



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



**CARLOS ASSIS DINIZ**

**POTENCIAL FISIOLÓGICO DE SEMENTES E PRODUÇÃO DE PLÂNTULAS DE  
CANA-DE-AÇÚCAR EM HIBRIDAÇÕES DA RB92579**

Rio Largo, AL

2016

**CARLOS ASSIS DINIZ**

**POTENCIAL FISIOLÓGICO DE SEMENTES E PRODUÇÃO DE PLÂNTULAS DE  
CANA-DE-AÇÚCAR EM HIBRIDAÇÕES DA RB92579**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-graduação em Agronomia (Mestrado em Produção Vegetal) da Universidade Federal de Alagoas, como requisito parcial para obtenção do grau de mestre em Agronomia.

Orientadora: Prof.<sup>a</sup> Dra. Vilma Marques  
Ferreira

Coorientador: Prof. Dr. Geraldo Veríssimo de  
Souza Barbosa

Rio Largo, AL

2016

**Catálogo na fonte**  
**Universidade Federal de Alagoas**  
**Biblioteca Central**  
**Divisão de Tratamento Técnico**

**Bibliotecária Responsável: Maria Helena Mendes Lessa**

D585p      Diniz, Carlos Assis.  
Potencial fisiológico de sementes e produção de plântulas de cana-de-açúcar em  
hibridações da RB92579 / Carlos Assis Diniz – Rio Largo, 2016.  
90 f. : il.

Orientadora: Vilma Marques Ferreira.  
Coorientador: Geraldo Veríssimo de Souza Barbosa.  
Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) – Universidade Federal de  
Alagoas. Centro de Ciências Agrárias. Programa de Pós-Graduação em Agronomia.  
Rio Largo, 2016.

Bibliografia: f. 82-90.

1. Cana-de-açúcar. 2. *Saccharum* spp. 3. Cariopses. 4. Cruzamento genético.  
I. Título.

CDU: 633.61:581.1

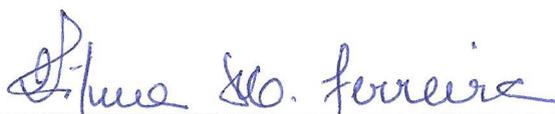
## TERMO DE APROVAÇÃO

**CARLOS ASSIS DINIZ**

(Matrícula 14130241)

### **POTENCIAL FISIOLÓGICO DE SEMENTES E PRODUÇÃO DE PLÂNTULAS DE CANA- DE-AÇÚCAR EM HIBRIDAÇÕES DA RB92579**

Dissertação apresentada e avaliada pela banca examinadora em vinte e nove de janeiro de 2016, como parte dos requisitos para obtenção de Mestre em Agronomia, área de concentração em Produção Vegetal do Programa de Pós-Graduação em Agronomia "Produção Vegetal" da Unidade Acadêmica Centro de Ciências Agrárias da UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS.



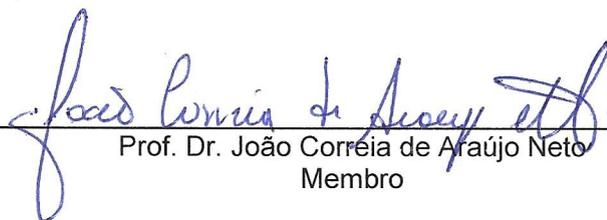
---

Prof.ª. Dr.ª. Vilma Marques Ferreira  
Presidente



---

Prof. Dr. Geraldo Veríssimo de Souza Barbosa  
Membro



---

Prof. Dr. João Corrêa de Araújo Neto  
Membro

RIO LARGO – AL  
Janeiro/2016

*Aos meus pais, Carlos Roberto dos Santos Diniz e Verônica Maria da Silva Diniz, que durante toda minha vida me deram educação, amor, conselhos e que nunca mediram esforços para a realização dos meus objetivos.*

**DEDICO**

*As minhas queridas avós (in memoriam): Josefa Júlia Diniz e Edite Olimpio da Silva, que partiram durante o período de realização do curso.*

*Aos meus saudosos avôs (in memoriam): José Euzébio Diniz e José de Assis da Silva, homens do campo que não tiveram a oportunidade que tive, mas que com certeza se sentiriam realizados com minha conquista.*

*A minha namorada, Thaysa Alves Tavares por todo amor, amizade, companheirismo, incentivo, e que apesar da distância, sempre compartilhou todas as minhas alegrias e tristezas durante o curso.*

*As minhas irmãs, Cinthia Verônica Assis Diniz e Carla Patrícia de Lima Diniz pelo apoio, carinho e admiração.*

*Aos meus familiares e amigos que me apoiaram, torceram e acreditaram que este objetivo seria alcançado.*

**OFEREÇO**

## **AGRADECIMENTOS**

A Deus por ter me dado a graça da vida, saúde, família e amigos, e por sempre me guiar para o caminho do bem;

Ao curso de Pós-Graduação em Agronomia (Produção Vegetal), da Universidade Federal da Alagoas, pela oportunidade de realização do Curso de Mestrado;

A minha orientadora professora Vilma Marques Ferreira, pela amizade, ensinamentos, conselhos, dedicação e orientação durante todo o mestrado;

Ao coordenador do PMGCA professor Geraldo Veríssimo de Souza Barbosa, pela amizade, confiança, conselhos, sugestões, ensinamentos, e por permitir que me ausentasse quando necessário durante a realização do mestrado;

Ao estimado professor Marcelo de Menezes Cruz pela amizade, ensinamentos, simplicidade, confiança, incentivo e pelas valiosas revisões;

Ao professor João Messias dos Santos, pela amizade, esclarecimentos, e fornecimento de material didático;

Aos professores Iêdo Teodoro, Vera Dubeux e Lailton Soares pelos ensinamentos e amizade;

Aos professores João Correia de Araújo Neto, José Vieira da Silva e demais professores da Pós-Graduação do CECA/UFAL que contribuíram com seus conhecimentos;

Ao PMGCA do CECA/UFAL, por fornecer as cariopses, equipamentos, materiais e mão-de-obra para a realização dessa pesquisa;

Aos amigos (as) do PMGCA: Antônio Jorge de Araújo Viveiros, Antônio José Rosário de Sousa, Antônio Maria Cardoso Rocha, Bruno Fernando C. do Nascimento, Carlos Alberto Guedes Ribeiro, Francisco Sampaio Filho, Adeilson Mascarenhas de Oliveira Silva, Antônio

Carlos Alves de Amorim, Edimundo Leobino da Silva, Edinaldo Martins da Silva, Gilmar Odilon da Silva, José Cícero Pereira, José Roberto Pedrosa Santiago, José Venício Correa da Silva, Eduardo Jorge G. de Almeida, Petrônio Walquírio de Barros e Eliene Lima dos Santos;

A toda equipe de apoio do PMGCA, pelo auxílio nas atividades complementares desta pesquisa;

A ex-estagiária do PMGCA Catarine Regea Cavalcante pela grande contribuição na execução do ensaio de laboratório;

Aos ex-estagiários do PMGCA: Iris França, Saniel Carlos, Wyllyany Santos e Thailys Magalhães, Cícero Franco, Emerson Ribeiro, Raphael Guedes, Derick Teodoro e Igor Damasceno pelo auxílio na execução dos ensaios;

A técnica do Laboratório de Fisiologia Vegetal, Isabella Cardoso P. da Silva pelo auxílio no manejo dos equipamentos de laboratório;

Aos graduandos e pós-graduandos do Laboratório de Propagação de Plantas, em especial a Ana Clezia Araújo de Lima pelo apoio na execução do ensaio de laboratório;

Aos colegas de mestrado: Pedro Luã, Heitor Duque, Daniele Oliveira, Gabriel Faustino, Luiz Eduardo e demais colegas pela agradável companhia durante o curso;

A CAPES pela concessão da bolsa de pesquisa;

Enfim, a todos aqueles que contribuíram direta ou indiretamente para a realização do curso.

## RESUMO

O objetivo deste trabalho foi avaliar o potencial fisiológico de sementes (*fuzz*, espiguetas, cariopses) e a produção de plântulas de cana-de-açúcar em hibridações da RB92579 como produtora de sementes e como fornecedora de pólen. Foram instalados dois ensaios (laboratório e estufa) no Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Alagoas. Os ensaios foram compostos por doze tratamentos e três repetições, totalizando 36 parcelas experimentais. Os tratamentos consistiram de seis genótipos (H64-1881, RB855551, RB92606, RB925211, RB981809 e VAT90-212) cruzados com a RB92579 em duas condições: 1) produtora de semente e 2) fornecedora de pólen. Os dados de todas as características fisiológicas avaliadas nos dois ensaios foram submetidos à análise de variância. O modelo linear estatístico utilizado foi o de classificação hierárquica. De acordo com a análise de variância revelada pelo teste F, encontraram-se resultados significativos ( $p < 0,01$ ) entre a condição da variedade RB92579 como produtora de semente e como fornecedora de pólen nas hibridações da cana-de-açúcar, em relação a todas as características fisiológicas avaliadas nesta pesquisa. A RB92579 como receptora de pólen apresenta sementes com baixo potencial fisiológico e baixa produção de plântulas, devendo ser utilizada apenas como fornecedora de pólen nas hibridações da cana-de-açúcar.

**Palavras-chave:** *Saccharum* spp. Cariopses. Cruzamento genético.

## ABSTRACT

The objective of this study was to evaluate the physiological potential of the seeds (fuzz, spikelets and caryopses) and the production of sugarcane seedlings in crossing of the RB92579 variety as seed producer and pollen provider. Two experiments were set up in the laboratory and greenhouse of the Agricultural Sciences Center of the Federal University of Alagoas. The experiments were composed of twelve treatments and three replications, totaling a number of 36 plots. The treatments consisted of six genotypes (H64-1881, RB855551, RB92606, RB925211, RB981809 and VAT90-212) crossed with the RB92579 variety in two conditions: 1) seed producer and 2) pollen provider. The data from all the evaluated physiological characteristics in the two experiments were submitted to a variance analysis. The statistical linear model used was one of hierarchical classification. According to the variance analysis revealed by the F test, significant results ( $p < 0.01$ ) were found between the condition of the RB92579 variety as a seed producer and as a pollen provider in the sugarcane crossings, in relation to all the physiological characteristics evaluated in this study. The RB92579 as a pollen receptor presents seeds with low physiological potential and low production of seedling, which should only be used as a pollen provider in sugarcane crossings.

**Keywords:** *Saccharum* spp. Caryopses. Genetic crossing.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Inflorescências da cana-de-açúcar .....	20
Figura 2 - a) Panículas de cana-de-açúcar, b) <i>fuzz</i> , c) espiguetas, e d) cariopses.....	21
Figura 3 - Detalhes da inflorescência de cana-de-açúcar, mostrando o gineceu com estigmasplumosos e arroxeados (a) e anteras com plena deiscência de pólen (b).....	22
Figura 4 - Tipos de cruzamentos da cana-de-açúcar: a) múltiplo parental, b) biparental, c) polinização livre e, d) autofecundação .....	31
Figura 5 - Caracterização sexual da cana-de-açúcar: análise do pólen em microscópio estereoscópico (a), para visualização de grãos de pólen viáveis ou férteis (corados) e não viáveis ou estéreis (não corados) em solução de lugol (b).....	36
Figura 6 - Estação de Floração e Cruzamento Serra do Ouro, Murici, Alagoas .....	46
Figura 7 - Procedimentos utilizados na Estação de Floração e Cruzamento Serra do Ouro: a) Cruzamentos do tipo biparental, b) Colmos imersos na solução nutritiva em baldes, c) Pareamento das panículas no interior das campânulas, d) Maturação das cariopses, e) Coleta das espiguetas com suas respectivas cariopses, e f) Sacos de papel do tipo Kraft contendo espiguetas e cariopses.....	48
Figura 8 - a) Prédio do Programa de Melhoramento Genético da Cana-de-açúcar (PMGCA), b) Sala de secagem de sementes de cana-de-açúcar do PMGCA/CECA/UFAL, c) Deslintamento manual das panículas contendo espiguetas e cariopses de cana-de-açúcar, e d) Sala de conservação de sementes de cana-de-açúcar do PMGCA/CECA/UFAL .....	49
Figura 9 - a) Laboratório de Propagação de plantas do CECA/UFAL, e b) Balança digital analítica.....	50
Figura 10 - Ilustração dos materiais para avaliação da germinação de sementes de cana-de-açúcar em condições de laboratório: a) Caixa “gerbox” com “papel germitest” contendo 100 espiguetas, b) Caixa “gerbox” com “papel germitest” contendo 25 cariopses nuas, c) Plântula normal de cana-de-açúcar com suas estruturas essenciais, e d) Germinador BOD.....	52
Figura 11- a) Galpão de semeadura e, b) Estufa de produção de plântulas do PMGCA/CECA/UFAL.....	54

Figura 12 - Ilustrações e procedimentos da produção de plântulas da cana-de-açúcar: a) caixas de plástico com substrato; b) semeadura das espiguetas ( <i>fuzz</i> ); c) molhação do substrato semeado; d) cobertura das caixas de plástico; e) tubete com plântula repicada; e, f) bandeja com tubetes contendo plântulas de cana-de-açúcar .....	54
Figura 13 - a) Estufa para desidratação de materiais vegetais, e b) Pesagem da parte aérea de plântula de cana-de-açúcar com auxílio de balança digital analítica .....	56
Figura 14 - a) Integrador de área foliar LI-COR®, modelo LI 3100, e b) Laboratório de Fisiologia Vegetal do CECA/UFAL.....	57
Figura 15 - Exemplo do número de espiguetas contidas no <i>fuzz</i> (0,5 g), com respectiva extração das cariopses em um cruzamento representativo da RB92579 na condição de produtora de semente (a) e como fornecedora de pólen (b) .....	63
Figura 16 - Gráficos de médias da germinação das espiguetas, em percentagem (a, b); e germinação das cariopses, em percentagem (c, d), oriundas de cruzamentos da RB92579 na condição de produtora de semente (a, c) e como fornecedora de pólen (b, d) .....	64
Figura 17 - Exemplo da germinação de espiguetas geradas em um cruzamento representativo da RB92579 na condição de produtora de semente (a) e como fornecedora de pólen (b). Amostras de 100 espiguetas .....	65
Figura 18 - Gráficos de médias do índice de velocidade de germinação (IVG) das espiguetas, em percentagem (a, b); e do IVG das cariopses, em percentagem (c, d), oriundas de cruzamentos da RB92579 na condição de produtora de semente (a, c) e como fornecedora de pólen (b, d).....	67
Figura 19 - Gráficos de médias da massa das cariopses produzidas em cruzamentos da RB92579 na condição de produtora de semente (a) e como fornecedora de pólen (b).....	69
Figura 20 - Número de plântulas emergidas por grama de <i>fuzz</i> , obtidas de sementes produzidas em cruzamentos da RB92579 na condição de produtora de semente (RB92579 x GENITOR) e como fornecedora de pólen (GENITOR x RB92579).....	73
Figura 21 - Gráficos de médias da massa seca da parte aérea, em mg (a, b); massa seca da raiz, em mg (c, d); e massa seca total, em mg (e, f), de plântulas produzidas a partir de cruzamentos da RB92579 na condição de produtora de semente (a, c, e) e como fornecedora de pólen (b, d, f).....	76

Figura 22 - Massa seca de raízes de plântulas de cana-de-açúcar, obtidas de sementes produzidas em cruzamentos da RB92579 na condição de produtora de semente (RB92579 x GENITOR) e como fornecedora de pólen (GENITOR x RB92579).....	77
Figura 23 - Gráficos de médias da área foliar (cm <sup>2</sup> ) de plântulas de cana-de-açúcar, oriundas de sementes produzidas em cruzamentos da RB92579 na condição de produtora de semente (a) e como fornecedora de pólen (b).....	78

## LISTA DE TABELAS

- Tabela 1 - Cruzamentos genéticos realizados com a RB92579. Nos cruzamentos de 1 a 6, a RB92579 atuou como produtora de semente (genitor feminino) e nos cruzamentos de 7 a 12 atuou como fornecedora de pólen (genitor masculino)..... 47
- Tabela 2 - Quadrados médios da análise de variância, coeficiente de variação e média geral das características fisiológicas: número de espiguetas por grama de *fuzz* (NE, em unidade), número de cariopses por grama de *fuzz* (NC, em unidade), espiguetas férteis (EF, em %), germinação das espiguetas (GE, em %), germinação das cariopses (GC, em %), índice de velocidade de germinação das espiguetas (IVGE), índice de velocidade de germinação das cariopses (IVGC) e massa da cariopse (MC, em mg), obtidas através cruzamentos da variedade RB92579 como produtora de semente (PS, ♀) e como fornecedora de pólen (FP, ♂)..... 59
- Tabela 3 - Médias da condição da RB92579 como produtora de semente (PS, ♀) e como fornecedora de pólen (FP, ♂), quociente FP/PS, diferença (FP – PS) e diferença (%) das características fisiológicas: número de espiguetas por grama de *fuzz* (NE, em unidade), número de cariopses por grama de *fuzz* (NC, em unidade), espiguetas férteis (EF, em %), germinação das espiguetas (GE, em %), germinação das cariopses (GC, em %), índice de velocidade de germinação das espiguetas (IVGE), índice de velocidade de germinação das cariopses IVGC, massa da cariopse (MC, em mg), oriundas de cruzamentos com a variedade RB92579..... 61
- Tabela 4 - Médias das características fisiológicas: número de espiguetas por grama de *fuzz* (NE, em unidade), número de cariopses por grama de *fuzz* (NC, em unidade) e espiguetas férteis (EF, em %) produzidas em cruzamentos da RB92579 na condição de produtora de semente (♀) e como fornecedora de pólen (♂)..... 62
- Tabela 5 - Quadrados médios da análise de variância, coeficiente de variação e média geral das características fisiológicas: número de plântulas emergidas por grama de *fuzz* (NPE, em unidade), número de plântulas viáveis por grama de *fuzz* (NPV, em unidade), índice percentual de viabilidade de plântulas (IVP), massa seca da parte aérea por plântula (MSPAP, em mg), massa seca da raiz

por plântula (MSRP, em mg), massa seca total por plântula (MSTP, em mg) e área foliar (AF, em cm<sup>2</sup>) de plântulas obtidas de cariopses oriundas de cruzamentos da variedade RB92579 como produtora de semente (PS, ♀) e como fornecedora de pólen (FP, ♂)..... 70

Tabela 6 - Médias da condição da RB92579 como produtora de semente (PS, ♀) e como fornecedora de pólen (FP, ♂), quociente FP/PS, diferença (FP – PS) e diferença (%) das características fisiológicas: número de plântulas emergidas por grama de *fuzz* (NPE, em unidade), número de plântulas viáveis por grama de *fuzz* (NPV, em unidade), índice percentual de viabilidade de plântulas (IVP, em %), massa seca da parte área por plântula (MSPAP, em mg), massa seca da raiz por plântulas (MSRP, em mg), massa seca total por plântulas (MSTP, em mg) e área foliar (AF, em cm<sup>2</sup>), obtidas através de cruzamentos com a variedade RB92579 ..... 72

Tabela 7 - Médias das características fisiológicas: número de plântulas emergidas por grama de *fuzz* (NPE, em unidade), número de plântulas viáveis por grama de *fuzz* (NPV, em unidade) e índice de viabilidade de plântulas (IVP, em %), oriundas de sementes produzidas em cruzamentos da RB92579 na condição de produtora de semente (♀) e como fornecedora de pólen (♂) ..... 74

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO.....</b>	<b>16</b>
<b>2</b>	<b>REVISÃO DE LITERATURA .....</b>	<b>18</b>
<b>2.1</b>	<b>A cana-de-açúcar .....</b>	<b>18</b>
2.1.1	Principais derivados .....	18
2.1.2	Taxonomia, centro de origem e domesticação da cana-de-açúcar.....	18
2.1.3	Características botânicas da cana-de-açúcar .....	19
2.1.3.1	Inflorescência .....	20
2.1.3.2	Flor .....	22
2.1.3.3	Fruto .....	23
<b>2.2</b>	<b>Formação da semente .....</b>	<b>23</b>
<b>2.3</b>	<b>Potencial fisiológico das sementes de cana-de-açúcar .....</b>	<b>24</b>
2.3.1	Germinação .....	24
2.3.2	Vigor .....	26
<b>2.4</b>	<b>Melhoramento genético da cana-de-açúcar .....</b>	<b>27</b>
<b>2.5</b>	<b>Hibridação da cana-de-açúcar .....</b>	<b>29</b>
2.5.1	Florescimento.....	29
2.5.2	Tipos de cruzamentos .....	31
2.5.3	Planejamento das hibridações e seleção de parentais .....	33
2.5.4	Procedimentos utilizados nas hibridações.....	34
2.5.4.1	O processo de hibridação .....	34
2.5.4.2	Solução nutritiva .....	34
2.5.4.3	Caracterização sexual.....	35
2.5.5	Influências de fatores citogenéticos nas hibridações .....	36
2.5.5.1	Mecanismos de incompatibilidade.....	36
2.5.5.2	Macho-esterilidade e fertilidade do pólen.....	37
<b>2.6</b>	<b>Genitores importantes para o melhoramento da cana-de-açúcar .....</b>	<b>37</b>
<b>2.7</b>	<b>Herança materna em plantas .....</b>	<b>42</b>
2.7.1	Herança extracromossômica .....	43
2.7.2	Efeito materno.....	43
<b>2.8</b>	<b>Uso de sementes de cruzamentos recíprocos em cana-de-açúcar .....</b>	<b>45</b>
<b>3</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>46</b>
<b>3.1</b>	<b>Realização dos cruzamentos e obtenção das sementes de cana-de-açúcar .....</b>	<b>46</b>
<b>3.2</b>	<b>Beneficiamento e armazenamento das sementes de cana-de-açúcar.....</b>	<b>48</b>

<b>3.3</b>	<b>Instalação dos ensaios .....</b>	<b>49</b>
3.3.1	Ensaio 1: Potencial fisiológico das sementes de cana-de-açúcar obtidas em hibridações com a variedade RB92579.....	50
3.3.1.1	Características fisiológicas avaliadas.....	51
3.3.1.1.1	Características relacionadas à fertilidade dos cruzamentos .....	51
3.3.1.1.2	Características relacionadas à germinação.....	51
3.3.1.1.3	Características relacionadas ao vigor.....	52
3.3.2	Ensaio 2: Produção de plântulas de cana-de-açúcar obtidas em hibridações com a variedade RB92579 .....	53
3.3.2.1	Semeadura das espiguetas ( <i>fuzz</i> ) e repicagem das plântulas.....	53
3.3.2.2	Características fisiológicas avaliadas.....	55
3.3.2.2.1	Obtenção de plântulas .....	55
3.3.2.2.2	Massa seca .....	56
3.3.2.2.3	Área foliar .....	57
<b>3.4</b>	<b>Delineamento experimental e análises estatísticas .....</b>	<b>57</b>
<b>4</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>59</b>
<b>4.1</b>	<b>Ensaio 1: Potencial fisiológico das sementes de cana-de-açúcar obtidas em hibridações com a variedade RB92579 .....</b>	<b>59</b>
4.1.1	Análise de variância.....	59
4.1.2	RB92579 produtora de sementes vs. RB92579 fornecedora de pólen.....	60
4.1.3	Fertilidade dos cruzamentos .....	61
4.1.4	Germinação .....	64
4.1.5	Vigor .....	67
<b>4.2</b>	<b>Ensaio 2: Produção de plântulas de cana-de-açúcar obtidas em hibridações com a variedade RB92579 .....</b>	<b>70</b>
4.2.1	Análise de variância.....	70
4.2.2	RB92579 produtora de sementes (♀) vs. RB92579 fornecedora de pólen (♂).....	71
4.2.3	Obtenção de plântulas .....	72
4.2.4	Massa seca .....	75
4.2.5	Área foliar .....	77
<b>4.3</b>	<b>Considerações sobre possíveis interferências nas hibridações da RB92579 como produtora de sementes.....</b>	<b>78</b>
<b>5</b>	<b>CONCLUSÕES .....</b>	<b>81</b>
	<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>82</b>

## 1 INTRODUÇÃO

A cana-de-açúcar (*Saccharum* spp.) é uma planta alógama, perene, originária do sudeste da Ásia, pertencente à família Poaceae, tribo Andropogoneae e gênero *Saccharum* (DANIELS; ROACH, 1987). Seu cultivo se estende por todas as regiões tropicais e subtropicais do mundo. É uma cultura importante por ser fonte de diversos produtos, como: açúcar, etanol, eletricidade (cogerada a partir do bagaço da cana), bebidas e polímeros da indústria alcoolquímica, possibilitando o desenvolvimento socioeconômico de diversos países. No cenário mundial, o Brasil destaca-se como o maior produtor, com os seguintes indicadores na safra 2014/2015: 9,01 milhões de hectares colhidos; moagem de 634,80 milhões de toneladas de cana; 35,56 milhões de toneladas de açúcar; e 28,66 bilhões de litros de etanol (COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO, 2015).

As variedades de cana-de-açúcar têm fundamental importância para o setor sucroenergético, tratando-se da tecnologia que mais contribui na elevação da produtividade agrícola, com menor custo, o que viabiliza economicamente essa agroindústria (BARBOSA et al., 2008). Dentre as grandes variedades do Brasil, destaca-se a RB92579, que foi liberada em 2003 pelo Programa de Melhoramento Genético da Cana-de-açúcar (PMGCA) do Centro de Ciências Agrárias (CECA) da Universidade Federal de Alagoas (UFAL) (BARBOSA et al., 2003). Esta variedade vem apresentando aumentos expressivos na área de cultivo de cana no país, devido as suas vantajosas produtividades agroindustriais e grande adaptabilidade aos diferentes ambientes. Na região nordeste, a RB92579 foi a variedade mais cultivada, com cerca de 37,0% da área colhida de cana na safra 2014/2015 (DAROS et al., 2015). Outro aspecto, é que esta cultivar está sendo muito utilizada em hibridações nos programas de melhoramento genético, principalmente no PMGCA/CECA/UFAL, visto que suas excelentes características agroindustriais podem ser herdadas por seus descendentes.

A estratégia de selecionar os parentais com base no desempenho da variedade em cultivos comerciais é essencial para o sucesso de um programa de melhoramento (CESNIK; MIOCQUE, 2004; MATSUOKA et al., 2009, MING et al., 2006). Neste sentido, devido a sua grande importância tanto para o setor produtivo quanto para o melhoramento, a produção de sementes através da realização de hibridações que envolvam a RB92579 é considerada uma boa estratégia para o desenvolvimento de novas variedades de cana-de-açúcar, com elevadas características produtivas.

Em todo programa de melhoramento genético, a escolha dos parentais para a hibridação é um procedimento importante, principalmente para obtenção de sementes com

alto potencial fisiológico. Durante este processo, deve-se considerar que a seleção dos parentais para a transmissão de caracteres qualitativos é relativamente simples comparado à transmissão de caracteres quantitativos, uma vez que estas características podem envolver incompatibilidades governadas por efeito materno e esterilidade masculina (NATARAJAN et al., 1967).

A produção de sementes de alto potencial fisiológico por meio de hibridações é a base de um bom programa de melhoramento genético, visto que é a partir delas que serão originadas as plântulas, as quais poderão originar novas variedades comerciais (CHILTON et al., 1965). Portanto, pesquisas que enfoquem a produção e qualidade fisiológica de sementes de cana-de-açúcar, utilizando corretamente genitores com alto desempenho em cultivos comerciais são de grande interesse em programas de melhoramento genético da cana.

Nas hibridações da cana-de-açúcar, a utilização inadequada da variedade em relação a sua atuação como receptora de pólen (genitor feminino) ou fornecedora de pólen (genitor masculino) pode ocasionar interferências de ordem fisiológica e genética, prejudicando a formação e produção de sementes, e conseqüentemente das plântulas. Com isto, torna-se necessário verificar a hipótese de que não existe diferença entre a condição da variedade RB92579 como produtora de sementes e como fornecedora de pólen nas hibridações da cana-de-açúcar. Logo, o objetivo deste trabalho foi avaliar o potencial fisiológico de sementes (*fuzz*, espiguetas e cariopses) e a produção de plântulas de cana-de-açúcar em hibridações da RB92579 como receptora e fornecedora de pólen, por meio de dois ensaios realizados em condições de laboratório e estufa.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 A cana-de-açúcar

#### 2.1.1 Principais derivados

A cana-de-açúcar tem grande importância para o Brasil, que é o maior produtor mundial dessa cultura, e dos produtos açúcar, etanol de cana e eletricidade (cogerada a partir do bagaço da cana). O país é também o maior exportador de açúcar e etanol de cana. Na safra 2014/2015, o Brasil teve os seguintes indicadores: 9,01 milhões de hectares colhidos; moagem de 634,80 milhões de toneladas de cana; 35,56 milhões de toneladas de açúcar; e 28,66 bilhões de litros de etanol (COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO, 2015).

Por meio de produtos derivados, como o etanol e a eletricidade, a cana-de-açúcar representa atualmente a segunda mais importante fonte primária e a principal forma de energia renovável na matriz energética brasileira. De acordo com a Empresa de Pesquisa Energética, do Ministério de Minas e Energia, no ano de 2014 a biomassa participou com aproximadamente 24,0%, merecendo destaque os produtos derivados da cultura da cana-de-açúcar (EMPRESA DE PESQUISA ENERGÉTICA / MINISTÉRIO DE MINAS E ENERGIA, 2015).

Além dos produtos açúcar, etanol e eletricidade, a cana é matéria-prima para uma diversidade de produtos, tais como: melaço, aguardente, bagaço, levedura, torta de filtro, vinhaça, composto fertilizante, gás carbônico, ácido cítrico, lisina, briquetes, aglomerados MDF, etc (CARVALHO, 2003; BANCO NACIONAL DE DESENVOLVIMENTO ECONÔMICO E SOCIAL / CENTRO DE GESTÃO E ESTUDOS ESTRATÉGICOS, 2008).

#### 2.1.2 Taxonomia, centro de origem e domesticação da cana-de-açúcar

A cana-de-açúcar (*Saccharum* spp.) é uma planta alógama originária do sudeste da Ásia, pertencente à família Poaceae, tribo Andropogoneae e gênero *Saccharum*. Segundo Daniels e Roach (1987), neste gênero ocorrem seis espécies: *S. officinarum* Linnaeus (2n = 80), *S. robustum* Brandes e Jeswiet ex Grassl (2n = 60-205), *S. barberi* Jeswiet (2n = 81-124), *S. sinense* Roxb. (2n = 111-120), *S. spontaneum* Linnaeus (2n = 40-128), e *S. edule* Hassk. (2n = 60-80). As cultivares modernas de cana-de-açúcar são essencialmente gerações

avançadas de híbridos interespecíficos poliplóides entre *S. officinarum* e *S. spontaneum*, que possuem mais de 100 cromossomos ( $2n=100-130$ ), dos quais 80% são derivados de *S. officinarum*, 10-15% de *S. spontaneum* e o restante 5-10% são cromossomos recombinantes entre as duas espécies ancestrais, tornando-se uma cultura com genoma muito complexo (D'HONT et al., 1996).

A origem sugerida para *S. officinarum* oriunda de acessos de *S. robustum*, selecionados para colmos mais grossos, com maior teor de sacarose e baixo teor de fibra, após domesticação em Nova Guiné é aceita por grande parte dos melhoristas de cana-de-açúcar (DANIELS; ROACH, 1987). Partindo da Nova Guiné, os acessos de *S. officinarum* se espalharam pela Indonésia, China, Índia, Micronésia e Polinésia. Os melhoristas holandeses em Java chamaram os acessos de *S. officinarum* de “canas nobres”, e “nobilização” o processo de retrocruzamento entre os híbridos de *S. spontaneum* com *S. officinarum* (BERDING et al., 2004; EDMÉ et al., 2005; MING et al., 2006).

A espécie *S. spontaneum* é provavelmente a espécie mais primitiva de cana-de-açúcar, tendo a Índia como centro de origem e diversidade, com ampla distribuição para as regiões tropicais e subtropicais. Esta espécie se caracteriza por ter colmos finos, baixo teor de sacarose e elevado teor de fibra, seu uso em programas de melhoramento visa aumentar a resistência a pragas, doenças e estresses abióticos, e no desenvolvimento de cana energia (MING et al., 2006).

Os ancestrais de *S. sinense* cultivados na China e na Índia foram utilizados para a produção de melão e açúcar, enquanto no norte da Índia eram cultivados *S. barberi*, com colmos mais finos e duros. Essas duas espécies cultivadas surgiram provavelmente através dos cruzamentos entre híbridos naturais de *S. officinarum* e *S. spontaneum*. A variedade Crioula, híbrido natural entre *S. officinarum* e *S. barberi*, procedente da Índia, foi cultivada em colônias da França, da Espanha e de Portugal. Possivelmente foi a primeira variedade introduzida no Brasil, proveniente da Ilha da Madeira (LANDELL; BRESSIANI, 2008).

### 2.1.3 Características botânicas da cana-de-açúcar

A cana-de-açúcar é uma planta perene de reprodução sexuada, preferencialmente por alogamia, no entanto, em cultivo comercial é multiplicada através de porções do colmo, denominados rebolo ou tolete (SEGATO et al., 2006). Por possuir metabolismo C4, apresenta alta capacidade fotossintética, elevado desenvolvimento e crescimento em regiões com elevadas temperaturas (MACHADO et al., 1982; LARCHER, 2000; TAIZ; ZEIGER, 2004).

A cana-de-açúcar se desenvolve em forma de touceira. A parte aérea é constituída por colmos, folhas, inflorescências e frutos (cariopses); a parte subterrânea é formada por raízes fasciculadas e rizomas, que são responsáveis pela formação dos perfilhos na touceira. Os colmos são constituídos por nós e entrenós, e possui a função de sustentar as folhas e as panículas. Seu porte pode ser ereto, semi-ereto ou decumbente, dependendo da idade da planta e da variedade. Em cada nó há uma gema que é disposta alternadamente em torno do colmo. As folhas são alternadas, opostas e presas aos nós dos colmos. A parte superior da folha é conhecida como lâmina, e a parte inferior que envolve o colmo é chamada de bainha (CASAGRANDE, 1991; CESNIK; MIOCQUE, 2004).

Os colmos da cana-de-açúcar são compostos pelo caldo (sólidos solúveis totais + água) e os sólidos insolúveis em água (Fibra). Sua composição é muito variável devido a vários fatores, tais como: variedade, idade cronológica e fisiológica da cultura, sanidade das plantas, estágio de corte, época de amostragem, condições ambientais durante o desenvolvimento e maturação, tipo de solo, adubação, etc. Basicamente, os sólidos solúveis totais são constituídos por três açúcares: sacarose, glicose e frutose (FERNANDES, 2003).

#### 2.1.3.1 Inflorescência

A inflorescência típica da cana-de-açúcar é uma panícula aberta, bem ramificada, com formato conoidal, e que vulgarmente é denominada de flor, bandeira ou flecha (Figura 1 e Figura 2a). As flores muito pequenas formam espiguetas florais (Figura 2c) agrupadas em panículas e rodeadas por longas fibras sedosas congregando-se em enormes pendões terminais de coloração cinza-prateada (MATSUOKA et al., 2009).

**Figura 1 - Inflorescências da cana-de-açúcar.**

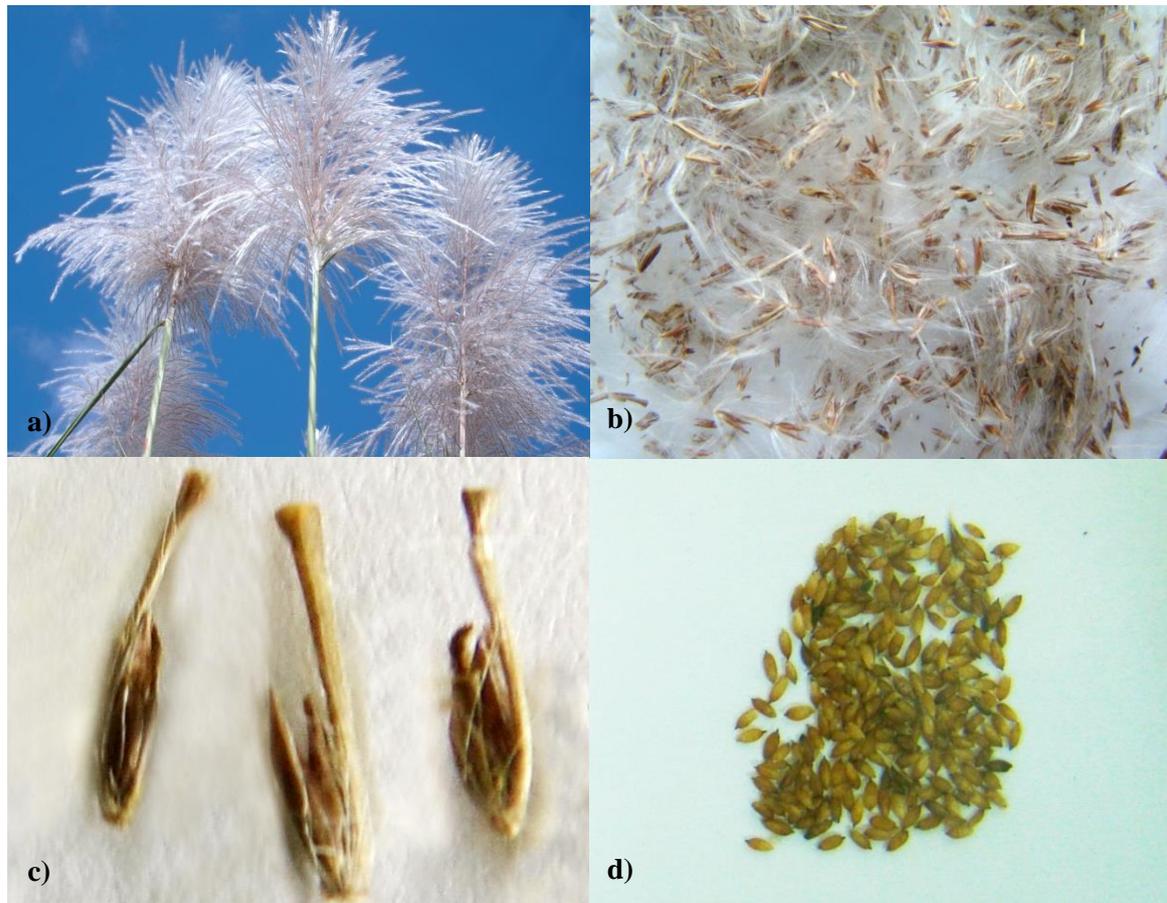


Fonte: Autor (2016).

É formada por um eixo principal, a raque, a partir da qual originará ramificações secundárias e terciárias, onde se encontram pares de espiguetas (Figura 2c), sendo uma sésil (sem pedicelo) e outra pedicelada. As panículas contêm milhares de espiguetas (Figura 2a). Em cada espiguetas encontra-se uma flor que produzirá um fruto, do tipo cariopse (Figura 2d). A mistura composta de espiguetas, glumas, anteras e estigmas velhos e partes da ráquis, é chamada de “fuzz” (Figura 2b). Esta mistura heterogênea de partes da flor é tratada pelos melhoristas como a "semente verdadeira" da cana (BREAUX; MILLER, 1987; MOZANBANI et al., 2006). No entanto, o termo botânico correto é diásporo, que é quando a semente está intimamente ligada ao fruto, com quaisquer estruturas adicionais que ajudem na dispersão (AQUILA, 2004).

Embora a emissão de uma inflorescência seja uma característica desejável para o melhoramento genético, trata-se de uma característica indesejável para o setor produtivo, uma vez que provoca perdas de sacarose nos colmos (BACCHI, 1983).

**Figura 2 - a) Panículas de cana-de-açúcar, b) fuzz, c) espiguetas, e d) cariopses.**



Fonte: Autor (2016).

### 2.1.3.2 Flor

A flor da cana-de-açúcar é hermafrodita, ou seja, apresenta os dois sexos, podendo frequentemente ser imperfeita. Tanto o genótipo quanto o ambiente podem afetar o percentual de flores que tenham completado o desenvolvimento do ovário e dos grãos de pólen. Apesar de ambos os sexos poderem ser abortivos, a ocorrência dessa característica negativa é mais frequente no órgão masculino (MOORE, 1987a).

O órgão feminino (gineceu) é constituído por um ovário com um único óvulo ligado à sua parede por uma placenta larga. Na extremidade superior do ovário encontram-se dois pistilos e dois estigmas plumosos de coloração vermelho-arroxeadada, que dão o aspecto plumoso característico à panícula (Figura 3a). O órgão masculino (androceu) é constituído por três estames que sustentam uma antera cada um (Figura 3b). Os grãos de pólen estão armazenados nas anteras, que podem ter coloração amarelada ou arroxeadada, dependendo da variedade (MOORE, 1987a; MOZAMBANI et al., 2006).

**Figura 3 - Detalhes da inflorescência de cana-de-açúcar, mostrando o gineceu com estigmas plumosos e arroxeados (a) e anteras com plena deiscência de pólen (b).**



Fonte: AMARAL et al. (2012).

As flores estão protegidas por duas brácteas (a gluma interna e externa). No interior da gluma externa está a terceira gluma, a qual envolve a glumela fértil, e na gluma interna há duas lodículas, ou glumélulas, as quais proporcionam a abertura da flor (CESNIK; MIOCQUE, 2004).

### 2.1.3.3 Fruto

O fruto da cana-de-açúcar é do tipo cariopse, apresentando forma elíptica alongada e cor marrom-amarelada quando maduras (Figura 2d). Apresenta ainda, uma depressão na região do embrião (BACCHI, 1983). Seu tamanho é muito pequeno, com dimensões de aproximadamente 1,5 x 0,5 mm. A alteração do tamanho das cariopses é relativamente devido à variação do teor de nutrientes do endosperma; o tamanho do embrião normalmente não varia. O embrião é composto por um mesocótilo, um coleóptilo apical em torno das folhas apicais e embrionárias, e uma coleorriza basal ao redor da radícula, todos envolvidos pelo escutelo (MOORE, 1987a).

## 2.2 Formação da semente

O processo de formação de sementes inicia-se com a polinização, que pode ser definida como a transferência dos grãos de pólen da antera para o estigma. Nas angiospermas, o grão de pólen geralmente contém uma célula vegetativa e outra reprodutiva. A divisão da célula reprodutiva ocorre no citoplasma do tubo polínico, originando dois núcleos reprodutivos (RAVEN et al., 2007). O tubo polínico cresce em direção ao ovário e penetra no óvulo. A fecundação inicia-se pela ruptura do tubo polínico, assim que alcança o saco embrionário, onde são depositados seus dois núcleos reprodutivos. Em seguida, ocorre a união de um dos gametas masculinos ao núcleo da oosfera, para formar o zigoto (2n), num processo chamado de singamia; o outro núcleo reprodutivo se une aos dois núcleos polares do saco embrionário (fusão tripla), para formar o núcleo do endosperma (3n), caracterizando a dupla fertilização típica das angiospermas. O núcleo do endosperma, após várias divisões celulares e outras transformações, dá origem ao endosperma; o zigoto dá origem ao embrião (MARCOS FILHO, 2005). No embrião das gramíneas podem-se evidenciar, ainda, as seguintes estruturas: a coleorriza, que é a bainha do tecido que envolve a base da radícula; o coleóptilo, que é uma bainha fechada, cujo interior se encontra a plúmula; e o escutelo, que é a parte distal do cotilédone, estruturalmente modificada como órgão absorvente do material nutritivo do endosperma e que apresenta a forma aproximada de um escudo. Com o desenvolvimento do ovário, observa-se o crescimento dos frutos. Alguns são funcionalmente tratados como sementes (KOZLOWSKI; GUNN, 1972), a exemplo do aquênio, em girassol e da cariopse, em gramíneas, como a cana-de-açúcar.

## 2.3 Potencial fisiológico das sementes de cana-de-açúcar

Dentre os atributos que caracterizam a qualidade da semente, o potencial fisiológico é aquele que reflete a capacidade de desempenho das funções vitais da semente, caracterizada pela germinação e vigor (MARCOS FILHO, 2015).

### 2.3.1 Germinação

A germinação das sementes ortodoxas compreende uma sequência ordenada de eventos metabólicos, que permite o reinício do desenvolvimento do embrião, resultando na ruptura da cobertura da semente e na emergência da plântula (MARCOS FILHO, 2015). Os processos fisiológicos da semente são programados geneticamente e codificados durante o processo de sua formação. O desempenho da semente, inclusive a germinação, varia entre espécies e cultivares, embora haja influência decisiva do ambiente (MARCOS FILHO, 2005).

Em cana-de-açúcar, para ter sucesso na germinação das cariopses e estabelecimento das plântulas, é essencial dispor de condições ideais, tais como: a) um substrato bem drenado e com equilíbrio de nutrientes; b) fornecimento de água, c) temperatura; e d) controle das doenças (BREAUX; MILLER, 1987; SILVA et al., 2010). Nas cariopses de cana-de-açúcar, os primeiros sinais de germinação, como mudança de cor no epicarpo, podem ser percebidos em 24 horas; após 48 horas, as raízes primárias rompem o epicarpo e no terceiro dia surge o coleóptilo, no sétimo os primórdios foliares iniciam o crescimento e aos 10 dias a segunda folha emerge (VAN DILLEWINJ, 1952; LUCCHESI, 2001; CESNIK; MIOCQUE, 2004). Diversos fatores influenciam a germinação das sementes, tais como: temperatura, água, oxigênio, luz, genótipo, etc.

O processo de germinação das sementes engloba diversas etapas e cada uma exige determinada temperatura para que se processe de maneira mais rápida e eficiente. Marcos Filho (2005) comenta que na ausência de outros fatores limitantes, a germinação ocorre sob limites relativamente amplos de temperatura, cujos extremos dependem principalmente da espécie e suas características genéticas, das condições do ambiente durante a produção, e do manejo durante e após a colheita. O controle da temperatura é muito importante para o sucesso da germinação de cariopses de cana-de-açúcar, as quais podem germinar sob uma ampla faixa de temperaturas (entre 18 e 42 °C), com a ideal situada entre 27 e 36 °C (PIERRE et al., 2014). Por outro lado, Cesnik e MIOCQUE (2004) consideram que a temperatura ideal está situada entre 25 e 32 °C, e a crítica ao redor dos 18,5 °C. Abaixo desta temperatura a

germinação é inibida. Além dessas duas faixas de temperaturas ideais apresentadas, vários autores recomendam diversas temperaturas consideradas como ótimas para a germinação das cariopses de cana-de-açúcar. Cuenya et al. (1998) observaram que a melhor faixa de temperatura para a germinação de cariopses de cana-de-açúcar ocorreu entre 35 e 38 °C. Heinz (1975) corrobora com esse resultado, e menciona que a maior percentual de germinação das cariopses e o maior vigor de plântulas foram obtidos a 38 °C. Silva (1977) recomendou como condições ótimas para o teste de germinação de cariopses de cana-de-açúcar, a temperatura de 30 °C. Resultados semelhantes foram obtidos por Caieiro et al. (2010), os quais verificaram que a temperatura constante de 30 °C proporcionou condições favoráveis para a germinação, no entanto, esses autores concluíram que a alternância de temperatura (20-30 °C) proporcionou o melhor desempenho na germinação das cariopses.

A absorção de água é imprescindível para a retomada das atividades metabólicas da semente após a maturidade, desempenhando papel importantíssimo no processo de germinação das sementes. As sementes respondem de modos diferentes à quantidade de água contida no substrato, podendo o excesso de água tanto promover quanto inibir a germinação (CARVALHO; NAKAGAWA, 2000). A velocidade e a intensidade de absorção de água variam com a espécie, com o número de poros distribuídos sobre a superfície do tegumento, disponibilidade de água, temperatura, pressão hidrostática, área de contato semente/água, forças intermoleculares, composição química e qualidade fisiológica da semente (INSTITUTO DE PESQUISAS E ESTUDOS FLORESTAIS, 1998; MARCOS FILHO, 2005).

O oxigênio é considerado como o combustível essencial para a oxidação dos materiais de reserva e o consequente suprimento de energia para o desenvolvimento do eixo embrionário. Embora essencial, a maioria das espécies não exige concentrações elevadas de oxigênio para germinar, no entanto níveis inferiores a 10% podem ocasionar diversos problemas, dependendo da fase de germinação (MARCOS FILHO, 2005). Excesso de umidade, geralmente, ocasiona decréscimo na germinação, visto que impede a penetração do oxigênio e reduz todo o processo metabólico da semente (INSTITUTO DE PESQUISAS E ESTUDOS FLORESTAIS, 1998).

A luz não é considerada como um fator essencial para que o processo germinativo ocorra em sementes não-dormentes. No entanto, sua presença pode contribuir para atenuar problemas ocasionados pelo baixo potencial de água do solo e os efeitos de temperaturas superiores à ótima (MARCOS FILHO, 2005). Para a cultura da cana-de-açúcar, estudos

recentes foram desenvolvidos para avaliar o efeito da luz na germinação das cariopses, onde foi constatado que de modo geral, a luz não influenciou a germinação (PIERRE et al., 2014).

### 2.3.2 Vigor

O vigor de sementes apresenta conceitos descrevendo diversas características, as quais estão todas associadas com vários aspectos do comportamento da semente durante a germinação e desenvolvimento da plântula (PÁDUA, 1998; MARCOS FILHO, 2001). Na verdade, o vigor de sementes é uma interação de características, tais como a velocidade de germinação, o crescimento das plântulas, capacidade de germinação acima ou abaixo de temperaturas ótimas, e outros aspectos de tolerância ao estresse. Esta situação dificulta o estabelecimento de uma definição precisa, uma vez que muitos fatores estão envolvidos na composição e manifestação do vigor de sementes; e talvez seja mais fácil entender os principais efeitos vigor do que defini-lo (MARCOS FILHO, 2015). Sementes vigorosas influenciam o desempenho inicial das plântulas, por isso são necessárias sementes com maior potencial fisiológico fazendo com que ocorra uma germinação rápida e uniforme (MARCOS FILHO, 2005). Os fatores que causam variação no vigor podem ser diversos, sendo que os mais conhecidos são: constituição genética, condições ambientais, nível de nutrição da planta mãe, estágio de maturação no momento da colheita, tamanho da semente, peso, integridade mecânica, idade, deterioração e presença de patógenos (DIAS; BARROS, 1992; MARCOS FILHO, 2005).

Conforme Dan et al. (1987), sementes com alto vigor originam plântulas com maior acúmulo de massa seca e área foliar, pois apresentam maior desempenho no processo de transformação das reservas nutritivas dos tecidos de armazenamento, além de maior incorporação dessas reservas pelo eixo embrionário. De acordo com Carvalho e Nakagawa (2000), a maioria das pesquisas tem comprovado que as sementes grandes, por possuírem maior quantidade de substância de reserva, apresentam germinação superior à das pequenas, além de elevada emergência em maiores profundidades e as plantas delas provenientes são mais pesadas e mais vigorosas. Existem diversos métodos para avaliar o vigor das sementes, no entanto, uma forma muito utilizada e eficiente é a avaliação por meio dos testes de velocidade de germinação (MAGUIRE, 1962). Para produzir sementes vigorosas, é essencial o papel do melhoramento genético, visto que a obtenção de sementes por meio de hibridações gera a variabilidade necessária para o desenvolvimento de novas variedades (CHILTON et al., 1965; SILVA et al., 2010).

## 2.4 Melhoramento genético da cana-de-açúcar

O melhoramento genético da cana-de-açúcar tem possibilitado constantes incrementos de rentabilidade e lucratividade, gerando riquezas e aumento de divisas ao país (BARBOSA et al., 2008). Programas de melhoramento relatam ganhos de rendimento em açúcar entre 1 e 2% ao ano (HEINZ, 1987; BERDING et al., 2004). Estima-se que metade desses ganhos deve-se ao melhoramento genético (HOGARTH, 1976). De acordo com Barbosa et al. (2008), a cultivar melhorada é ponto crucial no sistema produtivo, pois quando manejada adequadamente, possibilita rendimento agroindustrial de, no mínimo, 30% maior em relação às cultivares plantadas anteriormente.

As hibridações com cana-de-açúcar se iniciaram em Java com os cruzamentos realizados por Soltwedel, e em Barbados por Bovell e Harrison, surgindo os primeiros híbridos durante o período de 1887-1888 (ETHIRAJAN, 1987; LANDELL; BRESSIANI, 2008). De acordo com Ming et al. (2006), as hibridações da cana-de-açúcar podem ser historicamente, divididas em cinco períodos: i) primeiro período - cruzamentos entre canas nobres (*S. officinarum*), em que foram produzidas novas cultivares nobres, conservando as principais características das *S. officinarum*; ii) segundo período - nobilitação da cana-de-açúcar a partir de cruzamentos entre *S. officinarum* e *S. spontaneum*, nos quais todos os cromossomos do genitor materno foram transmitidos aos descendentes, que aconteceu logo no F1 ou no retrocruzamento com *S. officinarum*; iii) terceiro período: cruzamentos entre as cultivares nobilizadas para produzir as cultivares híbridas; iv) quarto período: cruzamentos entre os híbridos para a produção dos híbridos atuais; e v) quinto período: cruzamentos para aumentar a base genética.

O processo de nobilitação constituiu na hibridação entre canas da *S. officinarum* e *S. spontaneum*, seguida do respectivo retrocruzamento com a *S. officinarum*. O parental selvagem é nobilitado por meio do melhoramento, e as progênies híbridas selecionadas são as cultivares nobilizadas (BREMER, 1932). O evento mais marcante da nobilitação ocorreu em 1921, com a obtenção da POJ2878, obtida pela Proefstation Oost Java (JESWIET, 1929).

Existem mais de 25 programas de melhoramento genético da cana-de-açúcar no mundo, que são responsáveis pelo desenvolvimento das modernas cultivares (híbridos atuais) - principais tecnologias causadoras da elevação dos rendimentos agroindustriais da cana-de-açúcar (LANDELL e BRESSIANI, 2008; MING et al., 2006). Dentre esses programas, merecem destaque: East Java Sugar Research Institute – variedades “POJ” (Proefstation Oost Java/Indonésia); Sugarcane Breeding Institute (SBI) – variedades “Co” (Coimbatre/Índia);

Sugarcane Field Station – variedades “CP” (Canal Point, Flórida/EUA); Bureau of Sugar Experiment Stations (BSES) – variedades “Q” (Queensland/Austrália); Centro de Tecnologia Canavieira (CTC) – variedades “CTC” (Brasil); Rede Interuniversitária para o desenvolvimento do setor sucroenergético (RIDESA) – variedades “RB” (República do Brasil). Para o desenvolvimento de um programa de melhoramento da cultura, são condições necessárias: i) dispor de um Banco de Germoplasma com grande diversidade genética, entre acessos das espécies do gênero *Saccharum*, de espécies correlatas e de híbridos de diversas origens do mundo; ii) geração de variabilidade genética através de hibridação; e iii) seleção de indivíduos superiores (MING et al., 2006; BARBOSA, 2014).

No Brasil, antes do século XX, predominou o cultivo das variedades: Crioula, Caiana, Roxa e Rosa. No início do século XX foram introduzidos os primeiros híbridos de Java (POJ213, POJ2727 e POJ2878) e da Índia (Co290, Co331, Co419 e Co421). Juntamente com o advento de introduções desses híbridos, ocorreu o aparecimento de doenças, provocando grande queda da produção, visto que as variedades cultivadas na época eram suscetíveis. Diante do ocorrido, houve a necessidade de desenvolver variedades no próprio país, iniciando de fato, na década de 1930, o desenvolvimento das variedades IAC (Instituto Agrônomo de Campinas) em São Paulo e as variedades da sigla CB (Campos Brasil) desenvolvidas na Estação Experimental de Cana-de-açúcar de Campos dos Goitacazes - Rio de Janeiro, do Ministério da Agricultura. Esses dois programas muito contribuíram para o setor sucroalcooleiro nacional, pois durante as décadas de 1950 a 1970, as cultivares em plantio eram basicamente das siglas IAC (IAC48-65, IAC51-205, IAC52-150) e CB (CB41-76 e CB45-3) (ANDRADE, 1985; CESNIK; MIOCQUE, 2004; LANDELL; BRESSIANI, 2008). No ano de 1969 foi criada a Cooperativa Central dos Produtores de Açúcar e Álcool do Estado de São Paulo (COPERSUCAR), com o objetivo de investir no desenvolvimento de variedades (sigla SP) mais produtivas. Essa instituição passou a se denominar Centro de Tecnologia Canavieira em 2004, com sigla CTC para as cultivares (LANDELL; BRESSIANI, 2008).

Em 1971, o Instituto do Açúcar e do Álcool (IAA) criou o PLANALSUCAR (Programa Nacional de Melhoramento da Cana-de-açúcar), com abrangência nacional, contendo cinco coordenadorias, com o objetivo de desenvolver variedades da sigla RB. No ano de 1990 o IAA/PLANALSUCAR foi extinto e ocorreu a incorporação dos seus recursos humanos, infraestruturas físicas e do acervo técnico de suas estações experimentais para as universidades federais que formaram a RIDESA, dando continuidade as pesquisas com cana-de-açúcar, prioritariamente no desenvolvimento de variedades RB (DAROS et al., 2015).

A RIDESA é constituída atualmente por dez universidades, das quais fazem parte a Universidade Federal de Alagoas (UFAL); Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE); Universidade Federal de Viçosa (UFV); Universidade Federal de São Carlos (UFSCar); Universidade Federal do Paraná (UFPR); Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ); Universidade Federal de Sergipe (UFS); Universidade Federal do Piauí (UFPI); Universidade Federal de Goiás (UFG) e Universidade Federal de Mato Grosso (UFMT). O principal foco desta rede é desenvolver variedades de cana-de-açúcar mais produtivas, tolerantes às principais pragas e doenças, e adaptadas às diversas condições de ambientes do Brasil (BARBOSA et al., 2012).

Em 2015, as principais variedades cultivadas no Brasil por sigla foram: RB (68%), SP (28,7%), CTC (5,2%) e IAC (0,9%). Destaca-se que dentre as cinco variedades mais cultivadas no Brasil, quatro são da sigla RB, sobressaindo-se a RB867515 (25%) que é a mais cultivada, e a RB92579 (7%) que vem apresentado elevado crescimento em todo país (DAROS et al., 2015). Ressalta-se que ambas as variedades, assim como todas as demais da sigla RB tiveram suas cariopses produzidas em hibridações realizadas na Estação de Floração e Cruzamento Serra do Ouro (Murici-AL), que é gerenciada pelo Programa de Melhoramento Genético da Cana-de-açúcar (PMGCA) do Centro de Ciências Agrárias (CECA) da Universidade Federal de Alagoas (UFAL).

## **2.5 Hibridação da cana-de-açúcar**

### **2.5.1 Florescimento**

Sob o ponto de vista fisiológico, o florescimento é um processo complexo, o qual se procede em fases consecutivas e depende de condições externas, mecanismos regulatórios internos e do desenvolvimento ontogenético geral (GRAÇA et al., 1986). De acordo com Taiz e Zeiger (2004), algumas espécies vegetais apresentam uma exigência absoluta dos sinais ambientais para que possam florescer.

O florescimento da cana-de-açúcar é sazonal; sua ocorrência depende das condições ambientais, principalmente o fotoperíodo. Outros fatores, também influenciam o florescimento, tais como, precipitação pluvial, temperatura, radiação e qualidade da luz, época de plantio, pragas e doenças (COLEMAN, 1959; MOORE; NUSS, 1987). O florescimento é mais profuso em latitudes de 5 a 15 graus, principalmente entre 7 e 8 graus norte ou sul (CLEMENTS, 1971; ETHIRAJAN, 1987). O padrão sazonal de florescimento no hemisfério

sul ocorre de abril a junho, sendo uma imagem espelhada do que é verificado no hemisfério norte (MOORE; NUSS, 1987; SANTOS et al., 2012). Apesar de ocorrer em função dos fatores citados, alguns genótipos podem apresentar comportamento diferente quanto ao florescimento. Genótipos que são cultivados em regiões com latitudes diferentes da qual foi desenvolvido, podem ter o período de floração alterado ou não florescer (MOORE; NUSS, 1987).

A cana-de-açúcar é uma planta de dias curtos, e o florescimento ocorre com a redução do comprimento dia, seguido pelo aumento da duração da noite (ETHIRAJAN, 1987). No entanto, ocorrem variações para algumas espécies, como é o caso de alguns clones de *S. spontaneum*, que se comportam como de dias longos (MOORE, 1987b; MOORE; NUSS, 1987). Para a ocorrência do florescimento, é necessária uma fase mínima de juvenildade, ou seja, a fotoindução dá-se apenas após a maturação mínima de dois a quatro internódios (CLEMENTS; AWADA, 1965; COLEMAN, 1968). Após a indução, a rapidez na formação da panícula é dependente da umidade e da temperatura, ocorrendo num período de 70 a 100 dias (MOORE, 1987b). Na hibridação, além da indução e emissão da flor, é importante a antese, a fertilidade do pólen e o desenvolvimento do embrião, os quais são muito afetados pela temperatura e pela umidade (BERDING; SKINNER, 1980).

O florescimento da cana-de-açúcar, assim como qualquer outro processo fisiológico, possui temperatura mínima, máxima e ótima para que ocorra. Quando a temperatura noturna cai abaixo de 18° C, a indução do florescimento é inibida (MOORE, 1987b). Durante o dia, quando a temperatura excede 31° C a floração é reduzida (CLEMENTS; AWADA, 1965). Moore (1987b) descreve que a temperatura ótima noturna é em torno de 23 °C, enquanto a diurna é de 28 °C. De outra parte, a baixa umidade tanto reduz o florescimento como prejudica a fertilidade do pólen e, conseqüentemente, a formação das sementes (MATSUOKA et al., 2009).

No cultivo comercial, o florescimento é indesejável, pois além de interromper o crescimento, consome energia das células parenquimatosas dos colmos da cana, fenômeno denominado de “chochamento” ou “isoporização”. Por isso, a renitência ao florescimento é uma característica procurada pelos melhoristas na seleção de cultivares, o que obriga os programas de melhoramento a localizar a estação de cruzamentos em locais onde mesmo esses genótipos mais renitentes possam florescer regularmente e ter fertilidade (BARBOSA; SILVEIRA, 2010; MATSUOKA et al., 2009).

### 2.5.2 Tipos de cruzamentos

No melhoramento genético da cana, os melhoristas dessa cultura podem adotar diferentes estratégias de cruzamento, possibilitados pelos diversos métodos de cruzamentos existentes (Figura 4).

**Figura 4 - Tipos de cruzamentos da cana-de-açúcar: a) múltiplo parental, b) biparental, c) autofecundação e, d) polinização livre.**



Fonte: Autor (2016).

#### a) Múltiplo parental

O método de policruzamento ou cruzamento múltiplo parental foi desenvolvido no Havaí, no início da década de 1930, com o objetivo de avaliar grande número de genitores com menor custo (WARNER, 1953). Outro benefício, é que neste tipo de cruzamento avalia-se mais rapidamente a capacidade geral de combinação dos genitores (LANDELL; BRESSIANI, 2008). Nesse método, as panículas dos genitores são reunidas, formando um grande grupo para se intercruzarem (Figura 4a). Em seguida, as sementes de todas as panículas são colhidas, deste modo somente o genitor feminino pode ser conhecido (HEINZ; TEW, 1987).

Os policruzamentos tanto podem ser amplos, feitos com a maioria das panículas disponíveis, sem prévia escolha, como restritos, direcionados para finalidades específicas, reunindo-se genitores com base em características específicas, como resistência a doenças, tolerância a estresses ambientais, precocidade, etc (MATSUOKA et al., 2009).

#### b) Biparental

O cruzamento biparental é aquele em que são conhecidos os genitores que atuam como receptor de pólen (feminino), e outro, como fornecedor de pólen (masculino) (Figura 4b). É provavelmente, o tipo de cruzamento mais utilizado pelos melhoristas de cana-de-açúcar (BREAUX, 1987). Quando o genitor que está sendo utilizado como feminino conter razoável quantidade de pólen férteis, pode-se utilizar a técnica de emasculação por meio de tratamento térmico com água, na temperatura de 50 °C durante 4,5 minutos, conforme recomendações de Machado JR et al. (1995). Nos cruzamentos biparentais, as panículas são protegidas com coberturas chamadas de lanternas ou campânulas, feitas de pano, vidro ou polietileno, visando evitar a possibilidade de contaminação com pólen de outras variedades (CESNIK; MIOCQUE, 2004; MATSUOKA et al., 2009; SANTOS et al., 2014).

#### c) Autofecundação

A autofecundação em cana-de-açúcar é realizada por meio da proteção da panícula com uma campânula ou lanterna, para impedir a polinização cruzada acidental (Figura 4c). Esse tipo de cruzamento leva ao surgimento do fenômeno conhecido como endogamia, com aumento do número de locos em homozigose (CESNIK; MIOCQUE, 2004; HEINZ; TEW, 1987; MATSUOKA et al., 2009). Esse tipo de cruzamento tem sido utilizado por alguns programas de melhoramento para eliminação de alelos desfavoráveis e realização da seleção recorrente recíproca com S1 (HEINZ; TEW, 1987; SANTOS, 2012).

#### d) Polinização livre

Nesse tipo de cruzamento, as sementes são colhidas diretamente das panículas dos genótipos no campo, portanto, dentre todos os métodos é o mais econômico (Figura 4d). Todavia, tanto pela possibilidade de autofecundação como pelas dificuldades de controle dos cruzamentos não é um processo usualmente empregado (MATSUOKA et al., 2009).

### 2.5.3 Planejamento das hibridações e seleção de parentais

No planejamento das hibridações, deve-se averiguar a árvore genealógica das variedades a serem envolvidas no referido processo. Na escolha, deve-se verificar a produtividade agroindustrial, bem como as suas resistências em relação às pragas e doenças. Além disso, é importante que se verifique os mecanismos de incompatibilidade que envolvem as variedades em questão, quer sejam de ordem genética, quer sejam de ordem fisiológica, como a deiscência das anteras em horários ou épocas distintas. Por fim, uma variedade para ser considerada boa genitora, deve transmitir qualidades de interesse comercial aos seus descendentes, com relativa frequência e facilidade. Dentre elas, deve-se buscar alto rendimento agrícola e de açúcar (CESNIK; MIOCQUE, 2004; MATSUOKA et al., 2009).

Um programa de seleção de parentais para uso nas hibridações é de extrema importância para o sucesso de um programa de melhoramento. Uma boa estratégia é selecionar os parentais com base no desempenho da variedade em cultivos comerciais e também no desempenho de sua progênie (MATSUOKA et al., 2009, MING et al., 2006). A maioria dos programas de melhoramento avalia o desempenho da progênie com base numa taxa de seleção. Se o desempenho da progênie for superior ao padrão, os parentais serão cruzados novamente nas jornadas de cruzamentos dos anos seguintes, com objetivo de produzir um grande número de progênies para a seleção. Na Austrália, a seleção de parentais para os cruzamentos do tipo biparental, é baseada num sistema de cruzamentos comprovados, em que se baseia não somente nas taxas de seleção, mas também sobre o desempenho dos clones de cada família nas fases subsequentes do processo de seleção (BERDING; SKINNER, 1987; BREAU, 1987; HEINZ; TEW, 1987; HOGARTH; SKINNER, 1987).

A caracterização das progênies deve procurar estimar tanto a capacidade geral (CGC) quanto à capacidade específica de combinação (CEC). Isso é possível utilizando o sistema de cruzamentos dialélicos, onde um grupo de genótipos é testado simultaneamente com um segundo grupo de genótipos. Quando o programa de melhoramento dispõe de um grande banco de germoplasma, torna-se impraticável, a utilização de cruzamentos dialélicos, devido ao grande número de combinações biparentais possíveis. Com isso, normalmente utiliza-se a estrutura de cruzamentos múltiplos parentais (MATSUOKA et al., 2009).

## 2.5.4 Procedimentos utilizados nas hibridações

### 2.5.4.1 O processo de hibridação

Os procedimentos e técnicas de hibridação variam entre as estações de cruzamento. Basicamente o processo de polinização consiste em colher os colmos com inflorescências nos campos, na ocasião do início da abertura das flores, e em seguida acondicioná-los em baldes contendo uma solução nutritiva, cuja função é manter o metabolismo dos genitores durante todo processo de hibridação (HEINZ; TEW 1987). Depois, esses colmos são levados para o galpão de hibridação onde os cruzamentos são montados, ou seja, genitores femininos e masculinos são agrupados. A seguir, o cruzamento é transportado para um local denominado “estaleiro” onde permanecerá por 10 a 14 dias para a abertura total das flores, seguida de polinização e fecundação. Após esse período, as inflorescências juntamente com os colmos das fêmeas são relacionadas e agrupadas por cruzamento e na sequência encapuzadas e transportadas para a casa de hibridação onde permanecem por mais 11 a 15 dias, imersos em solução nutritiva, para a maturação das sementes. No vigésimo quinto dia, as inflorescências são cortadas, e em seguida é feito o transporte para os laboratórios onde ocorrerá o beneficiamento. As panículas são colocadas em estufas para secagem. Na sequência, as sementes são beneficiadas (“deslintadas”), testadas quanto à germinação, embaladas e distribuídas para germinação nas estações de seleção, para iniciar o processo de produção de plântulas (CESNIK; MIOCQUE, 2004; LANDELL; BRESSIANI, 2008).

### 2.5.4.2 Solução nutritiva

No início do melhoramento genético da cana-de-açúcar, predominava a coleta das sementes (*fuzz*) oriundas de panículas polinizadas livremente. Ao longo dos anos, novas técnicas foram desenvolvidas para aprimorar as hibridações, como por exemplo o corte de panículas de variedades masculinas, as quais eram amarradas em estacas de bambu fixadas ao redor das inflorescências de variedades femininas, e também a utilização de baldes com água (MANGELSDORF, 1966).

Na década de 1920, pesquisadores da Hawaiian Sugar Planter's Association (HSPA) verificaram que ocorria a conservação dos colmos quando estes eram cortados e colocados em soluções diluídas de SO<sub>2</sub> (CESNIK; MIOCQUE, 2004). Mangelsdorf (1966) menciona que os pesquisadores da HSPA sob coordenação do engenheiro agrônomo J. A. Verret, realizaram

testes como mais de 100 soluções contendo vários tipos de conservantes, e chegaram a conclusão de que as soluções contendo entre 2.000 e 5.000 mg kg<sup>-1</sup> de dióxido de enxofre, conservaram os colmos cortados por várias semanas até formação e maturação das sementes. Após a realização de exaustivos ensaios, Verret determinou que a solução, conhecida como Havaiana, seria composta por água de chuva acrescida de ácidos não voláteis, tais como: 75,0 mg kg<sup>-1</sup> de ácido fosfórico (H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>), 37,0 mg kg<sup>-1</sup> de ácido nítrico (HNO<sub>3</sub>), 37,0 mg kg<sup>-1</sup> de ácido sulfúrico (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>); e adição de ácido volátil: 150,0 mg kg<sup>-1</sup> de dióxido de enxofre (SO<sub>2</sub>). Esta solução tem tornado viável as hibridações da cana-de-açúcar, permitindo a sobrevivência dos colmos retirados do campo por todo o tempo necessário para a maturação da semente (HEINZ; TEW, 1987). Ressalta-se que essa solução nutritiva desenvolvida no Havaí é até hoje muito utilizada por diversos programas de melhoramento genético do mundo (CESNIK; MIOCQUE, 2004), a exemplo da RIDESA/UFAL (BARBOSA G, et al., 2002).

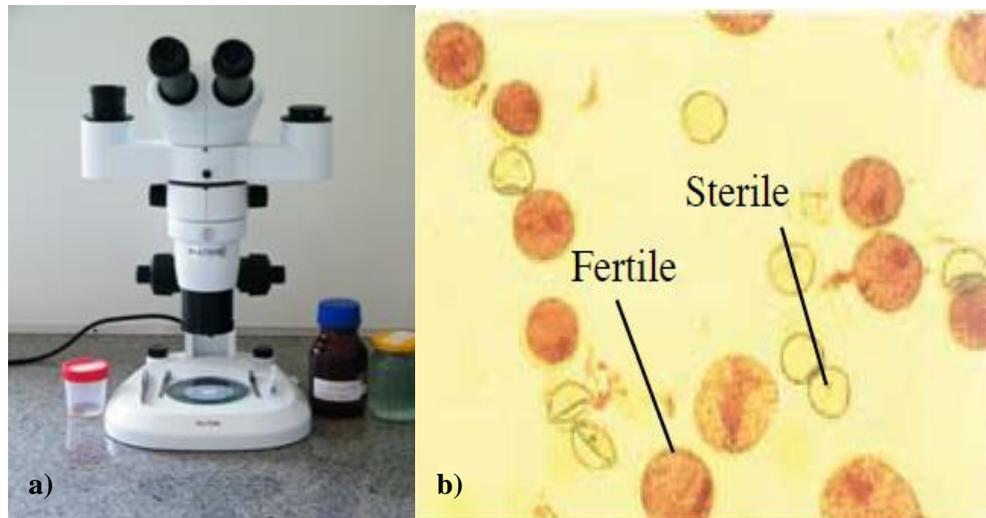
#### 2.5.4.3 Caracterização sexual

O grau de abertura e fechamento das anteras e a fertilidade do pólen é que vão determinar se a cana pode ser utilizada como genitor feminino ou masculino. Isto indica que, apesar da flor da cana-de-açúcar ser considerada hermafrodita, algumas variedades podem se apresentar como tipicamente machos, pela produção de pólen viável, esterilidade feminina, ou como variedades tipicamente femininas, com ausência de anteras, anteras sem pólen, e ainda anteras com pólen inviáveis (AMARAL et al., 2012).

A caracterização da predominância sexual das variedades de cana-de-açúcar geralmente é realizada pelo método de Java. Este método consiste na coloração do amido contido nos grãos de polens por uma solução de lugol (1 grama de iodo, 2 gramas de iodeto de potássio e 100 ml de água destilada) (Figura 5b) com leitura ao microscópio estereoscópico (Figura 5a). No entanto, este procedimento restringe-se as características do pólen, ignorando a condição de fertilidade do óvulo ou saco embrionário (AMARAL et al., 2012).

Para efeitos práticos, variedades que possuem mais de 70% dos grãos de pólen férteis (corados), são classificadas e utilizadas como macho em cruzamentos genéticos (Figura 5b), e aquelas com menos de 30%, como genitores femininos (GÓMEZ, 1962).

**Figura 5 - Caracterização sexual da cana-de-açúcar: análise do pólen em microscópio estereoscópico (a), para visualização de grãos de pólen viáveis ou férteis (corados) e não viáveis ou estéreis (não corados) em solução de lugol (b).**



Fonte: a) AMARAL et al. (2012); b) MAURITIUS SUGAR INDUSTRY RESEARCH INSTITUTE (2010).

## 2.5.5 Influências de fatores citogenéticos nas hibridações

### 2.5.5.1 Mecanismos de incompatibilidade

Nas espécies vegetais que apresentam flores hermafroditas, os sistemas ou mecanismos de incompatibilidade entre o grão de pólen e o estilo-estigma são de grande importância no melhoramento de plantas. Nesses mecanismos, geralmente ocorrem insucessos de alguns cruzamentos para produzir sementes, devido a algum impedimento fisiológico (FERREIRA, 2006). Atualmente, cerca de 3 mil espécies não possuem a capacidade de serem fecundadas pelo seu próprio pólen, ou seja, são auto-incompatíveis. De outra parte, algumas plantas são incompatíveis quando cruzadas com outras plantas de genótipo semelhante (CESNIK; MIOCQUE, 2004; RAMALHO et al., 2012)

A reação de incompatibilidade entre o grão de pólen e o estilo-estigma pode ocorrer em qualquer estágio da hibridação, desde a polinização até a fertilização, sendo de natureza bioquímica, envolvendo mecanismos genéticos, geralmente simples, inerentes a um gene S com vários alelos.

A família Gramineae (Poaceae) ainda não foi bem estudada quanto aos mecanismos de incompatibilidade, mas é nela que aparecem com maior frequência dois *loci* controlando o fenômeno da incompatibilidade. Sua principal função é evitar a endogamia e promover o cruzamento entre indivíduos não parentes. A incompatibilidade no gênero *Saccharum* é bem

conhecida dos geneticistas que a estudaram, mas até o momento foi pouco investigada. Na *S. robustum* foi verificado a presença da auto-incompatibilidade (CESNIK; MIOCQUE, 2004).

#### 2.5.5.2 Macho-esterilidade e fertilidade do pólen

Durante o processo da meiose, podem ocorrer algumas anormalidades, e quando associadas à complexa constituição genética da cana-de-açúcar, nem sempre o pólen é fértil ou funcional (MATSUOKA et al., 2009). Sendo assim, ocorrem híbridos macho-estéreis ou que apresentam baixa porcentagem de pólen viável. Um exemplo de variedades que apresentam baixa fertilidade do pólen pode ser visto no trabalho de Krishnamurthi (1977), no qual foi estudado a germinação de sementes oriundas de cruzamentos entre a Co281 (parental feminino) e nove variedades de cana-de-açúcar como genitores masculinos. Este autor verificou que entre os nove genitores masculinos, apenas a variedade MQ27-1124 permitiu um percentual de germinação maior que 50%. Deste modo, é importante que se conheça essa característica do genitor a ser utilizado em cruzamentos genéticos (ETHIRAJAN, 1987).

No gênero *Saccharum*, a macho esterilidade ocorre com menor frequência em plantas descendentes de *S. officinarum* do que em descendentes de *S. sinense*, *S. robustum* e *S. barberi*. Porém, algumas canas nobres, pertencentes à espécie *S. officinarum* apresentam esta característica. Nos programas de melhoramento da cana-de-açúcar, a macho-esterilidade tem grande importância, pois os métodos atuais de emasculação não garantem emasculação total das anteras. Deste modo, em cruzamentos biparentais, caso seja comprovada o fenômeno de macho-esterilidade em umas das variedades, pode-se ter a certeza que seus descendentes possuem cromossomos dos seus respectivos parentais (CESNIK; MIOCQUE, 2004).

## 2.6 Genitores importantes para o melhoramento da cana-de-açúcar

### a) POJ2878

Em 1880, foi registrado na Ilha de Java, Indonésia, um prejuízo de US\$ 10 milhões por causa da doença “sereh”, que atacou a variedade “Black-Cheribon”. Este motivo levou a criação da Proefstation Oost of Java (CESNIK; MIOCQUE, 2004), que em 1921, realizou o cruzamento genético que deu origem a POJ2878, conhecida como “a maravilha de Java” (MANGELSDORF, 1959). Essa variedade revolucionou o melhoramento genético da cana-de-açúcar, e recebeu esse nome devido as suas características de rendimento agrícola,

rendimento industrial, e resistência a doenças e condições ambientais adversas da época (ANDRADE, 1985; JAMES, 2004).

No Brasil, a POJ2878 foi introduzida em 1928 para a Estação Experimental de Campos, RJ (CESNIK; MIOCQUE, 2004). Em 1929, a variedade POJ2878 ocupava cerca de 90% da área de cana em Java. Na Guiana, em 1941, a POJ2878 teve uma área cultivada de 50 mil hectares (JAMES, 2004). Essa famosa variedade tem sido progenitora de outras variedades, também famosas e dispersas por todo o mundo canavieiro, principalmente nos cultivos do Havaí (SREENIVASAN et al., 1987). De acordo com Tew (1987), a POJ2878 talvez seja a variedade que mais participou da linhagem de quase todas as variedades de cana que dominam os cultivos de cana-de-açúcar no mundo. O cruzamento Co312 x POJ2878 produziu a cultivar de cana mais importante no Havaí, H32-8560, que foi responsável por 65% da área de plantio em 1945. A POJ2878 também é genitora da Co419, variedade que foi importante para ao cultivo em regiões tropicais da Índia, e também para o Brasil, principalmente na década de 1960 (ANDRADE, 1985; LANDELL; BRESSIANI, 2008).

#### **b) NCo310**

O cruzamento Co421 x Co312 realizado em Coimbatore em 1938, encaminhado e germinado em Natal, África do Sul, propiciou a seleção da NCo310, em 1939, que se tornou a mais importante cultivar de cana-de-açúcar do mundo nos anos 1950 e 1960. Entre 1945 e 1955, a NCo310 foi introduzida em 43 países e estados, incluindo os maiores produtores de cana-de-açúcar do mundo (NUSS; BRETT, 1995). A ampla adaptabilidade e aceitação da NCo310, refletiu no seu crescimento em área plantada por todo o mundo (TEW, 1987). Na África, a NCo310 foi a principal variedade no Egito até ser sucumbida pelo vírus do mosaico. No entanto, manteve-se como a mais importante variedade no Marrocos, Sudão, Somália, Quênia, Zâmbia, Malawi, Moçambique, Zimbábue e Suazilândia até o final da década de 1960, quando foi substituído pela NCo376 e outras variedades (NUSS; BRETT, 1995). Em Taiwan, após vários testes e extensivas multiplicações, a NCo310 saltou de 0,01% de área plantada em 1952 para 91,30% em 1957, permanecendo na liderança até 1967, quando foi superada pela variedade F146, que é sua filha de primeira geração (SHIH; JUANG, 1974; NUSS; BRETT, 1995). Na década de 1980, a NCo310 ainda ocupava posições de destaque no cultivo de cana em várias países. No Equador, ocupava a quarta posição, no México a terceira, no Gabão a segunda, e liderava o cultivo no Japão, Estados Unidos (Texas), Uruguai e Austrália (TEW, 1987).

Em função do seu excelente desempenho em áreas comerciais e suas excepcionais características agroindustriais, os programas de melhoramento genético utilizaram muito a NCo310 nos cruzamentos genéticos. Em Taiwan, a NCo310 foi um parental extremamente utilizado nas hibridações, produzindo milhões de *seedlings*, a partir dos quais foram selecionados nove variedades para liberação (SHIH; JUANG, 1974). Dessas, destacam-se a F146 e F160, que se tornaram grandes variedades, e mais 13 de segunda geração altamente produtivas. Na Austrália, a NCo310 foi amplamente utilizada como um parental nos cruzamentos da cana-de-açúcar, sendo responsável pela geração de 13 variedades "Q". Dentre estas, a Q124 foi a grande variedade descendente da NCo310. Em vários outros países, incluindo Japão, Reunion e Cuba, a variedade NCo310 foi muito utilizada como parental nas hibridações da cana-de-açúcar. Parte do sucesso da NCo310, pode ser atribuída a sua descendência, por meio de genes da POJ2878, que é genitora da Co421 (genitor feminino da NCo310). Por toda sua contribuição para o melhoramento e para os rendimentos da cana em vários países, pode-se considerar que a NCo310 foi a segunda variedade de cana mais importante do mundo, ficando atrás da POJ2878 (NUSS; BRETT, 1995).

### c) **Co331**

A variedade Co331 foi desenvolvida em Coimbatore, Índia, pelo programa de melhoramento SBI - Sugarcane Breeding Institute (ANDRADE, 1985). Suas características são: alta produtividade agrícola, tolerância a seca e rusticidade. Essa variedade chegou a ocupar 19% de área cultivada com cana-de-açúcar no Brasil em 1975 (BARBOSA et al., 2012). No entanto, foi em Alagoas que teve maior destaque, sendo a mais cultivada na década de 1970, onde teve 65,6% de área cultivada na safra 1971/1972. Sua grande contribuição para o melhoramento genético foi gerar a variedade CB45-3. Essa variedade foi desenvolvida pelo Ministério da Agricultura, por meio da Estação da Experimental de Campos, RJ. A CB45-3 dominou o cultivo da cana-de-açúcar em Alagoas no período de 1985 a 1995, com destaque para a safra 1988/1989, atingindo 60% da área de cultivo (BARBOSA, 2014). Nesta mesma década, ocupou o segundo lugar em área cultivada no Brasil, com 20,7% de participação em 1984 (TEW, 1987). Ademais, outros programas também obtiveram sucesso utilizando a Co331 nos cruzamentos genéticos, como o PLANASULCAR, que desenvolveu uma de suas primeiras variedades liberadas, a RB70194, por meio de um cruzamento múltiplo parental com a Co331 (DAROS et al., 2015). Ressalta-se que as variedades Co331 e CB45-3 foram as

que tiveram a maior durabilidade de cultivo no Brasil no século XX, com vida útil próximo de 50 anos (MATSUOKA et al., 2005; BARBOSA, 2014).

#### **d) NA56-79**

Em 1966, a variedade argentina NA56-79 foi introduzida pelo Instituto do Açúcar e do Alcool (IAA). Sua obtenção ocorreu através da autofecundação da Co419, se destacava pela precocidade, alto teor de sacarose e alto rendimento agrícola (INSTITUTO DO AÇÚCAR E DO ALCOOL, 1972). Na década de 1970, iniciou-se o plantio desta variedade em extensas áreas, que mais tarde viria ser a mais cultivada no Brasil, tendo uma área cultivada de 27,5% em 1985 (LANDELL; BRESSIANI, 2008; BARBOSA et al., 2012).

No Estado de São Paulo, a NA56-79 atingiu uma área cultivada de 47% em 1983. Além disso, contribuiu significativamente na elevação dos rendimentos em açúcar no Brasil neste período (GHELLER, 1996). Ressalta-se a contribuição que a NA56-79 teve no desenvolvimento de cultivares RB, sendo genitora de nove cultivares liberadas para o setor produtivo (BARBOSA et al., 2012; DAROS et al., 2015). Para as variedades da sigla SP, desenvolvidas pela COPERSUCAR, a NA56-79 foi genitora de variedades comerciais como a SP71-799, SP71-1406, SP71-6163, SP71-6949 e SP79-1011 (LANDELL; BRESSIANI, 2008; BARBOSA, 2014). Dentre estas, podemos destacar a variedade SP79-1011, que na safra 2007/2008 foi a mais cultivada no Estado de Alagoas (BARBOSA et al., 2008), e também a SP71-6163 que liderou o cultivo nos canaviais de São Paulo em 1993 e 1994, atingindo área de 25% no estado (CENTRO DE TECNOLOGIA CANAVIEIRA, 2013).

#### **e) SP70-1143**

Em 1988, a variedade SP70-1143 liberada pela COPERSUCAR, foi a mais cultivada em São Paulo, ocupando 30% da área canavieira no estado. A SP70-1143 permaneceu como a mais utilizada até 1992, sendo substituída pela SP71-6163, em função de sua suscetibilidade à ferrugem marrom (CENTRO DE TECNOLOGIA CANAVIEIRA, 2013). Em 1995, a SP70-1143 ocupou a segunda posição entre as variedades mais cultivadas do Brasil, com 17% de área de cultivo (BARBOSA et al., 2012). Para os programas de melhoramento genético, a SP70-1143 teve grande contribuição no desenvolvimento de variedades, participando na descendência de primeira geração de 15 variedades RB (DAROS et al., 2015). Além destas, contribuiu também para o desenvolvimento de variedades comerciais oriundas de outros

programas, tais como: IAC87-3396, SP83-2847, SP86-42 e SP87-344 (LANDELL; BRESSIANI, 2008).

**f) RB72454**

Em 1972, na Estação de Floração e Cruzamento Serra do Ouro, os pesquisadores do PLANALSUCAR realizaram o cruzamento que originou a variedade RB72454, responsável pela primeira grande contribuição do programa de variedades RB, tanto para o setor produtivo, quanto para o melhoramento genético da cultura. A RB72454 foi durante vários anos a mais plantada no Brasil, devido as suas características de alto rendimento agrícola e em açúcar, além de ampla adaptabilidade. Em 1995 ocupou 20% da área cultivada com cana, assumiu a liderança do censo varietal e permaneceu nessa posição até 2005 (BRAGA JR. et al., 2011; BARBOSA et al., 2012).

Dentre todas as variedades desenvolvidas pelo PLANALSUCAR, a RB72454 foi a cultivar de maior potencial produtivo, e por esse motivo o melhoramento genético adotou a estratégia de obter genótipos com o seu potencial de conteúdo em sacarose e dotados de maior rendimento agrícola (BARBOSA, 2014). Essa estratégia resultou na liberação de 25 cultivares RB descendentes em primeira geração da RB72454, sendo que 16 foram desenvolvidas quando ela atuou como genitor feminino e 9 quando atuou como genitor masculino. Em 2015, a RB867515, que é filha da RB72454, foi a variedade mais importante para o país, com cerca de 25% de área cultivada com cana (DAROS et al., 2015).

**g) RB92579**

A variedade RB92579 é resultado de um cruzamento do tipo biparental, realizado em 1992 na Estação de Floração e Cruzamento da Serra do Ouro, em Murici, Alagoas, tendo como variedade produtora de semente a RB75126, fecundada com pólen do clone RB72199. A plântula germinada com a cariópse desse cruzamento, e que originou a variedade RB92579, iniciou a competição na primeira fase de seleção em agosto de 1992, na base de pesquisa Usina Coruripe (Coruripe, Alagoas), entre 19.920 indivíduos. Após sua validação nas sucessivas fases de seleção, a variedade RB92579 entrou em rede experimental nas diversas bases de pesquisa do Programa de Melhoramento Genético da cana-de-açúcar (PMGCA), do Centro de Ciências Agrárias (CECA), da Universidade Federal de Alagoas (UFAL). Em 2003, a Rede Interuniversitária para o Desenvolvimento do Setor Sucreenergético (RIDESA) sob

responsabilidade do PMGCA/CECA/UFAL, liberou a variedade RB92579 para o setor produtivo (BARBOSA et al., 2003).

Desde a sua liberação, a RB92579 vem apresentando expressivas elevações das áreas colhidas com cana-de-açúcar na região nordeste, em função de suas vantajosas produtividades agroindustriais, de 30% a 40% acima das outras variedades que eram mais cultivadas e 60% acima das cultivadas há duas décadas (BARBOSA et al., 2008). Em 2015, a RB92579 teve uma área colhida, correspondente a 37% dos canaviais nordestinos, além do mais, apresentou também área significativa no Brasil, cerca de 7% (DAROS et al., 2015), já sendo considerada “variedade significativa” para o Brasil - conceito estabelecido por Braga Jr. et al. (2011), que deram esse conceito quando a variedade em pelo menos um ano atinge o percentual de 5% ou mais do cultivo de uma região. Registra-se que em área comercial de 60 ha da usina Agrovale (Juazeiro, Bahia), na safra de 2006, sob o regime de irrigação plena, em treze meses de idade a RB92579 alcançou rendimento de 260 t de cana por hectare, valor recorde mundial (BARBOSA et al., 2008; WACLAWOVSKY et al., 2010) e mais próximo do patamar teórico, equivalente a dois terço do rendimento potencial da cana-de-açúcar.

A RB92579 tem como principais características: excelente produtividade agrícola, ótimo perfilhamento, bom fechamento da entrelinha, alto teor de sacarose, maturação média com período de utilização industrial longo, ótima brotação da socaria, alta eficiência no uso dos principais nutrientes, altamente responsiva a irrigação, resistente a Ferrugem marrom e Escaldadura das folhas, recomendada para colheita do meio e final de safra (DAROS et al., 2015). Devido a estas excepcionais características, esta variedade tem sido a mais usada em hibridações na Estação de Floração e Cruzamento Serra Ouro pelos pesquisadores da RIDESA nos últimos 15 anos, em que foram produzidas cerca de 4,5 milhões de plântulas, das quais 360 mil (8%) tiveram a RB92579 como genitor feminino ou masculino. Parte dessas plântulas originaram clones que estão distribuídos nas diversas fases de seleção e experimentação do PMGCA/CECA/UFAL. De acordo com resultados parciais relativos ao desempenho desses clones, tem-se a expectativa de se obter cultivares com altos rendimentos agroindustriais nos próximos anos (PROGRAMA DE MELHORAMENTO GENÉTICO DA CANA-DE-AÇÚCAR, 2015).

## **2.7 Herança materna em plantas**

A herança materna em plantas foi identificada pela primeira vez em 1909, por Carl Correns, o mesmo pesquisador que ajudou na redescoberta dos dados de Mendel (CORRENS,

1909). Recentemente, evidências mostram que o genitor feminino pode contribuir significativamente para o fenótipo de seus descendentes, sendo importante nas áreas de ecofisiologia, fitotecnia e genética quantitativa (ROACH; WULFF, 1987).

A variação do fenótipo de um indivíduo pode ser determinada não apenas pelo genótipo e ambiente, mas também por efeitos oriundos da mãe, ou seja, a contribuição do genitor feminino ao fenótipo de seus descendentes, além da igual contribuição cromossômica esperada de cada um dos pais (ROACH; WULFF, 1987; RAMALHO et al., 2012).

### 2.7.1 Herança extracromossômica

A maioria dos caracteres dos organismos superiores são controlados por genes nucleares, que segregam de acordo com o comportamento dos cromossomos durante a meiose. Entretanto, os padrões especiais de herança de alguns genes eucarióticos, revelam que estes genes devem estar situados fora do núcleo, mais precisamente nas mitocôndrias e cloroplastos. Essas organelas contêm um conjunto de genes autossômicos denominados genes extranucleares ou genes citoplasmáticos. Este tipo de herança é denominado de herança extracromossômica (RAMALHO et al., 2012).

Os genes citoplasmáticos são derivados do fato de que organelas como mitocôndrias e plastídios podem ser transferidos diretamente a partir da planta mãe para os filhos durante a formação e desenvolvimento do óvulo, e essa transmissão é independente de genes nucleares. Como se sabe, essas organelas possuem DNA com funções de replicação e transcrição independentes do DNA nuclear. Estudos de genética quantitativa e molecular mostraram que os fatores citoplasmáticos contribuem para a variação hereditária tanto de características qualitativas quanto de características quantitativas em plantas (ROACH; WULFF, 1987). Como pode ser visto, a herança desses genes extranucleares geralmente é atribuída ao gameta feminino, pois este contribui com quase a totalidade do citoplasma.

### 2.7.2 Efeito materno

Estudos revelam que a herança materna nem sempre é devida a herança extranuclear (extracromossômica), ou seja, a herança materna também pode ser determinada por genes nucleares da mãe. Neste contexto, o genótipo da mãe determina o fenótipo do filho, e este tipo de herança é denominado de efeito materno (BARBOSA, M et al., 2002; RAMALHO et al., 2012).

O efeito materno é um caso especial de herança controlado por genes nucleares da mãe, mas que são responsáveis por certas condições do citoplasma do óvulo. Essas condições é que determina a expressão fenotípica de alguns caracteres do filho, independente dos genes doados pelo pai. Entretanto, é importante salientar que o efeito materno na expressão desses caracteres se dá apenas por uma, ou no máximo, duas gerações (RAMALHO et al., 2012).

Estudos evidenciam a importância da influência materna para o desenvolvimento de sementes. Estas influências podem ser originárias do endosperma. Isto se explica pelo fato que durante o desenvolvimento das angiospermas, a fertilização múltipla resulta geralmente em um endosperma ( $3n$ ) com dois núcleos do genitor feminino e somente um de genes do genitor masculino (WESTOBY, 1981). O endosperma contém enzimas importantes para a germinação (HARVEY; OAKS, 1974) e é também a fonte de nutrientes para o desenvolvimento do embrião. Como uma consequência da dosagem diferencial de genes masculinos e femininos, o genitor feminino pode ter um papel mais importante na determinação das características desta fonte de nutriente (ROACH; WULFF, 1987). Ainda conforme estes autores, os tecidos que imediatamente cercam o desenvolvimento do embrião e do endosperma são todos provenientes da mãe. Estes tecidos, como os integumentos do óvulo e da parede do ovário, formam os tegumentos das sementes, frutos e estruturas acessórias das sementes, tais como os pêlos e aristas. Tais estruturas são importantes na determinação da dormência, dispersão e germinação de sementes, e as variações nestas características podem influenciar a maturidade fenotípica de um indivíduo (ROACH; WULFF, 1987).

Na cultura da cana-de-açúcar, a presença do efeito materno é bastante evidenciada em estudos de resistência as doenças, principalmente com a Ferrugem marrom (*Puccinia melanocephala*). A herança da resistência a *P. melanocephala* é extremamente complexa, e possui forte efeito materno sobre a distribuição da população segregante (TAI et al., 1981; GONZALEZ et al., 1987). De acordo com Sordi et al. (1988) a característica de resistência à ferrugem é um fator de alta herdabilidade, e que alguns genitores resistentes, como a L60-14, NCo310 e a RB72454, conseguem transmitir esta característica com extrema eficácia, gerando progênies predominantemente resistentes, principalmente se tais variedades atuarem nos cruzamentos como genitores femininos. Recentemente, cruzamentos envolvendo as variedades RB72454 e RB855595 apresentaram resultados que sugerem a ocorrência de um efeito materno por parte da variedade RB72454, em relação à herança de resistência a ferrugem marrom (MOURA et al., 2004).

## 2.8 Uso de sementes de cruzamentos recíprocos em cana-de-açúcar

Nos cruzamentos do tipo biparental em diversos programas de melhoramento, são descartadas as panículas dos genitores que atuam como fornecedores de pólen, logo após completarem os processos de polinização do estigma e fecundação do óvulo das flores dos genitores femininos (MACHADO JR, et al., 1995). Neste tipo de cruzamento, são utilizadas apenas as sementes das panículas dos genitores que atuam como receptores de grãos de pólen. Este procedimento é adotado por diversos programas de melhoramento, tais como o Centro de Tecnologia Canavieira no Brasil e o Sugar Research Australia (informação verbal)<sup>1</sup>. No entanto, alguns programas de melhoramento utilizam a estratégia de coletar as sementes de ambos os genitores, ou seja, são ao mesmo tempo receptores e fornecedores de grãos de pólen. Este tipo de cruzamento é conhecido como biparental recíproco (CESNIK; MIOCQUE, 2004), sendo muito utilizado pelos pesquisadores da RIDESA, na Estação de Floração e Cruzamento Serra Ouro, no desenvolvimento de variedades RB (informação verbal)<sup>1</sup>.

A estratégia de utilizar sementes de cruzamentos recíprocos têm sido exitosa no desenvolvimento de variedades RB. Cita-se o exemplo do desempenho da variedade RB72454, que é genitora de 15 variedades obtidas em cruzamentos recíprocos, dos quais nove foram com a SP70-1143, quatro com a NA56-79 e dois com a RB83102 (DAROS et al., 2015).

<sup>1</sup>Informações fornecidas pelo Dr. Geraldo Veríssimo de Souza Barbosa, coordenador do Programa de Melhoramento Genético da Cana-de-açúcar, do Centro de Ciências Agrárias, da Universidade Federal de Alagoas, em 1 de dezembro de 2015.

### 3 MATERIAL E MÉTODOS

A pesquisa foi conduzida em dois locais pertencentes à Universidade Federal de Alagoas: 1) Estação de Floração e Cruzamento Serra do Ouro, e 2) Unidade Acadêmica Centro de Ciências Agrárias.

#### 3.1 Realização dos cruzamentos e obtenção das sementes de cana-de-açúcar

Os cruzamentos genéticos foram realizados no período de maio a junho de 2014 na Estação de Floração e Cruzamento Serra do Ouro, localizado em Murici, Alagoas, latitude 09° 13' S; longitude 35° 50' W; 450 m de altitude (Figura 6), gerenciado pelo Programa de Melhoramento Genético da Cana-de-açúcar (PMGCA) do CECA/UFAL.

**Figura 6 - Estação de Floração e Cruzamento Serra do Ouro, Murici, Alagoas.**



Fonte: Autor (2016).

Para obtenção das sementes (espiguetas e cariopses), realizaram-se doze cruzamentos do tipo biparental recíproco com a RB92579 atuando tanto como genitor feminino (receptor de grãos de pólen ou produtor de semente), quanto como genitor masculino (fornecedor de grãos de pólen) (Tabela 1). Este tipo de cruzamento permite a coleta das sementes de ambos os genitores, sendo considerado produtor de semente o genitor que tiver as sementes coletadas de sua panícula.

Antecedendo a coleta dos colmos florescidos (panículas), realizou-se o censo de panículas florescidas para verificar a viabilidade destas para os cruzamentos. Após a coleta (corte), os colmos foram colocados em baldes contendo uma solução nutritiva (BARBOSA, G et al., 2002). Logo em seguida, as panículas foram transportadas para um galpão, e posteriormente, passaram por um tratamento químico utilizando o fungicida Carbendazim na

dose de 500 g L<sup>-1</sup>, por meio de pulverização costal manual. Após esse tratamento, as panículas foram agrupadas em número de seis, sendo três para cada um dos genótipos, os quais foram colocados no interior de campânulas de polietileno para realização do cruzamento (Figura 7a). Ao fim do processo de hibridação, todos os colmos e suas respectivas panículas que compõem cada cruzamento foram transportados para um galpão, permanecendo neste local até as sementes atingirem a maturação fisiológica (Figura 7b). Neste momento as panículas contendo as espiguetas e cariopses foram coletadas (Figura 7c) e transportadas em sacos de papel do tipo Kraft (Figura 7d) para beneficiamento no Laboratório de Sementes do PMGCA (Figura 8a) no Centro de Ciências Agrárias.

**Tabela 1 - Cruzamentos genéticos realizados com a RB92579. Nos cruzamentos de 1 a 6, a RB92579 atuou como produtora de semente (genitor feminino) e nos cruzamentos de 7 a 12 atuou como fornecedora de pólen (genitor masculino).**

<b>Cruzamento</b>	<b>Genitor feminino (♀)</b>	<b>Genitor masculino (♂)</b>
1	RB92579	RB855511
2	RB92579	RB92606
3	RB92579	RB925211
4	RB92579	RB981809
5	RB92579	H64-1881
6	RB92579	VAT90-212
7	RB855511	RB92579
8	RB92606	RB92579
9	RB925211	RB92579
10	RB981809	RB92579
11	H64-1881	RB92579
12	VAT90-212	RB92579

Fonte: Autor (2016).

**Figura 7 - Procedimentos utilizados na Estação de Floração e Cruzamento Serra do Ouro: a) Pareamento das panículas no interior das campânulas, b) Maturação das cariopses, c) Coleta das espiguetas com suas respectivas cariopses, e d) Sacos de papel do tipo Kraft contendo espiguetas e cariopses.**



Fonte: Autor (2016)

### 3.2 Beneficiamento e armazenamento das sementes de cana-de-açúcar

Após a coleta na Serra do Ouro, as panículas contendo as espiguetas e cariopses foram submetidas às etapas de beneficiamento. Inicialmente, as panículas contidas nos sacos de papel foram colocadas na sala de secagem, e mantidas à temperatura média de 34°C e 55% de umidade relativa, permanecendo os sacos abertos e bem espalhados, por um período de 24 horas (Figura 8b). Após o período de secagem, foi realizado o deslintamento, que consiste na separação das espiguetas dos materiais inertes (ráquis, palha, estigma, entre outros) (Figura 8c). As espiguetas foram armazenadas na sala de conservação, com umidade relativa do ar de 50% e temperatura de 20 °C (Figura 8d).

**Figura 8 - a) Prédio do Programa de Melhoramento Genético da Cana-de-açúcar (PMGCA), onde fica o Laboratório de Sementes, b) Sala de secagem de sementes de cana-de-açúcar do PMGCA/CECA/UFAL, c) Deslintamento manual das panículas contendo espiguetas e cariopses de cana-de-açúcar, e d) Sala de conservação de sementes de cana-de-açúcar do PMGCA/CECA/UFAL.**



Fonte: Autor (2016).

### 3.3 Instalação dos ensaios

Foram instalados dois ensaios (laboratório e estufa) para verificar o comportamento da RB92579 na condição de produtora de semente e na condição de fornecedora de pólen. Ambos os ensaios foram compostos por doze tratamentos e três repetições, totalizando 36 parcelas experimentais. Os tratamentos consistiram de seis genótipos (H64-1881, RB855551, RB92606, RB925211, RB981809 e VAT90-212) escolhidos aleatoriamente, os quais foram cruzados com a RB92579 em duas condições: 1) produtora de semente (cruzamentos de 1 a 6) e 2) fornecedora de pólen (cruzamentos de 7 a 12) (Tabela 1).

### 3.3.1 Ensaio 1: Potencial fisiológico das sementes de cana-de-açúcar obtidas em hibridações com a variedade RB92579

O Ensaio 1 foi realizado no período de outubro de 2014 a janeiro de 2015, no Laboratório de Propagação de Plantas (Figura 9a), pertencente a Unidade Acadêmica Centro de Ciências Agrárias (CECA) da Universidade Federal de Alagoas (UFAL), Campus Delza Gitaí, localizado em Rio Largo, Alagoas, latitude 09°28' S; longitude 35°49' W; 127 m de altitude. Para a instalação do ensaio, utilizaram-se espiguetas e cariopses obtidas por meio dos cruzamentos da Tabela 1. Para tanto, foram separadas aleatoriamente três diferentes amostras com três repetições de cada cruzamento:

- a) Amostra 1: 0,25 g de espiguetas (*fuzz*) para determinar a fertilidade das espiguetas (cariopses contidas nas espiguetas);
- b) Amostra 2: 100 espiguetas para avaliar as variáveis relativas à germinação e vigor;
- c) Amostra 3: 25 cariopses nuas, extraídas manualmente conforme Cabral et al. (2011) para avaliar as variáveis relativas à germinação e vigor.

A pesagem das espiguetas e cariopses foi feita com o auxílio de uma balança digital analítica, com precisão de  $\pm 1,0$  milionésimo de grama (Figura 9b).

**Figura 9 - a) Laboratório de Propagação de plantas do CECA/UFAL, e b) Balança digital analítica.**



Fonte: Autor (2016).

### 3.3.1.1 Características fisiológicas avaliadas

#### 3.3.1.1.1 Características relacionadas à fertilidade dos cruzamentos

Foram tomadas três repetições de amostras com 0,25 g de espiguetas de cada cruzamento, com posterior contagem do número de espiguetas e cariopses, que permitiu o cálculo do percentual de espiguetas férteis - EF (%), conforme a equação 1. A extração das cariopses contidas nas espiguetas foi realizada manualmente, de acordo com Cabral et al. (2011).

$$EF (\%) = \frac{NC}{NE} \times 100 \quad (1)$$

Onde:

*EF* é o percentual de espiguetas férteis;

*NC* é o número de cariopses;

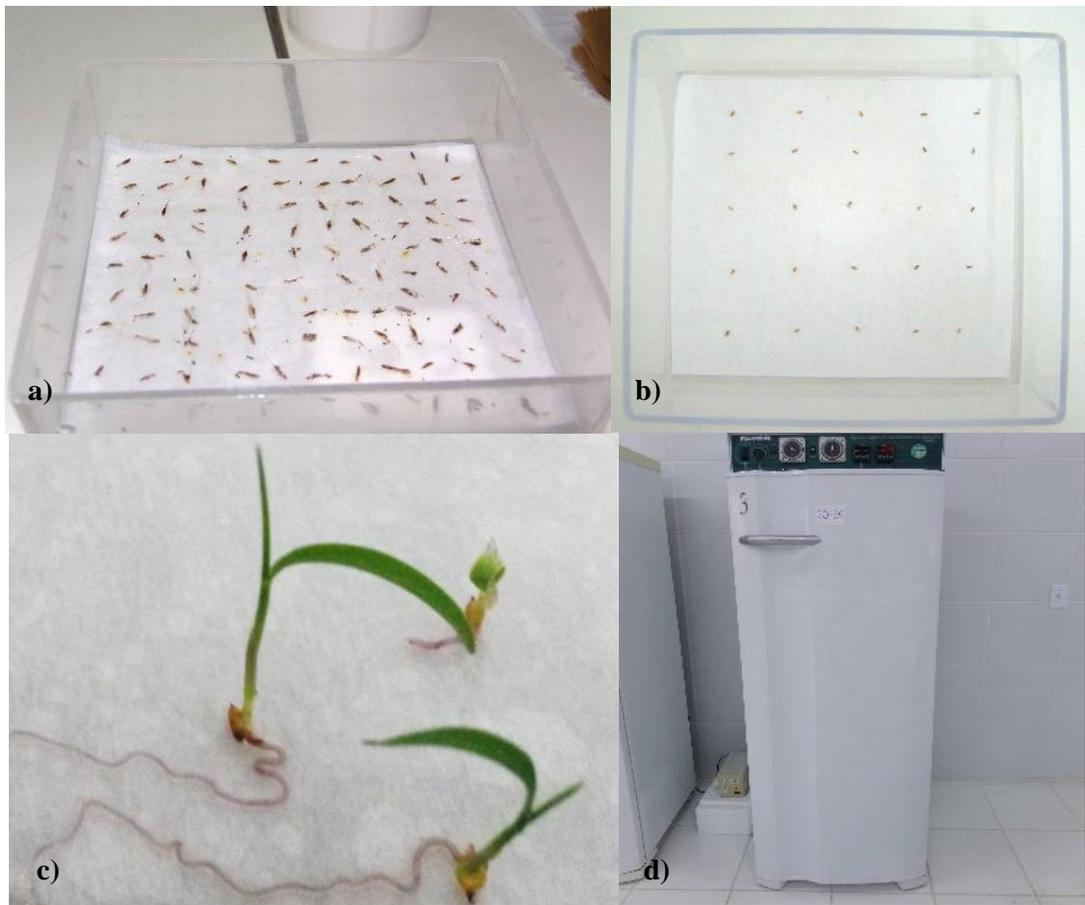
*NE* é o número de espiguetas.

O número de espiguetas e cariopses obtido na amostra de 0,25 g foi multiplicada por quatro para a obtenção das variáveis: número de espiguetas por grama de *fuzz* e número de cariopses por grama de *fuzz*.

#### 3.3.1.1.2 Características relacionadas à germinação

Para a germinação das espiguetas, foram semeadas três repetições com 100 espiguetas de cada cruzamento sobre “papel germitest” umedecido com água destilada (2,5x o seu peso), seguido de acondicionamento em caixas de acrílico do tipo “gerbox” (Figura 10a), as quais foram mantidas no germinador BOD (Figura 10d), a temperatura alternada de 20-30 °C e luz contínua conforme Caieiro et al. (2010). Na avaliação da germinação das cariopses, utilizaram-se os mesmos procedimentos de semeio e acondicionamento, no entanto, as amostras foram compostas por 25 cariopses nuas de cada cruzamento (Figura 10b).

**Figura 10 - Ilustração dos materiais para avaliação da germinação de sementes de cana-de-açúcar em condições de laboratório: a) Caixa “gerbox” com “papel germitest” contendo 100 espiguetas; b) Caixa “gerbox” com “papel germitest” contendo 25 cariopses nuas; c) Plântula normal de cana-de-açúcar com suas estruturas essenciais; e d) Germinador BOD.**



Fonte: Autor (2016).

Tanto as espiguetas quanto as cariopses tiveram a germinação registrada diariamente, durante 10 dias (SILVA et al., 2010). O critério tecnológico adotado para definir semente germinada, foi quando a semente originou uma plântula normal contendo todas as suas estruturas essenciais (Figura 10c), conforme a prescrição das Regras para Análise de Sementes (BRASIL, 2009). Para o cálculo do percentual de germinação, considerou-se a soma final da germinação das espiguetas e cariopses do primeiro ao décimo dia de avaliação.

### 3.3.1.1.3 Características relacionadas ao vigor

a) Índice de velocidade de germinação

A partir dos dados obtidos de germinação das espiguetas e cariopses, calculou-se o índice de velocidade de germinação (IVG) de acordo com a fórmula proposta por Maguire (1962):

$$IVG = \frac{G_1}{N_1} + \frac{G_2}{N_2} + \frac{G_3}{N_3} + \dots + \frac{G_n}{N_n} \quad (2)$$

Onde:

*IVG* é o índice de velocidade de germinação;

*G*<sub>1</sub>, *G*<sub>2</sub>, *G*<sub>3</sub>, ..., *G*<sub>*n*</sub> são os números de plântulas computadas na primeira, segunda, terceira e última contagem;

*N*<sub>1</sub>, *N*<sub>2</sub>, *N*<sub>3</sub>, ..., *N*<sub>*n*</sub> são os números de dias da semeadura à primeira, segunda, terceira e última contagem.

#### b) Massa da cariopse

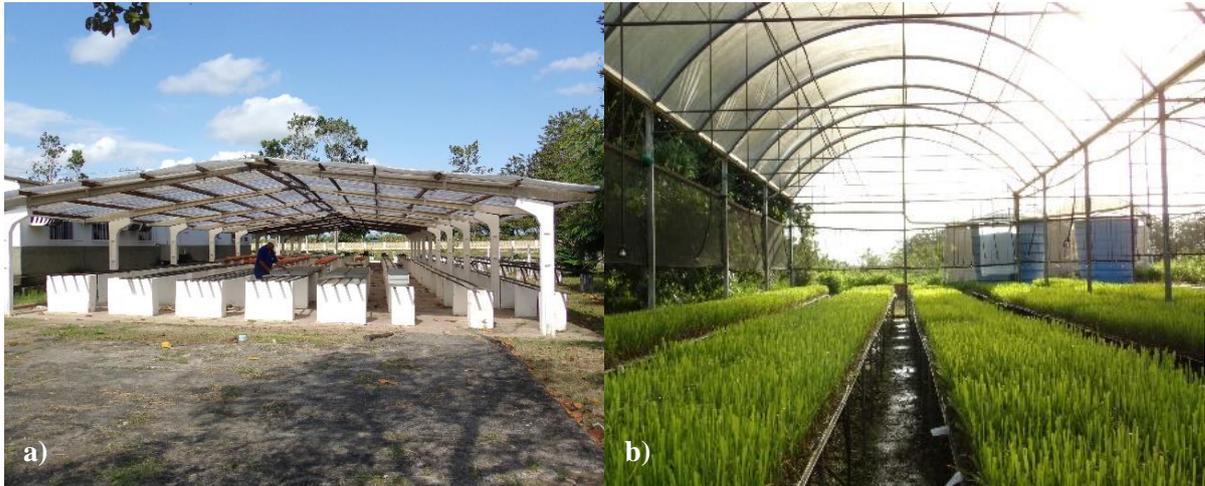
Após a extração manual de cariopses das espiguetas, procedeu-se a pesagem (em gramas) de 25 cariopses nuas de cada cruzamento, utilizando a balança digital analítica, com precisão de ± 1,0 milionésimo de grama (Figura 9b). Em seguida, obteve-se a média dividindo a massa encontrada por 25.

### 3.3.2 Ensaio 2: Produção de plântulas de cana-de-açúcar obtidas em hibridações com a variedade RB92579

#### 3.3.2.1 Semeadura das espiguetas (*fuzz*) e repicagem das plântulas

O Ensaio 2 foi conduzido nos meses de fevereiro a abril de 2015, no galpão de semeadura (Figura 11a) e estufa de produção de plântulas do PMGCA/CECA/UFAL (Figura 11b). Foram separadas três repetições de 1,0 g de espiguetas (*fuzz*) de cada cruzamento, as quais foram semeadas em caixas 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 (Figura 12a).

**Figura 11 - a) Galpão de semeadura e, b) Estufa de produção de plântulas do PMGCA/CECA/UFAL.**



Fonte: Autor (2016).

**Figura 12 - Ilustrações e procedimentos da produção de plântulas da cana-de-açúcar: a) caixas de plástico com substrato; b) semeadura das espiguetas (*fuzz*); c) molhação do substrato semeado; d) cobertura das caixas de plástico; e) tubete com plântula repicada; e, f) bandeja com tubetes contendo plântulas de cana-de-açúcar.**



Fonte: Autor (2016).

As espiguetas foram distribuídas manualmente sobre o substrato (Figura 12b), e logo em seguida, foram submetidas a uma leve molhação para facilitar a aderência ao substrato e fornecer umidade necessária para ativação do processo germinativo das cariopses (Figura 12c). Posteriormente, as caixas de plásticos foram cobertas com plástico transparente para evitar perda de umidade (Figura 12d). Aos 21 dias após a semeadura (DAS) foi feita a repicagem das plântulas para tubetes (Figura 12e) acondicionados em bandejas identificadas com etiquetas correspondentes aos seus respectivos genitores (Figura 12f), e logo em seguida todas as plântulas foram transferidas para estufa, com cobertura de polietileno transparente (espessura de 150 micra) e sistema de irrigação por micro-aspersão (Figura 11b).

### 3.3.2.2 Características fisiológicas avaliadas

#### 3.3.2.2.1 Obtenção de plântulas

##### a) Número de plântulas emergidas por grama de *fuzz* (NPE)

Aos 21 DAS, no momento da repicagem das plântulas para os tubetes, foram contabilizados o número de plântulas emergidas por grama de *fuzz* (NPE), considerando plântulas normais àquelas que continham todas as suas estruturas essenciais, conforme a prescrição das Regras para Análise de Sementes (BRASIL, 2009).

##### b) Número de plântulas viáveis por grama de *fuzz* (NPV)

Aos 60 DAS foram contabilizadas o número de plântulas viáveis por grama de *fuzz* (NPV) aptas para transplântio, adotando como critério de viabilidade, o comprimento mínimo de 10 cm de altura da plântula, mensurada com auxílio de régua graduada.

##### c) Índice percentual de viabilidade de plântulas (IVP)

Foi obtido pela razão entre o NPV e o NPE, expresso em porcentagem, conforme a equação 3.

$$IVP (\%) = \frac{NPV}{NPE} \times 100$$

(3)

Onde:

*IVP* é o Índice de viabilidade de plântulas, expresso em percentagem;

*NPV* é o número de plântulas viáveis por grama de *fuzz*;

*NPE* é o número de plantas emergidas por grama de *fuzz*.

### 3.3.2.2.2 Massa seca

Aos 60 DAS, foram realizadas as determinações de massa seca da parte aérea por plântula (MSPAP) e da massa seca da raiz por plântula (MSRP). As plântulas foram retiradas dos tubetes e separadas em parte aérea e sistema radicular. O sistema radicular foi cuidadosamente lavado em água corrente, utilizando-se uma peneira de malha fina para evitar perdas de raízes mais finas. Tanto a parte aérea quanto as raízes (após a lavagem) foram acondicionadas em sacos de papel do tipo Kraft e secas em estufa de circulação de ar (Figura 13a), à temperatura de 65 °C até massa constante, para a obtenção de suas massas secas.

**Figura 13 - a) Estufa para desidratação de materiais vegetais, e b) Pesagem da parte aérea de plântula de cana-de-açúcar com auxílio de balança digital analítica.**



Fonte: Autor (2016).

Devido ao grande número de plântulas contidas no ensaio e a elevada variação do número de plântulas entre os cruzamentos, tornou-se impraticável a pesagem de todas as raízes, em consequência do processo de lavagem das mesmas. No entanto, foi feita uma amostragem sistemática utilizando uma plântula contida no terceiro tubete da parcela de cada cruzamento. Em seguida, procedeu-se a pesagem da MSRP e da MSPAP, com auxílio de uma

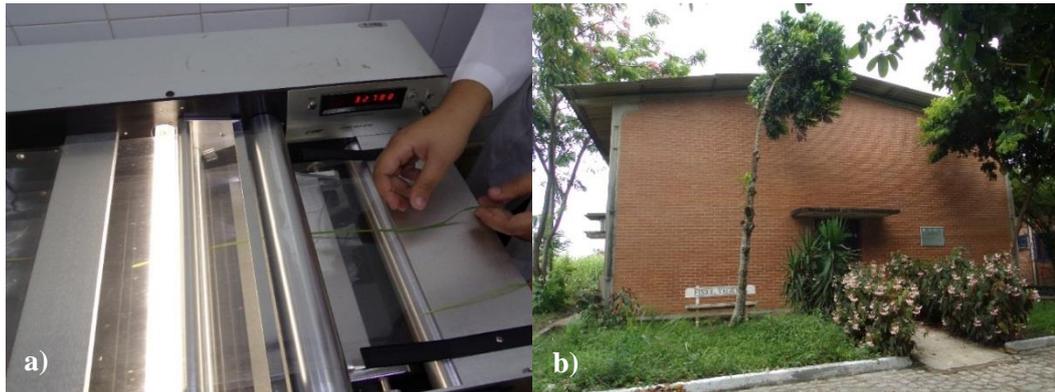
balança digital analítica, com precisão de milionésimo de grama (Figura 13b). Após as pesagens, converteram-se as massas obtidas de gramas (g) para miligramas (mg).

A massa seca total por plântulas (MSTP) ou biomassa total por plântula foi calculada através do somatório da MSPAP com a MSRP.

### 3.3.2.2.3 Área foliar

Para a determinação da área foliar (AF) em cm<sup>2</sup>, utilizou-se um integrador de área foliar LI-COR<sup>®</sup>, modelo LI 3100 (Figura 14a), no Laboratório de Fisiologia Vegetal do CECA/UFAL (Figura 14b). As folhas das plântulas de cada cruzamento foram cortadas com auxílio de uma tesoura e posteriormente foram submetidas à mensuração pelo equipamento. Quando necessário, foram realizados ajustes e limpeza na superfície do equipamento.

**Figura 14 - a) Integrador de área foliar LI-COR<sup>®</sup>, modelo LI 3100, e b) Laboratório de Fisiologia Vegetal do CECA/UFAL.**



Fonte: Autor (2016).

## 3.4 Delineamento experimental e análises estatísticas

Os dados referentes as características fisiológicas avaliadas tanto no Ensaio 1 quanto no Ensaio 2 foram submetidos à análise de variância. O modelo linear estatístico utilizado foi o de classificação hierárquica, conforme Montgomery (2001).

$$y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_{j(i)} + \varepsilon_{(i)k}$$

Em que,

$y_{ijk}$  é o valor observado na  $i$ -ésima condição da RB92579 ( $i = 1, 2$ ), do  $j$ -ésimo genitor (1, 2, ..., 6) e associada a  $k$ -ésima repetição ( $k = 1, 2$  e 3);

$m$  é a média geral;

$\alpha_i$  é o efeito da  $i$ -ésima condição da RB92579, sendo  $i = 1$ , se a RB92579 foi produtora de semente ou  $i = 2$ , se a RB92579 foi fornecedora de pólen;

$\beta_{j(i)}$  é o efeito do  $j$ -ésimo genitor dentro da condição  $i$  da RB92579, sendo  $j = 1$ , RB855511; 2, RB92606; 3, RB925211; 4, RB981809; 5, H64-1881 e 6, VAT90-212;

$\varepsilon_{(ij)k}$  é o erro associado ao valor observado na  $i$ -ésima condição da RB92579, do  $j$ -ésimo genitor e associada a  $k$ -ésima repetição ( $k = 1, 2$  e  $3$ ).

Dentro dos níveis de cada condição da RB92579 (1, produtora de semente e 2, fornecedora de pólen), quando ocorreram diferenças significativas entre os genitores, aplicou-se o teste de agrupamento de médias de Scott-Knott (1974), no nível de 5% de probabilidade de erro ( $p < 0,05$ ).

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 Ensaio 1: Potencial fisiológico das sementes de cana-de-açúcar obtidas em hibridações com a variedade RB92579

#### 4.1.1 Análise de variância

Para todas as características fisiológicas avaliadas em condições de laboratório, a análise de variância revelou pelo teste F resultados significativos ( $p < 0,01$ ) do confronto de médias entre a condição da variedade RB92579 como produtora de semente (receptora de pólen) e como fornecedora de pólen (Tabela 2).

**Tabela 2 - Quadrados médios da análise de variância, coeficiente de variação e média geral das características fisiológicas: número de espiguetas por grama de *fuzz* (NE, em unidade), número de cariopses por grama de *fuzz* (NC, em unidade), espiguetas férteis (EF, em %), germinação das espiguetas (GE, em %), germinação das cariopses (GC, em %), índice de velocidade de germinação das espiguetas (IVGE), índice de velocidade de germinação das cariopses (IVGC) e massa da cariopse (MC, em mg), obtidas através cruzamentos da variedade RB92579 como produtora de semente (PS, ♀) e como fornecedora de pólen (FP, ♂).**

Fontes de variação	GL <sup>1</sup>	Quadrados médios							
		NE	NC	EF	GE	GC	IVGE	IVGC	MC
Condição da RB92579 <sup>2</sup>	1	949.975,11**	732.736,00**	4.102,40**	1.308,03**	4.356,00**	92,02**	65,90**	0,430**
Genitores dentro da condição da RB92579	(10)	379.137,24**	52.475,02**	432,32**	209,36**	554,76**	19,74**	9,08**	0,045**
Genitores dentro da RB92579 como PS (♀)	5	14.676,09 <sup>ns</sup>	13.505,42**	29,84**	13,57**	369,96**	0,89**	5,99**	0,004**
Genitores dentro da RB92579 como FP (♂)	5	743.598,40**	91.444,62**	834,80**	405,16**	739,56**	38,59**	12,17**	0,086**
Resíduo	24	35.396,00	748,00	4,54	4,83	53,78	0,21	0,82	0,001
Total	35	-	-	-	-	-	-	-	-
Coeficiente de variação (%)		9,93	10,14	12,65	19,64	16,97	15,48	19,05	8,64
Média		1.895,11	269,78	16,85	11,19	43,22	2,96	4,76	0,26

Fonte: Autor (2016).

Notas: <sup>(1)</sup> graus de liberdade.

<sup>(2)</sup> produtora de semente vs. fornecedora de pólen.

\*\* significativo no nível de 1% de probabilidade pelo teste F ( $p < 0,01$ ).

<sup>ns</sup> não significativo no nível de 5% de probabilidade pelo teste F ( $p > 0,05$ ).

Verifica-se que houve diferenças significativas ( $p < 0,01$ ) entre os genitores dentro dos níveis da condição da RB92579, em relação a todas as variáveis, indicando que os resultados encontrados para estas características variam em função dos genitores independentemente da condição da RB92579. Nos níveis dos genitores dentro da RB92579 como produtora de

semente, constatou-se que para a característica número de espiguetas (NE) não houve diferença significativa ( $p > 0,05$ ) entre os genitores, certamente devido à baixa fertilidade das espiguetas produzidas pela inflorescência da RB92579, ademais todas as outras características fisiológicas apresentaram diferenças significativas ( $p < 0,01$ ). De outra parte, nos níveis dos genitores dentro da RB92579 como fornecedora de pólen, detectaram-se diferenças significativas ( $p < 0,01$ ) entre os genitores, não havendo exceção (Tabela 2).

Foram estimados coeficientes de variação entre 8,64 (mínimo) e 19,64% (máximo), para as características massa da cariopse e índice de velocidade de germinação das espiguetas, respectivamente, indicando de maneira geral boa precisão dos dados experimentais, conforme Ferreira (2000) (Tabela 2).

#### 4.1.2 RB92579 produtora de sementes vs. RB92579 fornecedora de pólen

Nos contrastes das médias entre as duas condições da RB92579 (produtora de semente vs. fornecedora de pólen), observa-se que as médias de todas as características fisiológicas diferiram significativamente pelo teste F ( $p < 0,01$ ), sendo que para a condição de fornecedora de pólen, a RB92579 apresentou desempenho médio muito superior à condição de produtora de semente (Tabela 3).

A RB92579 como produtora de semente apresentou em média, maior produção do número de espiguetas, no entanto, a maioria não possuía cariopses no seu interior, ou seja, não foram fecundadas. Isto foi confirmado pelo baixo percentual de espiguetas férteis (6,17%) da RB92579 nesta condição. Observa-se que a RB92579 na condição de fornecedora de pólen, apresentou 345,94 %, ou 4,46 vezes mais espiguetas férteis que a sua condição de receptora de pólen. Além disso, devido as cariopses da RB92579 como produtora de semente terem em média menor massa (0,15 mg), foi necessário um grande número de espiguetas para alcançar o peso da amostra.

A germinação das espiguetas da RB92579 na condição de produtora de semente foi em média 5,17%, contrastando com a média de 17,22% de germinação obtida quando a RB92579 atuou como fornecedora de pólen, isso representa uma diferença de 233,33%, ou 3,33 vezes mais germinação. Percebe-se que as cariopses oriundas dos cruzamentos da RB92579 como fornecedora de pólen apresentaram em média, mais que o dobro da massa (2,47 vezes) das cariopses produzidas quando a RB92579 atuou como produtora de semente. Para as características fisiológicas de germinação (%) e IVG das espiguetas, também houve

diferenças percentuais altíssimas, acima de 200%, ou três vezes mais, quando a RB92579 atuou como genitor masculino nos cruzamentos (Tabela 3).

**Tabela 3 - Médias da condição da RB92579 como produtora de semente (PS, ♀) e como fornecedora de pólen (FP, ♂), quociente FP/PS, diferença (FP – PS) e diferença (%) das características fisiológicas: número de espiguetas por grama de *fuzz* (NE, em unidade), número de cariopses por grama de *fuzz* (NC, em unidade), espiguetas férteis (EF, em %), germinação das espiguetas (GE, em %), germinação das cariopses (GC, em %), índice de velocidade de germinação das espiguetas (IVGE), índice de velocidade de germinação das cariopses IVGC, massa da cariopse (MC, em mg), oriundas de cruzamentos com a variedade RB92579.**

Características Fisiológicas	Condição da RB92579		$\frac{FP (\text{♂})}{PS (\text{♀})}$	Diferença*	Diferença (%)
	Produtora de semente (PS, ♀)	Fornecedora de pólen (FP, ♂)			
NE	2.057,56 b	1.732,67 a	0,84	-324,89	-15,79
NC	127,11 a	412,44 b	3,24	285,33	224,47
EF (%)	6,17 a	27,52 b	4,46	21,35	345,94
GE (%)	5,17 a	17,22 b	3,33	12,06	233,33
GC (%)	32,22 a	54,22 b	1,68	22,00	68,28
IVGE	1,36 a	4,56 b	3,34	3,20	234,39
IVGC	3,41 a	6,12 b	1,79	2,71	79,37
MC (mg)	0,15 a	0,37 b	2,47	0,22	146,67

Fonte: Autor (2016).

Notas: <sup>(1)</sup> Médias da condição da RB92579 seguidas de mesma letra na linha, não diferem entre si pelo teste F no nível de 5% de probabilidade ( $p > 0,05$ ).

\* Diferença entre a RB92579 na condição de fornecedora de pólen e como produtora de semente.

#### 4.1.3 Fertilidade dos cruzamentos

Avaliando-se os genitores cruzados com a RB92579 na condição de produtora de semente, constata-se que não houve formação de grupos pelo teste de Scott-Knott ( $p > 0,05$ ) para a característica número de espiguetas. Verifica-se que as panículas da RB92579 produziram mínimo de 1.952,00 e máximo de 2.137,33 espiguetas por grama de *fuzz*, quando cruzadas com a VAT90-212 e a RB92606, respectivamente. Para o número de cariopses por grama de *fuzz* e espiguetas férteis (%) da RB92579 como produtora de semente, houve a formação de quatro grupos pelo teste de Scott-Knott ( $p < 0,05$ ) para ambas as características. A menor produção de sementes ocorreu quando houve o fornecimento de pólen pela RB92606 (34,67 cariopses), e conseqüentemente obteve-se o menor percentual de espiguetas férteis

(1,61%). Por outro lado, a RB92579 produziu o maior número de cariopses (233,33) quando foi cruzada com a RB981809, que apresentou também o maior percentual de espiguetas férteis (11,02%).

**Tabela 4 - Médias das características fisiológicas: número de espiguetas por grama de *fuzz* (NE, em unidade), número de cariopses por grama de *fuzz* (NC, em unidade) e espiguetas férteis (EF, em %) produzidas em cruzamentos da RB92579 na condição de produtora de semente (♀) e como fornecedora de pólen (♂).**

Genitor	RB92579 como produtora de semente (♀)			RB92579 como fornecedora de pólen (♂)		
	NE	NC	EF (%)	NE	NC	EF (%)
RB925211	2.004,00 a	132,00 c	6,58 c	1.310,67 a	657,33 e	50,19 e
RB855511	2.054,67 a	145,33 c	7,15 c	1.168,00 a	498,67 d	42,79 d
RB92606	2.137,33 a	34,67 a	1,61 a	1.730,67 b	454,67 d	26,39 c
VAT90-212	1.952,00 a	80,00 b	4,08 b	1.538,67 b	392,00 c	25,53 c
H64-1881	2.080,00 a	137,33 c	6,62 c	2.376,00 c	337,33 b	14,22 b
RB981809	2.117,33 a	233,33 d	11,02 d	2.272,00 c	134,67 a	6,02 a
Média	2.057,56	127,11	6,17	1.732,67	412,44	27,52

Fonte: Autor (2016).

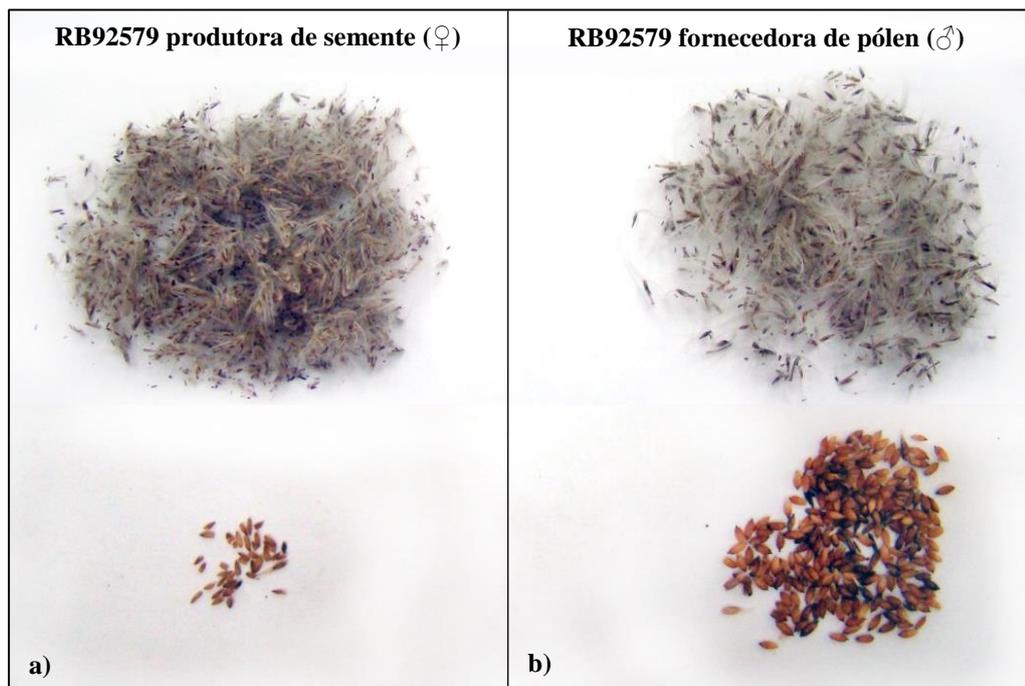
Notas: <sup>(1)</sup> Médias de genitores cruzados com a RB92579 seguidas de mesma letra na coluna, não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott no nível de 5% de probabilidade ( $p > 0,05$ ).

Na análise dos genitores quando a RB92579 atuou como fornecedora de pólen, observa-se a formação de grupos distintos pelo teste de Scott-Knott ( $p < 0,05$ ) para todas as variáveis. Nota-se que a RB925211 produziu o maior número de cariopses por grama de *fuzz* (657,33), e apresentou maior percentual de espiguetas férteis (50,19%). Em contrapartida, a RB981809 gerou a menor quantidade de cariopses (134,67), e conseqüentemente o menor percentual de espiguetas férteis (6,02%).

Observa-se que a RB92579, na condição de produtora de semente, apresentou em média 2.057,56 espiguetas por grama de *fuzz*, enquanto os outros genitores que receberam pólen da RB92579, apresentaram menor produção, com média de 1.732,67 espiguetas por grama de *fuzz*. No entanto, apesar do maior número de espiguetas contido nas panículas da RB92579, somente 6,17% foram férteis, contendo apenas 127,11 cariopses por grama de *fuzz*. Por outro lado, o fornecimento de pólen da RB92579 para os outros genitores, possibilitou maior geração de cariopses por grama de *fuzz* (412,44), e conseqüentemente maior percentual de fertilidade, com valor de 27,52% (Tabela 4).

A fertilidade dos cruzamentos da cana-de-açúcar nos programas de melhoramento é geralmente baixa (RAO, 1980; OLAOYE; ADAMS, 1996). Em Barbados, Rao (1980) verificou que nos cruzamentos do tipo biparental, o percentual de espiguetas férteis tem apresentado valores entre 3,1 e 22,7%. Resultados semelhantes foram encontrados por Cabral et al. (2011), avaliando a fertilidade das espiguetas produzidas a partir de cruzamentos com a RB92579 em Alagoas, Brasil. Estes autores obtiveram percentuais de espiguetas férteis variando de 3,0 a 25,0%. Santos (2015) estimou valores de espiguetas férteis de 5,13 a 38,73%, avaliando o efeito de diferentes soluções conservantes no potencial fisiológico de espiguetas de cana-de-açúcar. Na Austrália, Pierre et al. (2015) encontraram média de 4,5% de espiguetas férteis, com máximo de 31,8%. Nesta pesquisa, foi verificada média de 12,65%, além de uma faixa mais ampla de fertilidade, variando de 1,61 a 50,19%, sendo que para a RB92579 na condição de produtora de semente, essa variação foi de 1,61 a 11,02%. Logo, constata-se o baixo potencial das espiguetas da RB92579 para produzir cariopses (Figura 15a), apresentando valor máximo bem abaixo dos resultados registrados na literatura, assim como os encontrados nesta pesquisa pelos genitores que receberam pólen da RB92579 (Figura 15b).

**Figura 15 - Exemplo do número de espiguetas contidas no *fuzz* (0,5 g), com respectiva extração das cariopses em um cruzamento representativo da RB92579 na condição de produtora de semente (a) e como fornecedora de pólen (b).**

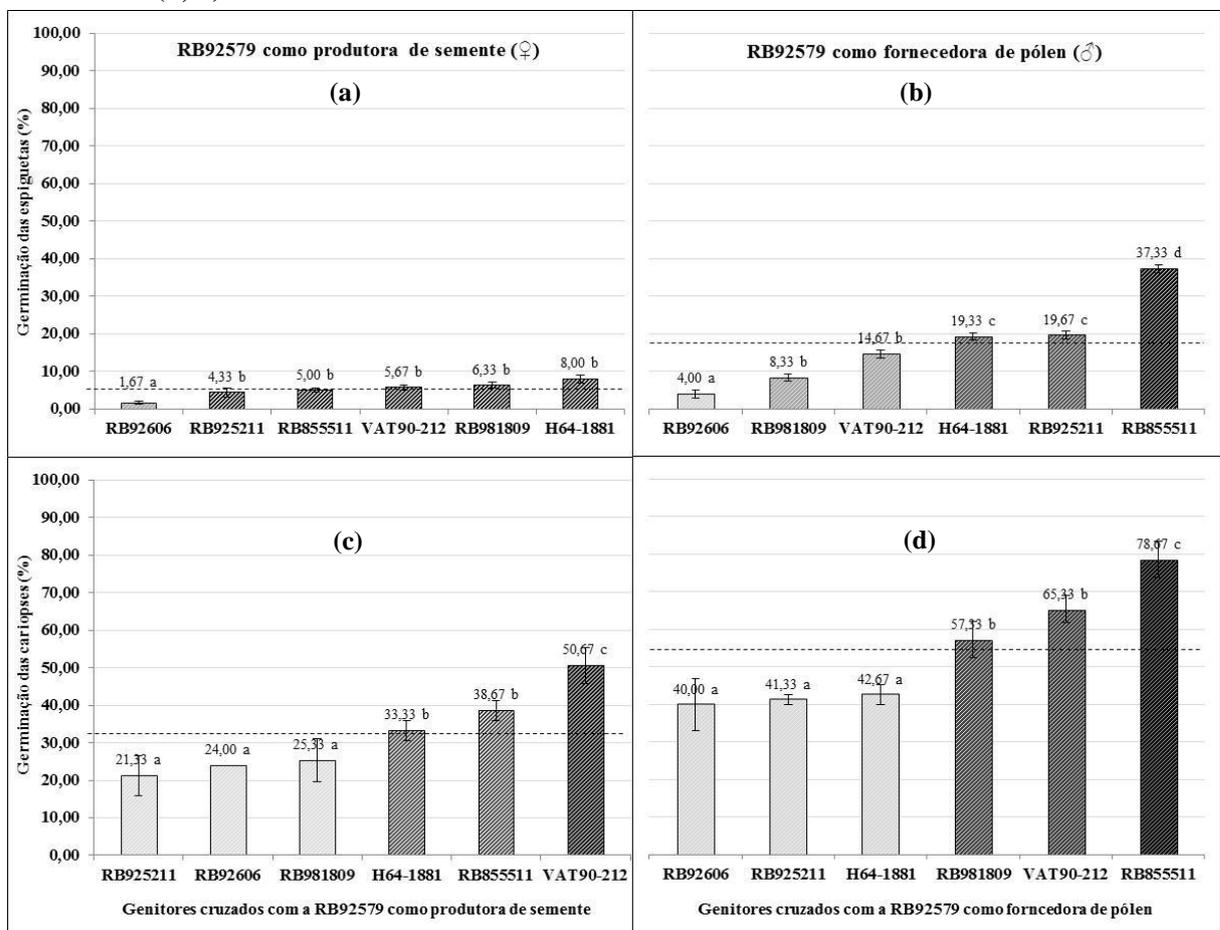


Fonte: Autor (2016).

#### 4.1.4 Germinação

A germinação das espiguetas e cariopses produzidas pela RB92579, de acordo com o genitor fornecedor de pólen estão ilustrados nas Figuras 16a e 16c, respectivamente, enquanto a germinação das espiguetas e cariopses produzidas pelos diferentes genitores que receberam pólen da RB92579 estão ilustrados nas Figuras 16b e 16d, respectivamente.

**Figura 16 - Gráficos de médias da germinação das espiguetas, em percentagem (a, b); e germinação das cariopses, em percentagem (c, d), oriundas de cruzamentos da RB92579 na condição de produtora de semente (a, c) e como fornecedora de pólen (b, d).**



Fonte: Autor (2016).

Notas: <sup>(1)</sup> Médias de genitores cruzados com a RB92579 como produtora de semente (a, c) e como fornecedora de pólen (b, d), seguidas de mesma letra nas barras, não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott no nível de 5% de probabilidade ( $p > 0,05$ ).

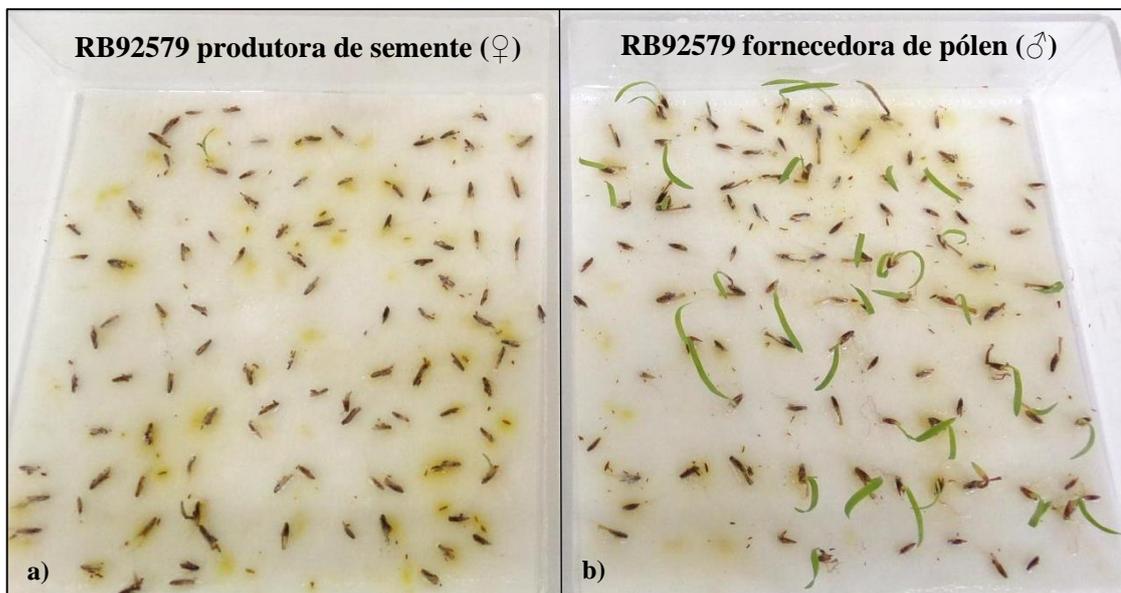
Percebe-se que a RB92579 como receptora de pólen apresentou fraco desempenho na germinação das cariopses em relação à germinação das cariopses produzidas pelos genitores que receberam o seu pólen. Essa reduzida germinação verificada nas cariopses produzidas pela RB92579 na condição de produtora de semente, pode ser explicada pela baixa fertilidade

das espiguetas, assim como pelo baixo vigor das cariopses, que apresentaram menores massa e velocidade de germinação (Tabela 3).

Para a característica germinação das espiguetas, verificou-se que a RB92579 quando recebeu pólen de diferentes genitores, produziu sementes com percentual de germinação muito baixo e com pouca variação, de 1,67 a 8,00%, para a RB92606 e RB855511, respectivamente (Figura 16a). De outra parte, quando a RB92579 forneceu pólen para os diferentes genitores, foram revelados maiores percentuais de germinação das espiguetas, além de maior variação na germinação (4,00 a 37,33%), que permitiu a formação de quatro grupos de genitores pelo teste de Scott-Knott ( $p < 0,05$ ) (Figura 16b).

Avaliando-se as cariopses nuas, os valores encontrados dos percentuais de germinação foram consideravelmente maiores que a germinação das espiguetas, que se explica pelo fato de que quando as espiguetas são semeadas, não existe a certeza da presença da cariopse no seu interior. No entanto, de forma semelhante à germinação das espiguetas, as diferenças entre os percentuais de germinação das cariopses nuas se mantiveram, em relação à condição da RB92579 como produtora de semente e como fornecedora de pólen. Nota-se que as cariopses geradas pela RB92579 apresentaram percentuais de germinação variando de 21,33 a 50,67%, quando recebeu pólen da RB92606 e H64-1881, respectivamente (Figura 16c). Já na condição de fornecedora de pólen, o percentual de germinação variou de 40,00 a 78,67%, para a RB92606 e RB855511, respectivamente (Figura 16d).

**Figura 17 - Exemplo da germinação de espiguetas geradas em um cruzamento representativo da RB92579 na condição de produtora de semente (a) e como fornecedora de pólen (b). Amostras de 100 espiguetas.**



Fonte: Autor (2016).

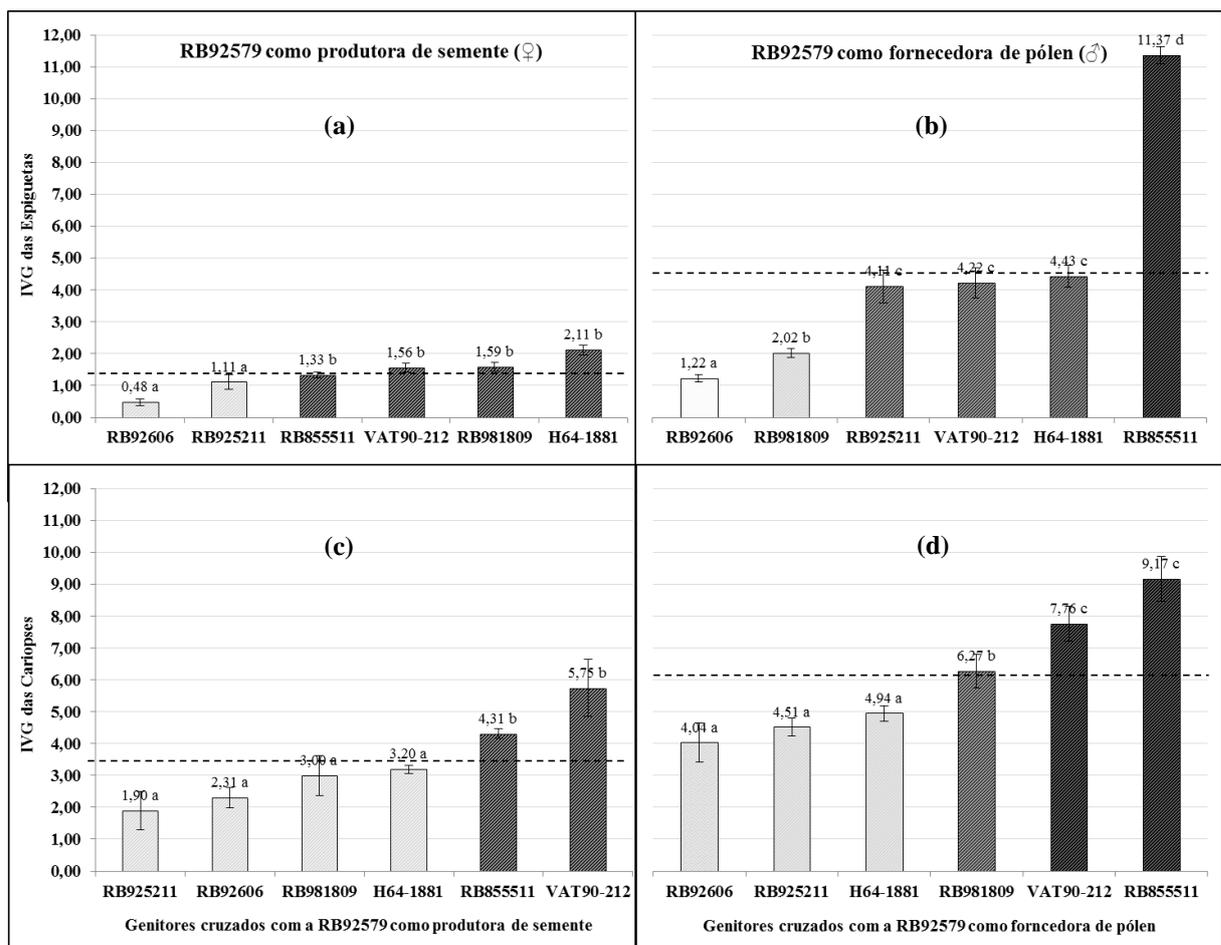
Na literatura, alguns trabalhos têm relatado a dificuldade na obtenção de altos valores de germinação de sementes de cana-de-açúcar, e geralmente, os pesquisadores trabalham com espiguetas para avaliar a germinação. Silva et al. (2010), comparando a germinação de espiguetas nas condições da casa de vegetação com a germinação em ambiente com condições controladas (laboratório), encontraram média de germinação variando entre 0,00 e 44,25%. Bleicher e Tokeshi (1980), avaliando a germinação de espiguetas de cana-de-açúcar oriundas de cruzamentos múltiplo parentais, obtiveram percentual de germinação entre 1,75 e 36,50%. Resultados semelhantes foram obtidos por Cabral et al. (2011), que encontraram valores de germinação de espiguetas variando de 0,00 a 35,00%, e verificaram também que quando a RB92579 quando recebeu pólen da RB92606 ocorreu germinação média de 2%. No entanto, para o cruzamento recíproco, ou seja, o fornecimento de pólen da RB92579 para a RB92606, o percentual médio da germinação aumentou para 23,00%. Estes baixos valores de germinação encontrados na literatura, podem indicar que a cana-de-açúcar apresenta limitações na produção de sementes, sendo muito inferior ao de outras gramíneas (FAIREY, 1993). Além do mais, o melhoramento genético da cana-de-açúcar tem selecionado genótipos que não florescem ou que apresentam florescimento raro. Esta característica buscada no processo de seleção pode estar influenciando a baixa germinação encontrada nas sementes da cana-de-açúcar (CHASE; SENDULSKY, 1991). De acordo com Breaux e Miller (1987), alguns programas têm encontrado dificuldades na germinação de sementes e na formação das plântulas, destacando-se a perda da viabilidade das sementes durante a estocagem, e a perda de mudas nos primeiros estádios de crescimento, visto que as plântulas de cana-de-açúcar são muito sensíveis e vulneráveis nas quatro primeiras semanas depois da germinação.

Observou-se neste trabalho que as sementes produzidas por genitores que receberam pólen da RB92579 apresentaram percentuais de germinação de espiguetas semelhantes a faixa de valores encontrado na literatura, variando de 4,00 a 37,33% (Figura 16b). De outra parte, ressalta-se que a RB92579 na condição de produtora de semente, o intervalo do percentual de germinação foi muito inferior (1,67 a 8,00%) aos valores encontrados na literatura. Portanto, a germinação de sementes produzidas pela RB92579 não foi satisfatória e o uso dessas sementes deve ser repensado pelos programas de melhoramento, visto que a germinação das sementes é uma característica fisiológica de suma importância nas fases iniciais do processo de desenvolvimento de variedades de cana-de-açúcar, sendo essencial para a obtenção das plântulas que irão compor a primeira fase de seleção dos programas de melhoramento (RODRÍGUEZ, 1984).

#### 4.1.5 Vigor

Verifica-se que para as características índice de velocidade de germinação das espiguetas (IVGE), índice de velocidade de germinação das cariopses (IVGC) e massa da cariopse (MC), a variedade RB92579 apresentou melhor desempenho na condição de fornecedora de pólen, com valores bem superiores à condição de produtora de semente (Figura 18 e Figura 19). Apesar de estar adimensional na publicação de Maguire (1962), o IVG representa o número de plântulas emergidas por dia (SANTANA; RANAL, 2004). De acordo com estes autores, quanto maior o seu valor, maior a velocidade de germinação e maior o vigor das sementes.

**Figura 18 - Gráficos de médias do índice de velocidade de germinação (IVG) das espiguetas, em percentagem (a, b); e do IVG das cariopses, em percentagem (c, d), oriundas de cruzamentos da RB92579 na condição de produtora de semente (a, c) e como fornecedora de pólen (b, d).**



Fonte: Autor (2016).

Notas: <sup>(1)</sup> Médias de genitores cruzados com a RB92579 como produtora de semente (a, c) e como fornecedora de pólen (b, d), seguidas de mesma letra nas barras, não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott no nível de 5% de probabilidade ( $p > 0,05$ ).

Observa-se que a RB92579 quanto atuou como produtora de sementes, houve baixa variação do IVG, de 0,48 (RB92606) a 2,11 plantas dia<sup>-1</sup> (H64-1881) para as espiguetas (Figura 18a), e 1,90 (RB925211) a 5,75 plantas dia<sup>-1</sup> (VAT90-212) para as cariopses (Figura 18c). Por outro lado, quando a RB92579 forneceu pólen para os diversos genitores avaliados, o IVG apresentou maiores valores e alta variação, de 1,22 (RB92606) a 11,37 plantas dia<sup>-1</sup> (RB855511) para as espiguetas (Figura 18b), e 4,04 (RB92606) a 9,17 plantas dia<sup>-1</sup> (RB855511) para as cariopses (Figura 18d).

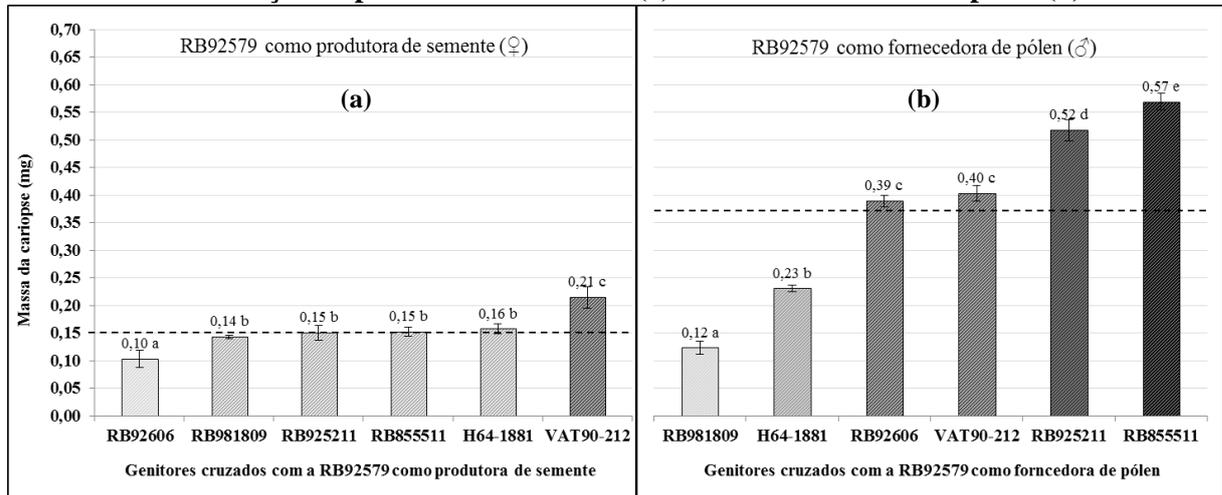
Silva et al. (2010) encontraram média de IVG de espiguetas, variando de 0,00 a 13,06 plantas dia<sup>-1</sup> em condições de câmara de germinação (laboratório). Cabral et al. (2011), avaliando cruzamentos com a RB92579 encontram médias de IVG de espiguetas, variando de 0,50 a 20,00 plantas dia<sup>-1</sup>, no entanto, deve-se ressaltar que os autores utilizaram amostras contendo 200 espiguetas, ou seja, o dobro da amostra utilizada neste estudo. Logo, pode-se estimar que a metade seria de 0,25 a 10,00 plantas dia<sup>-1</sup>. Salienta-se que neste trabalho foram alcançados resultados semelhantes aos de Silva et al. (2010) e Cabral et al. (2011), com IVG variando de 0,48 a 11,37 plantas dia<sup>-1</sup>, independente da condição da RB92579. A obtenção de altos valores de IVG é de suma importância no processo de produção de mudas. De acordo com Marcos Filho (2005), a germinação rápida e uniforme das sementes, seguida por imediata emergência das plântulas, é altamente desejável na formação de mudas. Ainda de acordo com este autor, quanto maior o número de dias para emergir e, conseqüentemente maior permanência da plântula nos estádios iniciais de desenvolvimento, maior será a vulnerabilidade às condições adversas do ambiente.

Constatou-se pequena variação na massa das cariopses (MC) produzidas pela RB92579 na condição de produtora de semente, com valores muito baixos, variando de 0,10 mg para o genitor RB92606 a 0,21 mg para o genitor VAT90-212 (Figura 19a). Por outro lado, as cariopses produzidas pelos genitores que receberam pólen da RB92579, apresentaram elevada massa, ou seja, grande quantidade de reservas nutritivas, que certamente influenciou a elevada germinação apresentada por essas cariopses. A variação foi de 0,12 mg para RB981809 a 0,57 mg para RB855511, que possibilitou a formação de cinco grupos de genitores pelo teste de Scott-Knott ( $p < 0,05$ ) (Figura 19b).

A característica fisiológica relacionada à massa da cariopse de cana-de-açúcar já vem sendo objeto de estudo de diversos pesquisadores (JAMES, 2004; RAO, 1980; SILVA et al., 2010), servindo como parâmetro para avaliação do vigor de sementes (MARCOS FILHO, 2005). De acordo com Carvalho e Nakagawa (2000), sementes que têm maior densidade,

são aquelas que durante seu desenvolvimento foram melhores nutridas, e desta forma, possuem normalmente, embriões bem formados e com quantidades maiores de reservas nutritivas.

**Figura 19 - Gráficos de médias da massa das cariopses produzidas em cruzamentos da RB92579 na condição de produtora de semente (a) e como fornecedora de pólen (b).**



Fonte: Autor (2016).

Notas: <sup>(1)</sup>Médias de genitores cruzados com a RB92579 como produtora de semente (a) e como fornecedora de pólen (b), seguidas de mesma letra nas barras, não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott no nível de 5% de probabilidade ( $p > 0,05$ ).

De acordo com James (2004), as cariopses nuas de cana-de-açúcar têm massa em torno de 0,4 a 0,5 mg. Silva et al. (2010) estimaram massa da cariopse com média de 0,45 mg. No presente estudo, a média da massa das cariopses foi de 0,26 mg, no entanto, quando é feito o desdobramento dos níveis da condição da RB92579, tem-se média de 0,16 mg para as cariopses oriundas da RB92579 como produtora de sementes, e média de 0,37 mg para as cariopses produzidas por outros genitores que receberam pólen da RB92579 (Tabela 3). Deste modo fica evidente a inferioridade da massa das cariopses produzidas pela RB92579 na condição de produtora de semente, com valores de massa bem inferiores aos relatados na literatura. Observou-se que as cariopses oriundas da RB92579 na condição de produtora de semente tiveram menor massa, resultando num menor percentual de germinação, por outro lado, as cariopses da RB92579 na condição de fornecedora de pólen apresentaram maior massa e maior percentual de germinação.

Esses resultados revelam que as cariopses produzidas pela RB92579 na condição de produtora de semente são menos vigorosas que as cariopses da RB92579 na condição de fornecedora de pólen, pois apresentaram baixo IVG e massa bem inferior à encontrada na

literatura, e visualmente percebe-se que estas sementes possuem poucas reservas nutritivas, em função do pequeno tamanho das cariopses, conforme apresentando na Figura 15a.

## 4.2 Ensaio 2: Produção de plântulas de cana-de-açúcar obtidas em hibridações com a variedade RB92579

### 4.2.1 Análise de variância

De acordo com a análise de variância, detectou-se que os resultados foram altamente significativos ( $p < 0,01$ ) entre os níveis de condição da variedade RB92579 (produtora de semente e receptora de pólen) nas hibridações da cana-de-açúcar, em relação a todas as variáveis fisiológicas avaliadas em condições de estufa. Verifica-se ainda que houve diferenças significativas ( $p < 0,01$ ) entre os genitores dentro dos níveis da condição da RB92579, em relação a todas as características (Tabela 5).

**Tabela 5 - Quadrados médios da análise de variância, coeficiente de variação e média geral das características fisiológicas: número de plântulas emergidas por grama de *fuzz* (NPE, em unidade), número de plântulas viáveis por grama de *fuzz* (NPV, em unidade), índice percentual de viabilidade de plântulas (IVP), massa seca da parte aérea por plântula (MSPAP, em mg), massa seca da raiz por plântula (MSRP, em mg), massa seca total por plântula (MSTP, em mg) e área foliar (AF, em cm<sup>2</sup>) de plântulas obtidas de cariopses oriundas de cruzamentos da variedade RB92579 como produtora de semente (PS, ♀) e como fornecedora de pólen (FP, ♂).**

Fontes de variação	GL <sup>1</sup>	Quadrados médios						
		NPE	NPV	IVP	MSPAP	MSRP	MSTP	AF
Condição da RB92579 <sup>2</sup>	1	97.074,62**	86.632,11**	2.803,91**	506.088,30**	299.683,25**	1.584.658,42**	6.330,22**
Genitores dentro da condição da RB92579	(10)	8.434,19**	7442,09**	311,06**	35.471,48**	18.190,13**	78.729,06**	670,18**
Genitores dentro da RB92579 como PS (♀)	5	458,77 <sup>ns</sup>	406,76 <sup>ns</sup>	522,61**	14.606,44 <sup>ns</sup>	5.330,44 <sup>ns</sup>	30.667,91 <sup>ns</sup>	418,61*
Genitores dentro da RB92579 como FP (♂)	5	16.409,60**	14.477,42**	99,51 <sup>ns</sup>	56.336,51**	31.049,82**	126.780,21**	921,75**
Resíduo	24	669,49	623,00	83,82	5.960,69	3.226,11	15.251,11	127,03
Total	35	-	-	-	-	-	-	-
Coeficiente de variação (%)		39,00	41,03	11,07	21,10	31,81	22,68	26,71
Média		66,35	60,83	82,73	365,93	178,57	544,50	42,19

Fonte: Autor (2016).

Notas: <sup>(1)</sup> graus de liberdade.

<sup>(2)</sup> produtora de semente vs. fornecedora de pólen.

\*\* significativo no nível de 1% de probabilidade pelo teste F ( $p < 0,01$ ).

\* significativo no nível de 5% de probabilidade pelo teste F ( $p < 0,05$ ).

<sup>ns</sup> não significativo no nível de 5% de probabilidade pelo teste F ( $p > 0,05$ ).

Observa-se que não houve diferenças significativas ( $p > 0,05$ ) entre os genitores dentro da condição da RB92579 como produtora de semente, exceto para as características IVP ( $p < 0,01$ ) e AF ( $p < 0,05$ ). Isso revela que a variação é tão pequena entre os valores das características fisiológicas avaliadas nas plântulas tendo a RB92579 como produtora de semente, que não houve diferenças estatísticas significativas para as características NPE, NPV, MSPAP, MSRP e MSTP, independentemente do genitor fornecedor de pólen. De outra parte, nos níveis de genitores dentro da RB92579 como fornecedora de pólen, verificaram-se diferenças significativas ( $p < 0,01$ ) em praticamente todas as características fisiológicas, exceto para a variável IVP ( $p > 0,05$ ). Porém, destaca-se que foi verificado alto percentual de viabilidade e com pequena variação entre genitores nas plântulas da RB92579 como fornecedora de pólen, que é uma característica desejável no processo de produção de mudas. Contrariamente, o oposto ocorreu na condição da RB92579 como produtora de semente, em que as plântulas apresentaram grande variação no percentual de viabilidade, logo, houve diferenças significativas entre os genitores (Tabela 5).

O coeficiente de variação foi de 11,07 a 41,03% para o IVP e NPV, respectivamente. Esses valores do coeficiente de variação podem ser considerados satisfatórios, visto que em estudos com sementes de cana-de-açúcar existe uma grande variabilidade nas amostras de cariopses de cada cruzamento, devido a fatores difíceis de controlar, como a uniformidade da maturação fisiológica das sementes ao longo da panícula, presença de patógenos, sensibilidade a fatores ambientais, perda de viabilidade durante o armazenamento, etc.

#### 4.2.2 RB92579 produtora de sementes (♀) vs. RB92579 fornecedora de pólen (♂)

Apresentam-se na Tabela 6, os contrastes de médias entre a RB92579 como produtora de semente e como fornecedora de pólen. Observa-se que para as médias de todas as características, houve diferenças significativas entre as duas condições da RB92579, com excepcional desempenho quando esta variedade atuou como fornecedora de pólen em relação a sua condição de receptora de pólen.

Na condição de fornecedora de pólen, a RB92579 apresentou em média, maior número de plântulas emergidas por grama de *fuzz* (NPE), que foi 719,68 %, ou 8,20 vezes mais NPE que sua condição de produtora de semente (Tabela 6). Além disso, a RB92579 como fornecedora de pólen favoreceu produção de plântulas viáveis (NPE) altíssima, suplantando em 833,0%, quase dez vezes mais plântulas viáveis que a sua condição de geradora de semente. Quando a RB92579 forneceu pólen para os diversos genitores produzir sementes, os

valores de massa seca foram altamente superiores, com incrementos de 58,67%, 208,94% e 94,64% para as características massa seca da parte aérea por plântula, massa seca da raiz por plântula e massa seca total por plântula, respectivamente, em contraste a sua atuação como produtora de sementes. Nota-se que as plântulas oriundas dos cruzamentos da RB92579 como fornecedora de pólen, apresentaram em média, incrementos acima de 90% para a característica área foliar em relação à condição de produtora de semente da RB92579. Evidencia-se que as mudas produzidas pelos genitores que receberam pólen da RB92579 são muito mais vigorosas que as mudas geradas a partir de sementes desta variedade.

**Tabela 6 - Médias da condição da RB92579 como produtora de semente (PS, ♀) e como fornecedora de pólen (FP, ♂), quociente FP/PS, diferença (FP – PS) e diferença (%) das características fisiológicas: número de plântulas emergidas por grama de *fuzz* (NPE, em unidade), número de plântulas viáveis por grama de *fuzz* (NPV, em unidade), índice percentual de viabilidade de plântulas (IVP, em %), massa seca da parte aérea por plântula (MSPAP, em mg), massa seca da raiz por plântulas (MSRP, em mg), massa seca total por plântulas (MSTP, em mg) e área foliar (AF, em cm<sup>2</sup>), obtidas através de cruzamentos com a variedade RB92579.**

Características Fisiológicas	Condição da RB92579		$\frac{FP (\sigma)}{PS (\phi)}$	Diferença*	Diferença (%)
	Produtora de semente (PS, ♀)	Fornecedora de pólen (FP, ♂)			
NPE	14,43 a	118,28 b	8,20	103,85	719,68
NPV	11,78 a	109,89 b	9,33	98,11	833,02
IVP (%)	73,90 a	91,55 b	1,24	17,65	23,88
MSPAP (mg)	277,58 a	440,43 b	1,59	162,86	58,67
MSRP (mg)	87,33 a	269,81 b	3,09	182,48	208,94
MSTP (mg)	364,91 a	710,24 b	1,95	345,34	94,64
AF (cm <sup>2</sup> )	28,93 a	55,45 b	1,92	26,52	91,67

Fonte: Autor (2016).

Notas: <sup>(1)</sup> Médias da condição da RB92579 seguidas de mesma letra na linha, não diferem entre si pelo teste F no nível de 5% de probabilidade ( $p > 0,05$ ).

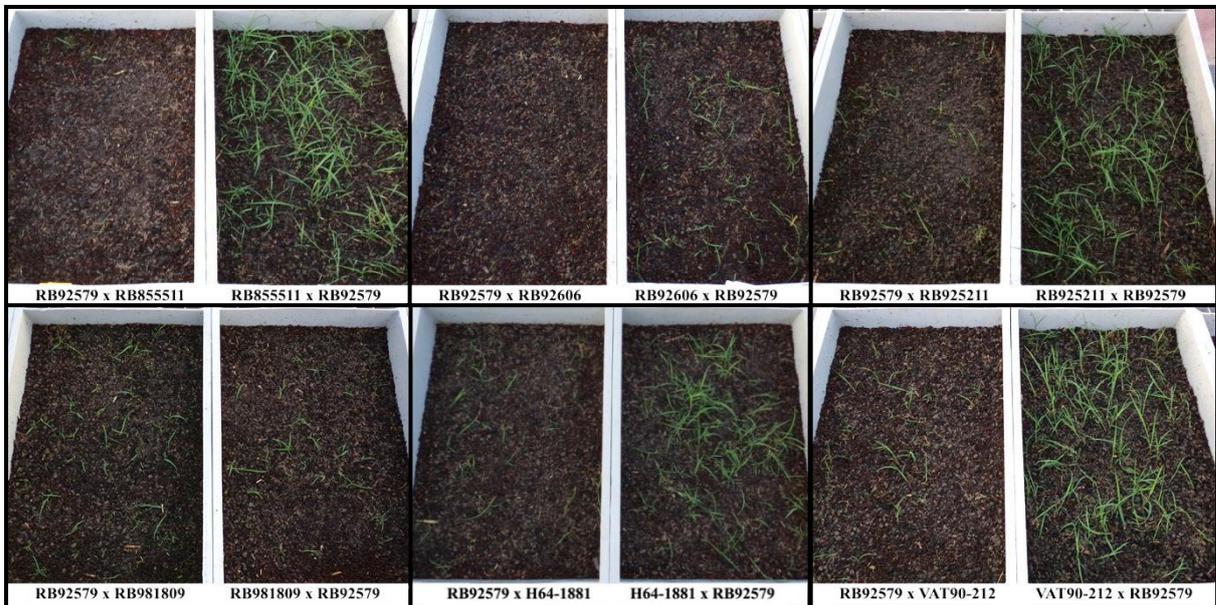
\* Diferença entre a RB92579 na condição de fornecedora de pólen e como produtora de semente.

#### 4.2.3 Obtenção de plântulas

Verifica-se que na condição de fornecedora de pólen, a RB92579 favorece produções de plântulas muito superior à sua condição de produtora de semente (Figura 20), constatada pelos altos valores adquiridos nas características: número de plântulas emergidas por grama de *fuzz* (NPE), número de plântulas viáveis por grama de *fuzz* (NPV) e índice percentual de viabilidade de plântulas (IVP) (Tabela 7).

Observa-se que quando a RB92579 produziu sementes, o número de plântulas emergidas e viáveis por grama de *fuzz* foi muito baixo, assim como a variação entre os valores mínimo e máximo para essas variáveis. A maior produção de plântulas dentro da condição da RB92579 como produtora de semente, foi alcançado pelo genitor H64-1881, produzindo de 38,53 plântulas por grama de *fuzz*, e ainda apresentou o maior IVP. A RB92579 quando recebeu pólen da RB92606, produziu o menor número de plântulas por grama de *fuzz*, além do mais, apenas 50% das plântulas se mostraram viáveis (Tabela 7).

**Figura 20 - Número de plântulas emergidas por grama de *fuzz*, obtidas de sementes produzidas em cruzamentos da RB92579 na condição de produtora de semente (RB92579 x GENITOR) e como fornecedora de pólen (GENITOR x RB92579).**



Fonte: Autor (2016).

Na condição da RB92579 como fornecedora de pólen, o número de plântulas emergidas por grama de *fuzz* variou de 20,96 a 222,92 plântulas, para os genitores RB981809 e RB855511, respectivamente. Ressalta-se que ambos tiveram altos IVP, acima de 90%. (Tabela 7). A obtenção de elevados índices de viabilidade de plântulas é muito importante, pois possibilita a alta produção e homogeneidade das plântulas que irão ser transplantadas para o campo, contribuindo para o estabelecimento da primeira fase de seleção dos programas de melhoramento genético da cana-de-açúcar.

Para que sejam alcançadas altas produções de plântulas, um dos requisitos é que se tenha elevado percentual de fertilidade das espiguetas. Nesta pesquisa, constatou-se que as espiguetas produzidas pelos genitores que receberam pólen da RB92579 tiveram alta

fertilidade, e conseqüentemente apresentaram maiores emergências de plântulas e com grande viabilidade para transplantio.

**Tabela 7 - Médias das características fisiológicas: número de plântulas emergidas por grama de *fuzz* (NPE, em unidade), número de plântulas viáveis por grama de *fuzz* (NPV, em unidade) e índice de viabilidade de plântulas (IVP, em %), oriundas de sementes produzidas em cruzamentos da RB92579 na condição de produtora de semente (♀) e como fornecedora de pólen (♂).**

Genitor	RB92579 como produtora de semente (♀)			RB92579 como fornecedora de pólen (♂)		
	NPE	NPV	IVP (%)	NPE	NPV	IVP (%)
RB855511	11,34 a	8,34 a	74,80 b	222,92 a	206,00 c	92,24 a
H64-1881	38,53 a	34,67 a	90,39 b	140,86 b	134,00 b	94,66 a
VAT90-212	12,78 a	9,67 a	73,61 b	137,85 b	131,67 b	95,79 a
RB925211	7,64 a	6,00 a	75,93 b	142,60 b	130,67 b	91,71 a
RB92606	3,34 a	1,67 a	50,00 a	44,50 c	37,34 a	80,24 a
RB981809	12,94 a	10,34 a	78,67 b	20,96 c	19,67 a	94,68 a
Média	14,43	11,78	73,90	118,28	109,89	91,55

Fonte: Autor (2016).

Notas: <sup>(1)</sup> Médias de genitores cruzados com a RB92579 seguidas de mesma letra na coluna, não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott no nível de 5% de probabilidade ( $p > 0,05$ ).

Nos programas de melhoramento genético da cana-de-açúcar têm-se encontrado uma grande variação no número de plântulas, em função da variabilidade genética entre os genitores participantes das hibridações, além de fatores ambientais e do manejo empregado nas etapas das hibridações. Na Austrália, Pierre et al. (2015) observaram um amplo espectro do nível de números de plântulas por grama de *fuzz*, que vão de 0 a 622 plântulas, com média de 88 plântulas por grama de *fuzz*. Em Barbados, Rao (1980), avaliando a germinação de sementes de cana-de-açúcar, obteve valores de 65 à 389 plântulas por grama de *fuzz*. Nos cruzamentos realizados na Estação de Camamu-BA, pertencente a antiga Coopersucar (atual CTC), foram obtidos produções médias anuais de 133 a 466 plântulas por grama de *fuzz*, no período de 1975 a 1986, com média de 282 plântulas (MACHADO JR et al., 1987). Em Alagoas, nos cruzamentos realizados na Estação de Floração e Cruzamento Serra do Ouro (Murici-AL) do Programa de Melhoramento Genético da Cana-de-açúcar (PMGCA), o número de plântulas por grama de *fuzz* tem variado de 0 a 652 plântulas por grama de *fuzz*, com média anual de 49 plântulas. Relata-se que neste programa, a RB92579 vem sendo frequentemente utilizada como genitora nas hibridações, tanto como produtora de semente quanto fornecedora de pólen. Nos cruzamentos biparentais, a RB92579 foi cruzada com 127

genitores entre 2000 e 2014, tendo produzido em média, 30 plântulas por grama de *fuzz*, independente da sua condição (PROGRAMA DE MELHORAMENTO GENÉTICO DA CANA-DE-AÇÚCAR, 2015).

#### 4.2.4 Massa seca

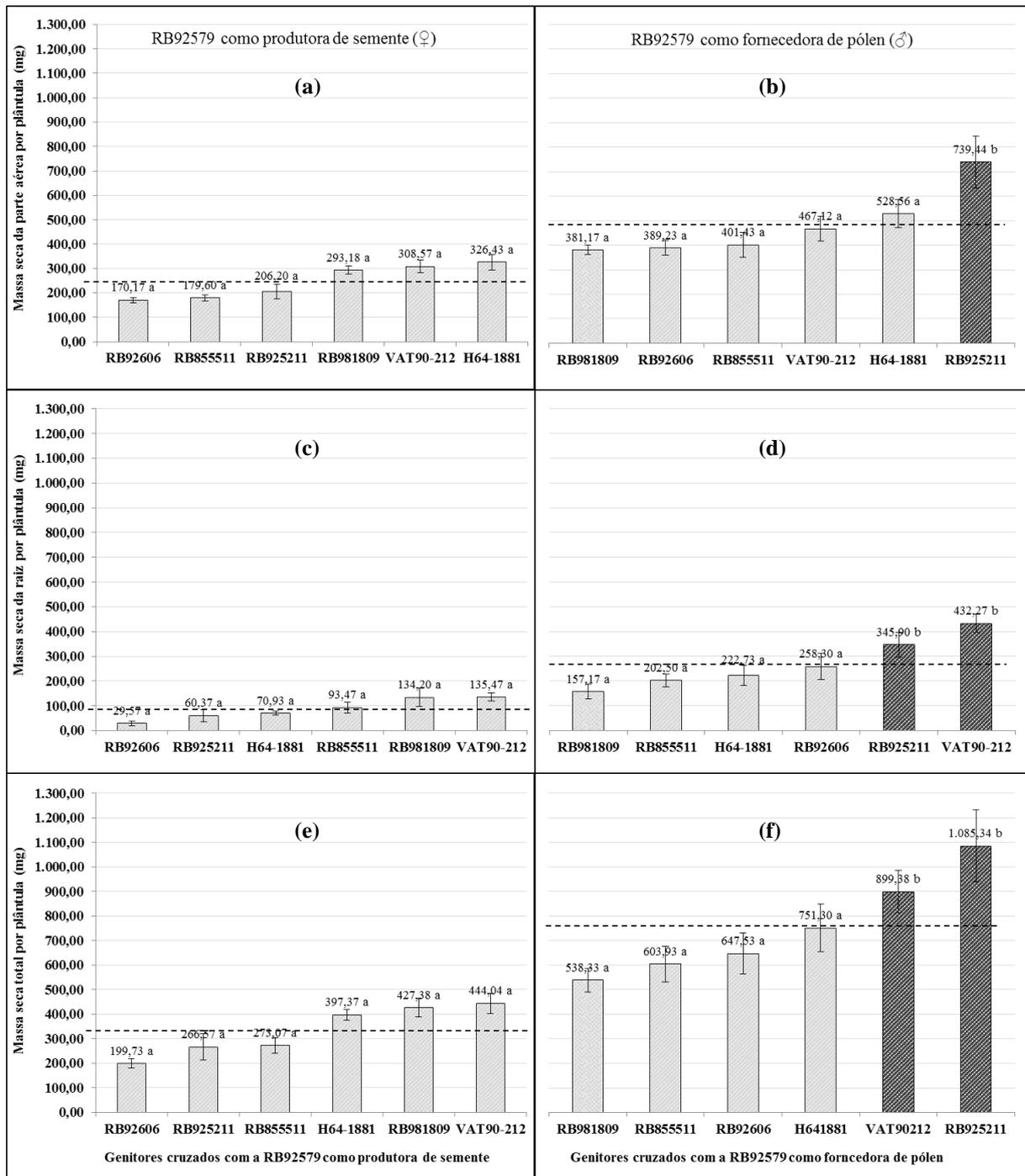
Na Figura 21 estão ilustradas a massa seca da parte aérea por plântula (MSPAP), massa seca da raiz por plântula (MSRP) e massa seca total por plântula (MSTP) de cana-de-açúcar, oriundas de sementes obtidas em cruzamentos com a RB92579 na condição de produtora de semente e como fornecedora de pólen. Observa-se que as mudas oriundas das cariopses de genitores que receberam pólen da RB92579, apresentaram massa seca superior às mudas originárias das cariopses da RB92579, tanto para a massa seca da parte aérea quanto da raiz, e conseqüentemente da massa seca total.

Na condição da RB92579 como produtora de semente, pode ser detectado o baixo vigor das mudas produzidas, expressado pelos baixos valores de massa seca das plântulas. Nesta condição, verifica-se que para todas as variáveis relacionadas à massa seca não houve diferenças significativas pelo teste F ( $p > 0,05$ ) entre os genitores. Logo, não se formou grupos de médias de genitores fornecedores de pólen para RB92579 pelo teste de agrupamento de médias de Scott-Knott. Isso revela que as mudas produzidas pela RB92579 na condição de produtora de semente, tiveram massa seca semelhantes, independentemente do genitor fornecedor de pólen. Verifica-se que os menores valores de massa seca foram obtidos pelo genitor RB92606, com valores de 170,17 mg (Figura 21a), 29,57 mg (Figura 21c) e 199,73 mg (Figura 21e), para as variáveis MSPAP, MSRP e MSTP, respectivamente. De outra parte, para a variável MSPAP, o maior valor (326,43 mg) foi alcançado pelo genitor H64-1881 (Figura 21a). Para as características MSRP e MSTP, a maior quantidade de massa seca foi obtida pelo genitor VAT90-212, com valores de 135,47 mg (Figura 21c) e 444,04 mg (Figura 21e), respectivamente.

Observa-se na Figura 22, que a massa seca do sistema radicular das plântulas oriundas de sementes geradas pela RB92579 são visivelmente inferiores à massa seca das raízes das mudas produzidas a partir de sementes obtidas de genitores que receberam pólen da RB92579. Certamente, caso essas plântulas fossem transplantadas para o campo, a grande maioria sentiria dificuldades no seu estabelecimento, em função dos estresses ocasionados pela dificuldade na captação de água por meio do sistema radicular. Além disso, pelos reduzidos volume e comprimento, a aderência do sistema radicular no substrato seria muito

limitada, gerando dificuldades operacionais no transplante, e problemas agrônômicos pós-transplante.

**Figura 21 - Gráficos de médias da massa seca da parte aérea, em mg (a, b); massa seca da raiz, em mg (c, d); e massa seca total, em mg (e, f), de plântulas produzidas a partir de cruzamentos da RB92579 na condição de produtora de semente (a, c, e) e como fornecedora de pólen (b, d, f).**



Fonte: Autor (2016).

Notas: <sup>(1)</sup> Médias de genitores cruzados com a RB92579 como fornecedora de pólen, seguidas de mesma letra nas barras, não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott no nível de 5% de probabilidade ( $p > 0,05$ ).

Avaliando-se a condição da RB92579 como fornecedora de pólen, verifica-se que houve a formação de dois grupos de médias pelo teste de Scott-Knott ( $p < 0,05$ ) para todas as características relacionadas à massa seca das plântulas. Para MSTP, houve variação de 538,33 mg a 1.085,34 mg, para a RB981809 e RB925211, respectivamente (Figura 21f). Para a característica MSPAP, os genitores foram os mesmos da MSTP, variando de 381,17 mg a 739,44 mg (Figura 21b). A MSRP apresentou mínimo de 157,17 mg e máximo de 432,27 mg, para a RB981809 e VAT90-212, respectivamente (Figura 21d). Destaca-se que para todas as características de massa seca a superioridade das mudas produzidas por meio do pólen da RB92579 foi tão expressiva em relação às plântulas oriundas das sementes geradas pela RB92579, que os maiores valores de massa seca alcançados nesta condição foram inferiores aos menores valores obtidos pela RB92579 na condição de fornecedora de pólen.

**Figura 22 - Massa seca de raízes de plântulas de cana-de-açúcar, obtidas de sementes produzidas em cruzamentos da RB92579 na condição de produtora de semente (RB92579 x GENITOR) e como fornecedora de pólen (GENITOR x RB92579).**



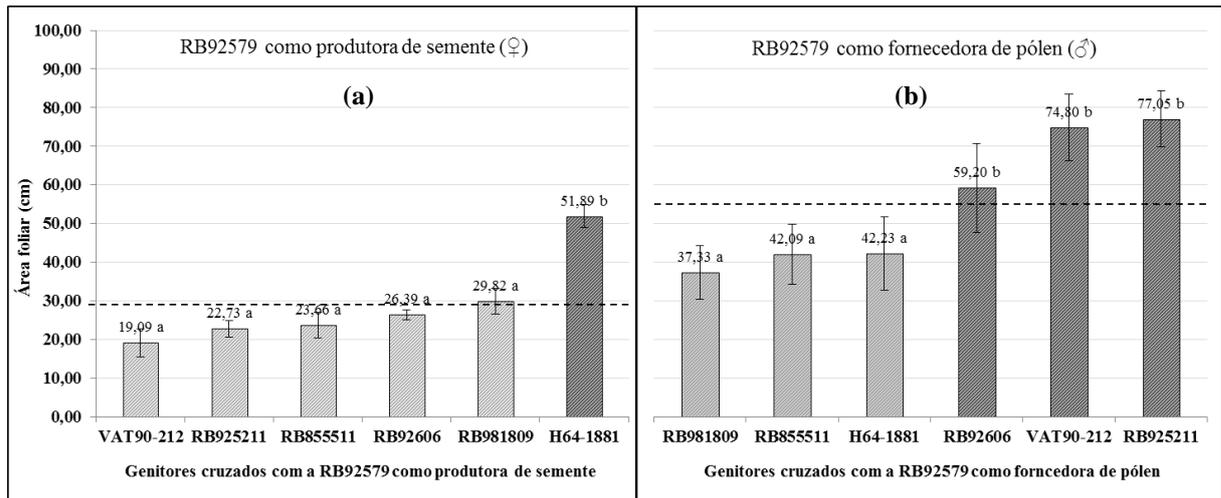
Fonte: Autor (2016).

#### 4.2.5 Área foliar

Observa-se na Figura 23, que as plântulas produzidas a partir de sementes da RB92579 na condição de produtora de semente, tiveram área foliar (AF) muito inferior às plântulas produzidas quando a RB92579 foi fornecedora de pólen. Como produtora de semente, a RB92579 produziu plântulas que apresentaram AF variando de 19,09 a 51,89 cm<sup>2</sup>, para os genitores VAT90-212 e H64-1881, respectivamente (Figura 23a). Na condição de fornecedora

de pólen da RB92579, houve variação de 37,33 cm<sup>2</sup> para a RB981809 a 77,05 cm<sup>2</sup> para RB925211 (Figura 23b).

**Figura 23 - Gráficos de médias da área foliar (cm<sup>2</sup>) de plântulas de cana-de-açúcar, oriundas de sementes produzidas em cruzamentos da RB92579 na condição de produtora de semente (a) e como fornecedora de pólen (b).**



Fonte: Autor (2016).

Notas: <sup>(1)</sup> Médias de genitores cruzados com a RB92579 como fornecedora de pólen, seguidas de mesma letra nas barras, não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott no nível de 5% de probabilidade ( $p > 0,05$ ).

#### 4.3 Considerações sobre possíveis interferências nas hibridações da RB92579 como produtora de sementes

Diversos pesquisadores relatam as interferências que podem ocorrer nas hibridações da cana-de-açúcar. Tais influências, de natureza genética, fisiológica ou ambiental podem atuar isoladamente ou em interação, afetando diretamente a produção de sementes de cana (BRETT, 1950; NAGATOMI; DUNCKELMAN, 1980; NATARAJAN et al., 1967). Conforme os resultados encontrados nesta pesquisa, pode-se afirmar que um ou mais fatores discutidos, pode estar interferindo na formação e produção de sementes pela RB92579. De acordo com Bewley et al. (2000), diversos fatores podem resultar na diminuição do potencial de produção de sementes, que vão desde falhas no desenvolvimento das anteras e dos óvulos, reações de incompatibilidade devida a interações negativas entre o pólen e o pistilo dos genótipos envolvidos, bem como falhas no desenvolvimento do próprio embrião. Para a cana-de-açúcar, a dificuldade dos estudos desses fenômenos são intensificados, visto a poliploidia e complexidade do gênero *Saccharum*. Nesta gramínea, assim como qualquer outra cultura poliploide com alto nível de heterozigose, são observados vários níveis na produção de

sementes, geralmente com baixo potencial fisiológico (KRISHNAMURTHI, 1977; NAGATOMI; DUNCKELMAN, 1980; RAO, 1980). Apesar da cana ter essa característica, os níveis de produção de sementes geradas pela RB92579 foi muito abaixo do que é observado na literatura. Logo, torna-se necessário mais estudos da anatomia do aparelho reprodutor e a fisiologia do processo de formação das sementes de cana.

Pesquisas recentes têm revelado que em alguns cruzamentos entre genótipos de cana-de-açúcar vem sendo constatado a ocorrência de reações de incompatibilidade, exercendo grande influência sobre a viabilidade das sementes híbridas (ALARMELU; SHANTHI, 2011). De acordo com Ferreira (2006), nessas reações, geralmente ocorrem insucessos de alguns cruzamentos para produzir sementes, devido a algum impedimento fisiológico. Além dos mecanismos de incompatibilidades, existem diversos estudos que evidenciam a influência materna para a formação e desenvolvimento de sementes (ROACH; WULFF, 1987), a qual é de fundamental importância para os programas de melhoramento genético de plantas. Tais influências podem ter origem do endosperma, devido à fertilização múltipla que resulta geralmente em um endosperma ( $3n$ ) com dois núcleos do genitor feminino e somente um núcleo do genitor fornecedor de pólen (WESTOBY, 1981). O endosperma contém enzimas importantes para a germinação e é também a fonte de nutrientes para o desenvolvimento do embrião (HARVEY; OAKS, 1974).

Nesta pesquisa, as sementes produzidas pela RB92579 na condição de produtora de semente (genitor feminino) foram estatisticamente inferiores às sementes produzidas pelos outros genitores que receberam pólen da RB92579, em relação a todas as características fisiológicas avaliadas (Tabela 3 e Tabela 6), principalmente para espiguetas férteis e número de plântulas por grama de *fuzz*. Esses resultados evidenciam que a RB92579 como genitor feminino não produz sementes com alta qualidade fisiológica, e sugerem que pode estar ocorrendo algum fenômeno fisiológico controlado geneticamente durante a formação da semente, em função da carga diferencial de genes maternos transmitidos pelos dois núcleos ( $2n$ ), ou por reações de incompatibilidade entre o estigma da RB92579 e o pólen dos genitores cruzados com esta variedade, além da interferência de fatores ambientais. De acordo com Brett (1953) e Dunckelman (1965), baixas temperaturas afetam negativamente a uniformidade da maturação dos grãos de pólen, a deiscência das anteras e a fertilidade do óvulo. A curta duração dos dias também exerce grande influência nesses processos fisiológicos (NATARAJAN et al., 1963; JAMES, 1969). Cesnik e Miocque (2004) mencionam que na Estação de Floração e Cruzamento Serra do Ouro (Murici, AL), a variedade Co290 apresenta predominância sexual oposta daquela encontrada no Havaí.

Visto que a RB92579 foi cruzada com seis diferentes genitores, somado ao excelente desempenho desta variedade como fornecedora de pólen, o baixo potencial na produção de sementes da RB92579 como genitor feminino, pode estar ligado a presença da macho-esterilidade em alguns genitores. De acordo Matsuoka et al. (2009), durante o processo da meiose, podem ocorrer algumas anormalidades, e quando associada à complexa constituição genética da cana-de-açúcar, nem sempre o pólen é fértil ou funcional, desta forma, ocorrem híbridos macho-estéreis ou que apresentam baixa porcentagem de pólen viável.

Uma variedade de grande importância para o melhoramento genético da cana, a NCo310, é macho-estéril, produzindo menos de 4% de pólen viável nas condições climáticas de Taiwan, sendo comumente utilizada como produtora de semente (genitor feminino) nas hibridações da cana-de-açúcar (SHIH; JUANG, 1974). Nesta condição, a NCo310 foi genitora de variedades importantes em diferentes regiões canavieiras do mundo, tais como a F146 em Taiwan, a Q124 na Austrália e diversas outras (NUSS; BRETT, 1995). Nesta pesquisa, a RB92579 teve péssimo desempenho como produtora de sementes, no entanto, apresentou excelente performance no fornecimento de pólen, favorecendo a produção de sementes dos genitores que receberam seu pólen. As excepcionais características agroindustriais desta variedade e o seu grande crescimento em área cultivada por todo o Brasil levam os melhoristas da cana-de-açúcar a utilizarem constantemente nas hibridações.

O PMGCA/CECA/UFAL que é obtentor da RB92579, produziu cerca de 4,5 milhões de plântulas entre 2000 e 2014, das quais 360 mil (8%) tiveram a RB92579 como genitor feminino ou masculino (PROGRAMA DE MELHORAMENTO GENÉTICO DA CANA-DE-AÇÚCAR, 2015). Esses esforços podem futuramente credenciá-la como uma importante genitora de variedades RB.

Em função do baixo desempenho da RB92579 como produtora de sementes, recomenda-se a realização de cruzamentos utilizando-a apenas como fornecedora de pólen, para garantir a produção de sementes com elevado potencial fisiológico, e assim aumentar as chances de obtenção de variedades superiores. Além disso, a continuidade dessa pesquisa é essencial para avaliar o índice de seleção das famílias em nível de campo, assim como o desempenho agroindustrial dos clones. E ainda, novas pesquisas são necessárias para estudar o sistema reprodutivo da RB92579.

## 5 CONCLUSÕES

- Nas hibridações da cana-de-açúcar, a RB92579 na condição de receptora de pólen apresenta sementes com baixo potencial fisiológico e baixa produção de plântulas;
- Sementes oriundas de hibridações em que a RB92579 atua com fornecedora de pólen para outros genitores, apresentam elevado potencial fisiológico e alta produção de plântulas;
- A RB92579 deve ser utilizada apenas como fornecedora de pólen nas hibridações da cana-de-açúcar.

## REFERÊNCIAS

- ALARMELU, S.; SHANTHI, R. M. Incompatibility studies in sugarcane (*Saccharum* spp.). **Indian Journal of Genetics and Plant Breeding**. v. 71, n. 1, p. 43-48, 2011.
- AMARAL, A. L. et al. Metodologia de Conservação de Pólen de Cana-de-açúcar. **Embrapa, comunicado técnico 127**, Aracajú, SE, p. 1-11, 2012. ISSN 1678-1937.
- ANDRADE, J. C. **Escorço histórico de antigas variedades de cana-de-açúcar**. Maceió: Asplana, 1985. 285 p.
- AQUILA, M.E.A. Tipos de diásporos e suas origens. In: FERREIRA, A.G.; BORGHETTI, F. (Org.). **Germinação: do básico ao aplicado**. Porto Alegre: ARTMED, 2004, p. 69-92.
- BACCHI, O. O. S. Botânica da cana-de-açúcar. In: ORLANDO FILHO, J. (Ed.). **Nutrição e adubação da cana-de-açúcar no Brasil**. Instituto de Açúcar e do Alcool. Programa Nacional de Melhoramento da Cana-de-açúcar – PLANALSUCAR. Piracicaba: PLANALSUCAR, 1983. n° 2, p. 25-40.
- BANCO NACIONAL DE DESENVOLVIMENTO ECONÔMICO E SOCIAL / CENTRO DE GESTÃO E ESTUDOS ESTRATÉGICOS. **Bioetanol de cana-de-açúcar: energia para o desenvolvimento sustentável**. Rio de Janeiro: BNDES, 2008. 316 p.
- BARBOSA, G.V.S. et al. A brief report on sugarcane breeding program in Alagoas, Brazil. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, Viçosa, v.2, p. 613-616, 2002.
- BARBOSA, G. V. S. et al. **Três novas variedades RB de cana-de-açúcar**. Rio Largo: UFAL/CECA, 2003. 16 p.
- 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 Sociedade dos Técnicos Açucareiros e Alcooleiros do Brasil - STAB, 9., 2008, Maceió. **Anais...** Maceió: STAB Regional Leste, 2008. p. 464-470.
- BARBOSA, G. V. S. **Contribuição do melhoramento genético da cana-de-açúcar para agroindústria canavieira de Alagoas**. 2014. 113 f. Tese (Doutorado em Produção vegetal) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2014.
- BARBOSA, M. H. P. et al. Efeito recíproco em cana-de-açúcar. Congresso Nacional da Sociedade dos Técnicos Açucareiros e Alcooleiros do Brasil - STAB, 8., 2002, Recife. **Anais...** Recife: STAB Regional Leste, 2002. p. 362-365.
- BARBOSA, M. H. P.; SILVEIRA, L. C. I. Melhoramento genético e recomendação de cultivares. In: SANTOS, F., BORÉM, A., CALDAS, C. (Ed.). **Cana-de-açúcar: Bioenergia, açúcar e álcool – tecnologias e perspectivas**. Viçosa: Editora UFV, 2010. p. 313-331.
- 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, MG, v.12, p. 87-98, 2012.

BERDING, N. et al. Plant Improvement of Sugarcane, In: JAMES, G. L. (Ed.). **Sugarcane**. 2. ed., Victoria: Blackwell Science, 2004. p. 20-53.

BERDING, N.; SKINNER, J. C. Improvement of sugarcane fertility by modification of cross-pollination environment. **Crop Science**, Madison, v. 20, p. 463-467, 1980.

BERDING, N.; SKINNER, J. C. Traditional breeding methods. In: **COPERSUCAR International Sugarcane Breeding Workshop**. São Paulo: COPERSUCAR, 1987. p. 269-320.

BEWLEY, J. D. et al. Reproductive development. In: BUCHANAN, B. B.; GRUISSEM, W.; JONES, R. L. (Ed.). **Biochemistry and molecular biology of plants**. Maryland: American Society of Plant Physiologists, 2000. p. 988-1043.

BLEICHER, J; TOKESHI, H. Effect of vacuum inoculation method on sugarcane caryopses colonization by *Ustilago scitaminea*. In: INTERNATONAL SOCIETY OF SUGARCANE TECHNOLOGISTS CONGRESS, v. 17, 1980, Manila. **Proceedings...** Manila: ISSCT, 1980. p.1446-1451.

BRAGA JR., R. L. C. et al. Evolução das áreas cultivadas com variedades de cana-de-açúcar no Brasil nos últimos vinte anos. **STAB Açúcar, Álcool e Subprodutos**, Piracicaba, v.30, p. 46-50, 2011.

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

BREAUX, R. D. Some breeding strategies with bi-parental and polycross. In: **COPERSUCAR International Sugarcane Breeding Workshop**. São Paulo: COPERSUCAR, 1987. p. 71-85.

BREAUX, R.D.; MILLER, J.D. Seed handling, germination and seedling propagation. In: HEINZ, D.J. (Ed.). **Sugarcane improvement through breeding**. Elsevier: Amsterdam, 1987. p.385-407.

BREMER, G. On the somatic chromosome numbers of sugar-cane forms and the chromosome numbers of indigenous indian canes. In: INTERNATONAL SOCIETY OF SUGARCANE TECHNOLOGISTS CONGRESS, v. 4, 1932, San Juan. **Proceedings...** San Juan: ISSCT, 1932. p.1-3.

BRETT, P. C. G. Flowering and pollen fertility in relation to sugar-cane breeding in Natal. In: INTERNATONAL SOCIETY OF SUGARCANE TECHNOLOGISTS CONGRESS, v. 7, 1950, Brisbane. **Proceedings...** Brisbane: ISSCT, 1950. p. 43-56.

BRETT, P. C. G. Temperature and ovule fertility of sugarcane in Natal. In: INTERNATONAL SOCIETY OF SUGARCANE TECHNOLOGISTS CONGRESS, v. 8, 1953, Kingston. **Proceedings...** Kingston: ISSCT, 1953. p. 463-465.

CABRAL, F. F. et al. Fertilidade de cruzamentos, potencial fisiológico e armazenamento de sementes de cana-de-açúcar. **Revista Brasileira de Tecnologia Aplicada nas Ciências Agrárias**, Guarapuava, v.4, n.1, p.66-82, 2011.

- CAIEIRO, J. T. et al. Physical purity and germination of sugarcane seeds (caryopses) (*Saccharum* spp.). **Revista Brasileira de Sementes**, vol. 32, nº 2 p. 140-145, 2010.
- CARVALHO, L. C. C. Cenário sucroalcooleiro: as esperanças do ano novo. **STAB Açúcar, Álcool e Subprodutos**. Piracicaba, v. 21, n.3, p. 8-9, 2003.
- CARVALHO, N. M.; NAKAGAWA, J. **Sementes: ciência, tecnologia e produção**. 4. ed. Campinas: Fundação Cargill, 2000. 588 p.
- CASAGRANDE, A. A. **Tópicos de morfologia e fisiologia da cana-de-açúcar**. Jaboticabal: FUNEP, 1991. 157 p.
- CENTRO DE TECNOLOGIA CANAVIEIRA. **Censo varietal e de produtividade em 2012**. Piracicaba: CTC, 2013. 20 p.
- CESNIK, R.; MIOCQUE, J. **Melhoramento da cana-de-açúcar**. Brasília: Embrapa, 2004. 307 p.
- CHASE, A.; SENDULSKY, T. **Primeiro livro de gramíneas: noções sobre a estrutura com exemplos da flora brasileira**. São Paulo: Instituto de Botânica, 1991. 125p.
- CHILTON, S. J. P. et al. Production of true seed of sugarcane in Louisiana. In: INTERNATONAL SOCIETY OF SUGARCANE TECHNOLOGISTS CONGRESS, v. 12, 1965, San Juan. **Proceedings...** San Juan: ISSCT, 1965. p. 785-789.
- CLEMENTS, H. F. Flower Induction of *Saccharum* Species and Hybrid Clones. In: INTERNATONAL SOCIETY OF SUGARCANE TECHNOLOGISTS CONGRESS, v. 14, 1971, Louisiana. **Proceedings...** Louisiana: ISSCT, 1971. p. 317-322.
- CLEMENTS, H. F; AWADA, M. Experiments on the Artificial Induction of flowering in sugarcane breeding. In: INTERNATONAL SOCIETY OF SUGARCANE TECHNOLOGISTS CONGRESS, v. 12, 1965, San Juan. **Proceedings...** San Juan: ISSCT, 1965. p. 795-812.
- COLEMAN, R. E. Factors involved in flowering of sugarcane (*Saccharum* spp.). In: INTERNATONAL SOCIETY OF SUGARCANE TECHNOLOGISTS CONGRESS, v. 10, 1959, Honolulu. **Proceedings...** Honolulu: ISSCT, 1959. p. 805-814.
- COLEMAN, R. E. Physiology of flowering in sugarcane. In: INTERNATONAL SOCIETY OF SUGARCANE TECHNOLOGISTS CONGRESS, v. 13, 1968, Taipei. **Proceedings...** Taipei: ISSCT, 1968. p. 992-1000.
- COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **Acompanhamento da Safra Brasileira - Cana-de-açúcar. Quarto levantamento Safra 2014/2015**. Brasília: CONAB, abril 2015. 34 p.
- CORRENS, C. Vererbungsversuche mit blass (gelb) grunen und buntblattrigen sippen bei *Mirabilis jalapa*, *Urtica pilulifera* und *Lunaria annua*. **Z. Vererbungs.** v. 1, p. 291-329, 1909.
- CUENYA, M. I.; ROMERO, C.D.; CHAVANNE, E.R. Producción de semilla botánica de caña de azúcar. **Avance Agroindustrial**, Tucumán, v. 18, nº 72, p. 5 – 8, 1998.

- DAN, E. L. et al. 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.
- DANIELS, J.; ROACH, B. T. Taxonomy and evolution. In: HEINZ, D. J. (Ed.). **Sugarcane Improvement Through Breeding**. Amsterdam: Elsevier, 1987. p. 7-84.
- DAROS, E. et al. **45 anos de variedades RB de cana-de-açúcar: 25 anos de RIDESA**. 1. ed. Curitiba: Graciosa, 2015. 156 p.
- D'HONT A. et al. Characterisation of the double genome structure of modern sugarcane cultivars (*Saccharum* spp.) by molecular cytogenetics. **Molecular and General Genetics**, v. 250, p. 405–413, 1996.
- DIAS, M. C. L. L.; BARROS, A. S. R. Aferição de testes de vigor para sementes de feijão. **Informativo ABRATES**, Londrina, v. 3, n.1, p. 7-23, 1992.
- DUNCKELMAN, P. H. Effect of controlled preconditioning of pollen parents on sugarcane seed production at Canal Point, Florida. In: INTERNATIONAL SOCIETY OF SUGARCANE TECHNOLOGISTS CONGRESS, v. 12, 1965, San Juan. **Proceedings...** San Juan: ISSCT, 1965. p. 823-828.
- EDMÉ, S. J. et al. Genetic contribution to yield gains in the Florida sugarcane industry across 33 years. **Crop Science**, Madison, v.45, p. 92-97, 2005.
- EMPRESA DE PESQUISA ENERGÉTICA / MINISTÉRIO DE MINAS E ENERGIA. **Balanco Energético Nacional/Relatório Final**. Brasília: EPE/MME, 2015. 289 p.
- ETHIRAJAN, A. S. Sugarcane hybridization techniques. In: **COPERSUCAR International Sugarcane Breeding Workshop**. São Paulo: COPERSUCAR, 1987. p. 129-138.
- FAIREY, D.T. Pollination and seed set in herbage species: a review of limiting factors. **Journal of Applied seed production**. v.11, n.1 (suppl.), p.6-9, 1993.
- FERNANDES, A.C. **Cálculos na agroindústria da cana-de-açúcar**. 2. ed. Piracicaba: EME, 2003. 240p.
- FERREIRA, P. V. **Estatística experimental aplicada à Agronomia**. 3. ed. Maceió: EDUFAL, 2000, 420 p.
- FERREIRA, P. V. **Melhoramento de Plantas: Princípios e Perspectivas**. v. 1. Maceió: EDUFAL, 2006. p. 1-110.
- GHELLER, A. C. A. Variedades de cana-de-açúcar cultivadas no Estado de São Paulo em 1995 – censo varietal. In: CONGRESSO NACIONAL DA STAB, 6, 1996, Maceió. **Anais...** Maceió: STAB Regional Leste, 1996. p.173-180.
- GÓMEZ, A. F. **Caña de azúcar**. 2. ed. Caracas: Edicampa, 1962. 661 p.
- GONZALEZ, V. et al. Genética de la reaccion de la caña de azucar (*Saccharum* spp) a *Puccinia melanocephala*, causante de la roya. **Agronomia Tropical**, v. 37, p. 99-116, 1987.

GRAÇA, M. E. C. et al. Influência de reguladores de crescimento e da adubação no Florescimento e crescimento de *Eucalyptus dunnii* MAID. **Boletim de Pesquisa Florestal**, Colombo, n. 13, p.47-56, 1986.

HARVEY, B. M. R., OAKS, A. The hydrolysis of endosperm protein in *Zea mays*. **Plant Physiology**. v. 53, p. 453-457, 1974.

HEINZ, D. J. **Temperature effect on fuzz (true seed) germination**. Honolulu: Hawaii Sugarcane Planters Association, 1975. 7 p. (Annual report).

HEINZ, D. J. Sugarcane improvement: current productivity and future opportunities. In: **COPERSUCAR International Sugarcane Breeding Workshop**. São Paulo: COPERSUCAR, 1987. p. 55-70.

HEINZ, D. J.; TEW, T. L. Hybridization procedures. In: HEINZ, D. J. (Ed.). **Sugarcane Improvement Through Breeding**. Amsterdam: Elsevier, p. 313-342. 1987.

HOGARTH, D. M. New varieties lift sugar production. **Producers Review**, v.66, p. 21-22, 1976.

HOGARTH, D. M.; SKINNER, J. C. Computerisation of parental selection. In: **COPERSUCAR International Sugarcane Breeding Workshop**. São Paulo: COPERSUCAR, 1987. p. 87-101.

INSTITUTO DE PESQUISAS E ESTUDOS FLORESTAIS. Fatores Externos (ambientais) que Influenciam na Germinação de Sementes. **Informativo Sementes IPEF - Abril 1998**. Disponível em: <<http://www.ipef.br/tecsementes/germinacao.asp>>. Acesso em: 09 ago. 2015.

INSTITUTO DO AÇÚCAR E DO ÁLCOOL. **BRASIL/AÇÚCAR**. Rio de Janeiro: MIC/IAA, Coleção Canavieira nº 8, 1972. 244 p.

JAMES, N. Delayed flowering and pollen production in male-sterile sugarcane subject to extended daylength. **Crop Science**, Madison, v. 9, p. 279-282, 1969.

JAMES, G. L. An Introduction to Sugarcane. In: JAMES, G. L. (Ed.). **Sugarcane**. 2. ed. Victoria: Blackwell Science, 2004, p. 1-19.

JESWIET, J. The development of selection and breeding of the sugarcane in Java. In: INTERNATIONAL SOCIETY OF SUGARCANE TECHNOLOGISTS CONGRESS, v. 3, 1929, Soerabaia. **Proceedings...** Soerabaia: ISSCT, 1929. p. 44-57.

KOZLOWSKI, T. T.; GUNN, C. R. Importance and characteristics of seeds. In: KOZLOWSKI, T. T. (Ed.). **Seed biology**. New York: Academic Press, 1972. p. 1-20.

KRISHNAMURTHI, M. The sugarcane pollen. In: INTERNATIONAL SOCIETY OF SUGARCANE TECHNOLOGISTS CONGRESS, v. 16, 1977, São Paulo. **Proceedings...** São Paulo: ISSCT, 1977. p. 157-164.

LANDELL, M. G. A.; BRESSIANI, J. A. Melhoramento genético, caracterização e manejo varietal. In: DINARDO-MIRANDA, L. L., VASCONCELOS, A. C. M.; LANDELL, M. G. A. (Ed.). **Cana-de-açúcar**. Campinas: IAC, 2008. p. 101-179.

- LARCHER, W. **Ecofisiologia Vegetal**. Tradução: PRADO, C. H. B. A. São Carlos: Rima, 2000, 531 p.
- LUCCHESI, A. A. Cana-de-açúcar (*Saccharum* spp.). In: CASTRO, P.C.; KLUGE, R.A. (Coord.). **Ecofisiologia de culturas extrativas: cana-de-açúcar; seringueira; coqueiro; dendezeiro e oliveira**. Cosmópolis: Stoller do Brasil, 2001. p.13-45.
- MACHADO, E. C. et al. Índices biométricos de duas variedades de cana-de-açúcar. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 17, n. 9, p. 1323-1329, 1982.
- MACHADO JR, G. R. et al. Sugarcane breeding in Brazil: The COPERSUCAR. In: **COPERSUCAR International Sugarcane Breeding Workshop**. São Paulo: COPERSUCAR, 1987. p. 217-232.
- MACHADO JR, G. R. et al. Emasculation of sugarcane tassels using hot water. In: INTERNATIONAL SOCIETY OF SUGARCANE TECHNOLOGISTS CONGRESS, v. 22, 1995, Carthage. **Proceedings...** Carthage: ISSCT, 1995. p. 346-352.
- MAGUIRE, J.D. Speed of germination: aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. **Crop Science**, Madison, v.2, n.2, p.176-177, 1962.
- MANGELSDORF, A. J. Sugar-cane Breeding Methods. In: INTERNATIONAL SOCIETY OF SUGARCANE TECHNOLOGISTS CONGRESS, v. 10, 1959, Honolulu. **Proceedings...** Honolulu: ISSCT, 1959. p. 694-701.
- MANGELSDORF, A. J. **Um programa de melhoramento da cana-de-açúcar para a agroindústria canvieira do Brasil**. Rio de Janeiro: IAA/DAP, 1966. 63 p.
- MARCOS FILHO, J. Pesquisa sobre vigor de sementes de hortaliças. **Informativo ABRATES**, Londrina, v. 11, n. 3, p. 63-75, 2001.
- MARCOS FILHO, J. **Fisiologia de sementes de plantas cultivadas**. Piracicaba: FEALQ. 2005. 495p.
- MARCOS FILHO, J. Seed vigor testing: an overview of the past, present and future perspective. **Scientia Agricola**. v. 2, n. 4, p. 363-374, 2015.
- MATSUOKA, S. et al. Melhoramento de cana-de-açúcar. In: BORÉM, A. (Ed.). **Melhoramento de espécies cultivadas**. 2. ed. Viçosa: Editora da UFV, 2005. p.205 - 274.
- MATSUOKA, S. et al. Hibridação da cana-de-açúcar. In: BORÉM, A. (Ed.). **Hibridação artificial de plantas**. Viçosa: Editora da UFV, 2009. p. 251-304.
- MAURITIUS SUGAR INDUSTRY RESEARCH INSTITUTE. **Sugarcane variety improvement**. Mauritius: MSIRI, Annual Report, 2010. 14 p.
- MING, R. et al. Sugarcane improvement through breeding and biotechnology. In: JANICK, J. (Ed.). **Plant Breeding Reviews**, v.27. New Jersey: John Wiley & Sons Inc, 2006. p.15-118.
- MONTGOMERY, D. C. **Design and Analysis of Experiments**. 5. ed. New York: John Wiley & Sons, 2001. 682 p.

- MOORE, P. H. Anatomy and Morphology. In: HEINZ, D.J. (Ed.). **Sugarcane improvement through breeding**. Elsevier: Amsterdam, 1987a. p. 85-142.
- MOORE, P. H. Physiology and control of flowering. In: **COPERSUCAR International Sugarcane Breeding Workshop**. São Paulo: COPERSUCAR, 1987b. p. 103-128.
- MOORE, P. H.; NUSS, K. J. Flowering and flower synchronization. In: HEINZ, D. J. (Ed.). **Sugarcane improvement through breeding**. Amsterdam: Elsevier, p. 273-311. 1987.
- MOURA, G. L. **Análise de herança da resistência à ferrugem da cana-de-açúcar *P. melanocephala* H. & P. Syd.** 2004. 46 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, SP, 2004.
- MOZANBANI, A, E. et al. História e morfologia da cana-de-açúcar. In: SEGATO, S. V. PINTO, A. S.; JENDIROBA, E.; NÓBREGA, J. C. M. (Org.). **Atualização em produção de cana-de-açúcar**. Piracicaba: CP 2, 2006. p. 11-318.
- NAGATOMI, S. DUNCKELMAN, P. H. Relationship of pollen and pistil characteristics to setting of true seeds in sugarcane crosses. In: INTERNATIONAL SOCIETY OF SUGARCANE TECHNOLOGISTS CONGRESS, v. 17, 1980, Manila. **Proceedings...** Manila: ISSCT, 1980. p.1216-1235.
- NATARAJAN, B. V. et al. On certain genetic factors concerned in the production of viable seed in sugarcane. **Indian Jour. Sug. Res. Dev.**, v. 7, n. 4 p. 270-273, 1963.
- NATARAJAN, B. V. et al. Relative effects of parents on some economic characters in sugarcane. **Euphytica**, v.16, n.1, p. 104-108, 1967.
- NUSS, K. J.; BRETT, P. G. C. The release of variety NCo31 0 in 1945 and its impact on the sugar industry. **Proceedings of the South African Sugar Technologists Association**, v. 69 p. 3-8, 1995.
- OLAOYE, G.; ADAMS, O. M. Effects of Different Growth media on Germination and Perform of sugarcane fuzz (seeds). **Bioscience Research Communications**, v. 8, n. 2, p. 117-122,1996.
- PÁDUA, G.P. Vigor de sementes e seus possíveis efeitos sobre a emergência em campo e produtividade. **Informativo ABRATES**, Londrina, v. 8, n. 1/2/3, p. 46-49, 1998.
- PIERRE, J. S. et al. Poor fertility, short longevity, and low abundance in the soil seed bank limit volunteer sugarcane from seed. **Frontiers in Bioengineering and Biotechnology**, v. 3, n. 83, p. 1-1, 2015.
- PIERRE, J. S. et al. Abiotic Limits for Germination of Sugarcane Seed in Relation to Environmental Spread. **Tropical Plant Biology**, v. 7, p.100-110, 2014.
- PROGRAMA DE MELHORAMENTO GENÉTICO DA CANA-DE-AÇÚCAR. **Produção de sementes da RB92579.xlsx**: Banco de Dados do Programa de Melhoramento Genético da Cana-de-açúcar do CECA/UFAL. Rio Largo: UFAL, 2015.
- RAMALHO, M. A. P. et al. **Genética na Agropecuária**. 5. ed. Lavras: UFLA, 2012. 565 p.

- RAO, P. S. Fertility, seed storage and seed viability in sugarcane. In: INTERNATIONAL SOCIETY OF SUGARCANE TECHNOLOGISTS CONGRESS, v. 17, 1980, Manila. **Proceedings...** Manila: ISSCT, 1980. p. 1236-1240.
- RAVEN, P. H. et al. **Biologia Vegetal**. 7. ed. Coord. Tradução: KRAUS, J.E. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2007. 906 p.
- ROACH; WULFF, 1987. Maternal Effects in Plants. **Annual Review of Ecology and Systematics**, v. 18, p. 209-235, 1987.
- RODRIGUES, J. D. **Fisiologia da cana-de-açúcar**. Botucatu: UNESP, 1995. 99 p.
- RODRÍGUEZ, O. A. Germinación de la semilla sexual de caña de azúcar en Venezuela. **Revista Caña de Azúcar**, v. 2, n. 1, p. 30-38, 1984.
- SANTANA, D. G; RANAL, M. A. **Análise da germinação: um enfoque estatístico**. Brasília: Universidade de Brasília, 2004. 248 p.
- SANTOS, H. D. L. **Solução conservante floral como alternativa à solução havaiana na hibridação da cana-de-açúcar (*Saccharum spp.*)**. 2015. 48 f. Dissertação (Mestrado em Produção vegetal) - Universidade Federal de Alagoas, Rio Largo, 2015.
- SANTOS, J. M. **Marcadores microssatélites aplicados ao programa de melhoramento genético da cana-de-açúcar da RIDESEA**. 2012. 140 f. Tese (Doutorado em Biotecnologia) – Rede nordeste de biotecnologia – Universidade Federal de Alagoas, Maceió, 2012.
- SANTOS, J. M. et al. Four decades of contribution from Serra do ouro for the sugarcane agro-industry of Brazil. **Journal of Sugarcane Research**, v. 2, n. 2, p. 15-20, 2012.
- SANTOS, J. M. et al. Efficiency of biparental crossing in sugarcane analyzed by SSR markers. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v. 14, p. 102-107, 2014.
- SCOTT, A. J.; KNOTT, M. A cluster analysis method for grouping means in the analysis of variance. **Biometrics**, v.30, p. 507-12, 1974.
- SEGATO, S. V. et al. Aspectos fenológicos da cana-de-açúcar. In: SEGATO, S. V. PINTO, A. S.; JENDIROBA, E.; NÓBREGA, J. C. M. (Org.). **Atualização em produção de cana-de-açúcar**. Piracicaba: CP 2, 2006. p. 19-36.
- SHIH, S. C.; JUANG, P. Y. The role of NCo310 in sugarcane breeding in Taiwan. In: INTERNATIONAL SOCIETY OF SUGARCANE TECHNOLOGISTS CONGRESS, v. 15., 1974, Durban. **Proceedings...** Durban: ISSCT, 1974. p.82-88.
- SILVA, M. A. et al. Comparação de ambientes na germinação de cariopses de cana-de-açúcar. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 34, p. 1604-1609, 2010.
- SILVA, W. M. Production of sugarcane seedlings by the method of fuzz processing and early transplantation. In: INTERNATIONAL SOCIETY OF SUGARCANE TECHNOLOGISTS CONGRESS, v. 16., 1977, São Paulo. **Proceedings...** São Paulo: ISSCT, 1977. p. 918-924.
- SORDI, R.A. et al. Indicadores de herdabilidade e avaliação da resistência de clones RB à ferrugem da cana-de-açúcar. **Brasil açucareiro**, v.106, p. 18-23, 1988.

- SREENIVASAN, T. V. et al. Cytogenetics. In: HEINZ, D. J. (Ed.). **Sugarcane improvement through breeding**. Amsterdam: Elsevier, p. 211-253. 1987.
- TAI, P. Y. P. et al. Inheritance of resistance to rust in sugarcane. **Field Crops Research**, v. 4, p. 261-268, 1981.
- TAIZ, L.; ZEIGER, E. Tradução: SANTARÉM, E. R. et al. **Fisiologia vegetal**. 3. ed. Porto Alegre: Artmed, 2004. 719 p.
- TEW, T. L. New varieties. In: HEINZ, D. J. (ed.). **Sugarcane Improvement Through Breeding**. Amsterdam: Elsevier, 1987. p. 559-594.
- VAN DILLEWINJ, C. **Botany of sugarcane**. Waltham: Chronica Botanica, v. 1, 1952. 196 p.
- WACLAWOVSKY, A. J. et al. Sugarcane for bioenergy production: an assessment of yield and regulation of sucrose content. **Plant Biotechnology Journal**, v.8, p. 263-276, 2010.
- WARNER, G. The philosophy of sugarcane breeding in Hawaii. In: INTERNATIONAL SOCIETY OF SUGARCANE TECHNOLOGISTS CONGRESS, v. 8, 1953, Kingston. **Proceedings...** Kingston: ISSCT, 1953. p. 410-415.
- WESTOBY, M. How diversified seed germination behavior is selected. **The American Naturalist**. v. 118, p. 882-885, 1981.