCIAS

BAENZIGER, P. S.; PETERSON, C. J. Genetic variation: Its origin and use for breeding self-pollinated species. In: STALKER, H. T.; MURPHY, J. P. (Ed.). **Plant breeding in the 1990s**. Wallingford: CAB International, 1992. p. 69-100.

BALESTRE, M. **Predição do desempenho de híbridos de milho utilizando modelos lineares mistos com a informação de marcadores moleculares**. 2009. 64 p. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2009.

BALESTRE, M. et al. Comparison of maize similarity and dissimilarity genetic coefficients based on microsatellites markers. **Genetics and Molecular Research**, Ribeirão Preto, v. 7, n. 3, p. 695-705, 2008.

BASTOS, I. T. et al. Análise dialélica em clones de cana-de-açúcar. **Bragantia**, Campinas, v. 62, n. 2, p. 199-206, 2003.

BAUER, A. M.; REETZ, T. C.; LEON, J. Estimation of breeding values of inbred lines using Best Linear Unbiased Prediction (BLUP) and genetic similarities. **Crop Science**, Madison, v. 46, n. 4, p. 2695-2691, 2006.

BERNARDO, R. Genetic models for predicting maize performance in unbalanced yield trial data. **Crop Science**, Madison, v. 35, n. 1, p. 141-147, Jan./Feb. 1995.

BRESSIANI, J. A. et al. Combining ability in eight selected clones of sugarcane (*Saccharum* sp). **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, Londrina, v. 2, n. 3, p. 411-416, 2001.

CRUZ, C. D.; REGAZZI, A. J. **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético**. Viçosa, MG: UFV, 1994. 390 p.

_____. _____. Viçosa, MG: UFV, 1997. 380 p.

FERREIRA, D. V. **Predição do desempenho de híbridos de milho utilizando informações de similaridade no estado e parentesco.** 2010. 77 p. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2010.

GRIFFING, B. A. Concept of general and specific combining ability in relation to diallel crossing systems. **Australian Journal of Biological Science**, Melbourne, v. 9, p. 463-493, 1956.

HAMBLIN, J.; ZIMMERMAN, M. J. O. Breeding common bean for yield mixtures. **Plant Breeding Reviews**, Berlin, v. 4, p. 245-272, 1986.

HENDERSON, C. R. **Applications of liner models in animal breeding.** Guelph: University of Guelph, 1984. 462 p.

HOGARTH, D. M. Effect of accidental selfing on the analysis of a diallel cross with sugarcane. **Euphytica**, Dordrecht, v. 29, p. 737-746, 1980.

_____. Quantitative inheritance studies in sugar cane: III the effect of competition and violation of assumptions on estimation of genetic variance components. **Australian Journal Research**, North Brisbane, v. 28, p. 257-268, 1977.

HOGARTH, D. M.; COX, M. C.; BULL, J. K. Sugarcane improvement: past achievements and future prospects. In: KANG, M. S. (Ed.). **Crop Improvement for the 21st century.** Baton Rouge: Louisiana State University, 1997. p. 29-56.

HOGARTH, D. M.; WU, K. K.; HEINZ, D. J. Estimating genetic variance in sugar cane using a factorial cross design. **Crop Science**, Madison, v. 21, n. 1, p. 21-25, 1981.

LYNCH, M.; WALSH, B. **Genetics and analysis of quantitative traits.** Sunderland: Sinauer Associates, 1998. 948 p.

NUNES, J. A. R.; RAMALHO, M. A. P.; FERREIRA, D. F. Inclusion of genetic relationship information in the pedigree selection method using mixed models. **Genetics and Molecular Biology**, Ribeirão Preto, v. 31, n. 1, p. 73-78, Jan. 2008.

OLIVEIRA, R. A. **Seleção de famílias de maturação precoce em cana-de-açúcar via REML/BLUP**. 2007. 127 p. Tese (Doutorado em Agronomia) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2007.

SATTERTHWAITE, F. E. An approximate distribution of estimates of variance components. **Biometrics Bulletin**, Washington, v. 2, p. 110-114, 1946.

SPRAGUE, G. F.; TATUM, L. A. General versus specific combining ability in single crosses of corn. **Journal of the American Society of Agronomy**, Madison, v. 34, n. 10, p. 923-932, 1942.

STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM INSTITUTE. **SAS language and procedures: usage**. Version 8.1. Cary, 2000. 1 CD-ROM.

YANG, T. C.; CHU, C. C. Evaluation of combining ability in sugarcane. **Report of Taiwan Sugar Experimental Station**, Tainan, v. 26, p. 1-10, 1962.

APENDICE

Tabela A - Relação dos genitores e número de vezes que apareceram como genitores femininos (F), masculinos (M) e número total, obtidos a partir de cruzamentos biparentais

Nº	Genitores	F ⁽¹⁾	M ⁽¹⁾	Total ⁽¹⁾	Nº	Genitores	F ⁽¹⁾	M ⁽¹⁾	Total ⁽¹⁾
1	Co62175	1	0	1	32	RB855511	7	0	7
2	IAC52-	0	1	1	33	RB855536	3	2	5
3	IAC87-	1	0	1	34	RB855595	2	2	4
4	L60-14	1	0	1	35	RB867515	0	6	6
5	Q124	0	1	1	36	RB912825	1	0	1
6	RB721012	1	0	1	37	RB912850	1	0	1
7	RB72454	4	0	4	38	RB925211	2	1	3
8	RB735200	1	0	1	39	RB925345	1	3	4
9	RB75126	3	0	3	40	RB92579	0	6	6
10	RB768647	1	0	1	41	RB92606	1	0	1
11	RB806043	0	1	1	42	RB928064	0	1	1
12	RB813804	2	0	2	43	RB9350	1	1	2
13	RB825336	1	0	1	44	RB93509	2	1	3
14	RB825548	1	0	1	45	RB935915	0	1	1
15	RB83102	3	0	3	46	RB945961	1	1	2
16	RB8317	2	1	3	47	RB946022	1	1	2
17	RB835054	0	1	1	48	RB946903	2	2	4
18	RB835089	2	1	3	49	RB947501	4	0	4
19	RB835486	0	2	2	50	RB956911	1	1	2
20	RB845197	0	1	1	51	RB966928	2	0	2
21	RB845210	1	0	1	52	SP70-	1	1	2
22	RB845257	0	1	1	53	SP77-	1	3	4
23	RB8495	2	3	5	54	SP79-	0	1	1
24	RB855035	1	2	3	55	SP80-	0	4	4
25	RB855036	0	1	1	56	SP80-	0	1	1
26	RB855046	0	2	2	57	SP80-	1	2	3
27	RB855113	0	1	1	58	SP81-	0	1	1
28	RB855156	1	3	4	59	SP83-	3	2	5
29	RB855206	0	2	2	60	SP83-	1	1	2
30	RB855453	1	0	1	61	TUC71-7	2	1	3
31	RB855463	1	2	3					

⁽¹⁾ Número de vezes que os genitores participaram dos cruzamentos como genitor feminino (F), masculino (M) e número total (Total), respectivamente. Estes cruzamentos correspondem a 3,9% das 1830 combinações possíveis.

Tabela B – Pedigree utilizado para estimar os coeficientes de parentesco de malécot no programa SAS

Nº	Individual	parent1	pare	generation	Nº	Individua	parent	parent	generatio
1	S. spontaneun	.	.	1	37	CP48-	.	.	5
2	S. officinarum	.	.	1	38	CP45-	.	.	5
3	Bandjarmassi	.	.	1	39	IAC49/13	.	.	6
4	Lathers	.	.	1	40	CP55-30	.	.	6
5	EK2	.	.	1	41	H49134	.	.	6
6	Kassoer	1	2	2	42	CP72-	.	.	6
7	POJ100	3	4	2	43	CP62-	.	.	6
8	EK28	7	5	3	44	CP57-	.	.	6
9	Black	.	.	3	45	Co 951	.	.	6
10	Chunnee	6	7	3	46	Co 740	.	.	6
11	POJ2364	6	7	4	47	Trojan	.	.	6
12	POJ231	9	10	4	48	Co 475	.	.	6
13	Striped	.	.	4	49	Co 331	24	25	6
14	M4600	.	.	4	50	C278	.	.	6
15	F150	.	.	4	51	NA56-79	33	33	6
16	F31-932	.	.	4	52	CP48-	.	.	6
17	CP11-65	.	.	4	53	H53-	.	.	6
18	Co 421	.	.	4	54	L60-14	35	37	6
19	Co 310	.	.	4	55	SP70-	28	.	6
20	B34104	.	.	4	56	H56-	.	.	6
21	M213/40	.	.	4	57	H59-	.	.	6
22	Co 290	.	.	4	58	RB72199	29	.	6
23	POJ2878	11	8	4	59	Q104	.	.	6
24	Co 213	12	.	5	60	SP70-	.	.	6
25	Co 214	13	14	5	61	SP71-	.	.	6
26	F36-819	16	23	5	62	Q107	.	.	6
27	CP36-46	23	17	5	63	RB76541	31	.	6
28	CB4176	.	.	5	64	CP71-	.	.	6
29	NCo334	18	19	5	65	US72-19	.	.	6
30	CP27-108	.	.	5	66	IAC48-	30	.	7
31	N253/40	20	21	5	67	Co 775	.	.	7

32	CB49-260	.	.	5	68	SP71-	40	36	7
33	Co 419	23	22	5	69	H575028	41	.	7
34	CP56-59	.	.	5	70	CP70-	43	44	7
35	CP52-01	.	.	5	71	SP71-	32	.	7
36	CP53-76	26	26	5	72	HJ5741	.	.	7

Tabela B - Continuação...

Nº	Individu	paren	paren	generati	Nº	Individu	paren	paren	generat
73	CP62-	.	.	7	10	RB8550	.	.	8
74	CP52-	.	.	7	11	RB8550	82	77	8
75	IAC52-	33	.	7	11	RB8550	77	82	8
76	Co6217	45	33	7	11	RB8551	77	82	8
77	SP70-	66	.	7	11	RB8551	82	78	8
78	TUC71-	73	74	7	11	RB8156	39	51	8
79	Q124	47	48	7	11	RB8552	82	78	8
80	RB7210	49	.	7	11	RB8550	54	55	8
81	SP71-	51	.	7	11	RB8554	78	.	9
82	RB7245	36	.	7	11	RB8554	82	.	9
83	RB7352	49	.	7	11	RB8555	81	.	9
84	RB7512	50	.	7	12	RB8555	77	82	9
85	RB7686	38	.	7	12	RB8555	77	78	9
86	TUC77-	64	65	7	12	RB8675	82	.	9
87	SP77-	72	.	8	12	IAC87-	46	77	9
88	SP79-	51	67	8	12	RB9128	42	.	9
89	SP80-	68	69	8	12	RB9128	34	.	9
90	SP80-	68	69	8	12	RB9252	115	.	9
91	SP80-	68	69	8	12	RB9253	57	.	9
92	RB8060	51	.	8	12	RB9257	84	58	9
93	SP81-	70	71	8	12	RB9260	59	82	9
94	RB8138	52	.	8	13	RB9280	60	.	9
95	RB8253	53	.	8	13	RB9315	61	.	9
96	RB8255	15	.	8	13	RB9350	62	58	9
97	SP83-	72	77	8	13	RB9350	82	.	9

98	SP83-	81	68	8	13	RB9359	104	102	9
99	RB8310	51	77	8	13	RB9459	115	.	9
10	RB8317	23	56	8	13	RB9460	112	109	9
10	RB8350	82	51	8	13	RB9469	63	82	9
10	RB8350	.	.	8	13	RB9475	81	82	9
10	RB8350	82	51	8	13	RB9569	115	116	9
10	RB8354	54	.	8	14	RB9669	113	114	9
10	RB8451	82	77	8					
10	RB8452	82	77	8					
10	RB8452	82	77	8					
10	RB8495	77	.	8					
