



UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA
PRODUÇÃO VEGETAL



HEITOR DUQUE LINS DOS SANTOS

**SOLUÇÃO CONSERVANTE FLORAL COMO ALTERNATIVA À SOLUÇÃO
HAVAIANA NA HIBRIDAÇÃO DA CANA-DE-AÇÚCAR (*Saccharum spp.*)**

**Rio Largo - AL
2015**

HEITOR DUQUE LINS DOS SANTOS

**SOLUÇÃO CONSERVANTE FLORAL COMO ALTERNATIVA À SOLUÇÃO
HAVAIANA NA HIBRIDAÇÃO DA CANA-DE-AÇÚCAR (*Saccharum spp.*)**

Dissertação apresentada ao Colegiado do Curso de Pós-Graduação em Agronomia do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Alagoas, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Agronomia, Área de Concentração: Produção Vegetal.

Orientadora: Prof. Dra. Vilma Marques Ferreira

Coorientador: Prof. Dr. João Messias dos Santos

**Rio Largo - AL
2015**

Catálogo na fonte
Universidade Federal de Alagoas
Biblioteca Central
Divisão de Tratamento Técnico
Bibliotecário Responsável: Maria Helena Mendes Lessa

S237c

Santos, Heitor Duque Lins dos.

Solução conservante floral como alternativa à solução havaiana na hibridação da cana-de-açúcar (*Saccharum spp.*) / Heitor Duque Lins dos Santos.– 2015.

49 f. : il.

Orientadora: Vilma Marques Ferreira.

Coorientador: João Messias dos Santos.

Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) – Universidade Federal de Alagoas. Centro de Ciências Agrárias. Rio Largo, 2015.

Bibliografia: f. 44-49.

1. Soluções conservantes. 2. Hibridação. 3. Dióxido de enxofre.
4. Solução havaiana. 5. Solução conservante floral. I. Título.

CDU: 633.61: 581.1

Aos meu pais, por me apoiarem incondicionalmente em todas as etapas de minha vida e de terem me ensinado a ser o que sou.

A minha filha, que é por ela que dedico e me esforço para alcançar os melhores resultados possíveis para lhe conferir uma vida melhor.

A minha noiva Grasiela, pelo carinho, paciência e serenidade que em momentos difíceis me trouxeram tranquilidade.

Aos meus irmãos, pelo companheirismo e amizade que foram essenciais para minha formação.

DEDICO!

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço a Deus por me conceder a vida, me dando discernimento para enfrentar as dificuldades impostas em meu caminho e principalmente por ter me dado a oportunidade de conviver com minha família.

Ao Centro de Ciências Agrárias nas pessoas dos seus professores pela contribuição em seus ensinamentos, carinho e dedicação com seus alunos;

À professora e orientadora Dra. Vilma Marques e o Coorientador Dr. João Messias dos Santos, por sua orientação, amizade e conhecimento transmitido, contribuindo de forma fundamental para a minha formação profissional.

Ao PMGCA - Programa de Melhoramento Genético da Cana-de-açúcar, que me concedeu todo suporte durante na condução do meu experimento.

Aos Funcionários do PMGCA que contribuíram diretamente ou indiretamente no meu experimento.

Ao professor Dr. Geraldo Verissimo que me concedeu a oportunidade de me aprofundar neste setor e me incentivou a progredir profissionalmente.

Aos amigos de mestrado, Adolpho Rocha, Pedro, Hugo, Danielle, David Vitor, Leopoldo Sá, Anderson, Antônio Barbosa, Carlos Assis, entre outros.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes), fundação do Ministério da Educação (MEC), pelo desempenho na expansão e consolidação da pós-graduação stricto sensu (mestrado e doutorado) em todos os estados da Federação.

RESUMO

O processo de hibridação da cana-de-açúcar caracteriza-se como a fase primordial para o melhoramento genético. Durante esse processo, é essencial a utilização de solução conservante visto que ela é responsável pela manutenção do metabolismo dos colmos. Atualmente, os programas de melhoramento da cultura, incluindo o PMGCA/CECA/UFAL, utilizam a solução conservante conhecida como Havaiana, a qual possui em sua composição o dióxido de enxofre (SO₂), elemento considerado tóxico ao meio ambiente e ao homem. Com a ênfase dada atualmente ao desenvolvimento sustentável e ao cuidado com a saúde e o bem estar do trabalhador, aliado às exigências estabelecidas por órgãos públicos em reduzir os impactos ambientais causados por elementos tóxicos, surge a necessidade de buscar novas alternativas na conservação dos colmos durante o processo de hibridação. O objetivo do presente trabalho foi avaliar uma marca comercial de uma Solução Conservante Floral como alternativa à Solução Havaiana no processo de hibridação da cana-de-açúcar nas condições da Estação de Floração e Cruzamento Serra do Ouro. O experimento foi conduzido sob delineamento inteiramente ao acaso, em esquema de classificação hierárquica. O primeiro fator avaliado foi o cruzamento, contendo dois níveis de genitores (1- genitor receptor de pólen; 2- genitor fornecedor de pólen) e o segundo fator soluções conservantes dentro do cruzamento para manutenção dos colmos, contendo quatro níveis (1- Solução havaiana; 2-Conservante Floral acrescido de 0,3 mL.L⁻¹ de ácidos não voláteis (CF1); 3-Conservante Floral acrescido 0,4 mL.L⁻¹ de ácidos não voláteis (CF2); 4-Conservante Floral acrescido 0,5 mL.L⁻¹ de ácidos não voláteis (CF3). As variáveis estudadas foram a percentagem de espiguetas férteis, o potencial fisiológico das espiguetas em duas condições (laboratório e casa de vegetação), e o número de plântulas viáveis, altura da planta, área foliar e massa seca de plântulas cultivadas por 60 dias. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância. Para o fator cruzamento foi utilizado o teste t de student para comparação entre contrastes e para o fator solução conservante dentro do cruzamento, foi aplicado o teste F em contrastes ortogonais para as comparações de médias. Os resultados observados na hibridação da cana-de-açúcar, evidenciam que a Solução havaiana conferiu resultados superiores a Solução Conservante Floral em todas variáveis avaliadas independentemente da concentração dos ácidos não voláteis adicionados. Com base nos resultados obtidos, o uso da Solução Conservante Floral em ambos ensaios avaliados (laboratório e estufa) reduz o potencial fisiológico das espiguetas em relação à Solução havaiana. Considerando-se os danos ao meio ambiente causados pela Solução havaiana e as exigências de mercado, a sua substituição pela Solução Conservante Floral deve ser considerada. Novas pesquisas devem ser realizadas, testando novas concentrações de ácidos não voláteis e possíveis trocas da solução durante o processo de hibridação.

Palavras-chave: Soluções conservantes. Hibridação. Dióxido de enxofre. Solução havaiana. Solução Conservante Floral.

ABSTRACT

The hybridization process of sugar cane is characterized as the primary phase for genetic improvement. During this process, it is essential the use of preservative solution since it is responsible for maintaining the stalks metabolism. Currently, breeding culture programs (nao sei), including PMGCA / CECA / UFAL uses preservative solution known as Hawaiian, which has in its composition sulfur dioxide (SO₂), element considered toxic to the environment and to humans. With the emphasis now given to sustainable development and to health care and the welfare of workers, combined with the requirements established by public agencies to reduce the environmental impacts caused by toxic elements, there is the need to seek new alternatives in the conservation of stalks during the hybridisation process. The objective of this study was to evaluate a trademark of a preservative solution as an alternative to Hawaiian Floral Solution in the process of hybridization of sugarcane in the conditions of Flowering and Crossing Serra do Ouro Station. The experiment was conducted in a completely randomized design in hierarchical classification scheme. The first factor rated was cross containing two levels of parents (1 parent pollen receptor; 2- parent pollen provider) and the second factor preservative solutions within the crossing for the maintenance of stalks containing four levels (1 Hawaiian Solution ; 2- Preservative Floral plus 0.3 mL.L⁻¹ non-volatile acids (CF1); 3- Preservative Floral plus 0.4 mL.L⁻¹ non-volatile acids (CF2); 4- preservative floral plus 0.5 mL.L⁻¹ non-volatile acids (CF3). The variables studied were the percentage of fertile spikelets, the physiological potential of the spikelet in two conditions (laboratory and greenhouse), and the number of viable seedlings, plant height, leaf area and dry mass of seedlings grown for 60 days. The data were submitted to analysis of variance. To the crossing factor we used the Student t test for comparison of contrasts and for the preservative solution factor in the intersection, it was applied the F test for orthogonal contrasts mean comparison. The results from sugarcane hybridization, show that the Hawaiian solution gave better results than the Floral preservative solution in all variables regardless of the concentration of non-volatile acids added. Based on the results obtained, the use of Floral Preservative Solution in both evaluated tests (laboratory and greenhouse) reduces the physiological potential of spikelets in relation to Hawaiian solution. Considering the damage to the environment caused by the Hawaiian solution and market requirements, its replacement by Floral Preservative Solution should be considered. New research should be carried out, testing new concentrations of non-volatile acids and possible changes of the solution during the hybridization process.

Keywords: Preservative solution. Hybridization. Sulfur dioxide. Hawaiian solution, Floral preservative solution.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Paniculas agrupadas no interior da campânula.....	24
Figura 2 - Galpão de maturidade fisiológica.....	26
Figura 3 - Sala de Secagem (A); Câmara Seca(B).....	26
Figura 4 - Detalhe do teste de germinação: Caixas de acrílico transparentes do tipo “gerbox”.....	28
Figura 5 - Plântulas viáveis: Semeio das espiguetas sobre o substrato (A); Cobertura de plástico para manter umidade (B).....	29
Figura 6 - Altura da planta: Repicagem (A); Mensuração da Altura da planta (B).....	30
Figura 7 - Área foliar: Integrador de área foliar da marca LI-COR®, modelo LI 3100.....	31
Figura 8 - Massa seca: Estufa desidratação do material (A); Balança analítica pesagem.....	31
Figura 9 - Médias de percentual de espiguetas férteis (%EF), percentual de germinação (%GERM), índice de velocidade de germinação (IVG), obtidas a partir do cruzamento SP79-1011 x RB867515 e seu recíproco RB867515 x SP79-1011 utilizando diferentes soluções conservantes na hibridação.....	35
Figura 10 - Médias do número de plântulas viáveis, obtidas a partir do cruzamento SP79-1011 x RB867515 e seu recíproco RB867515 x SP79-1011 utilizando diferentes soluções conservantes na hibridação.....	39

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1 - Composição e concentração utilizadas nas soluções conservantes.....25
- Tabela 2 - Análise de variância (quadrados médios) para porcentagem de espiguetas férteis (%EF), porcentagem de germinação (%G), índice de velocidade de germinação (IVG) de espiguetas de cana-de-açúcar obtidas a partir do cruzamento entre SP79-1011 e RB867515 e seu recíproco RB867515 x SP79-1011 utilizando diferentes soluções conservantes na hibridação.....34
- Tabela 3 - Médias de percentual de espiguetas férteis (%EF), percentual de germinação (%GERM), índice de velocidade de germinação (IVG), obtidas a partir do cruzamento SP79-1011 x RB867515 e seu recíproco RB867515 x SP79-1011 utilizando diferentes soluções conservantes na hibridação.....37
- Tabela 4 - Resumo da análise de variância (quadrados médios) para o número de plântulas viáveis (NPV), altura da planta (AP), área foliar (AF), massa seca (MS) de espiguetas de cana-de-açúcar obtidas a partir do cruzamento entre SP79-1011 e RB867515 e seu recíproco RB867515 x SP79-1011 utilizando diferentes soluções conservantes na hibridação.....38
- Tabela 5 - Médias do número de plântulas viáveis obtidas a partir do cruzamento entre SP79-1011 e RB867515 e seu recíproco RB867515 x SP79-1011 utilizando diferentes soluções conservantes na hibridação.....40
- Tabela 6 - Altura da planta (AP), Área foliar (AF), Massa seca (MS), obtidas a partir do cruzamento SP79-1011 x RB867515 e seu recíproco RB867515 x SP79-1011 utilizando diferentes soluções conservantes na hibridação.....42

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	11
2	REVISÃO DE LITERATURA.....	13
2.1	A cana-de-açúcar.....	13
2.1.1	Aspectos botânicos.....	13
2.1.2	Importância econômica para o Brasil.....	14
2.2	Melhoramento genético da cana-de-açúcar	15
2.2.1	Métodos utilizados para conservação dos colmos e manutenção do metabolismo no processo de hibridação.....	17
2.2.1.1	Histórico da hibridação de cana de açúcar.....	17
2.2.1.3	Solução Havaiana.....	18
2.2.1.4	Solução Conservante Floral.....	19
2.2.2	Combinação de parentais nos cruzamentos genéticos.....	20
2.3	Importância da avaliação do potencial fisiológico das sementes...	20
3	MATERIAL E MÉTODOS.....	22
3.1	Quantificação dos açúcares na amostra do conservante floral por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC).....	22
3.2	Cruzamentos genéticos da cana-de-açúcar.....	23
3.3	Beneficiamento das cariopses.....	26
3.4	Ensaio 1: Avaliação do potencial fisiológico das espiguetas em laboratório.....	27
3.4.1	Percentual de espiguetas férteis.....	27
3.4.2	Porcentagem de germinação.....	27
3.4.3	Índice de velocidade de germinação.....	27
3.5	Ensaio 2: Avaliação do potencial fisiológico em estufa.....	28
3.5.1	Número de plântulas viáveis.....	28
3.5.2	Altura da Planta.....	29
3.5.3	Área Foliar.....	30
3.5.4	Massa Seca.....	31
3.6	Análise estatística dos dados.....	32
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	34
5	CONCLUSÕES.....	43

REFERÊNCIAS.....	44
------------------	----

1 INTRODUÇÃO

A cana-de-açúcar (*Saccharum* spp.) é considerada uma das mais importantes espécies cultivadas comercialmente nos trópicos e subtropicais, e atualmente uma das melhores opções dentre as fontes de energia renováveis (BONNETI et al., 2004; MANNERS et al., 2004). No Brasil, possui elevada importância econômica e ambiental (MATSUOKA et al., 2005). A área cultivada com cana-de-açúcar que será colhida e destinada à atividade sucroalcooleira na safra 2014/15 será de aproximadamente 9.004,5 mil hectares, distribuídas em todos estados produtores e a produção total de cana-de-açúcar moída é estimada em 642,1 milhões de toneladas, queda de 2,5% em relação ao volume colhido na safra passada que foi de 658,8 milhões de toneladas (CONAB, 2014).

O processo de hibridação da cana-de-açúcar caracteriza-se como a fase primordial para o melhoramento genético, onde através dela é obtida a variabilidade genética importante para obtenção de novos clones. As atividades iniciam pelo censo de florescimento realizado no banco de germoplasma, no qual são identificadas as panículas que se encontram em estágio ideal ao corte para efetuação da hibridação, para que seja feita a escolha dos genitores a serem utilizados nos cruzamentos. Nos bancos de germoplasma da cana-de-açúcar, os diversos genitores são cultivados em diversos campos, necessitando, portanto, cortar os colmos das canas florescidas na sua parte basal, e transportá-los para o emparelhamento de panículas de outros genitores, efetivando assim as hibridações para obtenção das cariopses. Esse processo tem duração de três a quatro semanas. Para tanto, é essencial a utilização de solução conservante na hibridação da cana-de-açúcar (imersão dos colmos seccionados numa solução contendo água e alguns ácidos), visto que ela é responsável pela manutenção do metabolismo durante todo o processo.

Desde a metade do século XX é utilizada a solução conservante desenvolvida no Havaí, conhecida como Solução Havaiana, composta por uma mistura de água de chuva com Dióxido de Enxofre (SO₂) e ácidos não voláteis (ANV): Ácido Fosfórico, Ácido Nítrico e Ácido Sulfúrico. Mais recentemente, também é adicionando o Ácido Cítrico, visto que o mesmo promove melhorias no processo de hibridação (JALANDOON; BARREDO, 1982). Entretanto, o dióxido de enxofre (SO₂) é um componente tóxico ao meio ambiente, causando diminuição do pH no solo, além disso é um dos responsáveis pela formação de chuvas ácidas. Também é insalubre para o homem,

pois quando inalado em quantidade excessiva pode gerar dificuldade respiratória, alteração na defesa dos pulmões, agravamento de doenças respiratórias e cardiovasculares (OGA et al. 2008).

Com a ênfase dada atualmente ao desenvolvimento sustentável e ao cuidado com a saúde e o bem estar do trabalhador, aliado com as exigências estabelecidas por órgãos públicos em reduzir os impactos ambientais causados por elementos tóxicos, surge a necessidade de buscar novas alternativas na conservação dos colmos durante o processo de hibridação. Considerando isto, o uso de soluções conservantes não tóxicas no processo de hibridação da cana-de-açúcar, nos programas de melhoramento genético da cultura, tem se tornado imprescindível.

O Programa de Melhoramento Genético da Cana-de-açúcar, do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Alagoas (PMGCA/CECA/UFAL), que integra a RIDESA, desenvolve as cultivares da sigla RB (República Brasil), obtidas a partir de hibridações realizadas na Serra do Ouro, em Murici-Alagoas. Nesta estação são realizados cruzamentos genéticos planejados de acordo com as necessidades e interesses dos pesquisadores da RIDESA, visando a obtenção de cariopses de qualidade fisiológica superior (BARBOSA et al., 2012). Desde o início dos trabalhos de hibridação na Serra do Ouro, é utilizada a Solução Havaiana. No entanto, há o interesse do PMGCA/CECA/UFAL testar soluções conservantes de flores, com o intuito de substituir aquela utilizada, que traz risco ao meio ambiente.

O objetivo do presente trabalho foi avaliar uma marca comercial de uma Solução Conservante Floral como alternativa à Solução Havaiana no processo de hibridação da cana-de-açúcar nas condições da Estação de Floração e Cruzamento Serra do Ouro.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 A cana-de-açúcar

2.1.1 Aspectos botânicos

A cana-de-açúcar é uma planta alógama e perene em sua forma natural, provavelmente originária das regiões da Indonésia e Nova Guiné, pertencente à Família Poaceae, tribo Andropogoneae e gênero *Saccharum*. Seus atuais cultivares são híbridos interespecíficos, sendo que nas constituições genéticas participam as espécies *S. officinarum*, *S. spontaneum*, *S. sinense*, *S. barberi*, *S. robustum* e *S. edule*. Trata-se de uma planta de reprodução sexuada; porém, quando cultivada comercialmente é multiplicada assexuadamente, por propagação vegetativa (MALAVOLTA et al., 1964; MATSUOKA; et al., 2005).

É uma planta que se desenvolve em forma de touceira, sendo a parte aérea formada por colmos, compostas por nós e entre nós, suculentos e doces, devido ao armazenamento de sacarose; folhas do tipo lanceoladas com nervuras paralelinérveas. A parte subterrânea é formada por rizomas e raízes fasciculadas, típica das monocotiledôneas (MOZAMBANI, 2006).

A inflorescência ou panícula da cana-de-açúcar é chamada de flecha, bandeira ou flor apresentando tamanho, cor e formação dependendo das espécies ou cultivares. É originária da gema apical, com um eixo principal ou ráquis, prolongamento do último entrenó do ápice da cana. Do ráquis saem os eixos secundários e destes os terciários, diminuindo a ramificação de baixo para cima, dando o aspecto piramidal da inflorescência (CASAGRANDE, 1991).

A cana-de-açúcar apresenta inflorescência com flores hermafroditas. O ovário é oval com dois pistilos na extremidade que terminam em estigmas plumosos, de cor roxa ou avermelhada, e apenas um óvulo. O órgão masculino é constituído por três estames formados por filamentos brancos e finos, onde cada estame sustenta uma antera linear fixa pelo dorso. Os grãos de polens são esféricos, quando férteis, e prismáticos, quando inférteis, e o fruto da cana-de-açúcar é uma cariopse elíptica alongada (CORTE-BRILHO et al., 1981; BACCHI, 1985).

O diásporo de cana-de-açúcar é na realidade um fruto, do tipo cariopse. Nas Regras para Análise de Sementes (BRASIL, 2009), a cariopse está descrita como

sendo um fruto simples, seco, indeiscente, unisseminada, cujo tegumento está concrecido com o pericarpo em toda sua extensão. Segundo Marcos Filho (2005), os frutos secos originam-se de ovário uni ou plurilocular e podem possuir pericarpo delgado ou pouco espesso.

2.1.2 Importância econômica para o Brasil

A cana-de-açúcar (*Saccharum spp.*) é cultivada em todas as regiões tropicais e subtropicais do mundo, abrangendo cerca de 130 países. Seu cultivo se estende ao norte e ao sul do Equador, seguindo a distribuição das palmeiras, ou linhas que delimitam a zona de crescimento das palmeiras e que caracterizam a zona tropical (BARNES, 1974).

A cultura tem um papel ambiental muito importante, uma vez que o etanol, um dos subprodutos da cana-de-açúcar, é uma das melhores alternativas para reduzir a emissão de gases causadores do efeito estufa (MATSUOKA et al., 2005). Ela é matéria prima utilizada para obtenção de diversos produtos, entre eles: açúcar, etanol, eletricidade, melação, aguardente, bagaço, levedura, torta de filtro, vinhaça, composto fertilizante, gás carbônico, ácido cítrico, lisina, briquetes, aglomerados MDF, etc. (BNDES/CGEE, 2008).

A área cultivada com cana-de-açúcar que será colhida e destinada à atividade sucroalcooleira na safra 2014/15 será de aproximadamente 9.004,5 mil hectares, distribuídas em todos estados produtores e a produção total de cana-de-açúcar moída é estimada em 642,1 milhões de toneladas, queda de 2,5% em relação ao volume colhido na safra passada que foi de 658,8 milhões de toneladas. (CONAB, 2014).

A cana-de-açúcar foi introduzida no país em 1532 e sempre teve importância destacada na economia do país. O país não é só o maior produtor da cultura, seguido por Índia e China, como também o maior produtor de açúcar e etanol de cana-de-açúcar. Responsável por mais de 50% do açúcar comercializado no mundo, o país deve ter redução na sua produção este ano em 2,5%. Apesar de pouco mais de 50% da produção estar concentrada em São Paulo, a cultura é cultivada em todas as regiões do país. De um modo geral, o país tem dois calendários de colheita, um para a Região Nordeste, que vai de setembro a abril e outro para o restante do país, de maio a novembro (CONAB, 2014).

Com as perspectivas para o crescimento dos mercados internos e externos da cana-de-açúcar, a principal estratégia para aumento de produtividade é o desenvolvimento de cultivares melhoradas, através dos programas de melhoramento genético de plantas, que baseado na seleção e clonagem de genótipos superiores, buscam obter cultivares mais produtivos, com melhor desempenho agrônômico e tolerância a estresses bióticos e abióticos (SILVA et al., 2011).

2.2 Melhoramento genético da cana-de-açúcar

O melhoramento genético tem dado elevada contribuição no avanço do setor canavieiro, através da obtenção de variedades com boas características agroindustriais e adaptadas às diversas condições ambientais do Brasil. A variedade melhorada de cana-de-açúcar é a tecnologia que mais tem contribuído na elevação de produtividade, com menor custo, o que viabiliza economicamente essa importante agroindústria canavieira, bem como torna a região independente do domínio tecnológico externo (BARBOSA et al., 2008).

A introdução de variedades na lavoura canavieira do Brasil, no passado era feita exclusivamente através da importação, até surgirem programas de melhoramento genético que é o método mais eficiente, pois são obtidos cultivares apropriado para os ambientes de cultivo da região, através de cruzamentos genéticos e anos de pesquisa com seleção e experimentação (BARBOSA et al., 2003).

Em Alagoas, a pesquisa no melhoramento genético da cultura é desenvolvida pelo Programa de Melhoramento Genético da Cana-de-açúcar, do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Alagoas (PMGCA/CECA/UFAL), que integra a Rede Interuniversitária para o Desenvolvimento do Setor Sucroenergético (RIDESA). Além da UFAL, a RIDESA conta também com as universidades: Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), Federal de Viçosa (UFV), Federal de São Carlos (UFSCar), Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), Federal do Paraná (UFPR), Federal Sergipe (UFS), Federal de Goiás (UFG), Federal de Mato Grosso (UFMT) e Federal do Piauí (UFPI). Essa rede obtém as cultivares da sigla RB (República Brasil), que são obtidas a partir de hibridações realizadas na Serra do Ouro, em Murici-Alagoas (BARBOSA et al., 2012).

O banco de germoplasma (BAG) da Serra do Ouro tem uma grande variabilidade genética, com uma coleção de híbridos oriundos de diversas locais do

mundo e anualmente são realizados vários cruzamentos que geram sementes sexuadas para obtenção de novas variedades RB dos programas da RIDESA (ROCHA et al., 2008). Essa base de pesquisa teve sua origem em 1967, quando a equipe da Estação Experimental da Cana-de-açúcar de Alagoas, do SINDAÇÚCAR-AL, implantou o primeiro BAG, realizando as primeiras hibridações para as seleções das variedades. Nesta estação são realizados cruzamentos planejados de acordo com as necessidades e interesses dos pesquisadores da RIDESA, sendo estes biparentais, em que os genitores masculinos e femininos são conhecidos, ou múltiplo parental, que consiste em reunir um grande número de genitores para que se inter cruzem. Destes cruzamentos se obtém as cariopses, que possuem grande importância para o melhoramento genético, no qual o sucesso de programas de seleção e melhoramento da espécie é dependente da obtenção de cariopses de qualidade fisiológica superior (ROCHA et al., 2008).

Para se tornar viáveis os cruzamentos, desenvolveu-se uma solução ácida, que permite manter vivos os colmos retirados do campo durante todo o tempo necessário para a maturação da semente (CESNIK; MIOCQUE, 2004).

A hibridação caracteriza-se como a fase mais importante no melhoramento da cana-de-açúcar. Para realização dessa etapa faz-se necessário o florescimento profuso e boa deiscência das anteras da cana-de-açúcar, que na região equatorial ocorre próximo ao equinócio de outono (21 de março), atrasando cerca de dois dias para cada grau de aumento de latitude (BRETT, 1967; MOORE; NUSS, 1987).

Inicialmente é feito um censo de florescimento, com o objetivo de identificar quais genitores estão aptos a serem cruzados. Em seguida, os colmos florescidos disponíveis são coletados no campo pela manhã, através de cortes na parte basal. Estes são imediatamente etiquetados e transportados para a área de cruzamentos (ROCHA et al., 2008).

Essa base de pesquisa contribuiu em quatro décadas para o setor sucroalcooleiro nacional com hibridações, produzindo cerca de 1,3 toneladas de cariopses de cana-de-açúcar, quantidade suficiente para distribuição de mais 150 milhões de plântulas, ou clones candidatos a variedades RB. No período 2010 a 2014, foram produzidas aproximadamente 460 kg de cariopses (sementes verdadeira), que foram distribuídas entre as Universidades da RIDESA para iniciar um novo processo de seleção de clones de cana-de-açúcar da série RB10 a RB14 (ROCHA et al., 2008; PMGCA/CECA/UFAL, 2014).

Com a finalidade de produzir cariopses em quantidade e qualidade fisiológica superior, nas hibridações da cana-de-açúcar realizadas na Serra do Ouro, utiliza-se a Solução Havaiana, visando à manutenção do metabolismo dos colmos no tempo necessário, desde a fecundação até a maturação das sementes, com duração aproximada de quatro semanas (PMGCA/CECA/UFAL, 2014).

2.2.1 Métodos utilizados para conservação dos colmos e manutenção do metabolismo no processo de hibridação

2.2.1.1 Histórico da hibridação de cana de açúcar

No início do melhoramento da cana-de-açúcar, as cariopses eram coletadas de flechas polinizadas livremente, em geral escolhidas de situações em que o progenitor feminino desejado crescia na estreita vizinhança da variedade masculino-fértil (produtora de pólen). A melhoria subsequente consistia em cortar as flechas das variedades a serem usadas como progenitor masculino e colocá-las em volta da flecha feminina, deixada no campo, geralmente amarrada uma estaca de bambu, como suporte para ambas. Algumas vezes esse grupo era encerrado em uma “gaiola” de pano, a fim de diminuir as probabilidades de contaminação por pólen estranho (MANGELSDORF, 1966).

A flecha da cana requer de 5 a 10 dias para a completa antese. As flores da parte superior de flecha abrem-se em primeiro lugar. A antese processa-se, dia a dia, de cima para baixo, em direção a base. Mesmo quando colocadas em vasos com água, as flechas masculinas são incapazes de realizar a antese normalmente por prazo superior a um ou dois dias após o corte. Desse modo, era necessário substituir com frequência as flechas masculinas antigas por outras recém cortadas. A exigência de excessiva mão de obra para esse processo, limitava o número de cruzamentos a serem realizados durante o curto período do florescimento das canas. Acarretava, além disso, desperdício de material que poderia vir a fazer falta, no caso de variedades refratárias, cuja disponibilidade de flechas, em geral, é pequena (MANGELSDORF, 1966).

Estudando a antese das flechas masculinas de cana-de-açúcar, observou-se que era necessário a utilização de algum componente, visto que, as flechas não eram capazes de completar a antese em curto prazo de tempo e a cana não conseguia

manter a normalidade de seu metabolismo, para que ocorresse a hibridação entre os genitores. Mangelsdorf (1966) cita que J.A. Verret, engenheiro agrônomo do Hawaiian Sugar Planter's Association, fez testes em 1924, com mais de 100 soluções contendo os mais diversos conservantes. Verret descobriu que todas as soluções testadas, contendo uma parte de gás sulfuroso (SO_2) entre 2000 e 5000 ppm, conservavam o colmo em seu estado vegetativo durante várias semanas, até a formação das sementes. Através de experiências posteriores, verificou-se que a viabilidade das flechas cortadas podia ser melhorada acrescentando-se a solução de SO_2 : Ácido Fosfórico (H_3PO_4), 75 mg.kg^{-1} ; Ácido Nítrico (HNO_3), 37 mg.kg^{-1} ; e Ácido Sulfúrico (H_2SO_4), 37 mg.kg^{-1} (MANGELSDORF, 1966).

Estudando soluções conservantes utilizadas na hibridação da cana-de-açúcar, Agee (1927) constatou que quando os colmos eram imersos em água, havia proliferações de bactérias na base das hastes e com base nesses resultados, foram testados centenas de produtos químicos em diversas concentrações. Alguns componentes químicos obtiveram um pequeno efeito benéfico, mas apenas a solução contendo dióxido de enxofre (SO_2) em água, apresentou eficiência no controle das bactérias e mostrou ser eficaz na conservação dos colmos, mantendo-os vivos por tempo suficiente para completar todo o processo de hibridação.

2.2.1.3 Solução Havaiana

Os cruzamentos realizados por programas de melhoramento, só se tornaram possíveis devido a utilização da solução conservante havaiana, a qual tem a função de manter o metabolismo dos genitores durante todo processo de hibridação (HEINZ e TEW 1987).

A solução atualmente utilizada é a mesma solução desenvolvida no Havaí, composta por água de chuva, acrescido de ácidos não voláteis: Ácido Fosfórico (H_3PO_4) 75 mg.kg^{-1} ; Ácido Nítrico (HNO_3) 37 mg.kg^{-1} ; Ácido Sulfúrico (H_2SO_4) 37 mg.kg^{-1} e adição ácido volátil: Dióxido de Enxofre (SO_2) 150 mg.kg^{-1} .

Entretanto, o dióxido de enxofre (SO_2) é um componente tóxico ao meio ambiente, causando diminuição do pH no solo, além disso é um dos responsáveis pela formação de chuvas ácidas. Também é insalubre para o homem, pois quando inalado em quantidades determinadas pode gerar dificuldade respiratória, alteração

na defesa dos pulmões, agravamento de doenças respiratórias e cardiovasculares (OGA et al., 2008).

Com a ênfase dada atualmente ao desenvolvimento sustentável e ao cuidado com a saúde e o bem estar do trabalhador, surge a necessidade de buscar novas alternativas. Considerando isto, o uso de soluções conservantes não tóxicas no processo de hibridação da cana-de-açúcar, nos programas de melhoramento genético da cultura, tem se tornado imprescindível. Algumas empresas deste setor têm buscado substituir a solução conservante desenvolvida no Havaí, e, recentemente, há registros da utilização de conservantes florais não tóxicos no processo de hibridação da cana-de-açúcar. Entre essas empresas, pode-se citar: IAC, Canavialis, CTC e GranBio (informação pessoal dada pelo professor Dr. Geraldo Verissimo de Souza Barbosa, do PMGCA/CECA/UFAL), apesar de ainda não se tem registro na literatura da sua utilização, carecendo portanto, de pesquisas que forneçam informações confiáveis que possam ser disponibilizadas em veículos de divulgação científica.

2.2.1.4 Solução Conservante Floral

Muitos conservantes florais são benéficos para algumas espécies de flores e outras não. Assim, é importante a realização de experimentos para avaliar se a Solução Conservante Floral é ou não adequado para determinada espécie antes de utilizá-lo em larga escala (NOWAK; RUDNICKI, 1990).

A maioria dos conservantes florais contém em suas formulações três componentes: um substrato energético; uma substância conservante básica, que pode ser um agente biocida que iniba o crescimento de microrganismos; uma substância conservante auxiliar, que pode ser um agente acidificante, para limitar o crescimento bacteriano e favorecer a absorção de água, e/ou um agente anti-etileno (MATTIUZ, 2003).

Quando os conservantes florais são utilizados, além de proporcionarem maior durabilidade às flores, não há necessidade de troca da solução do recipiente diariamente, como no caso da Solução havaiana onde é necessário ser feita a titulação diariamente. Geralmente essas soluções podem ser utilizadas por vários dias e devem ser trocadas apenas quando apresentarem aspecto turvo (NOWAK; RUDNICKI, 1990).

2.2.2 Combinação de parentais nos cruzamentos genéticos

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 (BASTOS et al., 2003; BAENZIGER e PETERSON, 1992).

Uma informação importante está inserida em quais genitores deverá ser utilizado na hibridação como masculino ou feminino, deve-se verificar se existe diferença entre resultados considerando a reciprocidade dos cruzamentos em que um determinado genitor é usado, ora como parental masculino, ora como feminino (RAMALHO et al., 2000).

2.3 Importância da avaliação do potencial fisiológico das sementes

Na produção de cana-de-açúcar, as sementes têm importância no melhoramento genético. O sucesso de programas de seleção e melhoramento da espécie é dependente da obtenção de sementes de qualidade fisiológica superior (CESNIK; MIOCQUE, 2004).

A escolha da estrutura mais adequada para avaliação do crescimento da plântula é importante para a obtenção de resultados consistentes e comparáveis. (STEINER et al., 1989).

Nos testes de laboratório, a germinação corresponde à percentagem de plântulas normais obtidas sob as condições e os limites de tempo especificados nas Regras para Análise de Sementes (BRASIL, 2009), sendo consideradas como plântulas normais aquelas que demonstrem potencial para se desenvolverem e originarem plantas normais, quando desenvolvidas em solo de boa qualidade e sob condições favoráveis de umidade, temperatura e luz (BRASIL, 2009).

O índice de velocidade de germinação consiste no princípio de que lotes de sementes que possuem maior velocidade de germinação são mais vigorosos. Por isso através deste teste determina-se o vigor avaliando a velocidade da germinação das sementes. A realização deste teste poderá ser feita em conjunto com o teste de germinação, obedecendo às prescrições das Regras para análise de sementes (BRASIL, 2009).

Outro parâmetro para avaliar o potencial fisiológico das sementes é o número de plântulas viáveis, que parte do princípio que sementes que propiciam maior emergência, em condições de campo, ou seja, não controladas, são mais vigorosas. Este teste, se conduzido na época normal de semeadura da cultura, fornecerá a capacidade do lote em estabelecer-se, dando subsídios necessários ao cálculo da quantidade de sementes a ser utilizada para obtenção de uma população ou estande de plantas desejável (NAKAGAWA, 1994).

As diferenças entre altura da planta, na maioria das vezes, são notáveis, no entanto há necessidade de valores numéricos para separar aquelas mais vigorosas. Para isso, a determinação do comprimento médio da altura ou partes destas é realizada, tendo em vista que as amostras que apresentam os maiores valores médios são as mais vigorosas (NAKAGAWA, 1999).

As sementes vigorosas originam plântulas com maior taxa de crescimento, área foliar e massa seca, em função de apresentarem maior capacidade de transformação do suprimento de reservas dos tecidos de armazenamento e da maior incorporação destes pelo eixo embrionário (DAN et al., 1987).

Para esta determinação, as amostras que apresentam maiores taxa de crescimento, área foliar e pesos médios de matéria seca de plântulas normais são consideradas mais vigorosas. As sementes vigorosas proporcionam maior transferência de massa seca de seus tecidos de reserva para o eixo embrionário, na fase de germinação, originando plântulas com maior peso, em função do maior acúmulo de matéria (NAKAGAWA, 1999).

A massa seca, conforme destacaram Krzyzanowski et al. (1991), é um indicador confiável e sensível do desenvolvimento vegetativo inicial da plântula em campo, embora não se relacione com a percentagem de emergência por uma série de fatores que podem ocorrer em campo, os quais não podem ser controlados ou reproduzidos em laboratório.

3 MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi realizado em quatro etapas:

1ª Etapa: Quantificação dos açúcares presentes na amostra do conservante floral por High-performance liquid chromatography (HPLC) – realizado no Laboratório de Fisiologia Vegetal (CECA/UFAL), entre 12 e 15 de março de 2013.

2ª Etapa: Cruzamentos genéticos da cana-de-açúcar – realizado na Estação de Floração e Cruzamento Serra do Ouro, em Murici – AL, entre 8 de abril e 15 de maio de 2013;

3ª Etapa: Beneficiamento das espiguetas – realizado no Laboratório de Produção de Plântulas do PMGCA/CECA/UFAL entre 16 de maio e 8 de junho de 2013

4ª Etapa: Avaliação do potencial fisiológico das espiguetas em laboratório – realizado no realizado no Laboratório de Produção de Plântulas do PMGCA/CECA/UFAL e no Laboratório de Análise de Sementes do CECA/UFAL, entre 17 de junho e 8 de julho de 2013;

5ª Etapa: Avaliação do potencial fisiológico em estufa – realizado no Galpão de Produção de Mudanças do PMGCA/CECA/UFAL, entre o período de 18 de junho e 5 de setembro de 2013.

3.1 Quantificação dos açúcares presentes na amostra do conservante floral por High-performance liquid chromatography (HPLC)

A Solução Conservante Floral utilizada nesta pesquisa possui segredo industrial, por esse motivo não foi informado sua formulação, contendo apenas os princípios ativos, por esse motivo foi realizada a quantificação de açúcares da solução.

A amostra contendo a Solução Conservante Floral foi filtrada com filtro de 0,45 µm millex-HV, em seguida foram preparadas diluições em água ultrapura (Milli-Q) nas concentrações de 25%, 50%, 75%, e posteriormente foram diluídas em 10x, 20x e 30x, pois após análise no HPLC, foram encontradas grandes concentrações de frutose

e glicose na amostra, com valores que não estavam entre o ponto mínimo e máximo da curva de calibração. Depois de realizada a diluição da amostra nas concentrações escolhidas foi transferida em vial específico para HPLC, onde foi injetado 20 µL das amostras preparadas e foram separadas através de coluna Shim-pack CLC-NH₂(M) de frutose, glicose, sacarose e maltose equipada com uma pré-coluna Shim-pack G-NH₂(4). A fase móvel foi constituída por acetonitrila 75% e água ultrapura (Milli-Q), onde a taxa de fluxo utilizada foi de uma constante de 1.0 mL.min⁻¹, que manteve a pressão a cerca de 60 kgf.cm⁻² e a temperatura da coluna de 40°C. O tempo de leitura foi de 18 minutos. Para a detecção dos quatro açúcares (frutose, glicose, sacarose e maltose) foi utilizado o refratômetro (detector de índice de refração – RID-10 A). As concentrações dos açúcares foram determinadas por comparação à área correspondente ao padrão dos açúcares que foram utilizados para construção da curva de calibração.

Após realizada as análises das amostras, notou-se que a diluição de 30 x era a mais adequada para a análise, pois as concentrações dos açúcares nestas, encontravam-se em consonância com a curva de calibração utilizada. A amostra apresentou alta concentração de frutose (204,82 g.L⁻¹) e glicose (246.9 g.L⁻¹) e não houve picos de sacarose e maltose, constatando-se assim a ausência desses açúcares na amostra.

3.2 Cruzamentos genéticos da cana-de-açúcar

Foram realizados cruzamentos do tipo Bi-Parental (BP) entre SP79-1011 e RB867515. Esses parentais utilizados na hibridação apresentam papel significativo para o setor produtivo. A cultivar SP79-1011 liderou o plantio em Alagoas a partir da safra 2000/2001, por conta da sua rusticidade, tolerância à seca, bom conteúdo em sacarose, embora tenha mediano rendimento agrícola; atingiu o topo em 2003/2004 (35% da área), mas gradativamente tem sido substituída por outras variedades de maior rendimento agroindustrial. Esta variedade ocupou expressiva área no Brasil, com 10,4% em 2005 (BARBOSA, 2014). A RB867515 é atualmente, a cultivar mais importante para o Brasil, ocupando 22,1% da área plantada no país, em 2011 (BARBOSA et al., 2012); no estado de Alagoas na safra 2013/2014 apresentou uma área colhida de 29,3 mil ha, totalizando 12,3% (MOTA; SILVA, 2014).

As hibridações tiveram início em 8 de abril de 2013, sendo realizado o censo de florescimento identificando as panículas que se encontravam em estágio adequado ao corte para efetuação dos cruzamentos. Quando se encontravam apropriadas, as canas foram seccionadas em sua parte basal rente ao solo e logo em seguida, as panículas foram transportadas para um galpão, no qual, passaram por um tratamento químico utilizando o fungicida Derosal 500 SC na dose de 1 mL.L^{-1} , através de pulverização costal manual. Após esse tratamento os colmos florescidos foram levados para as campânulas onde foram emparelhadas as quatro panículas (duas de cada genitor), colocados no interior de campânulas de polietileno, onde os colmos foram amarrados uns aos outros e colocados em baldes contendo as soluções conservantes, ficando por três semanas (Figura 1).

Figura 1: Panículas agrupadas no interior da campânula.



Fonte: Autor, 2013

Para a manutenção dos colmos durante o processo de hibridação foram preparadas as diferentes soluções conservantes, conforme apresentado na tabela 1.

Tabela 1- Composição e concentração utilizadas nas soluções conservantes.

Solução Conservante	Composição e Concentração
1- Solução Havaiana	Água de chuva + Dióxido de Enxofre (SO ₂) 150 mg.kg ⁻¹ + Ácido Fosfórico (H ₃ PO ₄) 75 mg.kg ⁻¹ + Ácido Nítrico (HNO ₃) 37 mg.kg ⁻¹ + Ácido Sulfúrico (H ₂ SO ₄) 37 mg.kg ⁻¹
2- Solução Conservante floral 1	Água de chuva; 200 mL de conservante floral + H ₃ PO ₄ 75 mg.kg ⁻¹ + HNO ₃ 37 mg.kg ⁻¹ + H ₂ SO ₄ 37 mg.kg ⁻¹
3- Solução Conservante floral 2	Água de chuva; 200 mL de conservante floral + H ₃ PO ₄ 100 mg.kg ⁻¹ + HNO ₃ 49 mg.kg ⁻¹ + H ₂ SO ₄ 49 mg.kg ⁻¹
4- Solução Conservante floral 3	Água de chuva; 200 mL de conservante floral; H ₃ PO ₄ 125 mg.kg ⁻¹ ; HNO ₃ 61 mg.kg ⁻¹ ; H ₂ SO ₄ 61 mg.kg ⁻¹

Fonte: Autor, 2013

O conservante floral utilizado foi um produto comercial (Flower®) cuja composição exata não é divulgada, porém os principais componentes informados no rótulo são: carboidratos, vitaminas, anti-oxidantes, acidulantes, bactericidas, algicidas, anti-champignon e sais inorgânicos.

Após a realização dos cruzamentos no dia 30 de abril de 2013, os colmos ainda nas soluções conservantes, foram retirados das campânulas e levados para um galpão até atingir a maturidade fisiológica das cariopses por 15 dias (Figura 2). Após esse período, as panículas contendo as cariopses foram coletadas e transportadas em sacos de papel do tipo Kraft para beneficiamento no Laboratório de Sementes do PMGCA no Centro de Ciências Agrárias. Como foi realizado cruzamento do tipo Bi-Parental, coletaram-se as cariopses de ambos os progenitores, uma vez que a cana-de-açúcar é hermafrodita.

Figura 2: Galpão de maturidade fisiológica.



Fonte: Autor, 2013

3.3 Beneficiamento das cariopses

As cariopses presentes no saco de papel foram conduzidas para a sala de secagem onde ficaram 24 horas, sob temperatura mínima de 30°C e máxima de 35°C e umidade relativa do ar média de 55%. Após o período de secagem, foram realizadas as separações das espiguetas dos materiais inertes (ráquis, palha, estigma, entre outros). Em seguida foram realizadas as pesagens das espiguetas de cada cruzamento, em balança digital analítica, sendo então etiquetadas e armazenadas na câmara seca, onde são controladas a umidade relativa do ar (50%) e a temperatura (20°C).

Figura 3: Sala de Secagem (A); Câmara Seca (B).



Fonte: Autor, 2013

3.4 Ensaio 1: Avaliação do potencial fisiológico das espiguetas em laboratório

3.4.1 Percentual de espiguetas férteis

Para determinação do percentual de espiguetas férteis, em cada tratamento foram retiradas amostras contendo 0,25 g de espiguetas por repetição, utilizando-se quatro repetições, com posterior contagem do número de espiguetas e cariopses, que permite o cálculo do percentual de espiguetas férteis, conforme a equação. A extração das cariopses contidas nas espiguetas foi realizada manualmente, de acordo com Cabral et al. (2011).

$$EF (\%) = \frac{NC}{NE} \times 100$$

Onde:

EF é o percentual de espiguetas férteis;

NC é o número de cariopses

NE é o número de espiguetas

3.4.2 Percentagem de germinação

O teste de germinação foi realizado no Laboratório de Análise de Sementes entre os dias 17 de junho a 8 de julho de 2013, utilizando quatro repetições contendo 100 espiguetas em cada repetição do tratamento, onde foram semeadas sobre “papel germitest” umedecido com água destilada na proporção de 2,5 vezes o peso do papel seco com hidratação total, e em seguida foram acondicionadas em caixas de acrílico transparentes (11 x 11 x 3,5 cm) do tipo “gerbox”, as quais foram mantidas em câmara de germinação BOD, a temperatura constante de 30°C e fotoperíodo de 12 horas de acordo com Cabral et al. (2011) (Figura 4).

3.4.3 Índice de velocidade de germinação

A germinação foi registrada diariamente e cessou após cinco dias do momento em que não ocorreram mais eventos. O critério tecnológico para definir semente germinada, foi quando a semente deu origem a uma plântula normal contendo todas as suas estruturas essenciais, conforme a prescrição das Regras para Análise de

Sementes (BRASIL, 2009). A partir dos dados obtidos foi calculado o percentual de germinação e o índice de velocidade de germinação de acordo com a fórmula proposta por Maguire (1962):

$$IVG = \frac{G_1}{N_1} + \frac{G_2}{N_2} + \frac{G_3}{N_3} + \dots + \frac{G_n}{N_n}$$

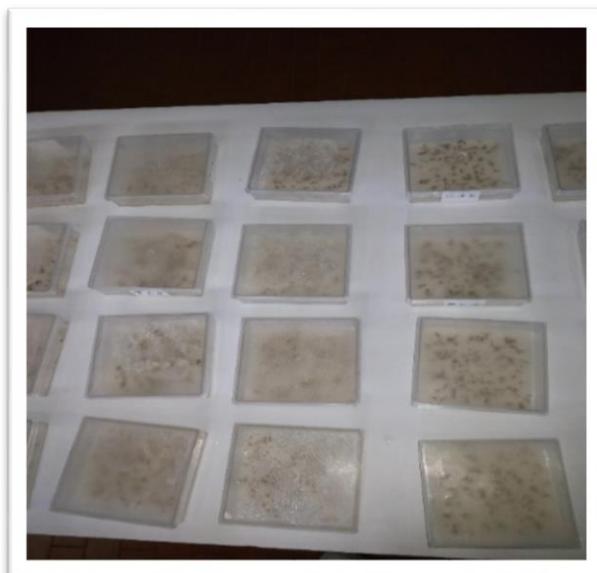
Onde:

IVG é o índice de velocidade de germinação;

$G_1, G_2, G_3, \dots, G_n$ é o número de plântulas computadas na primeira, segunda, terceira e última contagem;

$N_1, N_2, N_3, \dots, N_n$ é o número de dias da semeadura à primeira, segunda, terceira e última contagem.

Figura 4: Detalhe do teste de germinação: Caixas de acrílico transparentes do tipo “gerbox”.



Fonte: Autor,2013

3.5 Ensaio 2: Avaliação do potencial fisiológico em estufa

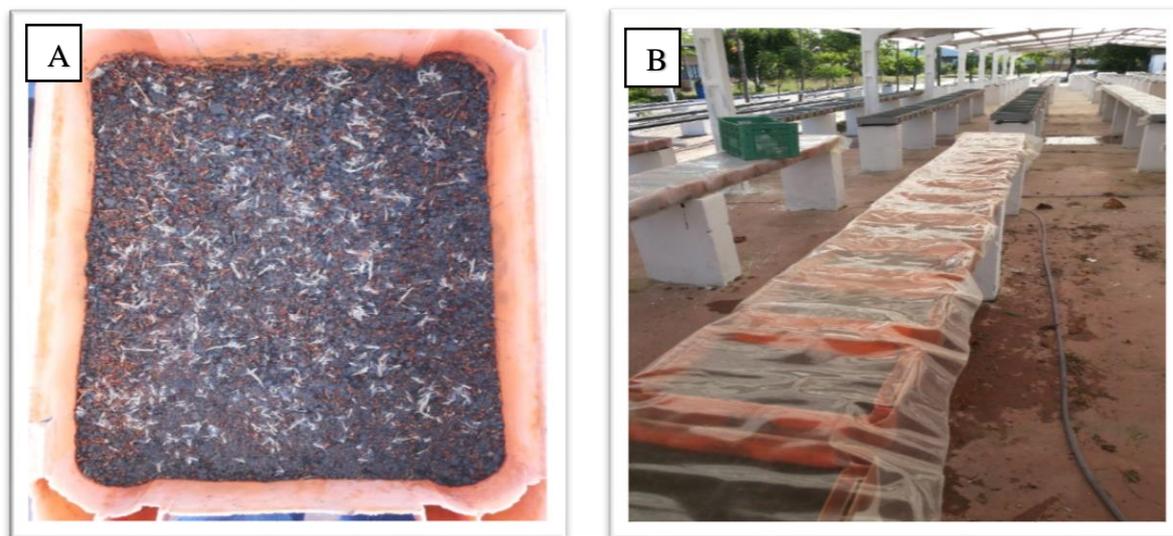
3.5.1 Número de plântulas viáveis

Para a determinação do número de plântulas viáveis, em cada tratamento foi semeado no dia 18 junho de 2013, contendo 1 g de espiguetas por repetição, utilizando-se quatro repetições. A semeadura ocorreu em bandejas de plástico, de tamanho 40 x 30 x 15 cm, contendo uma camada de 10 cm de substrato, formado por duas partes de terra preta, uma de fibra de coco e uma de torta de filtro da fabricação do açúcar.

As espiguetas foram distribuídas manualmente sobre o substrato, e logo em seguida, foram levemente molhadas para facilitar a aderência ao substrato e fornecer umidade necessária para ativação do processo germinativo das cariopses mantidas a temperatura ambiente. Posteriormente, as caixas de plásticos foram cobertas com um plástico transparente (Figura 5) para evitar perda de umidade por um período de 10 dias, após esse período foram retirados a cobertura de plástico e foi realizada a aplicação uniforme de adubo foliar na mesma proporção para todas as caixas.

Oito dias após a semeadura foi avaliada a quantidade de plântulas viáveis através de contagem manual. O critério adotado para considerar as plântulas como sendo viáveis foi o comprimento mínimo de 3,0 cm.

Figura 5: Plântulas viáveis: Semeio das espiguetas sobre o substrato (A); Cobertura de plástico para manter umidade (B).



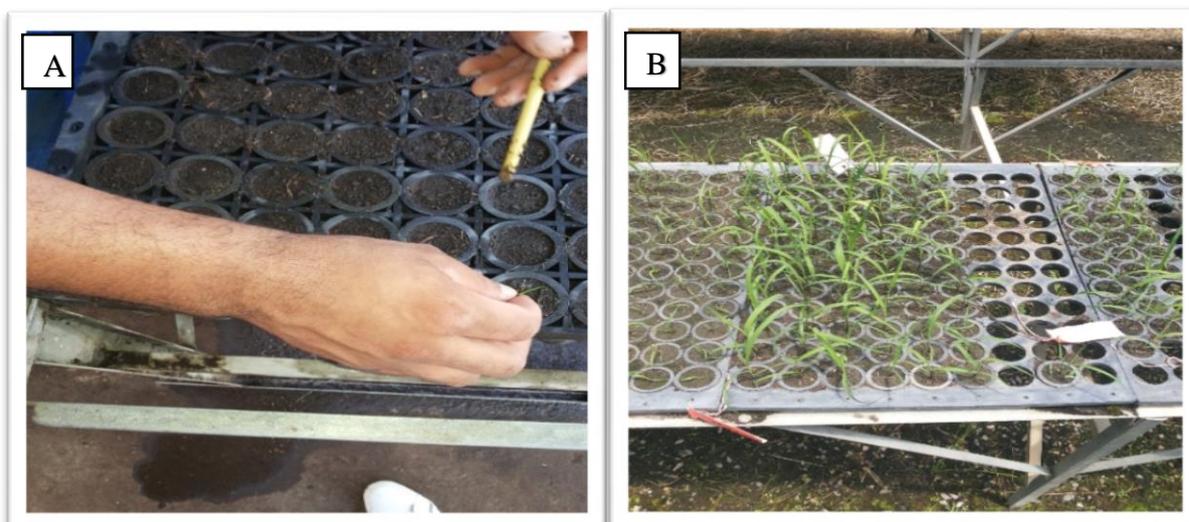
Fonte: Autor, 2013

3.5.2 Altura da Planta

Após a contagem das plântulas viáveis, foi feita a repicagem no dia 8 de julho de 2013 das mesmas para os tubetes, sendo retiradas em cada tratamento contendo quatro repetições, amostras contendo quarenta plântulas, sendo dez para cada repetição, foram colocadas em bandejas, em seguida todas as plântulas foram transferidas para uma estufa com cobertura de sombrite e sistema de irrigação por micro-aspersão, onde permaneceram por 60 dias (Figura 6).

Para a determinação do potencial fisiológico, foi mensurada a altura da planta após o período de 60 dias, com auxílio de uma fita métrica a partir do solo até a folha (+1). A folha (+1) foi considerada como aquela que apresentava o primeiro lígula totalmente visível (Figura 3).

Figura 6: Altura da planta: Repicagem (A); Mensuração da Altura da planta (B).



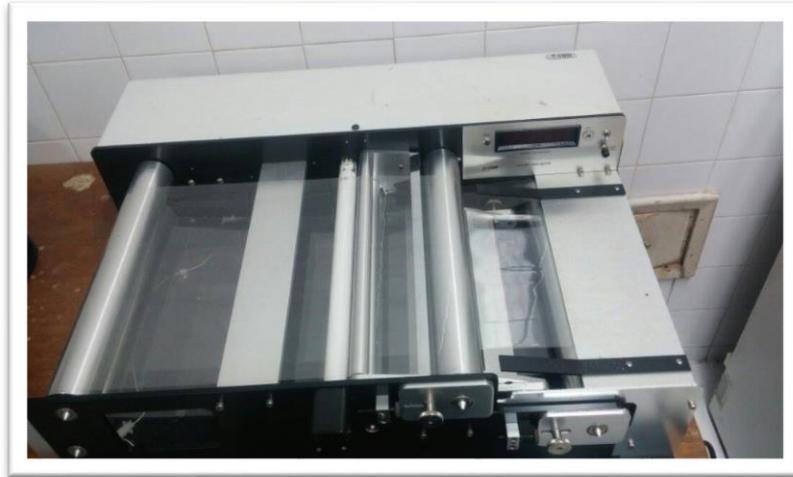
Fonte: Autor,2013

3.5.3 Área Foliar

Para avaliação da área foliar (AF), foi utilizado um integrador de área foliar da marca LI-COR®, modelo LI 3100 (Figura 7). As folhas foram cortadas com auxílio de um estilete e posteriormente foram passadas pelo aparelho, uma a uma no dia 2 de setembro de 2013, e os valores de AF retornados, anotados em uma tabela.

Eventualmente, foram realizados ajustes e limpeza na superfície do aparelho, que entrou em contato com as amostras.

Figura 7: Área foliar: Integrador de área foliar da marca LI-COR®, modelo LI 3100

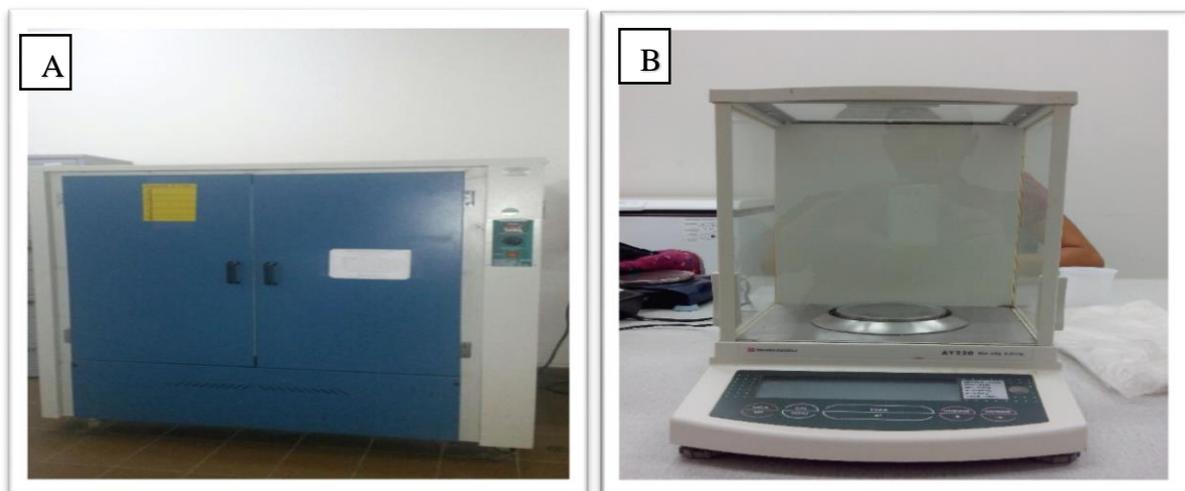


Fonte: Autor, 2013

3.5.4 Massa Seca

Para determinação da massa seca no dia 2 de setembro de 2013, as plantas foram coletadas, acondicionadas em sacos de papel do tipo Kraft, identificadas e colocadas em estufa com circulação forçada de ar, a 60°C, durante 72 horas, com finalidade de desidratação total da planta (Figura 8). Após 72 horas na estufa esse material foi retirado e ficou esfriando aproximadamente 15 minutos e posteriormente foram feitas as pesagens, utilizando balança analítica e determinada a massa seca.

Figura 8: Massa seca: Estufa desidratação do material (A); Balança analítica pesagem (B).



Fonte: Autor, 2013

3.6 Análise estatística dos dados

Para a análise estatística dos dados fez-se a análise de considerando o modelo de classificação hierárquica, utilizando-se dois fatores com quatro repetições. O primeiro fator avaliado foi o Cruzamento, contendo dois níveis de genitores em que foram coletadas as panículas contendo as cariopses (1- SP79-1011; 2- RB867515) e o segundo fator as Soluções Conservantes dentro do cruzamento, contendo quatro níveis (1- Solução havaiana; 2-Solução Conservante Floral acrescido de 0,3 mL.L⁻¹ de ácidos não voláteis (CF1); 3- Solução Conservante Floral acrescido 0,4 mL.L⁻¹ de ácidos não voláteis (CF2); 4- Solução Conservante Floral acrescido 0,5 mL.L⁻¹ de ácidos não voláteis (CF3).

Para o fator Solução Conservante dentro de cada cruzamento aplicou-se o Teste F para contrastes ortogonais nas seguintes comparações de médias:

$$\text{Contraste 1: } y_1: \mu_1 - \frac{(\mu_2 + \mu_3 + \mu_4)}{3}$$

Este contraste de médias testa a hipótese de igualdade da média do Solução Havaiana e a média dos três níveis de Solução Conservante Floral.

$$\text{Contraste 2: } y_2: \mu_2 - \frac{(\mu_3 + \mu_4)}{2}$$

Este contraste testa a hipótese de igualdade da média da Solução Conservante Floral acrescido com menor dosagem de ácido não volátil e a média dos dois níveis de Solução Conservante Floral acrescido com as maiores dosagens de ácidos não volateis.

$$\text{Contraste 3: } y_3: \mu_3 - \mu_4$$

Este contraste testa a hipótese de igualdade de médias entre as duas maiores dosagens de ácidos não volateis.

No caso das variáveis altura da planta, área foliar e massa seca, os contrastes foram diferentes, pois não houve germinação para Solução Conservante Floral com a menor dosagem. Sendo assim, aplicou-se o Teste F para contrastes ortogonais nas seguintes comparação de médias:

$$\text{Contraste 1: } y_1: \mu_1 - \frac{(\mu_3 + \mu_4)}{2}$$

Este contraste testa a hipótese de igualdade da média da Solução havaiana e a média das duas maiores dosagens de ácidos não voláteis.

$$\textit{Contraste 2: } y_2: \mu_3 - \mu_4$$

Este contraste testa a hipótese de igualdade de médias das duas maiores dosagens de ácidos não voláteis.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Ensaio 1: Avaliação do potencial fisiológico das espiguetas em laboratório

4.1.1 Análise de Variância

Os resultados da análise de variância referentes as variáveis porcentagem de espiguetas férteis, porcentagem de germinação e índice de velocidade de germinação estão apresentados na Tabela 2.

Observou-se que houve efeito significativo pelo teste F ($p < 0,01$) dos fatores Cruzamento e Soluções conservantes dentro dos cruzamentos sobre as variáveis porcentagem de espiguetas férteis, porcentagem de germinação e índice de velocidade de germinação.

O ensaio apresentou uma variação muito alta, com precisão muito baixa, para as variáveis porcentagem de germinação e índice de velocidade de germinação, mas pode ser justificado pelo histórico de cruzamentos realizados na Estação de Floração e Cruzamento Serra do Ouro, que apresentam grande variabilidade na germinação dos cruzamentos. A germinação das espiguetas em cruzamentos Bi-parentais tem apresentado variação de 4 a 472 plântulas por grama de semente, e nos Multi-Parentais, de 6 a 376 plântulas (ROCHA et al., 1999).

Tabela 2: Análise de variância (quadrados médios) para porcentagem de espiguetas férteis (%EF), porcentagem de germinação (%G), índice de velocidade de germinação (IVG) de espiguetas de cana-de-açúcar obtidas a partir do cruzamento entre SP79-1011 x RB867515 e seu recíproco RB867515 x SP79-1011 utilizando diferentes soluções conservantes na hibridação.

Variável	Causa de variação			CV (%)
	Cruzamento	Solução conservante dentro dos cruzamentos	Resíduo	
%E.F	2174.20**	209.72**	14.693	23,39
% G	75.0312**	72.281**	1.4062	36,51
IVG	5.281**	3.4895**	0.0937	42,60

Fonte: Autor (2013)

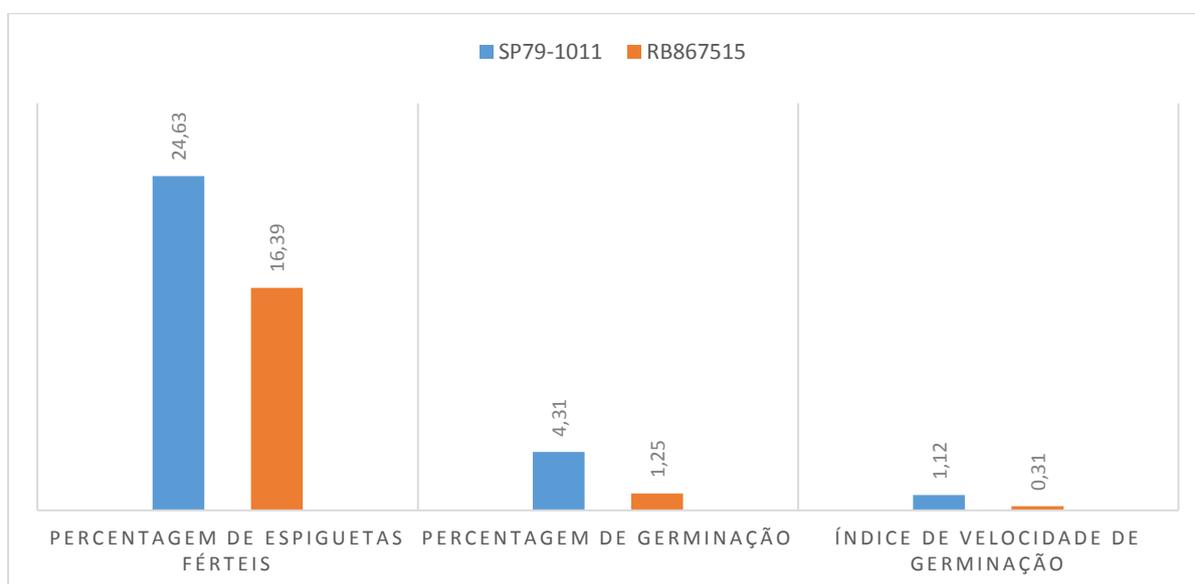
Notas: ** significativo ao nível de 1% de probabilidade pelo teste de F.

4.1.2 Percentagem de espiguetas férteis, Percentagem de germinação e Índice de velocidade de germinação

Quando foi avaliado o fator cruzamento entre os dois níveis de genitores receptores de pólen (1- SP79-1011; 2- RB867515) foi constatado que o parental SP79-1011 apresentou médias superiores em relação ao parental RB867515, nas três variáveis estudadas (Figura 9).

Diversos fatores podem ter contribuído para a diminuição do potencial de produção de sementes sendo uma característica dos progenitores, que vão desde falhas no desenvolvimento das anteras e dos óvulos, incompatibilidade devida a interações negativas entre o pólen e o pistilo dos genótipos envolvidos, bem como falhas no desenvolvimento do próprio embrião (BEWLEY et al., 2000).

Figura 9: Médias de percentual de espiguetas férteis (%EF), percentual de germinação (%GERM), índice de velocidade de germinação (IVG), obtidas a partir do cruzamento SP79-1011 x RB867515 e seu recíproco RB867515 x SP79-1011 utilizando diferentes soluções conservantes na hibridação.



Fonte: Autor, 2013

Considerando o cruzamento SP79-1011 x RB867515 foi observado que a Solução havaiana proporcionou média estatisticamente superior pelo Teste F ($p < 0,01$) em relação à média dos três níveis da Solução Conservante Floral para percentagem de espiguetas férteis, percentagem de germinação e índice de velocidade de germinação (Tabela 3). Entre as dosagens de ácidos não voláteis acrescidas a

Solução Conservante Floral, foi observado que a dosagem de 0,3 mL.L⁻¹ apresentou média estatisticamente inferior pelo Teste F à média das doses 0,4 mL.L⁻¹ e 0,5 mL.L⁻¹, sendo $p < 0,01$ para as variáveis percentagem de germinação e índice de velocidade de germinação e $p < 0,05$ para percentagem de espiguetas férteis. Foi verificado ainda que em todas as variáveis analisadas, não houve diferença significativa entre as médias das maiores dosagens (0,4 mL.L⁻¹ e 0,5 mL.L⁻¹).

No cruzamento RB867515 x SP79-1011 também foi constatada superioridade pelo Teste F da média da Solução havaiana ($p < 0,01$) para as variáveis percentagem de germinação e índice de velocidade de germinação. Para percentagem de espiguetas férteis foi superior ($p < 0,05$) pelo Teste F. Não foram constatadas diferenças significativas nos dois contrastes de médias envolvendo as diferentes dosagens de ácidos não voláteis acrescidas a Solução Conservante Floral para as três variáveis.

Os resultados de porcentagem de germinação foram inferiores aos encontrados para porcentagem de espiguetas férteis, demonstrando que apesar da existência de cariopses no interior das espiguetas, algumas delas não se encontravam viáveis. No entanto, a resposta aos fatores estudados foi semelhante, com a Solução havaiana conferindo maiores porcentagens de germinação.

O dióxido de enxofre (SO₂) presente na Solução havaiana tem ação antibacteriana, como relatado por AGEE (1927) quando avaliou soluções antissépticas na hibridação da cana de açúcar. O autor verificou que a ausência desse componente no “conservante floral” pode ter colaborado para a proliferação de bactérias na base das hastes. Esta constatação pode explicar a diferença observada entre as soluções conservantes no presente trabalho.

A cana possui uma grande reserva de sacarose no interior dos colmos e a Solução Conservante Floral possui em sua formulação concentração muito elevada de açúcares, os quais provavelmente não foram consumidos e contribuíram para a incidência das bactérias que promovem o bloqueio vascular. A razão pela qual as bactérias se multiplicam na base das hastes assim que estas são dispostas em água é facilmente entendida, pois as células cortadas da base liberam carboidratos, aminoácidos, proteínas, entre outros materiais que são alimentos adequados para as centenas de bactérias presentes na superfície das plantas (REID & DODGE, 1997).

Durante a condução do presente experimento foi verificado que após quatro dias as hastes contendo Solução Conservante Floral apresentaram amarelecimento e

ressecamento dos colmos. Esse ressecamento precoce pode ter ocorrido como resultado da perda prematura do turgor das células, que ocorre quando existe um desequilíbrio entre a absorção de água e a transpiração durante certo período de tempo, tendo como causa a alta taxa transpiratória ou a absorção de água limitada pela alta resistência hidráulica (VAN MEETEREN et al., 2001).

Os resultados encontrados no presente trabalho são considerados aceitáveis, visto que em trabalho realizado por Cabral et al. (2011) estudando o percentual de germinação de espiguetas em cana-de-açúcar, foi observado nos cruzamentos realizados utilizando o parental RB92579 percentual de germinação de 2% a 23% variando de acordo com os parentais utilizados nos cruzamentos Bi-parentais.

Tabela 3: Médias de percentual de espiguetas férteis (%EF), percentual de germinação (%GERM), índice de velocidade de germinação (IVG), obtidas a partir do cruzamento SP79-1011 x RB867515 e seu recíproco RB867515 x SP79-1011 utilizando diferentes soluções conservantes na hibridação.

S. Conservante	% EF		% GERM		IVG	
	(1 x 2)	(2 x 1)	(1 x 2)	(2 x 1)	(1 x 2)	(2 x 1)
H	38,73	11,57	12,50	4,75	2,822	1,426
CF ₁	16,70	5,13	0,00	0,00	0,00	0,00
CF ₂	22,86	5,75	2,25	0,00	0,63	0,00
CF ₃	20,24	10,13	2,25	0,00	0,62	0,00

Contraste de Médias do cruzamento (1 x 2)	% EF		% GERM		IVG	
	Ȳ	Teste F	Ȳ	Teste F	Ȳ	Teste F
Ȳ ₁ : $m_1 - \left(\frac{m_2 + m_3 + m_4}{3}\right)$	18,79	72,13**	11,00	346,68**	2,41	150,22**
Ȳ ₂ : $m_2 - \left(\frac{m_3 + m_4}{2}\right)$	-4,85	4,25*	-2,25	10,43**	-0,63	21,77**
Ȳ ₃ : $m_3 - m_4$	2,62	0,93 ^{ns}	0,00	0,00 ^{ns}	0,01	1,33 ^{ns}

Contraste de Médias do cruzamento (1 x 2)	% EF		% GERM		IVG	
	Ȳ	Teste F	Ȳ	Teste F	Ȳ	Teste F
Ȳ ₁ : $m_1 - \left(\frac{m_2 + m_3 + m_4}{3}\right)$	4,57	4,26*	4,75	63,35**	1,42	50,00**
Ȳ ₂ : $m_2 - \left(\frac{m_3 + m_4}{2}\right)$	-2,81	1,43 ^{ns}	0,00	0,00 ^{ns}	0,00	0,00 ^{ns}
Ȳ ₃ : $m_3 - m_4$	-4,38	2,61 ^{ns}	0,00	0,00 ^{ns}	0,00	0,00 ^{ns}

Fonte: Autor (2013)

Notas: Havaiana (H); Conservante floral 1 (CF₁); Conservante floral 2 (CF₂); Conservante Floral 3 (CF₃); SP79-1011 x RB867515 (1 x 2); RB867515 x SP79-1011 (2 x 1); ns, *, **: não significativo, significativo ao nível de 5% e 1% de probabilidade de erro pelo teste de F, respectivamente.

4.2 Ensaio 2: Avaliação do potencial fisiológico das espiguetas em casa de vegetação

4.2.1 Análise de Variância

Os resultados da análise de variância referentes as variáveis números de plântulas viáveis, altura da planta, área foliar e massa seca estão apresentados na Tabela 5.

Foi observado que em condições de estufa, a variável número de plântulas viáveis apresentou efeito significativo pelo Teste F ($p < 0,01$) sobre Solução Conservante dentro de cruzamento e ($p < 0,05$) sobre o cruzamento (Tabela 4). Já as variáveis altura da planta, área foliar e massa seca verificou-se que houve efeito significativo somente para o fator Solução conservante dentro dos cruzamentos pelo Teste F ($p < 0,01$), não havendo efeito significativo referentes aos demais fatores.

Resultados semelhantes foram obtidos por Almeida (2010) avaliando métodos utilizados como substratos na hibridação da cana-de-açúcar, onde foi verificado que o fator cruzamento houve efeito significativo para variável número de plântulas viáveis utilizando os Parentais (Co62175 x RB961003 e NA56-79 x RB72454).

Tabela 4: Resumo da análise de variância (quadrados médios) para o número de plântulas viáveis (NPV), altura da planta (AP), área foliar (AF), massa seca (MS) de espiguetas de cana-de-açúcar obtidas a partir do cruzamento entre SP79-1011 e RB867515 e seu recíproco RB867515 x SP79-1011 utilizando diferentes soluções conservantes na hibridação.

Variável	Causa de Variação			CV
	Cruzamento	Solução conservante dentro dos cruzamentos	Resíduo	
NPV	2,189*	27.559**	0.301	19.04
AP	0.781 ^{ns}	2081.280**	11.843	10,09
AF	15.320 ^{ns}	3850.600**	12.735	7,78
MS	0.001 ^{ns}	0.592**	0.002	7,75

Fonte: Autor (2013)

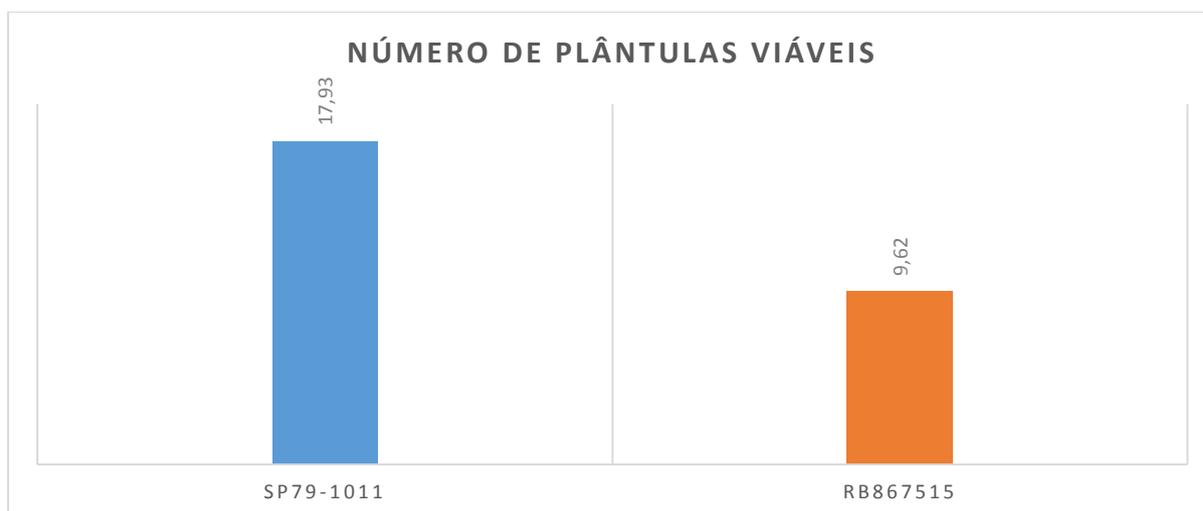
Notas: ns, *, **: não significativo, significativo ao nível de 5% e 1% de probabilidade de erro pelo teste de F, respectivamente.

4.2.2 Número de plântulas viáveis

Avaliando o fator cruzamento entre os dois níveis de genitores receptores de pólen (1- SP79-1011; 2- RB867515) para a variável número de plântulas viáveis, foi observado que o parental SP79-1011 apresentou média superior em relação ao parental RB867515 (Figura 10).

O resultado obtido em condição de estufa foi análogo aos encontrados em laboratório, indicando que para realização do cruzamento entre os parentais, o parental SP79-1011 como receptor de pólen apresenta maior potencial fisiológico.

Figura 10: Médias do número de plântulas viáveis, obtidas a partir do cruzamento SP79-1011 x RB867515 e seu recíproco RB867515 x SP79-1011 utilizando diferentes soluções conservantes na hibridação.



Fonte: Autor, 2013

Para variável número de plântulas viáveis nos cruzamentos SP79-1011 x RB867515 e RB867515 x SP79-1011, foram observados que a Solução havaiana conferiu média superior pelo Teste F ($p < 0,01$) em relação a média dos três níveis da Solução Conservante Floral (Tabela 5). Quando foi avaliadas as dosagens de ácidos não voláteis acrescidas a Solução Conservante Floral, foi observado que em ambos os cruzamentos, a dosagem de $0,3 \text{ mL.L}^{-1}$ apresentou média estatisticamente inferior pelo Teste F ($p < 0,01$) à média das dosagens $0,4 \text{ mL.L}^{-1}$ e $0,5 \text{ mL.L}^{-1}$ e foi verificado ainda que não houve diferença significativa entre as médias das maiores dosagens ($0,4 \text{ mL.L}^{-1}$ e $0,5 \text{ mL.L}^{-1}$).

Os resultados encontrados na variável número de plântulas viáveis em estufa foram semelhantes aos encontrados em laboratório, atestando que a Solução

Conservante Floral acrescido de ácidos não voláteis, quando foi utilizado para a manutenção do metabolismo dos colmos na hibridação, apresentou inferioridade em relação a Solução havaiana, diminuindo a viabilidade dos órgãos reprodutivos para realização do cruzamento e conseqüentemente na formação das cariopses.

Tabela 5: Médias do número de plântulas viáveis obtidas a partir do cruzamento entre SP79-1011 e RB867515 e seu recíproco RB867515 x SP79-1011 utilizando diferentes soluções conservantes na hibridação.

Cruzamento	Soluções Conservantes	Médias
(1 x 2)	Solução Havaiana	59,00
	Conservante Floral 1	0,00
	Conservante Floral 2	5,25
	Conservante Floral 3	7,50
Média		17,93
Contraste de Médias		Estimativa
$\dot{Y}_1: m1 - \left(\frac{m2 + m3 + m4}{3}\right)$		54,75
$\dot{Y}_2: m2 - \left(\frac{m3 + m4}{2}\right)$		6,37
$\dot{Y}_3: m3 - m4$		2,25
		15,47**
		7,73**
		0,19 ^{ns}
Cruzamento	Soluções Conservantes	Médias
(2 x 1)	Solução Havaiana	19,25
	Conservante Floral 1	0,00
	Conservante Floral 2	8,75
	Conservante Floral 3	10,50
Média		9,62
Contraste de Médias		Estimativa
$\dot{Y}_1: m1 - \left(\frac{m2 + m3 + m4}{3}\right)$		12,84
$\dot{Y}_2: m2 - \left(\frac{m3 + m4}{2}\right)$		9,62
$\dot{Y}_3: m3 - m4$		1,75
		281,66**
		3,39**
		0,31 ^{ns}

Fonte: Autor (2013)

Notas: SP79-1011 x RB867515 (1 x 2); RB867515 x SP79-1011 (2 x 1); ns, **: não significativo, significativo ao nível de 1% de probabilidade de erro pelo teste de F, respectivamente.

4.2.3 Altura da planta, Área foliar e Massa Seca

Analisando as médias de soluções conservantes dentro dos cruzamentos foi constatado que no cruzamento SP79-1011 x RB867515, a Solução havaiana conferiu média estatisticamente superior pelo Teste F em relação a média dos três níveis da Solução Conservante Floral, sendo $p < 0,01$ para as variáveis área foliar e massa seca e $p < 0,05$ para altura da planta. Foi verificado ainda que em todas variáveis analisadas,

não houve diferença significativa entre as médias das maiores dosagens de ácidos não voláteis ($0,4 \text{ mL.L}^{-1}$ e $0,5 \text{ mL.L}^{-1}$).

No cruzamento RB867515 x SP79-1011 também foi constatada superioridade pelo Teste F ($p < 0,01$) da Solução havaiana para as variáveis área foliar e massa seca (Tabela 6). No entanto, para variável altura da planta, não foi verificada diferença significativa no contraste de médias envolvendo a Solução havaiana e a Solução Conservante Floral. Considerando as dosagens de ácidos não voláteis acrescidas a Solução Conservante Floral, foi notado que a dosagem de $0,4 \text{ mL.L}^{-1}$ apresentou média estatisticamente inferior pelo Teste F ($p < 0,01$) em relação a $0,5 \text{ mL.L}^{-1}$, para as variáveis área foliar e massa seca e não houve diferença significativa para variável altura da planta.

Fica evidente a superioridade das espiguetas provenientes de panículas, cujos os colmos foram imersos em solução conservante Havaiana, conferindo resultados superiores a Solução Conservante Floral em todas as variáveis estudadas em campo, provavelmente em virtude da melhor conservação do metabolismo durante a hibridação da cana de açúcar, o que resultou em maior vigor e conseqüentemente melhor desenvolvimento da planta, contribuindo para as diferenças observadas entre as variáveis estudadas

Tabela 6: Altura da planta (AP), Área foliar (AF), Massa seca (MS), obtidas a partir do cruzamento SP79-1011 x RB867515 e seu recíproco RB867515 x SP79-1011 utilizando diferentes soluções conservantes na hibridação.

S. Conservantes	AP (cm)		AF (cm)		MS (g)	
	(1 x 2)	(2 x 1)	(1 x 2)	(2 x 1)	(1 x 2)	(2 x 1)
H	48,46	46,91	67,79	67,16	0,799	0,805
CF ₂	44,15	46,20	56,61	54,89	0,743	0,738
CF ₃	42,90	43,90	56,26	64,28	0,734	0,783

Cruzamento		Variáveis				
(1 x 2)	AP (cm)		AF (cm)		MS (g)	
Contraste de Médias	Ȳ	Teste F	Ȳ	Teste F	Ȳ	Teste F
Ȳ ₁ : $m1 - \left(\frac{m3+m4}{2}\right)$	4,93	5,35*	11,36	26,58**	0,061	35,77**
Ȳ ₂ : $m3 - m4$	1,25	0,61 ^{ns}	0,35	0,01 ^{ns}	0,009	0,66 ^{ns}

Cruzamento		Variáveis				
(2 x 1)	AP (cm)		AF (cm)		MS (g)	
Contraste de Médias	Ȳ	Teste F	Ȳ	Teste F	Ȳ	Teste F
Ȳ ₁ : $m1 - \left(\frac{m3+m4}{2}\right)$	1,86	0,59 ^{ns}	7,57	11,38**	0,04	19,08**
Ȳ ₂ : $m3 - m4$	2,30	1,27 ^{ns}	-9,39	13,43**	-0,04	13,43**

Fonte: Autor (2013)

Notas: SP79-1011 x RB867515 (1 x 2); RB867515 x SP79-1011 (2 x 1); ns – não significativo, * significativo ao nível de 5% de probabilidade, ** significativo ao nível de 1% de probabilidade pelo teste de F.

5 CONCLUSÕES

Com base nos resultados obtidos, o uso da Solução Conservante Floral em ambos ensaios avaliados (laboratório e estufa) reduz o potencial fisiológico das espiguetas em relação à Solução havaiana.

Considerações Finais

Considerando-se os danos ao meio ambiente causados pela Solução havaiana e as exigências de mercado, a sua substituição pela Solução Conservante Floral deve ser considerada. Novas pesquisas devem ser realizadas, testando novas concentrações de ácidos não voláteis e possíveis trocas da solução durante o processo de hibridação.

REFERÊNCIAS

AGEE, H. P. 1927. **The sulfurous acid method in cane breeding**. Proc. ISSCT 2:139 140.

ALMEIDA, B. F. A. **Avaliação de dois métodos utilizados como substratos na hibridação da cana-de-açúcar (*Saccharum spp.*)**. 2010. 35 f. Trabalho de Conclusão do Curso (Graduação em Agronomia) - CECA, UFAL, Rio Largo, 2010.

BACCHI, O. O. S. **Ecofisiologia da cana-de-açúcar**. Instituto do Açúcar e do Alcool – Programa Nacional de Melhoramento da Cana-de-açúcar – PLANALSUCAR, Piracicaba – SP, 1985. 20p.

BARBOSA, G.V.S. Contribuição do melhoramento genético da cana-de-açúcar para agroindústria canaveira de Alagoas: 2014, 113 f. Tese (Doutorado em Produção vegetal) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba.

BARBOSA, G.V.S. et al. Desempenho agroindustrial e censo de variedades de cana-de-açúcar cultivadas no Estado de Alagoas. In: **Congresso Nacional da STAB**, 9., 2008, Maceió. **Anais...** Maceió: STAB, 2008.

BARBOSA, G. V. S. et al. **Três novas variedades RB de cana-de-açúcar**. Boletim Técnico. Rio Largo, AL, n.2, Agosto, 2003.

BARBOSA, M. H. P. et al. Genetic improvement of sugar cane for bioenergy: the Brazilian experience in network research with RIDESA. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, Viçosa, v.12, p. 87-98, 2012.

BARNES, A. C. **The sugar cane**. 2. ed. London: Leonar Hill Books, 1974. 572 p.

BASTOS, I.T.; BARBOSA, M.H.P.; CRUZ, C.D.; BURNQUIST, W.L.; BRESSIANI, J.A.; SILVA, F.L. Análise dialéctica em clones de cana-de-açúcar. **Bragantia**, v.62, n.2, p199-206, 2003

BEWLEY, J.D.; HEMPEL, F.D.; McCORMICK, S.; ZAMBRYSKI, P. Reproductive development. In: BUCHANAN, B.B.; GRUISSEM, W.; JONES, R.L. (Eds.) **Biochemistry and molecular biology of plants. Maryland: American Society of Plant Physiologists.** 2000. 1376p.

BNDES/CGEE. **Bioetanol de cana-de-açúcar: energia para o desenvolvimento sustentável.** Rio de Janeiro: BNDES, 2008. 316 p.

BONNETI, G., CASU, R., RAE, A., GROF, C., GLASSOP, D., MCINTYRE, L., MANNERS, J. (2004). **Identification of genes contributing to high sucrose accumulation in sugarcane.** In: 4th International Crop Science Congress, Austrália.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento – Secretaria de Defesa Agropecuária. Regras para análise de sementes. Brasília: Mapa/ACS, 2009. 399p.

BRETT, P. G. C. **Flowering and pollen fertility in relation to sugarcane breeding in Natal.** Cong. Proc. Int. Soc. Sug. Cane Technol. Amsterdam: Elsevier, p. 795 – 812, 1967.

CABRAL, F. F.; SILVA, C.B.; FERREIRA, V.M.; ARAUJO NETO, J.C.; BARBOSA, G.V.S. Fertilidade de cruzamentos, potencial fisiológico e armazenamento de sementes de cana-de-açúcar. **Revista Brasileira de Tecnologia Aplicada nas Ciências Agrárias**, v.4, n.1, p.66–82, 2011.

CARVALHO, N. M.; NAKAGAWA, J. **Sementes: ciência, tecnologia e produção** 3.ed. Campinas: Fundação Cargill, 2000. 588p.

CASAGRANDE, A.A. **Tópicos de morfologia e fisiologia da cana -de-açúcar.** Jaboticabal: FUNEP, 1991. 157p.

CESNIK, R.; MIOCQUE, J. **Melhoramento da cana-de-açúcar.** Brasília: EMBRAPA informação tecnológica, 2004. 307 p.

CHILTON, S.J.P.; PALIATSEAS; E.D.; PERDOMO, R. Production of true seed of sugarcane in Louisiana. In: **Proceedings** of Congress of the international society of sugarcane technologists, 12, Puerto Rico: I.S.S.C.T., 1965. p.785-789.

CONAB. COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **Acompanhamento da safra brasileira de cana-de-açúcar**, quarto levantamento. Brasília, 2014.

CORTE-BRILHO, F. F.; GIRARD, G. C. L.; CALHEIROS, G. G. **Treinamento de especialização sobre a cultura da cana-de-açúcar para agrônomos; Melhoramento**. IAA/PMGCA – Coordenadoria Regional Nordeste, Maceió – AL, 1981, 30p.

DAN, E. L.; MELLO, V.D.C.; WETZEL, C. T.; POPINIGIS, F.; ZONTA, E. P. Transferência de matéria seca como método de avaliação de vigor de sementes de soja. **Revista Brasileira de Sementes**, v.9, n.2, p. 45-55, 1987.

HEINZ, D. J.; TEW, T. L. Hybridization procedures. In: HEINZ, D. J. (ed.). **Sugarcane improvement through breeding**. Amsterdam: Elsevier, 1987. P. 313 – 342.

JALANDO-ON, R. R. e BARREDO, A. T. **Sugarcane Breeding and selection in victorias milling CO., Inc.** Philippine Sugar Commission Quarterley, Quenzon City, p. 3-11, 1982.

KRZYZANOWSKI, F. C.; FRANÇA NETO, J. B.; HENNING, A. A. Relato dos testes de vigor disponíveis para as grandes culturas. **Informativo ABRATES**, Londrina, v.1, n.2, p. 15-50, 1991.

MAGUIRE, J.D. Speed of germination: aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. **Crop Science**, v.2, n.2, p.176-177, 1962.

MALAVOLTA, E. et al. **Cultura e adubação da cana-de-açúcar**, São Paulo, Editora: Instituto Brasileiro de Potassa, 1 ed., p. 12 – 368, 1964.

MANGELSDORF, A. J. **Um programa de melhoramento da cana-de-açúcar para a agroindústria canavieira do Brasil**, 1966. 63p. (Relatório Mimeografado).

MANNERS, J. et al. Can genomics revolutionise genetics and breeding in sugarcane? In: New directions for a diverse planet: Proceedings of the 4th International Crop Science Congress. 2004.

MARCOS FILHO, J.; **Fisiologia de sementes de plantas cultivadas**. Piracicaba: FEALQ, 1 ed. 2005. 495p.

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

MATTIUZ, C.F.M. Fisiologia pós-colheita de inflorescências de *Alpinia purpurata* (Vieill) K. Schum. 2003. 124f. **Tese** (Doutorado em Produção Vegetal) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Campus de Jaboticabal, Jaboticabal, 2003.

MONTGOMERY, D.C. (2001) - Introduction to Statistical Quality Control, 4th edition, John Wiley and Sons.

MOORE, P. H.; NUSS, K. J. **Flowering and flower synchronization**. In: HEINZ, D. J. (ed.). Sugarcane improvement through breeding. Elsevier, Amsterdam, 1987. P. 273 – 311.

MOTA, C.C.; SILVA, D.L. **Setor Sucroenergético balanço e avaliação da safra 2009/2010**. In: XXVII SIMPÓSIO DA AGROINDÚSTRIA DA CANA-DE-AÇÚCAR DE ALAGOAS, 27 th, Maceió, 2010.

MOZAMBANI, A. E..**História e morfologia da cana-de-açúcar**. In: SEGATO, Silvelena Vanzolini. (orgs.). Atualização em produção de cana-de-açúcar. Piracicaba: CP 2, 2006.

NAKAGAWA, J. Testes de vigor baseados na avaliação de plântulas. In: KRZYZANOWSKI, F.C.; VIEIRA, R.D.; FRANÇA-NETO, J.B. (Ed.). **Vigor de sementes**: conceitos e testes. Londrina: ABRATES, 1999. p.2:1- 2:21.

NAKAGAWA, J. Testes de vigor baseados no crescimento de plântulas. In: VIEIRA, R.D.; CARVALHO, N.M. de. **Testes de vigor em sementes**. Jaboticabal: FUNEP, 1994. 164p.

NOWAK J & RUDNICKI RM (1990) Postharvest handling and storage of cut flowers, florist greens and potted plants. Timber Press, Portland. 210p.

OGA, S; CAMARGO, M. M. A; BATISTUZZO, J. A. O. (Eds). **Fundamentos de Toxicologia**. 3ª edição. São Paulo: Atheneu Editora, 2008 . 677 p.

PARANHOS, S. B. **Cana-de-açúcar (Cultivo e Utilização)**. Fundação Cargil, vol. 1, Campinas - SP, 1987. 431p.

PMGCA-CECA-UFAL-RIDESA. **Relatório Técnico Safra 2010/2014**. Rio Largo-AL, 2014. 105 p.

RAMALHO, M.A.P.; SANTOS, J. B.; PINTO, C.A.B.P. **Genética na agropecuária**. Lavras: UFLA, 472p. 2000.

REID, M.S.; DODGE, L.L. Flowers handlers: sanitation is crucial. **Perishables Handling Quarterly Issue**, v.92, p.06-07, 1997.

ROCHA, A.M.C et al. Trinta anos de “Serra do Ouro”: estação de floração e cruzamentos de variedades de cana-de-açúcar em Alagoas. In: CONGRESSO NACIONAL DA STAB, 7. 1999, Londrina. **Anais...**Londrina: STAB, 1999. p. 60-63.

ROCHA, A. M. C. et al. Quatro décadas de contribuição da Serra do Ouro para a agroindústria da cana-de-açúcar do Brasil. In: Congresso Nacional da STAB, 9., 2008, Maceió. **Anais...** Maceió: STAB, 2008.

SILVA, E. T., DE SOUZA, E. P., SANTOS, R. D. S., BARBOSA, M. S. A engenharia genética aplicada no melhoramento da cana-de-açúcar: uma nova alternativa para a

produção de biodiesel de segunda geração. **Revista da Universidade Vale do Rio Verde**, v. 9, n. 2, p. 3-23, 2011.

STEINER, J. J.; GRABE, D. F.; TULO, M. Single and multiple vigor tests for predicting seedling emergence of wheat. **Crop Science**, Madison, v.29, n.3, p. 782-786, 1989.

VAN MEETEREN, U. et al. Processes and xylem anatomical properties involved in rehydration dynamics of cut flowers. **Acta Horticulturae**, v.543, p.207-213, 2001.