

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA  
MESTRADO EM MELHORAMENTO GENÉTICO DE PLANTAS**

**ROBSON DA SILVA RAMOS**

**CONSERVAÇÃO E VIABILIDADE DE PÓLEN EM CANA-DE-AÇÚCAR**

**RECIFE  
2016**

**ROBSON DA SILVA RAMOS**

**CONSERVAÇÃO E VIABILIDADE DE PÓLEN EM CANA-DE-AÇÚCAR**

Dissertação apresentada a Universidade Federal Rural de Pernambuco, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia - Melhoramento Genético de Plantas, para obtenção do título de Mestre em Melhoramento Genético de Plantas.

**COMITÊ DE ORIENTAÇÃO:**

Prof. Dr. Edson Ferreira da Silva - Orientador – UFRPE

Dr. Luiz José Oliveira Tavares de Melo - Coorientador – EECAC/UFRPE

**RECIFE**

**2016**

Ficha catalográfica

R175c Ramos, Robson da Silva  
Conservação e viabilidade de pólen em cana-de-açúcar /  
Robson da Silva Ramos. – Recife, 2016.  
86 f. : il.

Orientador: Edson Ferreira da Silva.  
Dissertação (Mestrado em Melhoramento Genético de  
Plantas)  
– Universidade Federal Rural de Pernambuco, Departamento  
de Agronomia, Recife, 2016.  
Inclui referências, anexo(s) e apêndice(s).

1. Melhoramento genético 2. Híbridaçãõ 3. Assincronia  
floral  
4. Variabilidade genética 5. *Saccharum* spp. I. Silva, Edson  
Ferreira  
da, orientador II. Título

CDD 581.15

# CONSERVAÇÃO E VIABILIDADE DE PÓLEN EM CANA-DE-AÇÚCAR

**ROBSON DA SILVA RAMOS**

Dissertação defendida e aprovada pela Banca Examinadora em: 29/01/2016.

## **ORIENTADOR:**

---

Prof. Dr. Edson Ferreira da Silva - UFRPE

## **EXAMINADORES:**

---

Dr. Djalma Euzébio Simões Neto

---

Dra. Simone Santos Lira Silva

**RECIFE**

**2016**

**O amor me carrega  
à lugares que o conhecimento  
nunca irá alcançar.**

**Robson da Silva Ramos  
Carpina, 02/12/2012.**

## OFEREÇO

Aos meus pais Antônio Gonçalves Ramos (*in memoriam*) e Iracema José da Silva Ramos, minha eterna gratidão por lutar incondicionalmente por sua família, pelo amor, carinho, broncas, pelo incentivo a busca de conhecimento e melhorias dos padrões éticos morais.

## **AGRADEÇO EM ESPECIAL**

A minha noiva Ana Carla Felipe Grama e Silva (*futura Ramos*) por me conceder tantas alegrias e ter compartilhado de muitas dores, sempre me ajudando a reerguer a cabeça e a projetar um futuro melhor para nossas famílias. Pelo amor incondicional, carinho, confiança, dedicação e cumplicidade.

## AGRADECIMENTOS

Ao Soberano Senhor Jeová e ao seu amado filho Jesus Cristo por unir os meus pais, permitindo que se constituísse essa família que amo tanto. Aos meus pais Antônio Gonçalves Ramos (*in memoriam*) e Iracema José da Silva Ramos por serem tão maravilhosos e por literalmente me concederem a vida e dedicarem suas vidas pelos seus filhos. Pela oportunidade de crescer com uma formação sólida em uma família estruturada que vivencia cada momento de nossas vidas na íntegra.

Aos meus irmãos Ralph da Silva Ramos, Romulo da Silva Ramos e Raquel da Silva Ramos por me aguentarem toda a vida dividindo muitas dores e alegria. Por ajudarem os meus pais a me criar e principalmente por serem pessoas íntegras me deixando um excelente exemplo de vida, superação e moral.

A minha noiva Ana Carla Felipe Grama e Silva (futura Ramos) e toda a sua família Francisco Grama e Silva, Severina Grama e Silva, Luiz Carlos Grama e Silva e Merivaldo por permitirem que eu faça parte de sua família.

A todos os meus familiares que estão sempre por perto dando aquela força e pelo amor. Serei sempre grato. Em especial a minha Tia Irene.

Ao meu orientador Edson Ferreira da Silva, que com muitas broncas conseguiu me ajudar a concluir mais essa etapa, pelas orientações não apenas para o curso do mestrado e sim para o curso da vida.

A Adriane Leite do Amaral pelos ensinamentos das técnicas e por me ajudar a despertar a curiosidade sobre os temas abordados neste trabalho.

Aos membros da banca examinadora Djalma Euzébio e Simone Lira, pelas fundamentais contribuições e recomendações.

Ao meu chefe, conselheiro, padrinho e amigo Djalma Euzébio Simões Neto por contribuir plenamente na minha formação. Pelo exemplo de vida. Por estar junto em todos os momentos. Pela honra de seus ensinamentos e principalmente por ser um pai para mim.

Aos amigos da EECAC que me conhecem desde que nasci em especial a Suzana Menezes e Andréa Chaves que trazem conforto com o seu carinho, me acolhendo

como a um filho, sempre ajudando a organizar os meus pensamentos e por se preocupar comigo e com toda a minha família. Vocês são pessoas iluminadas.

Aos amigos que sempre estão juntos no dia a dia, meu irmãozão Álvaro Eugênio, Lamonier Ramos, João Albuquerque, Thamara Albuquerque, Fabian Santana, Simone Lira, Elder Velez, Leonam José, Amaro Epifânio, Anderson, Anderson Michel, Moacir Lucas, José Carlos Adelino, José Sandro Soares Pereira, Dinho, Luiz Tavares, Eduardo Montenegro, Climário, ao Velho Zoir, Joel Junior (Jumba), Diogo Duque, Rafael Guilherme, Rafael de Oliveira, Natiana Oliveira, Sumara Melo, Andréa Chaves, Ismael Gaião, Paulo Rocha, Walber Douglas, Morgana Kelly, Rosana Lima, Kleber, Clayton Souza, Almir, meu irmãozinho Júlio Cesar, Edson Luna, Mery Lemos, Juliano Holanda, Ester Lemos, Eduardo Canela, Glauce Patrício, Indira Macedo e a tantos outros amigos e parentes que me são caros.

Aos Amigos da Faculdade Salesiana, que são grandes companheiros nas batalhas Romulo, Diego, Simone, Dani, Heidi, Jairo, Thamilles, Rafa, Cris e todos os demais. Em especial aos professores Alexandre Libânio, Dilma Aguiar e Fatima Carvalho.

Aos professores da UFRPE pelos seus ensinamentos, pela compreensão e por nos dar a honra da amizade.

A todos os pesquisadores que me serviram de referência para as pesquisas.

## LISTA DE FIGURAS

Páginas

### **CAPÍTULO II - VIABILIDADE POLÍNICA DA CANA-DE-AÇÚCAR APÓS ARMAZENAMENTO**

**Figura 1.** Regressão dos valores obtidos do terço superior ( ■ ), inferior ( ◆ ) e média ( ▲ ) para perda da viabilidade do pólen no decorrer do tempo de armazenamento. A. genótipo RB813804, B. genótipo RB931011, C. genótipo RB872552, D. genótipo RB863129.....48

### **CAPÍTULO III - CORRELAÇÃO VIABILIDADE POLÍNICA E FERTILIDADE DA CARIÓPSE EM CANA-DE-AÇÚCAR**

**Figura 1.** Correlação de Spearman para as variáveis viabilidade polínica e fertilidade da cariópse.....72

## LISTA DE TABELAS

Páginas

### **CAPÍTULO II - VIABILIDADE POLÍNICA DA CANA-DE-AÇÚCAR APÓS ARMAZENAMENTO**

- Tabela 1.** Identificação dos clones e variedades de cana-de-açúcar, avaliadas quanto a viabilidade polínica, com respectivos genitores e procedência.....42
- Tabela 2.** Análise de variância, delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial, dos valores da viabilidade polínica do terço superior e inferior da panícula de genótipos de cana-de-açúcar, com coeficiente de variação.....44
- Tabela 3.** Análise do desdobramento da interação genótipo x secção da panícula, com teste de Tukey a 5% de probabilidade para os valores da viabilidade polínica do terço superior e inferior da panícula de genótipos de cana-de-açúcar.....44
- Tabela 4.** Análise de variância, delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial, dos valores médios da viabilidade polínica da panícula, com coeficiente de variação.....46
- Tabela 5.** Análise do desdobramento da interação genótipo x dias de armazenamento, com teste de Tukey a 5% de probabilidade para os valores médios da viabilidade polínica da panícula.....46

### **CAPÍTULO III - CORRELAÇÃO VIABILIDADE POLÍNICA E FERTILIDADE DA CARIÓPSE EM CANA-DE-AÇÚCAR**

- Tabela 1.** Identificação dos clones, variedades de cana-de-açúcar e seus genitores, avaliados quanto a viabilidade polínica.....65
- Tabela 2.** Identificação dos cruzamentos realizados para avaliar a correlação entre a viabilidade polínica e a fertilidade da cariópse.....67
- Tabela 3.** Resultado da análise de variância, em delineamento inteiramente casualizado, dos valores médios da viabilidade polínica dos genótipos avaliados para fins de classificação dos genitores.....69
- Tabela 4.** Agrupamento dos valores médios de viabilidade polínica dos genótipos avaliados de acordo com o teste de Schott e Knott (1974), para fins de recomendação dos genitores em cruzamentos biparentais.....69
- Tabela 5.** Valores médios da viabilidade polínica e fertilidade da cariópse dos cruzamentos utilizados no estudo de correlação.....71

## SUMÁRIO

CAPÍTULO I - INTRODUÇÃO GERAL E REVISÃO DE LITERATURA.....	12
RESUMO.....	13
ABSTRACT .....	14
1. INTRODUÇÃO .....	15
2. REVISÃO DE LITERATURA .....	17
2.1 CLASSIFICAÇÃO BOTÂNICA DA CANA-DE-AÇÚCAR .....	18
2.2 IMPORTÂNCIA ECONÔMICA DA CULTURA DA CANA-DE-AÇÚCAR .....	19
2.3 EVOLUÇÃO E MELHORAMENTO GENÉTICO DA CANA-DE-AÇÚCAR.....	20
2.4 BIOLOGIA FLORAL DA CANA-DE-AÇÚCAR .....	22
2.5 HIBRIDAÇÃO EM CANA-DE-AÇÚCAR .....	23
2.6 VIABILIDADE DE PÓLEN COMO PARÂMENTRO PARA RECOMENDAÇÃO DE PARENTAIS .....	24
2.7 ASSINCRONIA DE FLORESCIMENTO .....	26
2.8 CONSERVAÇÃO DE PÓLEN .....	28
2.9 CORRELAÇÃO ENTRE A VIABILIDADE DO PÓLEN E A FERTILIDADE DA CARIÓPSE .....	30
3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	31
CAPÍTULO II - VIABILIDADE POLÍNICA DA CANA-DE-AÇÚCAR APÓS ARMAZENAMENTO.....	37
RESUMO.....	38
ABSTRACT .....	39
INTRODUÇÃO .....	40
MATERIAL E MÉTODOS .....	41
RESULTADOS E DISCUSSÕES .....	44
CONCLUSÕES .....	49
LITERATURA CITADA .....	50
CAPÍTULO III - CORRELAÇÃO VIABILIDADE POLÍNICA E FERTILIDADE DA CARIÓPSE EM CANA-DE-AÇÚCAR .....	60
RESUMO.....	61
ABSTRACT .....	62
INTRODUÇÃO .....	63
MATERIAL E MÉTODOS .....	65
RESULTADOS E DISCURSÕES .....	69
CONCLUSÕES .....	73
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	74

## **CAPÍTULO I**

---

### **INTRODUÇÃO GERAL E REVISÃO DE LITERATURA**

## Resumo

A variabilidade genética da cana-de-açúcar é explorada pelo melhoramento genético a partir de hibridações entre genitores que apresentam alto rendimento *per si*. Entretanto, a recomendação de parentais tem como fator limitante a falta de sincronismo floral entre os genótipos, bem como a falta de caracterização dos acessos quanto a viabilidade polínica, o que pode refletir em infertilidade ou baixa fertilidade das cariópses. Informações sobre a viabilidade polínica de genótipos da cana-de-açúcar no decorrer do tempo de conservação permite estimar o tempo no qual o pólen preserva seu poder germinativo, vigor e integridade genética para promover hibridações entre genitores que apresentam florescimento assíncronos. O presente trabalho objetivou estudar aspectos gerais da hibridação em cana-de-açúcar, verificar a existência de correlação entre a viabilidade polínica e a fertilidade da cariópse, avaliar a viabilidade de pólen obtidos do terço superior e inferior de panículas de dez genótipos, assim como a viabilidade polínica no decorrer do tempo de armazenamento de quatro variedades. Os experimentos foram conduzidos na Estação de Floração e Cruzamento da Cana-de-açúcar de Devaneio. A viabilidade polínica foi testada através da solução de lugol e a sua conservação foi feita em *freezer* a  $-18^{\circ}\text{C}$ . O delineamento experimental adotado foi o inteiramente casualizado em esquema fatorial. Foram identificadas diferenças significativas entre os genótipos para todas variáveis analisadas. A metodologia de conservação empregada no estudo mostrou-se eficiente para manutenção da viabilidade em três dos quatro genótipos avaliados. Foi verificada correlação positiva entre a viabilidade do pólen e a fertilidade da cariópse.

**Palavras chave:** Melhoramento genético. Hibridação. Assincronia floral. Variabilidade genética. *Saccharum spp.*

## **Abstract**

The genetic variability of sugarcane is explored by genetic improvement from hybridizations between parents that presents high yield *per si*. However, parental recommendation has as a limiting factor the lack of floral synchronism between the genotypes and the lack of characterization of the accessions by the pollen viability, which may reflect on infertility or low fertility of caryopses. Informations about pollen viability of genotypes of sugarcane during the storage time, allow us to estimate the moment when pollen retains its germination power, vigor and genetic integrity to promote hybridizations between parents that have asynchronous flowering. This work aimed to study general aspects from hybridization in sugarcane, verify the existence of correlation between the pollen viability and the fertility of caryopsis, evaluate the viability of the pollen obtained from the upper and lower third of the panicles of ten genotypes, as well as pollen viability during the storage time of four varieties. The experiments were conducted at Estação de Floração e Cruzamento da Cana-de-açúcar de Devaneio. The pollen viability was tested by lugol solution and its conservation was made in a freezer at -18°C. The experimental design was completely randomized in a factorial design. Significant differences were identified among genotypes for all variables analyzed. The conservation method used in this study proved effective for maintaining the viability of three of the four genotypes. It was found a positive correlation between pollen viability and fertility of the caryopsis.

**Key words:** Genetic improvement. Hybridization. Floral asynchronism. Genetic variability. *Saccharum* spp.

## 1. INTRODUÇÃO

A cana-de-açúcar (*Saccharum spp.*) é uma espécie de ciclo semiperene cultivada em diversos países. Originária da Ásia, é uma das culturas mais importantes para o agronegócio, utilizada como matéria prima para as indústrias de biocombustíveis, químicas, alimentícias e para produção de energia elétrica (FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION - FAO, 2013), o Brasil lidera a produção mundial (FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION - FAO, 2014).

O cultivo da cana-de-açúcar teve grande impulso através do melhoramento genético, que visa a verticalização da produção de modo sustentável. A primeira etapa dos programas de melhoramento genético da cana-de-açúcar é a produção de cariópses através de cruzamentos planejados nos Bancos Ativos de Germoplasma (BAG's). Estes são organizados em locais onde as condições ambientais são favoráveis ao florescimento da cana-de-açúcar, tornando possível a realização dos cruzamentos artificiais. Atualmente, existem quatro BAG's da cana-de-açúcar no Brasil, todos localizados na região Nordeste, são eles: BAG da Estação Experimental de Cruzamento de Camamu - Bahia, pertencente ao Centro de Tecnologia Canavieira (CTC); BAG da Estação Experimental de Maceió - Alagoas, que pertence a Canavialis do grupo MONSANTO; BAG da Estação de Floração e Cruzamento da Cana-de-açúcar de Serra do Ouro, Murici - Alagoas e o BAG da Estação de Floração e Cruzamento da Cana-de-açúcar de Devaneio, ambos da Rede Interuniversitária para Desenvolvimento do Setor Sucroalcooleiro (RIDESA).

A partir das cariópses são produzidos os *seedlings*, que ingressam nos ciclos de seleção, multiplicação, experimentação e validação. Os genótipos que se mostram superiores às variedades mais utilizadas após todas as etapas, são liberados para o cultivo comercial. Entretanto, o desenvolvimento de uma nova variedade leva em

média de 14 a 15 anos, o que demanda muitos recursos financeiros (SIMÕES NETO et al., 2005).

Entretanto, diversas dificuldades são relatadas no planejamento e execução dos cruzamentos. Dentre os problemas mais comuns estão a falta de caracterização dos acessos quanto a época exata de florescimento e a assincronia floral entre os parentais. Segundo Araldi et al. (2010), este problema pode ser contornado por meio da adoção de diversas metodologias, tais como: o plantio escalonado dos acessos, utilização de câmara escura de indução ao florescimento com controle de fotoperíodo, aplicação de indutores ou inibidores de florescimento, controle de temperatura e defoliação mecânica. Entretanto, estes procedimentos apresentam custos elevados e/ou baixa eficiência (AMARAL et al., 2012).

Outra metodologia que permite hibridar genótipos que não têm florações coincidentes é a conservação de pólen (DAMASCENO JUNIOR et al., 2008). Segundo os autores, esta metodologia permite estabelecer o tempo máximo em que os grãos de pólen podem ser conservados sem perder a viabilidade. Esta metodologia também é importante por permitir que se faça o intercâmbio de pólen entre instituições de pesquisa (HANNA, 1994; EINHARDT, 2006; FERES, 2009).

A cana-de-açúcar tem flores hermafroditas, contudo, existem genótipos que apresentam comportamento diferenciado com relação à fertilidade masculina, podendo apresentar flores macho estéril e/ou flores com alta ou baixa viabilidade polínica. A falta do conhecimento sobre a fertilidade dos pólenes dos genótipos pode comprometer o êxito nas hibridações. Para contornar este problema, pode-se utilizar o percentual de pólenes viáveis dos genitores como parâmetro para recomendar o uso dos acessos, como doadores de pólen (masculinos) ou receptores de pólen

(femininos), em cruzamentos (GOMÉZ, 1962); Além de auxiliar na escolha dos acessos a serem utilizados para coleta e conservação de pólen.

A estimativa da viabilidade polínica pode ser realizada por meio da análise visual das anteras e estigmas, do uso de testes de germinação da cariópse, da aplicação de testes colorimétricos ou do cultivo do pólen em meio de cultura (MCINTYRE; JACKSON, 2001).

Unindo essas informações, o pesquisador pode aumentar a exploração da variabilidade genética existente no banco ativo de germoplasma, determinar a eficiência de polinização dos acessos, diminuir a taxa de contaminação no cruzamento, reduzir o número de autofecundações e obter maior vigor das sementes produzidas.

Diante do exposto, os objetivos deste trabalho foram: determinar a viabilidade do pólen de genótipos da cana-de-açúcar, visando utilizar esta estimativa como parâmetro para promover a recomendação do uso de parentais em cruzamentos artificiais como doadores ou receptores de pólen, estudar a viabilidade polínica no decorrer do tempo de conservação para determinar o período de tempo no qual o pólen mantém-se viável, bem como suprir a demanda de material atualizado para revisão bibliográfica, tendo em vista que poucos estudos abordando tal temática tem sido realizado no país.

## **2. REVISÃO DE LITERATURA**

A cana-de-açúcar é originária da Ásia, mais especificamente na região do Golfo da Bengala e Nova Guiné (MOZAMBANI et al., 2006; FIGUEIREDO, 2010), de onde teve início a sua domesticação. Posteriormente, povos como os persas, chineses e árabes foram conhecendo e expandindo o seu cultivo (FIGUEIREDO, 2010).

A partir da Nova Guiné, a cana-de-açúcar foi levada para o Sul da Ásia, e posteriormente, introduzida em Java, Filipinas, Norte da África e Sul da Europa, onde foi disseminada às margens do Mar Mediterrâneo. Devido à baixa adaptação da cultura às condições climáticas da Europa, os espanhóis a introduziram nas Ilhas Canárias e os portugueses na Ilha da Madeira, de onde foi levada por Cristóvão Colombo para a cidade de Santo Domingo, na República Dominicana e subsequentemente para Cuba e outras Ilhas do Caribe (MOZAMBANI et al., 2006).

Segundo Figueiredo (2010), Martim Afonso de Souza trouxe a cana-de-açúcar para o Brasil, a qual foi cultivada na Capitania de São Vicente, atual Estado de São Paulo e Duarte Coelho a trouxe para a Capitania de Pernambuco e se tornou o maior produtor do país. Posteriormente, o cultivo da cana foi propagado para outras Capitanias.

Atualmente a cana-de-açúcar é cultivada em mais de 130 países que se distribuem entre as latitudes 35° N e S, servindo de matéria prima para a indústria alimentícia, indústria química, indústria de combustível renovável e de produção de energia (FIGUEIREDO, 2010).

## 2.1 CLASSIFICAÇÃO BOTÂNICA DA CANA-DE-AÇÚCAR

A cana-de-açúcar possui a seguinte classificação botânica: divisão *Magnoliophyta*, classe *Liliopsida*, subclasse *Commelinidae*, ordem *Cyperales*, família *Poaceae*, tribo *Andropogonae* e subtribo *Saccharininae* (CRONQUIST, 1981).

Segundo Grassl (1977) no gênero *Saccharum* se encontram as espécies *S. officinarum* L., *S. spontaneum* L., *S. robustum* Brandes e Jeswiet ex Grassl, e *S. sanguineum* Grassl. Para Matsuoka et al. (2005), o gênero *Saccharum* tem seis

espécies: *S. officinarum* L., *S. robustum* Brandes e Jeswiet ex Grassl, *S. barberi* Jeswiet, *S. sinensis* Roxb., *S. spontaneum* L. e *S. edule* Hassk.

Segundo Welker (2012) além das espécies supracitadas, existem também espécies heterotípicas do gênero *Saccharum* nativas do Brasil, são elas *S. angustifolium* (Nees) Trin *S. asperum* (Nees) Steud e *S. villosum* Steud, totalizando nove espécies.

## 2.2 IMPORTÂNCIA ECONOMICA DA CULTURA DA CANA-DE-AÇÚCAR

A cadeia do agronegócio da cana-de-açúcar e de seus derivados é importante para a economia mundial, envolvendo as indústrias de máquinas, implementos e de insumos agrícolas, além de participar na geração de empregos diretos e indiretos (FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION - FAO, 2013).

São cultivados mais de 25 milhões de hectares com cana-de-açúcar no mundo, sendo os principais países produtores: Brasil, Índia, China, Tailândia, Paquistão, México, Colômbia, Filipinas, Estados Unidos da América, Indonésia, Austrália, Guatemala, Argentina, Vietnã, África do Sul, Egito, Cuba, Peru, República da União de Myanmar, Bolívia e Venezuela (FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION - FAO, 2014).

A área cultivada com cana-de-açúcar no Brasil, na safra 2014/2015, foi de aproximadamente 9.004,5 milhões de hectares, sendo as maiores áreas cultivadas nos Estados de São Paulo (4.685,7 milhões de ha), Goiás (854,2 mil ha), Minas Gerais (805,5 mil ha), Mato Grosso do Sul (668,3 mil ha), Paraná (635,0 mil ha), Alagoas (385,3 mil ha), Pernambuco (260,1 mil ha) e Mato Grosso (226,0 mil ha) (COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO - CONAB, 2015).

Foram moídas no Brasil, na safra 2014/2015, aproximadamente 634,767 milhões de toneladas de cana-de-açúcar e com produtividade média de 70,495 t.ha<sup>-1</sup>. As maiores produções foram observadas nos Estados de São Paulo (341.589,7 milhões de ton.), Goiás (66.329,0 milhões de ton.), Minas Gerais (59.528,7 milhões de ton.), Paraná (43.105,6 milhões de ton.), Mato Grosso do Sul (42.969,8 milhões de ton.), Alagoas (22.422,5 milhões de ton.), Mato Grosso (17.011,9 milhões de ton.) e Pernambuco, que ocupa o oitavo lugar no *ranking* nacional com 14.730,6 milhões de toneladas moídas (COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO - CONAB, 2015).

De acordo com a Companhia Nacional de Abastecimento - CONAB (2015), o Brasil é o maior produtor e exportador de açúcar do mundo, com produção de 35,56 milhões de toneladas na safra 2014/2015. A exportação destina-se principalmente ao mercado europeu e norte-americano (SIMÕES NETO et al., 2005).

A produção de etanol na safra 2014/2015 foi de 28,66 bilhões de litros (COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO - CONAB 2015). O etanol combustível ganhou espaço no mercado nacional devido ao aumento da concentração de álcool na gasolina, que passou de 25% para 27%. A cana-de-açúcar também é muito importante para a matriz energética do Brasil, devido a notável participação do etanol combustível e da cogeração de energia pela queima do bagaço, que quando somados alcançam a marca de 18,1% de toda energia gerada no país (EMPRESA DE PESQUISA ENERGÉTICA - EPE, 2015).

### 2.3 EVOLUÇÃO E MELHORAMENTO GENÉTICO DA CANA-DE-AÇÚCAR

A cana-de-açúcar evoluiu a partir de hibridações intergenéricas entre os seguintes gêneros: *Saccharum*, *Erianthus*, *Eccoilopus*, *Mistanthidium*, *Miscanthus*, *Ripidium*, *Sclerostachya*, *Sorghum* e *Zea* (JAMES, 1980). As espécies *S. sinensis*, *S. barberi*,

*S. edule* e *S. officinarum* foram geradas por meio de hibridação intergenéricas, esta última surgiu a partir de cruzamentos entre *S. spontaneum*, *Miscanthus*, *Erianthus arundinaceus* e *S. robustum*. Houveram também hibridações interespecíficas entre as espécies *S. officinarum* L., *S. robustum* Brandes e Jeswiet ex Grassl, *S. barberi* Jeswiet, *S. sinensis* Roxb., e *S. spontaneum* (MATSUOKA et al., 2005). Até o final do século XIX, a maioria das variedades comerciais de cana-de-açúcar foi obtida a partir de cruzamentos entre *S. officinarum*, *S. barberi* e *S. sinensis* (SIMMONDS, 1976; GRASSL, 1977; DANIELS; ROACH, 1987; MATSUOKA et al., 2005).

No melhoramento genético da cana-de-açúcar, a espécie que mais contribuiu para a constituição genética dos híbridos foi *S. officinarum* ( $2n = 80$ ). Segundo Brown (1969), a espécie *S. officinarum* contribuiu para a elevação da concentração de açúcar no colmo da cana-de-açúcar. Esta espécie apresenta colmos grandes, suculentos, com alto teor de açúcar, suscetibilidade a doenças e baixo vigor. Variedades de *S. officinarum* foram cultivadas comercialmente por séculos, até que, no final do século XIX, os trabalhos de hibridação começaram (JAMES, 1980).

As espécies *S. spontaneum* ( $2n = 40-128$ ), *S. Sinense* ( $2n = 118$ ) e *S. Barberi* ( $2n = 82-124$ ) têm colmos finos, com alto teor de fibras e baixo conteúdo de açúcar, porém, apresentam resistência a doenças, alto vigor e tolerância ao frio, características que são importantes para o melhoramento. Genótipos de *S. robustum* ( $2n = 60-194$ ) têm colmos muito grandes, baixo teor de açúcar, queda natural das folhas na maturidade e capacidade de adaptação a diferentes condições de umidade. A espécie *S. edule* não participou da constituição genética dos híbridos interespecíficos de cana-de-açúcar (*S. híbridos*) (MOZAMBANI et al., 2006; SCARPARI; BEAUCLAIR, 2010). Cerca de 10% do genoma das variedades cultivadas são oriundas de *S. spontaneum*.

Sua participação nos híbridos é responsável pela resistência a pragas, doenças e estresse hídrico (JAMES, 1980).

As espécies *S. officinarum*, *S. robustum*, *S. barberi*, *S. sinensis* e *S. spontaneum* foram de fundamental importância para o melhoramento genético, pois serviram de base genética para os primeiros cruzamentos planejados (MATSUOKA et al., 2005). As primeiras hibridações artificiais da cana-de-açúcar foram realizadas em Java, no ano de 1889, seguido de Barbados. Gradativamente outros países passaram a empregar esta tecnologia na cultura (BREMER, 1923; DEERR, 1949). No Brasil, os primeiros relatos sobre obtenção de variedades a partir de semente foram no Estado de Pernambuco em 1901, no Rio de Janeiro em 1918 e no Estado de São Paulo em 1930 (D'UTRA; BOLLIGER, 1904; AGUIRRE JUNIOR, 1940).

Atualmente, as principais instituições que desenvolvem programas de melhoramento genético da cana-de-açúcar no Brasil são: o Centro de Tecnologia Canavieira (CTC), Instituto Agrônomo de Campinas (IAC) e a Rede Interuniversitária para Desenvolvimento do Setor Sucroalcooleiro (RIDESA).

## 2.4 BIOLOGIA FLORAL

A cana-de-açúcar tem inflorescências no formato piramidal com flores hermafroditas e existem na sua estrutura fisiológica, dois pistilos com estigmas plumosos vermelhos ou roxos e androceu com três estames, cada um sustentando uma antera (SCARPARI; BEAUCLAIR, 2010).

Para florescer, a cana-de-açúcar depende de condições climáticas ideais de temperatura, fotoperíodo e umidade (SCARPARI; BEAUCLAIR, 2010; TORRECILLA et al., 2010). As condições ideais para que a cana-de-açúcar emita a inflorescência são: temperaturas entre 18 e 32°C (BERDING, 1981; ARALDI et al., 2010), fotoperíodo

variando de 12 horas e 30 min a 12 horas e 55 min (BERDING, 1981) e umidade relativa acima de 67% (MELLONI, 2012).

O florescimento é subdividido em quatro etapas: a primeira etapa é a diferenciação do meristema apical, que deixa de produzir folhas e passa a formar o pedúnculo floral; a segunda etapa consiste na transformação da gema apical em inflorescência; a terceira etapa é o alongamento da bainha da folha bandeira, período conhecido como indução e a quarta etapa é a emissão da inflorescência (CASAGRANDE, 1991).

Após a emissão da inflorescência, a planta entra no período de maturação dos órgãos reprodutivos. Apesar da cana ter flores hermafroditas, não há sincronismo entre a dispersão do pólen e receptividade dos estigmas, induzindo a polinização cruzada, denominada alogamia (AMARAL et al., 2012).

A polinização consiste no transporte do grão de pólen da antera da planta doadora para o estigma da planta receptora. Ao cair no estigma, o grão de pólen fica retido por substâncias mucilaginosas produzidas pelas papilas estigmáticas, onde germina. A germinação do pólen é a formação do tubo polínico, que cresce através do estilete até chegar ao ovário, onde atinge as sinérgidas e libera os núcleos espermáticos, que se fundem com o núcleo polar e fecunda a oosfera. Após a fecundação ocorre a formação da cariópse (CASAGRANDE, 1991; SCARPARI; BEAUCLAIR, 2010).

## 2.5 HIBRIDAÇÃO EM CANA-DE-AÇÚCAR

A primeira etapa do programa de melhoramento genético da cana-de-açúcar é a produção de cariópses, que são obtidas por meio de cruzamentos artificiais planejados (SIMÕES NETO et al., 2005). De acordo com Cesnik e Miocque (2004), as principais metodologias utilizadas para realização de hibridações de *Saccharum* no Brasil são as seguintes:

- a) Cruzamentos de polinização aberta, denominados Cruzamentos Múltiplos (MP) ou Policruzamentos (PL), nos quais só é possível identificar o genitor feminino.
- b) Cruzamento Múltiplo Especiais (MPE), no qual o genitor feminino é identificado, sendo geralmente macho estéreo para evitar autofecundação, e alocado em campânula junto com um grupo de bons genitores masculinos.
- c) Cruzamento Biparental (BP), nos quais os genitores masculinos e femininos são identificados e isolados em campânula. Através deste método é possível explorar melhor a variabilidade genética e o máximo da heterose.

## 2.6 VIABILIDADE DE PÓLEN COMO PARÂMENTRO PARA RECOMENDAÇÃO DE PARENTAIS

Estudos sobre a viabilidade de pólen vêm sendo aplicados em diversas culturas, mas não comumente se enquadram na rotina do melhoramento genético da cana-de-açúcar. Segundo Moreira (1941), a análise do pólen é condição preliminar e indispensável para tais programas.

Para avaliar a viabilidade dos grãos de pólen podem ser utilizadas diversas metodologias, tais como:

- a) Análise visual das anteras e dos estigmas: neste método, quando o genótipo apresenta grãos de pólen visíveis nos estigmas é indicado seu uso como genitor masculino, enquanto os genótipos que apresentam anteras amarelas, fechadas e não exibem pólen sobre os estigmas, são recomendados para utilização como parentais femininos (MCINTYRE; JACKSON, 2001).
- b) Teste de germinação da cariópse: esta metodologia consiste em quantificar a taxa de frutificação efetiva, obtida a partir da utilização do pólen em teste (GALETTA, 1983).

- c) Cultivo *in vitro* do pólen: este procedimento permite estimar a viabilidade polínica do genótipo a partir da germinação dos grãos de pólen, ou seja, o percentual de emissão de tubo polínico em meio de cultura (AMARAL et al., 2012; MELLONI, 2013).
- d) Marcação citológica: nesta metodologia os pólenes viáveis e os não viáveis são identificados por meio de diferenças na coloração do grão.

Por apresentarem baixo custo, os métodos colorimétricos são os mais utilizados por programas de melhoramento genético no Brasil (VIŽINTIN; BOHANEK, 2004; MANOHAR; MURTHY, 2011). A marcação citológica também é importante devido a facilidade e a rapidez em obter os resultados (GALETTA, 1983).

Os marcadores histoquímicos mais utilizados nos métodos colorimétricos são: corante de Alexander (ALEXANDER, 1980), carmim acético (KEARNS; INOUE, 1993), carmim propiônico (EINHARDT et al., 2006),orceína acética (KANEKO; KAMEMOTO, 1978; MARUTANI; KAMEMOTO, 1983), azul lactofenol (RADFORD et al., 1974) e solução de lugol (DAFNI, 1992). Segundo Machado Jr. (1987), a solução de lugol é a mais utilizada para avaliar a viabilidade polínica da cana-de-açúcar, sendo considerados viáveis os grãos de pólen que apresentam coloração em tons de marrom, enquanto que os descolorados, amarelo pálido e/ou translúcidos são considerados inviáveis ou malformados.

A contagem dos grãos de pólen corados e dos não corados permiti estimar a viabilidade polínica (VP%), expressa em porcentagem, de acordo com Amaral et al. (2012), por meio da equação:

$$VP (\%) = \frac{\text{n}^{\circ} \text{ de grãos de pólen corados} \times 100}{\text{n}^{\circ} \text{ de grãos de pólen total}}.$$

Conhecer a viabilidade polínica dos genitores é importante, pois esta variável serve de parâmetro para o pesquisador escolher e direcionar quais acessos serão

utilizados como doadores ou receptores de pólen em cruzamentos artificiais (PEDERSEN et al., 2004).

O direcionamento dos genitores em cruzamentos artificiais como doador ou receptor de pólen é realizado de diversas formas. No Havaí, por exemplo, os acessos recebem notas de 1 a 9 de acordo com o percentual de pólen viáveis. Os clones que recebem notas de 1 a 4 são utilizados como femininos e os que recebem notas acima de 5 são usados como masculinos. Na Flórida e Louisiana, a recomendação é baseada no exame visual das flores. A metodologia utilizada em países como África do Sul, Guadalupe, Barbados, Austrália, Cuba e Brasil leva em consideração o percentual de pólen viável obtido a partir de marcação citológica ou de cultivo *in vitro*. Nestes países os genótipos são utilizados como masculino quando apresentam mais de 20-30% de viabilidade polínica (GOMÉZ, 1962; MCINTYRE; JACKSON, 2001). Segundo Gómez (1962), os genótipos que apresentam mais de 70% dos grãos de pólen viáveis são direcionados para os cruzamentos biparentais como parentais masculinos, os acessos que exibem valores entre 30% e 70% são considerados intermediários e podem ser utilizados tanto como genitores masculinos quanto femininos, enquanto os que apresentam menos de 30% são usados como parentais femininos. Essas recomendações podem aumentar o sucesso das hibridações, aumentar a germinação da cariópse, além de diminuir a autofecundação nos cruzamentos (MCINTYRE; JACKSON, 2001; AMARAL et al., 2012).

## 2.7 ASSINCRONIA DE FLORESCIMENTO

Existem quatro Bancos Ativos de Germoplasma (BAG) da cana-de-açúcar no Brasil, todos localizados na região Nordeste, são eles: BAG da Estação Experimental de Cruzamento de Camamu - Bahia, pertencente ao Centro de Tecnologia Canavieira (CTC); BAG da Estação Experimental de Maceió - Alagoas, que pertence a Canavialis

do grupo MONSANTO; BAG da Estação de Floração e Cruzamento da Cana-de-açúcar de Serra do Ouro, Murici - Alagoas e o BAG da Estação de Floração e Cruzamento da Cana-de-açúcar de Devaneio, ambos pertencentes a Rede Interuniversitária para Desenvolvimento do Setor Sucroalcooleiro (RIDESA).

A campanha de cruzamento da cana-de-açúcar no Brasil ocorre geralmente entre os meses de março e julho, pois o florescimento natural dos diversos acessos dos BAG's das estações de cruzamento ocorre neste período.

Os acessos podem ser classificados em precoce, intermediário ou tardio, de acordo com a época de indução floral espontânea, quando o florescimento ocorre, respectivamente, nos meses de abril, maio e junho. A classificação da época do florescimento é importante para definição dos progenitores a serem cruzados naturalmente e também para definir em quais acessos serão empregadas as técnicas de sincronismo floral. Os acessos que têm florescimento precoce não podem ser intercruzados com genótipos de florescimento tardio devido à barreira temporal. Entretanto, variedades de florescimento intermediário podem ser cruzadas com variedades precoces ou tardias, desde que sejam utilizadas técnicas que favoreçam a sincronização do florescimento (AMARAL et al., 2012).

Sincronizar o florescimento dos genótipos de cana-de-açúcar é fator importante para realização das hibridações, principalmente nos cruzamentos biparentais (BP). Diversas metodologias já foram desenvolvidas para sincronizar a floração dos acessos, tais como: o plantio escalonado dos acessos, utilização de câmara de florescimento com controle de fotoperíodo e a aplicação de indutores ou inibidores de florescimento (ARALDI, 2010). Entretanto, de modo geral, estes métodos apresentam custos elevados e/ou baixa eficiência (AMARAL et al., 2012).

Outra metodologia empregada quando se visa hibridar genótipos que apresentam florescimento assíncronos em programas de melhoramento genético é a conservação de pólen (DAMASCENO JUNIOR et al., 2008). Este método consiste em extrair e armazenar o pólen do genitor doador, até que o genitor receptor de pólen floresça e esteja receptivo para proceder a polinização manual. Este método também é importante para fazer intercâmbio de pólen entre instituições de pesquisa (HANNA, 1994; EINHARDT, 2006; FERES, 2009).

## 2.8 CONSERVAÇÃO DE PÓLEN

O armazenamento de pólen é necessário em programas de melhoramento e conservação genética, quando utilizado para fins de polinização artificial de flores androstéreis, dicogâmicas ou autoincompatível (SONG; TACHIBANA, 2007).

Dentre as técnicas de conservação de pólen, somente a criopreservação (armazenamento em nitrogênio líquido a  $-196^{\circ}\text{C}$ ) pode garantir o armazenamento de germoplasma em longo prazo. O armazenamento de pólen em nitrogênio líquido, desde que realizado corretamente, é capaz de manter sua viabilidade por longos períodos de tempo (BAJAJ, 1995). Estudos conduzidos por Amaral et al. (2012) estabeleceram metodologia prática, eficiente e com baixo custo de implantação para conservação de pólen de cana-de-açúcar. De acordo com o protocolo, as panículas que apresentarem um terço das anteras em antese devem ser coletadas para evitar a desidratação e os grãos de pólen são armazenados a  $-18^{\circ}\text{C}$ .

O pólen é uma célula especializada altamente sensível à luz, temperatura e umidade, permanecendo viável por período determinado de tempo. O período máximo de tempo no qual o pólen mantém-se viável é denominado longevidade, podendo esta variar muito de acordo com a espécie estudada e as condições de armazenamento (HANNA; TOWILL, 1995; DAFNI; FIRMAGE, 2000). A longevidade do pólen de

gramíneas como arroz, trigo e milho é extremamente curta, variando de minutos a horas (LUNA et al., 2001). No caso da cana-de-açúcar, o pólen se mantém viável de 12 a 35 minutos em ambiente com temperatura em torno de 26,5°C e com umidade relativa do ar acima 67% (KRISHNAMURTHI, 1977).

Segundo Song e Tachibana (2007), em condições controladas, a perda da viabilidade polínica é frequentemente associada à presença ou ausência de tolerância à dessecação do pólen. Estudos indicam que o declínio da viabilidade do pólen durante o envelhecimento envolve a perda da integridade intracelular, a diminuição da atividade da enzima citocromo-oxidase, o acúmulo de radicais livres, esterificação e peroxidação de lipídios da membrana, levando ao aumento da perda de componentes celulares (PRIESTLEY et al., 1985; GEORGIEVA; KRULEVA, 1994; VAN BILSEN et al., 1994; TAYLOR; HEPLER, 1997). De acordo com Wolkers e Hoekstra (1995), os danos da membrana ocasionados pelo envelhecimento do pólen não estão associados com a desnaturação de proteínas. Não se sabe ao certo se a perda da viabilidade polínica está associada com a redução da síntese proteica no pólen após a reidratação, um fator imperativo para o início da emissão do tubo polínico (HOEKSTRA; BRUINSMA, 1979; MASCARENHAS, 1993; HISCOCK et al., 1995).

Quando o pólen desidratado é armazenado sob baixas temperaturas, a estabilidade da viabilidade polínica é geralmente associada com a ocorrência de estado vítreo (estado semissólido, líquido altamente viscoso) no citoplasma. A alta viscosidade do meio intracelular é considerada para diminuir a mobilidade molecular, impedir a difusão dentro do citoplasma e assim atenuar a taxa de deterioração do pólen durante o período de conservação (BUITINK; LEPRINCE, 2004).

## 2.9 CORRELAÇÃO ENTRE A VIABILIDADE DO PÓLEN E A FERTILIDADE DA CARIÓPSE

Os procedimentos mais utilizados para estimar a correlação entre variáveis são o Coeficiente de Correlação de Pearson ( $P_p$ ), utilizado quando se deseja quantificar o grau de associação entre pares de variáveis aleatórias contínuas X e Y, e o Coeficiente de Correlação de Spearman ( $P_s$ ), método estatístico não paramétrico, que não exige atendimento as premissas da análise de variância, diferentemente do  $P_p$  (DIAS; BARROS, 2009). Na cana-de-açúcar, não foram encontrados estudos específicos sobre a correlação entre a viabilidade do pólen e a fertilidade da cariópse.

Utilizando as informações da viabilidade polínica, associado a época de florescimento dos acessos, bem como da longevidade do pólen conservado, o pesquisador pode escolher com maior precisão os acessos a serem utilizados em cruzamentos, principalmente nos biparentais, como genitores masculinos ou femininos. Torna possível também realizar hibridações entre genótipos que apresentam florescimento assíncrono, ampliando as possibilidades de exploração da variabilidade genética existente nos BAG's, bem como obtém-se maior fertilidade da cariópse para produção de *seedlings*, reduzem-se as taxas de autofecundação e de contaminação por pólenes de outros acessos.

### 3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGUIRRE JUNIOR, J. M. **Súmula dos trabalhos realizados pela seleção de cana do Instituto Agrônomo (1935-1949)**. Campinas: Instituto Agrônomo de Campinas, 1940.

ALEXANDER, M. P. A versatile stain for pollen, fungi, yeast and bacteria. **Stain Technology**, Baltimore, v. 55, n. 1, p. 13-18, 1980.

AMARAL, A. L.; SANTOS, J. M.; CÂMARA, T. M. M.; BARBOSA, G. V. S. **Metodologia de conservação de pólen de cana-de-açúcar**. Aracaju: EMBRAPA Tabuleiros Costeiros, 2012. 11p. (Comunicado Técnico 127).

ARALDI, R.; SILVA, F. M. L.; ONO, E. O.; RODRIGUES, J. D. Florescimento em cana-de-açúcar. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 40, n. 3, p. 694-702, 2010.

BAJAJ, Y. P. S. Cryopreservation of plant cell, tissue, and organ culture for the conservation of germplasm and biodiversity. In: BAJAJ, Y. P. S. **Cryopreservation of plant germplasm I**. Berlim: Springer, 1995. p. 03-28.

BERDING, N. Improved flowering and pollen fertility in sugarcane under increased night temperature. **Crop Science**, v. 21, n. 6, p. 863-867, 1981.

BREMER, G. A cytological investigation of some species and species hybrids within the genus *Saccharum*. **Genética**, The Hague, v. 5, n. 3-4, p. 273-326, 1923.

BROWN, A. H. D.; DANIELS, J.; LATTER, B. D. H. Quantitative genetics of sugarcane. II. Correlation analysis of continuous characters in relation to hybrid sugar cane breeding. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 39, n. 1, p. 1-10, 1969.

BUITINK, J.; LEPRINCE, O. Glass formation in plant anhydrobiotes: survival in the dry state. **Cryobiology**, Angers, v. 48, n. 3, p. 215-228, 2004.

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

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

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO (CONAB). **Acompanhamento da safra brasileira: Cana-de-açúcar. v.2 – Safra 2015/2016, n.3 - Terceiro Levantamento**, Brasília, 70p., dez. 2015

CRONQUIST, A. **An integrated system of classification of flowering plants**. New York: Columbia University Press, 1981. 1262p.

DAFNI, A. **Pollination ecology: a practical approach**. Oxford: Oxford University Press, 1992. 250p.

DAFNI, A.; FIRMAGE, D. Pollen viability and longevity: practical, ecological and evolutionary implications. **Plant Systematics and Evolution**, Vienna: Springer, v. 222, n. 1, p. 113-132, 2000.

DAMASCENO JUNIOR, P. C.; PEREIRA, T. N. S.; PEREIRA, M. G.; SILVA, F.F. Conservação de pólen de mamoeiro (*Carica papaya* L.). **Revista Ceres**, Rio de Janeiro, v. 55, n. 5, p. 433-438, 2008.

DANIELS, J.; ROACH, B. T. Evolution and Taxonomy. In: HEINZ, D. J. (Ed.). **Sugarcane improvement through breeding**. Amsterdam: Elsevier, 1987. p. 7-84.

DEERR, N. **A history of sugar**. London: Chapman and Hall, 1949. 636p.

DIAS, L. A. S.; BARROS, W. S. **Biometria experimental**. Viçosa: Suprema, 2009. 408p.

D'UTRA, G. R. P.; BOLLIGER, R. Cultura da cana-de-açúcar. **Boletim da Agricultura**, São Paulo, v. 5, n. 1, p. 3-39, 1904.

EINHARDT, P. M.; CORREA, E. R.; RASEIRA, M. C. Comparação entre métodos para testar a viabilidade de pólen de Pessegueiro. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 28, n. 1, p. 5-7, 2006.

EMPRESA DE PESQUISA ENERGÉTICA (EPE). **Balanco energético nacional 2015: Ano base 2014**. Rio de Janeiro, 2015. Disponível em: <[https://ben.epe.gov.br/downloads/Relatorio\\_Final\\_BEN\\_2015.pdf](https://ben.epe.gov.br/downloads/Relatorio_Final_BEN_2015.pdf)>. Acesso em: dezembro de 2015.

FERES, J. M. **Diversidade genética, sistema reprodutivo e fluxo de pólen em duas populações de *Tabebuia roseo-alba* (Ridl.) Sand.: Implicações para a conservação.** 2009. 142f. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) – Curso de Pós-graduação em genética, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo.

FIGUEIREDO, P. Breve história da cana-de-açúcar e do papel do Instituto Agrônômico no seu estabelecimento no Brasil. In. DINARDO-MIRANDA, L. L.; LANDELL, M. G. A.; VASCONCELOS, A. C. **Cana-de-açúcar** (eds.). Campinas: Instituto Agrônômico de Campinas, 2010. p. 47-56.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS (FAO). **FAO statistical yearbook 2013 - world food and agriculture.** Rome: FAO, 2013. 289p.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS (FAO). **Food and Nutrition in Numbers 2014.** Rome: FAO, 2014. 245p.

GALETTA, G. J. Pollen and Seed Management. *In*: MOORE, J. N.; JANIK, J. **Methods in fruit Breeding.** Indiana: Purdue University Press, 1983, p. 23-47.

GEORGIEVA, I. D.; KRULEVA, M. M. Cytochemical investigation of long-term stored maize pollen. **Euphytica**, Wageningen, v. 72, n. 1, p. 87-94, 1994.

GÓMEZ, A. F. **Caña de azúcar.** 2. ed. Caracas: Edicampa, 1962. 661p.

GRASSL, C. O. The origin of the sugar producing cultivars of *Saccharum*. **Sugarcane Breed**, Newsl, v. 39, p. 8-33, 1977.

HANNA, W. N. Pollen storage in frostless and conventional frost-forming freezers. **Crop Science**, Madison, v. 34, n. 6, p. 1681-1682, 1994.

HANNA, W. N.; TOWILL, L. E. Long-term pollen storage. **Plant Breeding Reviews**, Purdue, v. 13, p. 179-207, 1995.

HISCOCK, S. J.; DOUGHTY, J.; DICKINSON, H. G. Synthesis and phosphorylation of pollen proteins during the pollen-stigma interaction in self-compatible *Brassica napus* L. and self-incompatible *Brassica oleracea* L. **Sexual Plant Reproduction**, Berlin, v. 8, n. 6, p. 345-353, 1995.

HOEKSTRA, F. A.; BRUINSMA, J. Protein synthesis of binucleate and trinucleate pollen and its relationship to tube emergence and growth. **Planta**, Berlin, v. 146, n. 5, p. 559-566, 1979.

JAMES, N. I. Sugarcane. In: FEHR, W. R.; HADLEY, H. H. (Eds.). **Hybridization of crop plants**. Madison: Wisconsin, 1980. p. 617-629.

KANEKO, K.; KAMEMOTO, H. Cytological studies of "*Kaumana*" and "*Uniwai*" *Anthurium*. **Journal of American Society of Sciences**, Honolulu, v. 103, n. 5, p. 699-701, 1978.

KEARNS, C. A.; INOUE, D. W. **Techniques for pollination biologist**. Niwot: University of Colorado, 1993. 583p.

KRISHNAMURTHI, M. The sugarcane pollen. In: CONGRESS OF INTERNATIONAL SOCIETY OF SUGAR CANE TECHNOLOGISTS, 19. São Paulo. **Anais...** São Paulo: ISSCT Impress, 1977, p. 157-164.

LUNA, S. V. FIGUEROA, M. J.; BALTAZAR M. B.; GOMEZ L. R.; TOWNSEND, R.; SCHOPER, J. B. Maize pollen longevity and distance isolation for effective pollen control. **Crop Science**, Madison, v. 41, n. 5, p. 1551-1557, 2001.

MACHADO JR., G. P. Melhoramento da cana-de-açúcar. In: PARANHOS, S. B. (Ed.). **Cana-de-açúcar: cultivo e utilização**. Campinas: Fundação Cargill, 1987. p. 165-186.

MANOHAR S. H.; MURTHY H. N. Estimation of phenotypic divergence and powdery mildew resistance in a collection of *Cucumis sativus* L. **African Journal of Biotechnology**, v. 10, n. 11, p. 1978-1987, 2011.

MARUTANI, N.; KAMEMOTO, H. Transmission and significance of B chromosomes in *Anthurium waroqueanum*. **American Journal of Botany**, Saint Louis, v. 70, n. 1, p. 40-46, 1983.

MASCARENHAS, J. P. Molecular mechanisms of pollen tube growth and differentiation. **The Plant Cell**, Waterbury, v. 5, n. 10, p. 1303-1314, 1993.

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

McINTYRE, C.L.; JACKSON, P.A. Low level of selfing found in a sample of crosses in Australian sugarcane breeding programs. **Euphytica**, v. 117, n. 3, p.245-249, 2001.

MELLONI, M. L. G. **Fisiologia do florescimento e viabilidade do grão-de-pólen da cana-de-açúcar (*Saccharum sp.*)**. 2012. 80f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Curso de Pós-graduação em Genética e Melhoramento de Plantas, Universidade Estadual Paulista.

MELLONI, M. L. G.; SCARPARI, M. S.; MENDONÇA, J. R.; PERECIN, D.; ANDRADE LANDELL, M. G.; PINTO, L. R. Comparison of two staining methods for pollen viability studies in sugarcane. **Sugar Tech**, New Delhi, v. 15, n. 1, p. 103-107, 2013.

MOREIRA, S.; GURGEL, J. T. A. A fertilidade do pólen e sua correlação com o número de sementes em espécies e formas do gênero *Citrus*. **Bragantia**, Campinas, v. 1, n. 8, p. 669-711, 1941.

MOZAMBANI, A. E.; PINTO, A. S.; MATTIUZ, C. F. M. História e morfologia da cana-de-açúcar. In: SEGATO, S. V.; PINTO, A. S.; JENDIROBA, E.; NÓBREGA, J. C. M. (Eds.). **Atualização em produção de cana-de-açúcar**. Piracicaba: 2006. p. 11-18.

PEDERSEN, J. F. Bean, S. R.; FUNNELL, D. L.; GRAYBOSCH, R. A. Rapid iodine staining techniques for identifying the waxy phenotype in sorghum grain and waxy genotype in sorghum pollen. **Crop Science**, Medison, v. 44, n. 3, p. 764-767, 2004.

PRIESTLEY, D. A.; WERNER, B. G.; LEOPOLD, A. C.; MCBRIDE, M. B. Organic free radical levels in seed and pollen: the effect of hydration and aging. **Physiologia Plantarum**, Lund, v. 64, n. 1, p. 88-94, 1985.

RADFORD, A. E.; DICKISON, W. C.; MASSEY, J. R.; BELL, C. R. **Vascular Plant Systematics**, New York: Harper & Row Publishers, 1974. 891p.

SCARPARI, M. S.; BEAUCLAIR, E. G. F. Anatomia e botânica. In: DINARDO-MIRANDA, L. L.; LANDELL, M. G. A.; VASCONCELOS, A. C. (Eds.). **Cana-de-açúcar**. Campinas: Instituto Agronômico de Campinas, 2010. p. 47-56

SIMMONDS, N. W. **Evolution of crop plants**. London: Longman, 1976. 339p.

SIMÕES NETO, D. E.; MELO, L. J. O. T.; CHAVES, A.; LIMA, R. O. R. **Lançamento de novas variedades RB de cana-de-açúcar**. Recife: Imprensa Universitária UFRPE, 2005. 28p. (Boletim Técnico, n. 1).

SONG, J.; TACHIBANA, S. Loss of viability of tomato pollen during long-term dry storage is associated with reduced capacity for translating polyamine biosynthetic enzyme genes after rehydration. **Journal of Experimental Botany**, Lancaster, v. 58, n. 15, p. 4235-4244, 2007.

TAYLOR, L. P.; HEPLER, P. K. Pollen germination and tube growth. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, Palo Alto, v. 48, n. 1, p. 461-491, 1997.

TORRECILLA, V. C. et al. Effect of altitude on sugarcane flowering synchronisation in Cuba. In: Congress of International Society of Sugar Cane Technologists, 11. 2010, Veracruz. **Anais...** Veracruz: ISSCT Impress, 2010, p. 1-8.

VAN BILSEN, D. G. J. L.; VAN ROEKEL T., HOEKSTRA, F. A. Declining viability and lipid degradation during pollen storage. **Sexual Plant Reproduction**, Berlin, v. 7, p. 303-310, 1994.

VIŽINTIN, L.; BOHANEC, B. In vitro manipulation of cucumber (*Cucumis sativus* L.) Pollen and microspores: isolation procedures, viability tests, germination, maturation. **Acta Biologica Cracoviensia Series Botanica**, v. 46, p. 177-183, 2004.

WELKER, C. A. D.; LONGHI-WAGNER, H. M. The genera *Eriochrysis* P. Beauv., *Imperata* Cirillo and *Saccharum* L. (*Poaceae* - *Andropogoneae* - *Saccharinae*) in the state of Rio Grande do Sul. **Brazilian Journal of Botany**, São Paulo, v. 35, n. 1, p. 87-105, 2012.

WOLKERS, W. F.; HOEKSTRA, F. A. Aging of dry desiccation-tolerant pollen does not affect protein secondary structure. **Plant Physiology**, Rockville, v. 109, n. 3, p. 907-915, 1995.

## **CAPÍTULO II**

---

### **VIABILIDADE DE PÓLEN DA CANA-DE-AÇÚCAR APÓS ARMAZENAMENTO**

**Pollen viability of sugarcane after storage**

**Resumo**

Informações sobre a viabilidade polínica de genótipos da cana-de-açúcar, no decorrer do tempo de conservação, permite estimar o tempo no qual o pólen preserva seu poder germinativo, vigor e integridade genética. Nos programas de melhoramento genético, tais conhecimentos podem facilitar a realização de cruzamentos entre genitores que apresentam florescimento assíncrono, o que permite maior exploração da variabilidade genética. No presente trabalho foi avaliada a viabilidade de pólen obtidos do terço superior e inferior de panículas de dez genótipos, assim como a viabilidade polínica no decorrer do tempo de armazenamento de quatro variedades. Os grãos de pólen foram armazenados a -18°C e a sua viabilidade foi testada através da solução de Lugol 2%. As avaliações foram realizadas em intervalos de dez em dez dias durante o período de cinquenta dias. Foram constatadas diferenças significativas para a interação genótipo x secção da panícula de quatro dos dez genótipos avaliados, sendo que para os genótipos G2, RB813804 e RB931011, verificou-se maior viabilidade polínica no terço inferior, enquanto para a variedade RB863129 foi observado maior viabilidade no terço superior da inflorescência. Diferenças significativas também foram observadas para a interação genótipo x dias de armazenamento para os quatro genótipos avaliados. Verificou-se que cada genótipo apresenta comportamento diferenciado na perda da viabilidade e que apenas os acessos RB813804, RB931011 e RB863129 mantiveram-se viáveis na avaliação final.

**Palavras chave:** Melhoramento genético. Híbridação. Solução de lugol. Conservação de pólen.

*Saccharum* spp.

## **Abstract**

Informations about the pollen viability of genotypes of sugarcane, during the storage time, allows us to estimate the time in which pollen retains its germination, vigor and genetic integrity. In breeding programs, this knowledge facilitates the realization of crosses between parents that have asynchronous flowering, allowing greater exploitation of genetic variability. In this study was to evaluate the viability of the pollen obtained from the upper and lower of panicle's sections of ten genotypes, as well as pollen viability during the storage time of four varieties of sugarcane. The pollen grains were stored at  $-18^{\circ}\text{C}$  and its viability was tested by 2% Lugol solution. The evaluations were conducted every ten days for fifty days. Were noted significant differences for the interaction genotype x panicle's section of four from ten genotypes evaluated. For the genotypes G2, RB813804 and RB931011 there were higher pollen viability in the lower section, while for the variety RB872552 there was more fertility in the upper section of the inflorescence. Significant differences were also observed for the interaction genotype x days of storage for the four genotypes evaluated. It was noticed that each genotype has differentiated speed in loss of viability and that only the accesses RB813804, RB931011 and RB863129 maintained satisfactory viability in the final evaluation.

**Keywords:** Genetic improvement. Hybridization. Lugol solution. Pollen conservation. *Saccharum* spp.

## INTRODUÇÃO

A exploração da variabilidade genética, disponível nos Bancos Ativos de Germoplasma (BAG) da cana-de-açúcar, é realizada por meio de cruzamentos artificiais planejados. O produto de tais cruzamentos são as cariopses, a partir das quais são produzidos os *seedlings* que ingressão nos ciclos de seleção, multiplicação, experimentação e validação, até a liberação da nova variedade de cana-de-açúcar para produção comercial (SIMÕES NETO et al., 2005). De acordo com Cesnik & Miocque (2004), as principais metodologias utilizadas para realização de hibridações de *Saccharum* no Brasil são os Cruzamentos Múltiplos (MP) ou Policruzamento (PL), Cruzamentos Múltiplos Especiais (MPE), Autofecundações e os Cruzamentos Biparentais (BP). Dentre estas metodologias, o autor destaca que no BP é possível explorar o máximo da heterose.

Porém, a realização de cruzamentos, principalmente de BP, no melhoramento genético da cana-de-açúcar tem como fator limitante a falta de sincronismo do florescimento entre os genitores. As principais metodologias utilizadas para contornar este problema são: O plantio escalonado dos acessos, utilização de câmara escura com controle de fotoperíodo e a aplicação de indutores ou inibidores de florescimento (Araldi et al., 2010). Contudo, estes procedimentos apresentam custos elevados e/ou baixa eficiência (Amaral et al., 2012). Outra metodologia empregada quando se visa realizar hibridações entre genótipos que não apresentam florações coincidentes, bem como entre plantas que apresentam flores androstéreis, dicogâmicas ou autoincompatíveis é a conservação de pólen (Song & Tachibana, 2007; Damasceno Junior et al., 2008). Segundo Hanna (1994), esta metodologia também é importante por permitir o intercâmbio de pólen entre centros de pesquisas.

Diversas técnicas são empregadas visando a conservação de pólen, dentre elas, somente a criopreservação (armazenamento em nitrogênio líquido a  $-196^{\circ}\text{C}$ ) pode garantir o armazenamento de germoplasma em longo prazo (Bajaj, 1995). De acordo com Amaral et al. (2012) e Melloni (2012), o armazenamento do pólen a baixas temperaturas ( $-18^{\circ}\text{C}$  e  $-72^{\circ}\text{C}$ ) apresentam baixo custo de aplicação e mostram-se eficientes para conservação de pólen da cana-de-açúcar.

Entretanto, quando se decide utilizar a técnica de conservação de pólen, deve-se previamente analisar o pólen com intuito de identificar genitores que apresentem alta viabilidade polínica. Tais análises podem ser feitas por meio de métodos diretos (cultivo *in vitro*) e/ou indiretos (marcação citológica). Entre estes métodos, a marcação citológica apresenta custo mais baixo e resposta mais rápida (Galletta, 1983). Dentre os marcadores citológicos mais utilizados pelo método indireto, destacam-se: corante de Alexander, carmim acético, carmim propiônico,

orceína acética, azul lactofenol e solução de lugol. Contudo, de acordo com Machado Júnior (1987), a solução de lugol é o método mais usado para testar a viabilidade polínica da cana-de-açúcar.

Não obstante, mesmo estando disponível na literatura diversas metodologias já consolidadas para testar a viabilidade polínica da cana-de-açúcar bem como metodologias eficientes para conservação de pólen, atualmente, não é comum a aplicação destas na rotina de programas de melhoramento genéticos, o que também reflete em poucas publicações abordando esta temática. Essa consideração fica evidenciada pela falta de respostas para questões básicas acerca dos procedimentos de coleta e conservação de pólen. De acordo com Amaral et al. (2012), as análises devem ser realizadas em grãos de pólen coletados no terço superior da inflorescência, assim que este entre em antese. Entretanto, até o presente, não se conhece o potencial do terço basal da inflorescência para coleta e conservação do pólen da cana-de-açúcar. Outros pontos com poucas informações disponíveis na literatura atual são: a viabilidade do pólen e o tempo no qual o pólen dos principais genitores explorados em hibridações se mantém viável quando submetido a conservação a baixa temperatura.

O presente trabalho objetivou estudar a viabilidade do pólen obtido do terço superior e inferior da panícula, assim como estudar a viabilidade polínica de genótipos de cana-de-açúcar no decorrer do tempo de armazenamento, bem como saber qual o período em que estes se mantêm férteis para promover hibridações entre genótipos de cana-de-açúcar que apresentam florescimento assíncrono, além suprir a necessidade de publicação de trabalhos abordando esta temática com cultura da cana-de-açúcar na literatura atual.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

Inicialmente foram selecionados dez genótipos, sendo quatro clones em destaque e seis variedades comerciais de cana-de-açúcar, por apresentarem características agroindustriais importantes para exploração pelos Programas de Melhoramento Genético da Cana-de-açúcar (PMGCA), tais como elevada produtividade agrícola e alto teor de sacarose, conforme Costa (2012).

Os dez genótipos selecionados foram avaliados quanto a viabilidade polínica do terço superior e do terço inferior da panícula. Posteriormente, os genótipos RB872552, RB813804, RB863129 e RB931011 também foram avaliados quanto a fertilidade do pólen no decorrer do tempo de conservação. A tabela 1 mostra a identificação do material biológico em estudo.

**Tabela 1.** Identificação dos clones e variedades comerciais de cana-de-açúcar, avaliadas quanto a viabilidade polínica, com respectivos genitores e procedência

Clones/Variedades	Genitores		Procedência
	Feminino	Masculino	
G2*	SP80-1816	***	UFRPE/RIDESA
G3*	ROC3	RB83100	UFRPE/RIDESA
G9*	R397	***	UFRPE/RIDESA
G10*	⊗RB943365	-	UFRPE/RIDESA
RB002504**	SP80-1816	***	UFRPE/RIDESA
RB867515**	RB72454	***	UFV/RIDESA
RB872552**	RB754665	RB773720	UFRPE/RIDESA
RB813804**	CP48-124	***	UFRPE/RIDESA
RB863129**	RB763411	***	UFRPE/RIDESA
RB931011**	RB83160	RB72454	UFAL/RIDESA

\* Clones em experimentação; \*\* Variedade comercial; \*\*\* Genitor desconhecido; ⊗ Autofecundação.

Visando a coleta de pólen, os acessos foram plantados no Banco Ativo de Germoplasma (BAG) em dois sulcos de cinco metros, espaçados em um metro entre sulcos e meio metro entre touceiras. O BAG da Estação de Floração e Cruzamento da Cana-de-açúcar de Devaneio (EFCCD) pertence a Estação Experimental de Cana-de-açúcar do Carpina (EECAC) da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), que é integrante da Rede Interuniversitária para Desenvolvimento do Setor Sucroalcooleiro (RIDESA).

A EFCCD fica localizada no Município de Amaraji, Zona da Mata Sul do Estado de Pernambuco, na latitude 08°19'8"S, longitude 35°24'893"W e altitude 514m. A precipitação média anual é de 2600 mm, com temperaturas mínimas e máximas de 18,92°C e 28,15°C, respectivamente. De acordo com Köppen (1928) o clima local é tropical com estação seca, classificado como As. Este ambiente é considerado propício ao florescimento da cana-de-açúcar, tornando possível realizar hibridações.

Segundo Heinz & Tew (1987), com o intuito de facilitar o manuseio dos colmos no ato da coleta da panícula e da realização dos cruzamentos, bem como promover a conservação das inflorescências e a manutenção da viabilidade polínica após o corte dos colmos, utiliza-se a tradicional solução ácida de Mangelsdorf (1966). Entretanto, como a utilização de tal solução é onerosa, houve a substituição de tal solução pela realização de 10 alporques em cada acesso.

As análises da viabilidade polínica foram realizadas no laboratório da EFCCD e os procedimentos de coleta de pólen seguiram a metodologia proposta por Amaral et al. (2012), com a seguinte modificação: foram coletadas panículas apresentando o terço superior em antese e outras exibindo o terço inferior em antese. Após a coleta, os grãos de pólen foram colocados em frascos de vidro de 100ml com tampa rosca, os quais foram mantidos abertos em dessecador de vidro com 1kg de sílica gel azul a 4°C por período de 1h para desidratação. Posteriormente os potes foram fechados e conservados no *freezer* a -18°C. Por fim, cada amostra foi constituída

pelos grãos de pólen obtidos de seis anteras maduras, as quais foram depositadas e abertas em lamina histológica.

A viabilidade polínica foi analisada através de marcação citológica com Solução de Lugol 2% (1g de iodo, 2g de iodeto de potássio e 100ml de água destilada) (DAFNI, 1992). De acordo com o autor, neste método o pólen é considerado viável quando apresenta tons de marrom, isso ocorre devido a presença de reserva de amido e da integridade das membranas, enquanto os grãos de pólen descorados, amarelo pálido e/ou translúcidos são considerados inviáveis ou malformados.

A contagem dos grãos de pólen corados e dos não corados permitiu estimar a viabilidade polínica (VP%), expressa em porcentagem, através da fórmula:  $VP (\%) = \frac{n^\circ \text{ de grãos de pólen corados} \times 100}{n^\circ \text{ de grãos de pólen total}}$ . Os dados obtidos em porcentagem foram transformados para o arco seno  $\sqrt{x}$  (%) para posteriormente proceder a análise de variância. Segundo Ferreira (2000), essa transformação deve ser utilizada quando os dados são oriundos de distribuição binomial e extrapolam a amplitude de 30 a 70%.

O delineamento experimental adotado para os dois ensaios foi o inteiramente casualizado (DIC) em esquema fatorial, conforme o modelo:

$$y_{(ijk)} = \mu + \beta_{(i)} + \tau_{(j)} + \beta\tau_{(ij)} + \varepsilon_{(ijk)}$$

No qual:

$y_{(ijk)}$  é o dado observado na parcela  $ijk$ ;

$\mu$  é uma constante (média geral);

$\beta_{(i)}$  é o efeito do fator  $i$ ;

$\tau_{(j)}$  é o efeito do fator  $j$ ;

$\beta\tau_{(ij)}$  é a interação entre os fatores  $\beta$  e  $\tau$ ;

$\varepsilon_{(ijk)}$  é o erro experimental da parcela  $ijk$ .

- No primeiro experimento utilizou-se o DIC em esquema fatorial 10 x 2 (dez genótipos x duas secções da panícula) com quatro repetições, visando verificar diferenças entre a fertilidade do pólen obtidos do terço superior e inferior da panícula. Neste ensaio, a avaliação foi realizada no dia da coleta do pólen.
- No segundo experimento utilizou-se o DIC em esquema fatorial 4 x 6 (quatro genótipos x seis dias de armazenamento) com quatro repetições, objetivando verificar a influência do tempo de armazenamento na fertilidade do pólen obtido do terço superior e inferior da panícula, bem como saber qual o período em que estes se mantêm férteis. Neste ensaio, a primeira avaliação foi realizada no dia da coleta dos pólenes e as demais avaliações foram

realizadas em intervalo de dez em dez dias até os 50 dias de armazenamento (DA). Para análise de variância foi utilizado os valores médios da viabilidade polínica dos genótipos e nas análises de regressão foram analisados os valores da fertilidade do pólen obtido do terço superior, inferior da panícula e o dos valores médios.

As transformações e as análises de variância foram realizadas por meio do software estatístico *The SAS System v. 9.0* (2002), enquanto o teste de Tukey a 5% de probabilidade e a análise de regressão foram efetuados através do software estatístico SISVAR (Ferreira, 2011).

## RESULTADOS E DISCUSSÕES

A análise de variância mostrou diferença significativa ao nível de 1% de probabilidade pelo teste F para as fontes de variação genótipo (G), secção da panícula (S) e para interação G x S, conforme a tabela 2.

**Tabela 2.** Análise de variância, delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial, dos valores da viabilidade polínica do terço superior e inferior da panícula de genótipos de cana-de-açúcar, com coeficiente de variação

Fontes de Variação	Graus de Liberdade	Soma dos Quadrados	Quadrado Médio
Genótipos (G)	9	1,1497	0,1277**
Secção da panícula (S)	1	0,1148	0,1148**
Genótipos x Secção (G x S)	9	0,7573	0,0841**
Resíduo	60	0,7029	0,0117**
Total corrigido	79	2,7246	
Coeficiente de Variação (%) = 11,71			

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

Segundo Gomes (1990), o coeficiente de variação observado na tabela 2 é considerado médio, indicando boa precisão experimental. Devido ao resultado significativo para interação G x S, foi feito o desdobramento da análise de variância e aplicado o teste de Tukey a 5% de probabilidade (Tabela 3).

**Tabela 3.** Análise do desdobramento da interação genótipo x secção da panícula, com teste de Tukey a 5% de probabilidade para os valores da viabilidade polínica do terço superior e inferior da panícula de genótipos de cana-de-açúcar

Tratamentos	Secção da panícula	
	Inferior (%)	Superior (%)
G2	87,3325 a A	70,2975 ab B
RB813804	84,0600 ab A	45,3825 cd B
RB931011	81,4550 ab A	51,7775 abcd B
G10	80,6625 ab A	73,0275 a A
RB002504	71,6925 abc A	65,9500 abc A
RB872552	62,4275 bcd A	68,7550 ab A
RB867515	54,8000 cd A	48,8000 bcd A
G3	48,2700 d A	57,7225 abcd A
RB863129	46,7450 d B	72,8250 a A
G9	41,3000 d A	41,1625 d A
Média geral	65,8745	59,5700

DMS entre os genótipos = 23,24%; DMS entre as secções da panícula = 14,15%.

Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Letras minúsculas distinguem a fonte de variação genótipo e letras maiúsculas distinguem a fonte de variação secção da panícula. Diferença Mínima Significativa (DMS).

No terço inferior da panícula, os genótipos G2, RB813804, RB931011, G10 e RB002504 não diferiram estatisticamente (Tabela 3). Porém, o acesso G2 diferiu significativamente dos genótipos RB872552, RB867515, G3, RB863129 e G9 (Tabela 3). Já no terço superior da panícula, os genótipos G10, RB863129, G2, RB872552, RB002504, G3 e RB931011 não apresentaram diferenças estatísticas entre si. Porém, os acessos G10 e RB863129 diferiram significativamente dos genótipos RB867515, RB813804 e G9, que exibiram as menores médias (Tabela 3). A amplitude de variação da viabilidade polínica observada no terço inferior da panícula entre os genótipos estudados foi de 45,07%, enquanto que a variação observada no terço superior da panícula foi de 31,87%. As diferenças estatísticas distintas entre os genótipos de cada secção da panícula, bem como as diferentes amplitudes de variação da viabilidade polínica observadas, podem indicar grande diferença natural entre os acessos ou grande influência do ambiente na expressão da característica. Como as condições ambientais na EFCCD são consideradas ideais ao florescimento e manutenção da viabilidade polínica da cana-de-açúcar, apresentando temperaturas variando entre 18 e 32°C (Berding, 1981; Araldi et al., 2010), fotoperíodo variando de 12 horas e 30 min a 12 horas e 55 min (Berding, 1981) e umidade relativa acima de 67% (Melloni, 2012), acredita-se que as variações observadas sejam predominantemente de ordem genética. Entretanto, pode-se observar que a variação no terço inferior da panícula foi maior que a do terço superior, indicando que a região basal da inflorescência pode ser mais influenciada pelo ambiente. Esta consideração vai de acordo com Amaral et al. (2012), que recomendam que a coleta de pólen seja realizada em panículas que apresentem o terço superior em antese para evitar a desidratação do pólen pela exposição à variação de temperatura.

Ainda de acordo com a tabela 3, houve diferença significativa entre os terços inferior e superior da panícula dos genótipos G2, RB813804, RB931011 e RB863129. Os genótipos G2, RB813804 e RB931011, apresentaram-se com maior viabilidade polínica no terço inferior da inflorescência, enquanto o acesso RB863129 mostrou-se mais viável no terço superior da panícula. As secções da inflorescência dos genótipos G10, RB002504, RB872552, RB867515, G3, e G9 não diferiram estatisticamente. Como pode ser observado na tabela 3, de maneira geral, as inflorescências dos genótipos avaliados apresentam maior viabilidade no terço inferior. Essas considerações sugerem que a coleta do pólen para conservação pode ser realizada em toda inflorescência, diferente do exposto por Amaral et al. (2012), que recomendam que a coleta de pólen seja realizada em panículas que apresentem as flores do terço superior em antese.

Com relação a viabilidade polínica no decorrer do tempo de armazenamento, a análise de variância mostrou diferença significativa, ao nível de 1% de probabilidade pelo teste F, para as

fontes de variação genótipo (G), dias de armazenamento (DA) e para interação G x DA, conforme a tabela 4.

**Tabela 4.** Análise de variância, delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial, dos valores médios da viabilidade polínica da panícula, com coeficiente de variação

Fontes de Variação	Graus de Liberdade	Soma dos Quadrados	Quadrado Médio
Genótipos (G)	3	2,3172	0,7724**
Dias de Armazenamento (DA)	5	1,9711	0,3942**
Genótipos x Dias de Armazenamento (G x DA)	15	0,4937	0,0329**
Resíduo	72	0,3723	0,0052
Total corrigido	95	5,1543	
Coeficiente de Variação (%) = 10,96			

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

Segundo Gomes (1990), o coeficiente de variação observado na tabela 4 é considerado médio, indicando boa precisão experimental. Devido a diferenças significativas para a interação G x DA, procedeu-se o desdobramento das fontes de variação na análise de variância e foi aplicado o teste de Tukey a 5% de probabilidade (Tabela 5).

**Tabela 5.** Análise do desdobramento da interação genótipo x dias de armazenamento, com teste de Tukey a 5% de probabilidade para os valores médios da viabilidade polínica da panícula

Genótipos	Dias de conservação					
	0	10	20	30	40	50
RB813804	64,72 a A	50,62 a AB	41,61 a B	39,39 a B	37,24 ab BC	24,52 b C
RB931011	68,82 a A	60,71 a AB	48,86 a BC	48,84 a BC	47,40 a BC	44,72 a C
RB863129	59,79 a A	49,63 a AB	41,61 a BC	38,15 a BC	32,82 b CD	22,47 b D
RB872552	65,59 a A	14,05 b B	9,66 b BC	8,88 b BC	8,15 c BC	3,15 c C
Média	64,73					23,72

Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. Letras minúsculas distinguem a fonte de variação genótipo e letras maiúsculas distinguem a fonte de variação dias de armazenamento.

De acordo com a tabela 5, no dia da coleta não houve diferença estatística significativa entre as variedades estudadas, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Segundo Gómez (1962), todos os genótipos apresentaram viabilidade polínica inicial considerada intermediária, indicando que estes genótipos podem ser utilizados como masculinos em cruzamentos artificiais (McIntyre & Jackson, 2001). Nos períodos de 10, 20 e 30 DA os genótipos RB931011, RB813804 e RB863129 não apresentam diferenças significativas entre si, no entanto, diferiram de RB872552, que obteve os menores valores de viabilidade polínica. Aos 40 DA, os melhores resultados foram observados para RB813804 e RB931011. O genótipo RB863129 não diferiu estatisticamente de RB813804, porém apresentou-se significativamente diferente de RB872552 que mais uma vez obteve resultado inferior as demais variedades. Aos 50, o genótipo RB931011 diferiu dos demais e apresentou a maior média de viabilidade polínica, e a variedade RB872552 apresentou novamente a menor média.

A viabilidade polínica média dos genótipos RB813804, RB931011 e RB863129, na avaliação final foi de 24,52%, 44,72% e 22,47%, respectivamente. Os valores finais da fertilidade dos pólenes destes acessos são considerados satisfatórios, pois, de acordo McIntyre & Jackson (2001), os genitores que apresentam viabilidade acima de 20%, podem ser considerados masculinos para utilização em cruzamentos biparentais. Segundo Buitink & Leprince (2004), os grãos de pólen armazenados permanecem viáveis, possivelmente, devido a ocorrência de estado vítreo (estado semissólido, líquido altamente viscoso) no citoplasma. A alta viscosidade do meio intracelular é considerada para diminuir a mobilidade molecular, impedir a difusão dentro do citoplasma e assim atenuar a taxa de deterioração do pólen durante o armazenamento.

Quando observados individualmente, cada genótipo apresentou comportamento diferenciado com relação a perda da viabilidade polínica no decorrer do tempo de armazenamento.

Na avaliação inicial, a viabilidade polínica do genótipo RB813804 foi semelhante à avaliação de 10 DA. No período compreendido entre 10 DA e 40 DA a viabilidade dos pólenes variou de 50,62% a 37,24% respectivamente, sem demonstrar diferenças significativas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Na última avaliação, aos 50 DA alcançou 24,52%, este valor está no limiar do valor considerado satisfatório para utilização de genitores masculinos em cruzamentos artificiais (McIntyre & Jackson, 2001), conforme tabela 5.

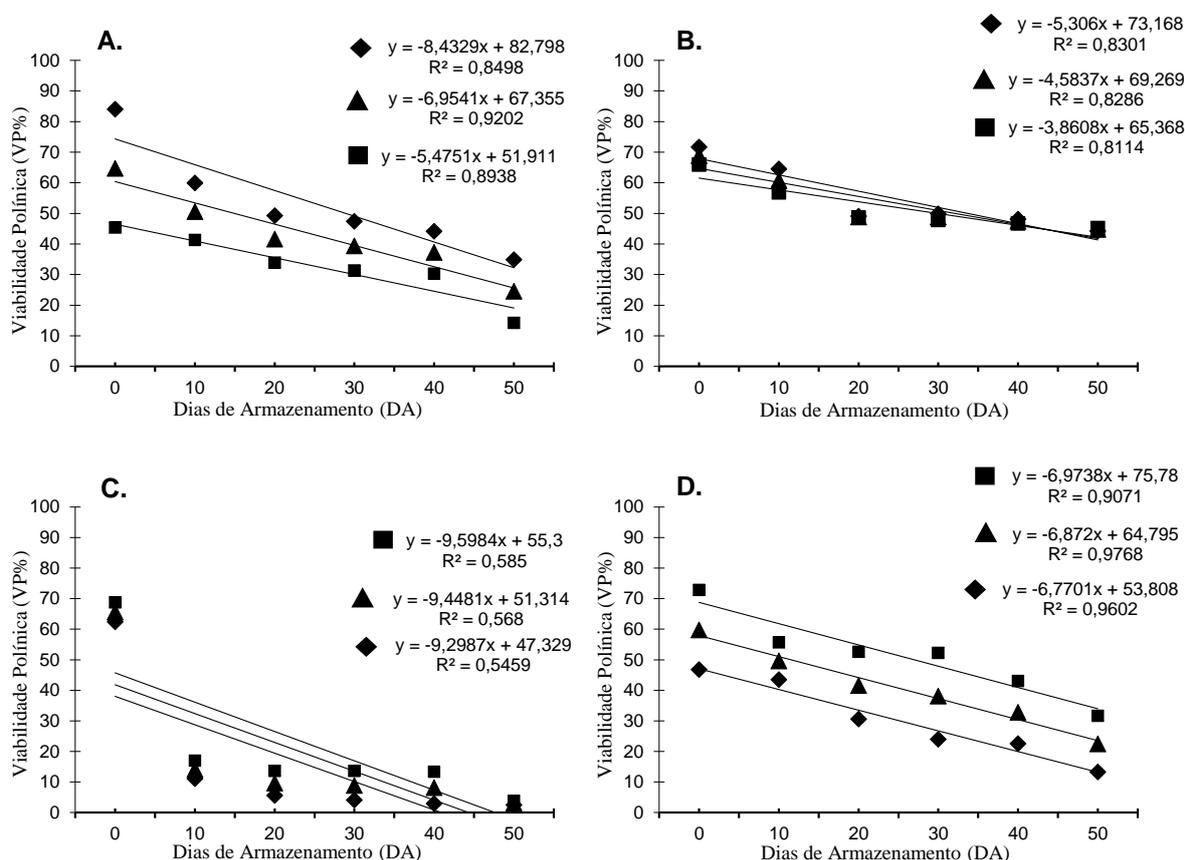
Ainda na tabela 5, o genótipo RB931011 apresentou viabilidade polínica inicial de 68,82% e gradativamente houve o declínio da viabilidade até 44,72% aos 50 DA. O valor médio observado na avaliação final pode ser considerado intermediário de acordo com Gómez (1962), podendo também ser recomendado como genitor masculino em cruzamentos artificiais (McIntyre & Jackson, 2001).

O genótipo RB863129 apresentou viabilidade polínica inicial de 59,79%, média que não variou estatisticamente da obtida aos 10 DA. Nos períodos subsequentes, observou-se que a fertilidade do pólen caiu consideravelmente, chegando a 22,4% (Tabela 5). A viabilidade final é considerada satisfatório e se mantém no limiar do valor de referência proposto por McIntyre & Jackson (2001).

No dia da coleta dos pólenes do genótipo RB872552, a viabilidade inicial obtida foi de 65,59%, caindo drasticamente para 3,15% aos 50 DA de armazenamento. Este acesso apresentou a maior variação entre todos os genótipos avaliados, sendo observado diferenças significativas nos períodos estudados (Tabela 5). A baixa viabilidade polínica final sugere que o genótipo não é indicado para fim de conservação.

Os dados da tabela 5 mostram diferença significativa entre a viabilidade dos genótipos na avaliação final, o que torna necessária outra avaliação no momento da polinização, concordando com os dados apresentados por Hanna (1994), Tighe (2004) e Amaral et al., (2012).

A análise de regressão verificou diferença significativa ao nível de 1% de probabilidade para as todas as variáveis estudadas, conforme Figura 1.



**Figura 1.** Regressão dos valores obtidos da secção superior (■), inferior (◆) e média (▲) para perda da viabilidade do pólen no decorrer do tempo de armazenamento. A. genótipo RB813804, B. genótipo RB931011, C. genótipo RB872552, D. genótipo RB863129

Todos os genótipos avaliados apresentaram comportamento linear em relação a perda da viabilidade polínica nos terços superior e inferior da panícula, assim como na média da viabilidade. Os coeficientes de determinação ( $R^2$ ) obtidos foram superiores a 80% para as variedades RB813804, RB863129 e RB931011, o que pode ser observado nas figuras 1A, 1B e 1D respectivamente, indicando que a análise de regressão foi eficiente para elucidar o fenômeno biológico da perda da viabilidade polínica no decorrer do tempo de armazenamento do pólen obtido dos terços superior, inferior e a da viabilidade média.

O declínio acentuado da viabilidade polínica verificado no genótipo RB872552 (Figura 1C), pode estar associado com a formação de cristais de gelo no meio intracelular, que podem causar rupturas físicas e injurias mecânicas, levando a perda de componentes celulares

(Benson, 2008). Entretanto, como os grãos de pólen foram desidratados, acredita-se que se trata de uma característica determinada geneticamente, sendo este um fator intrínseco da variedade, impossibilitando a utilização da conservação.

Os acessos RB813804, RB863129 e RB931011 demonstraram perda significativa da viabilidade polínica a partir de 20 dias de armazenamento e apresentaram valores satisfatórios na avaliação final, indicando que estes podem ser utilizados para fim de conservação de pólen. Segundo Song & Tachibana (2007), em condições controladas, a perda da viabilidade polínica é frequentemente associada à existência ou ausência de tolerância à dessecação do pólen. Estudos indicam que a deterioração do pólen durante o envelhecimento envolve a perda da integridade intracelular, a diminuição da atividade da enzima citocromo-oxidase, o acúmulo de radicais livres, a esterificação e a peroxidação de lipídios da membrana, levando ao aumento da perda de componentes celulares após a reidratação (Priestley et al., 1985; Georgieva & Kruleva, 1994; Van Bilsen et al., 1994; Taylor & Hepler, 1997). De acordo com Wolkers & Hoekstra (1995), os danos da membrana ocasionados pelo envelhecimento do pólen não estão associados com a desnaturação de proteínas. Entretanto, a perda da viabilidade polínica pode estar associada com a redução da síntese proteica no pólen após a reidratação, fator imperativo para o início da emissão do tubo polínico (Hoekstra & Bruinsma, 1979; Mascarenhas, 1993; Hiscock et al., 1995).

## CONCLUSÕES

A diferença observada entre as secções da inflorescência dos genótipos avaliados, evidencia que alguns genótipos apresentam maior viabilidade polínica no terço superior da panícula e outros no terço inferior e que se trata de uma característica determinada geneticamente pela variedade.

Os acessos G2, RB813804, e RB931011 apresentam viabilidade polínica mais elevada no terço inferior da inflorescência, enquanto a variedade RB863129 apresenta maior viabilidade do pólen no terço superior, porém, a coleta do pólen também pode ser realizada nas demais partes da panícula, tanto para fins de polinização manual quanto para conservação de pólen.

A técnica de conservação de pólen da cana-de-açúcar a -18°C mostra-se eficiente para manter a viabilidade polínica dos genótipos RB813804, RB863129 e RB931011, o que possibilita a realização de cruzamentos entre genitores que apresentam florescimento assíncrono e o aumento das possibilidades de exploração da variabilidade genética disponível no BAG.

## LITERATURA CITADA

- AMARAL, A.L. et al. Metodologia de conservação de pólen de cana-de-açúcar. Aracaju: EMBRAPA Tabuleiros Costeiros, 2012. 11p. (Comunicado Técnico 127).
- Araldi, R.; Silva, F.M.L; Ono, E.O.; Rodrigues, J.D. Florescimento em cana-de-açúcar. *Ciência Rural*, v.40, n.3, p.694-702, 2010.
- Bajaj, Y.P.S. Cryopreservation of plant cell, tissue, and organ culture for the conservation of germplasm and biodiversity. In: Bajaj, Y.P.S. Cryopreservation of plant germplasm I. Berlin: Springer, 1995. p. 3-28.
- Benson, E. Cryopreservation theory. In: Reed, B.M. (Org). Plant cryopreservation: a practical guide. Corvallis: Springer, 2008. p. 15-32.
- Berding, N. Improved flowering and pollen fertility in sugarcane under increased night temperature. *Crop Science*, v.21, n.6, p.863-867, 1981.
- Buitink, J.; Leprince, O. Glass formation in plant anhydrobiotes: survival in the dry state. *Cryobiology*, v.48, n.3, p.215-228, 2004.
- Cesnik, R.; Miocque, J. Melhoramento da cana-de-açúcar. Brasília: Embrapa Informação Tecnologia, 2004. 307p.
- Costa, I.G. Desempenho agroindustrial, adaptabilidade, estabilidade e divergência genética entre clones RB de cana-de-açúcar em Pernambuco. Recife: Universidade Federal Rural de Pernambuco, 2012. 125f. Dissertação de Mestrado.
- Dafni, A. Pollination ecology: a practical approach. Oxford: Oxford University Press, 1992. 250p.
- Damasceno Junior, P.C. et al. Conservação de pólen de mamoeiro (*Carica papaya* L.). *Ceres*, v.55, n.5, p.433-438, 2008.
- Ferreira, P.V. Estatística Experimental Aplicada à Agronomia. Maceió: EDUFAL, 2000. 430p.
- Ferreira, D.F. Sisvar: a computer statistical analysis system. *Ciência e Agrotecnologia*, v.35, n.6, p.1039-1042, 2011.
- Galetta, G.J. Pollen and seed management. In: Moore, J. N.; Janik, J. Methods in fruit breeding. Indiana: Purdue University Press, 1983, p. 23-47.
- Georgieva, I.D.; Kruleva, M.M. Cytochemical investigation of long-term stored maize pollen. *Euphytica*, v.72, n.1, p.87-94, 1994.
- Gomes, F.P. Curso de estatística experimental. Piracicaba: Nobel, 1990. 467p.
- Gómez, A.F. Caña de azúcar. 2 ed. Caracas: Edicampa, 1962. 661p.

Hanna, W.W. Pollen storage in frostless and conventional frost-forming freezers. *Crop Science*, v.34, n.6, p.1681-1682, 1994.

Heinz, D.J.; Tew, T.L. Hybridization procedures. In: Heinz, D.J. Sugarcane improvement through breeding. Amsterdam: Elsevier, 1987. p. 313-342.

Hiscock, S.J.; Doughty, J.; Dickinson, H.G. Synthesis and phosphorylation of pollen proteins during the pollen-stigma interaction in self-compatible *Brassica napus* L. and self-incompatible *Brassica oleracea* L. *Sexual Plant Reproduction*, v.8, n.6, p.345-353, 1995.

Hoekstra, F.A.; Bruinsma, J. Protein synthesis of binucleate and trinucleate pollen and its relationship to tube emergence and growth. *Planta*, v.146, n.5, p.559-566, 1979.

KÖPPEN, W.; GEIGER, R. *Klimate der erde*. Gotha: Verlag Justus Perthes. 1928. Wall-map 150 cm x 200 cm.

Machado Júnior, G.P. Melhoramento da cana-de-açúcar. In: Paranhos, S.B. (Coord.). *Cana-de-açúcar: cultivo e utilização*. Campinas: Fundação Cargill, 1987. v.1, p. 165-186.

Mangelsdorf, A.J. Um programa de melhoramento da cana-de-açúcar para a agroindústria canavieira do Brasil. Rio de Janeiro: Instituto do Açúcar e do Alcool, 1966. 63p.

Mascarenhas, J.P. Molecular mechanisms of pollen tube growth and differentiation. *The Plant Cell*, v.5, n.10, p.1303-1314, 1993.

McIntyre, C.L.; Jackson, P.A. Low level of selfing found in a sample of crosses in Australian sugarcane breeding programs. *Euphytica*, v.117, p.245-249, 2001.

Melloni, M.L.G. *Fisiologia do florescimento e viabilidade do grão-de-pólen da cana-de-açúcar (Saccharum sp.)*. Jaboticabal: Universidade Estadual Paulista, 2012. 80f. Dissertação Mestrado.

Priestley, D.A.; Wermer, B.; Leopold, C.; McBride, M. Organic free radical levels in seed and pollen: the effect of hydration and aging. *Physiologia Plantarum*, v.64, n.1, p.88-94, 1985.

SAS Institute Inc. *Statistical Analysis System user's guide*. Version 9.0. Cary, North Carolina: Statistical Analysis System Institute, 2002. 513p.

Simões Neto, D.E.; Melo, L.J.O.T.; Chaves, A.; LIMA, R.O.R. Lançamento de novas variedades RB de cana-de-açúcar. Recife: Imprensa Universitária UFRPE, 2005. 28p. (Boletim Técnico, n. 1).

Song, J.; Tachibana, S. Loss of viability of tomato pollen during long-term dry storage is associated with reduced capacity for translating polyamine biosynthetic enzyme genes after rehydration. *Journal of Experimental Botany*, v.58, n.15, p.4235-4244, 2007.

Taylor, L.P.; Hepler, P.K. Pollen germination and tube growth. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, v.48, n.1, p.461-491, 1997.

Tighe, M.E. *Manual de recolección y manejo de polen de pinus tropicales y subtropicales procedentes de rodales naturales*. Raleigh, NC, USA: NC State University, 2004. 20p.

Van Bilsen, D.G.J.L.; Van Roekel T., Hoekstra, F.A. Declining viability and lipid degradation during pollen storage. *Sexual Plant Reproduction*, v.7, p.303-310, 1994.

Wolkers, W.F.; Hoekstra, F.A. Aging of dry desiccation-tolerant pollen does not affect protein secondary structure. *Plant Physiology*, v.109, n.3, p.907-915, 1995.

# Revista Brasileira de Ciências Agrárias

## Brazilian Journal of Agricultural Sciences

ISSN (on line) 1981-0997. v.10, n.2, abr.-jun., 2015  
www.agraria.ufrpe.br

### Diretrizes para Autores

#### Objetivo e Política Editorial

A **Revista Brasileira de Ciências Agrárias** (RBCA) é editada pela Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE) com o objetivo de divulgar artigos científicos, para o desenvolvimento científico das diferentes áreas das Ciências Agrárias. As áreas contempladas são: Agronomia, Engenharia Agrícola, Engenharia Florestal, Engenharia de Pesca e Aqüicultura, Medicina Veterinária e Zootecnia. Os artigos submetidos à avaliação devem ser originais e inéditos, sendo vetada a submissão simultânea em outros periódicos. A reprodução de artigos é permitida sempre que seja citada explicitamente a fonte.

#### Forma e preparação de manuscritos

O trabalho submetido à publicação deverá ser cadastrado no portal da revista (<http://www.agraria.pro.br>). O cadastro deverá ser preenchido apenas pelo autor correspondente que se responsabilizará pelo artigo em nome dos demais autores.

Só serão aceitos trabalhos depois de revistos e aprovados pela Comissão Editorial, e que não foram publicados ou submetidos em publicação em outro veículo. Excetuam-se, nesta limitação, os apresentados em congressos, em forma de resumo.

Os trabalhos subdivididos em partes 1, 2..., devem ser enviados juntos, pois serão submetidos aos mesmos revisores. Solicita-se observar as seguintes instruções para o preparo dos artigos.

*Artigos referentes a experiências conduzidas em nível de campo só serão aceitos para eventual publicação, quando os mesmos apresentarem dados de, no mínimo, dois anos agrícolas de avaliação.*

*Pesquisa envolvendo seres humanos e animais obrigatoriamente deve apresentar parecer de aprovação de um comitê de ética institucional já na submissão.*

#### Composição seqüencial do artigo

- a. Título: no máximo com 15 palavras, em que apenas a primeira letra da primeira palavra deve ser maiúscula.
- b. Os artigos deverão ser compostos por, **no máximo, 6 (seis) autores**;
- c. Resumo: no máximo com 15 linhas;
- d. Palavras-chave: no mínimo três e no máximo cinco, não constantes no Título;
- e. Título em inglês no máximo com 15 palavras, ressaltando-se que só a primeira letra da primeira palavra deve ser maiúscula;
- f. Abstract: no máximo com 15 linhas, devendo ser tradução fiel do Resumo;
- g. Key words: no mínimo três e no máximo cinco;
- h. Introdução: destacar a relevância do artigo, inclusive através de revisão de literatura;
- i. Material e Métodos;
- j. Resultados e Discussão;
- k. Conclusões devem ser escritas de forma sucinta, isto é, sem comentários nem explicações adicionais, baseando-se nos objetivos da pesquisa;
- l. Agradecimentos (facultativo);
- m. Literatura Citada.

**Observação:** Quando o artigo for escrito em inglês, o título, resumo e palavras-chave deverão também constar, respectivamente, em português ou espanhol, mas com a seqüência alterada, vindo primeiro no idioma principal.

Edição do texto

- a. **Idioma:** Português, Inglês e Espanhol
- b. **Processador:** Word for Windows;

c. **Texto:** fonte Times New Roman, tamanho 12. Não deverá existir no texto palavras em negrito;

d. **Espaçamento:** duplo entre o título, resumo e abstract; simples entre item e subitem; e no texto, espaço 1,5;

e. *Parágrafo:* 0,5 cm;

f. **Página:** Papel A4, orientação retrato, margens superior e inferior de 2,5 cm, e esquerda e direita de 3,0 cm, no máximo de 20 páginas não numeradas;

g. Todos os itens em letras maiúsculas, em negrito e centralizados, exceto Resumo, Abstract, Palavras-chave e Key words, que deverão ser alinhados à esquerda e apenas as primeiras letras maiúsculas. Os subitens deverão ser alinhados à esquerda, em negrito e somente a primeira letra maiúscula;

h. As grandezas devem ser expressas no SI (Sistema Internacional) e a terminologia científica deve seguir as convenções internacionais de cada área em questão;

i. *Tabelas e Figuras (gráficos, mapas, imagens, fotografias, desenhos)*

- Títulos de tabelas e figuras deverão ser escritos em fonte Times New Roman, estilo normal e tamanho 9;

- As tabelas e figuras devem apresentar larguras de 9 ou 18 cm, com texto em fonte Times New Roman, tamanho 9, e ser inseridas logo abaixo do parágrafo onde foram citadas pela primeira vez. Exemplo de citações no texto: Figura 1; Tabela 1. Tabelas e figuras que possuem praticamente o mesmo título deverão ser agrupadas em uma tabela ou figura criando-se, no entanto, um indicador de diferenciação. A letra indicadora de cada sub-figura numa figura agrupada deve ser maiúscula e com um ponto (exemplo: A.), e posicionada ao lado esquerdo superior da figura e fora dela. As figuras agrupadas devem ser citadas no texto da seguinte forma: Figura 1A; Figura 1B; Figura 1C.

- As tabelas não devem ter tracejado vertical e o mínimo de tracejado horizontal. Exemplo do título, o qual deve ficar acima: Tabela 1. Estações do INMET selecionadas (sem ponto no final). Em tabelas que apresentam a comparação de médias, mediante análise estatística, deverá existir um espaço entre o valor numérico (média) e a letra. As unidades deverão estar entre parêntesis.

- As figuras não devem ter bordadura e suas curvas (no caso de gráficos) deverão ter espessura de 0,5 pt, e ser diferenciadas através de marcadores de legenda diversos e nunca através de cores distintas. Exemplo do título, o qual deve ficar abaixo: Figura 1. Perda acumulada de solo em função do tempo de aplicação da chuva simulada (sem ponto no final). Para não se tornar redundante, as figuras não devem ter dados constantes em tabelas. Fotografias ou outros tipos de figuras deverão ser escaneadas com 300 dpi e inseridas no texto. O(s) autor(es) deverá(ão) primar pela qualidade de resolução das figuras, tendo em vista uma boa reprodução gráfica. As unidades nos eixos das figuras devem estar entre parêntesis, mas, sem separação do título por vírgula.

### **Exemplos de citações no texto**

- a. Quando a citação possuir apenas um autor: ... Freire (2007) ou ... (Freire, 2007).
- b. Quando possuir dois autores: ... Freire & Nascimento (2007), ou ... (Freire & Nascimento, 2007).
- c. Quando possuir mais de dois autores: Freire et al. (2007), ou (Freire et al., 2007).

### *Literatura citada*

O artigo deve ter, preferencialmente, no máximo **25 citações bibliográficas**. A revista recomenda que oitenta por cento (80%) das referências bibliográficas sejam de artigos listados na base *ISI Web of Knowledge, Scopus ou SciELO* com menos de 10 anos.

As Referências deverão ser efetuadas no estilo ABNT (NBR 6023/2000) conforme normas próprias da revista.

As referências citadas no texto deverão ser dispostas em ordem alfabética pelo sobrenome do primeiro autor e conter os nomes de todos os autores, separados por ponto e vírgula. As citações devem ser, preferencialmente, de publicações em periódicos, as quais deverão ser apresentadas conforme os exemplos a seguir:

#### *a. Livros*

Mello, A.C.L. de; Vêras, A.S.C.; Lira, M. de A.; Santos, M.V.F. dos; Dubeux Júnior, J.C.B; Freitas, E.V. de; Cunha, M.V. da . Pastagens de capim-elefante: produção intensiva de leite e carne. Recife: Instituto Agrônômico de Pernambuco, 2008. 49p.

#### *b. Capítulo de livros*

Serafim, C.F.S.; Hazin, F.H.V. O ecossistema costeiro. In: Serafim; C.F.S.; Chaves, P.T. de (Org.). O mar no espaço geográfico brasileiro. Brasília- DF: Ministério da Educação, 2006. v. 8, p. 101-116.

### *c. Revistas*

Sempre que possível o autor deverá acrescentar a url para o artigo referenciado e o número de identificação DOI (Digital Object Identifiers).

Quando o artigo tiver a url.

Oliveira, A. B. de; Medeiros Filho, S. Influência de tratamentos pré-germinativos, temperatura e luminosidade na germinação de sementes de leucena, cv. Cunningham. Revista Brasileira de Ciências Agrárias, v.7, n.4, p.268-274, 2007.

<<http://agraria.pro.br/sistema/index.php?journal=agraria&page=article&op=view&path%5B%5D=183&path%5B%5D=104>>. 29 Dez. 2012.

Quando o artigo tiver DOI.

Costa, R.B. da; Almeida, E.V.; Kaiser, P.; Azevedo, L.P.A. de; Tyszka Martinez, D. Tsukamoto Filho, A. de A. Avaliação genética em progênies de *Myracrodruon urundeuva* Fr. All. na região do Pantanal, estado do Mato Grosso. Revista Brasileira de Ciências Agrárias, v.6, n.4, p.685-693, 2011. <<http://dx.doi.org/10.5039/agraria.v6i4a1277>>.

### *d. Dissertações e teses*

Bandeira, D.A. Características sanitárias e de produção da caprinocultura nas microrregiões do Cariri do estado da Paraíba. Recife: Universidade Federal Rural de Pernambuco, 2005. 116p. Tese Doutorado.

### *e. WWW (World Wide Web) e FTP (File Transfer Protocol)*

Burka, L.P. A hipertext history of multi-user dimensions; MUD history. <<http://www.aka.org.cn/Magazine/Aka4/interhisE4.html>>. 29 Nov. 2012.

Não serão aceitas citações bibliográficas do tipo apud ou citado por, ou seja, as citações deverão ser apenas das referências originais.

Citações de artigos no prelo, comunicação pessoal, folder, apostila, monografia, trabalho de conclusão de curso de graduação, relatório técnico e trabalhos em congressos, não são aceitos na elaboração dos artigos.

## Outras informações sobre a normatização de artigos

- 1) Os títulos das bibliografias listadas devem ter apenas a primeira letra da primeira palavra maiúscula, com exceção de nomes próprios. O título de eventos deverá ter apenas a primeira letra de cada palavra maiúscula;
- 2) O nome de cada autor deve ser por extenso apenas o primeiro nome e o último sobrenome, sendo apenas a primeira letra maiúscula;
- 3) Não colocar ponto no final de palavras-chave, key words e títulos de tabelas e figuras. Todas as letras das palavras-chave devem ser minúsculas, incluindo a primeira letra da primeira palavra-chave;
- 4) No Abstract, a casa decimal dos números deve ser indicada por ponto em vez de vírgula;
- 5) A Introdução deve ter, preferencialmente, no máximo 2 páginas. Não devem existir na Introdução equações, tabelas, figuras, e texto teórico sobre um determinado assunto;
- 6) Evitar parágrafos muito longos;
- 7) Não deverá existir itálico no texto, em equações, tabelas e figuras, exceto nos nomes científicos de animais e culturas agrícolas, assim como, nos títulos das tabelas e figuras escritos em inglês;
- 8) Não deverá existir negrito no texto, em equações, figuras e tabelas, exceto no título do artigo e nos seus itens e subitens;
- 9) Em figuras agrupadas, se o título dos eixos x e y forem iguais, deixar só um título centralizado;
- 10) Todas as letras de uma sigla devem ser maiúsculas; já o nome por extenso de uma instituição deve ter maiúscula apenas a primeira letra de cada nome;
- 11) Nos exemplos seguintes o formato correto é o que se encontra no lado direito da igualdade: 10 horas = 10 h; 32 minutos = 32 min; 5 l (litros) = 5 L; 45 ml = 45 mL; l/s = L.s<sup>-1</sup>; 27°C = 27 °C; 0,14 m<sup>3</sup>/min/m = 0,14 m<sup>3</sup>.min<sup>-1</sup>.m<sup>-1</sup>; 100 g de peso/ave = 100 g de peso por ave; 2 toneladas = 2 t; mm/dia = mm.d<sup>-1</sup>; 2x3 = 2 x 3 (deve ser separado); 45,2 - 61,5 = 45,2-61,5 (deve ser junto). A % é unidade que deve estar junta ao número (45%). Quando no texto existirem valores numéricos seguidos, colocar a unidade somente no último valor (Exs.: 20 e 40 m; 56,0, 82,5 e 90,2%). Quando for pertinente, deixar os valores numéricos com no máximo duas casas decimais;

- 12) Na definição dos parâmetros e variáveis de uma equação, deverá existir um traço separando o símbolo de sua definição. A numeração de uma equação deve estar entre parêntesis e alinhada esquerda. Uma equação deve ser citada no texto conforme os seguintes exemplos: Eq. 1; Eq. 4.;
- 13) Quando o artigo for submetido não será mais permitida mudança de nome dos autores, seqüência de autores e quaisquer outras alterações que não sejam solicitadas pelo editor.

#### Procedimentos para encaminhamento dos artigos

O autor correspondente deve se cadastrar como autor e inserir o artigo no endereço <http://www.agraria.ufrpe.br> ou <http://www.agraria.pro.br>.

O autor pode se comunicar com a Revista por meio do e-mail [agrarias@prppg.ufrpe.br](mailto:agrarias@prppg.ufrpe.br), [editorgeral@agraria.pro.br](mailto:editorgeral@agraria.pro.br) ou [secretaria@agraria.pro.br](mailto:secretaria@agraria.pro.br).

## **CAPÍTULO III**

---

### **CORRELAÇÃO VIABILIDADE POLÍNICA E FERTILIDADE DA CARIÓPSE EM CANA-DE-AÇÚCAR**

## **Correlação viabilidade polínica e fertilidade da cariópse em cana-de-açúcar**

### **Correlation pollen viability and caryopsis fertility in sugarcane**

**RESUMO** - A cana-de-açúcar apresenta flores hermafroditas em sua inflorescência, porém, pode haver diferenças consideráveis quando se trata de viabilidade polínica, podendo apresentar flores macho-estéreis. O presente trabalho teve como objetivo verificar a existência de correlação entre a viabilidade polínica e a fertilidade da cariópse em cana-de-açúcar, afim de justificar o emprego de estudos sobre o pólen em programas de melhoramento genético. Os experimentos foram conduzidos na Estação de Floração e Cruzamento da Cana-de-açúcar de Devaneio e na Estação experimental de Cana-de-açúcar do Carpina, sob delineamento inteiramente casualizado. Foram caracterizados 22 genótipos utilizando a Solução de Lugol 2% em grãos de pólen obtidos de anteras maduras, com quatro repetições. O teste F foi aplicado e os genótipos agrupados pelo teste de Schott & Knott, a correlação foi feita utilizando o Coeficiente de Correlação de Spearman. Os resultados obtidos demonstram que os genótipos apresentam diferenças estatísticas significativas ao nível de 1% pelo teste F. Os genótipos G10 e G2 são recomendados para serem utilizados como parentais masculinos, os acessos RB002504, RB931011, RB872552, RB813804, G5, RB863129, G1, G3, RB867515, G4, G12, G11, G9, G8 e G7 como intermediários, e os genótipos G16, G6, G13, G15 e G14, foram recomendados como parentais femininos. Verificou-se correlação positiva de 0,8015 entre as variáveis estudadas, sendo significativa pelo teste t.

**Palavras chave:** Solução de Lugol. Hibridação. Germinação. Melhoramento Genético.

*Saccharum spp.*

**ABSTRACT** - The sugarcane has hermaphrodite flowers in its inflorescence, but there may be considerable differences when it comes to pollen viability and may make male-sterile flowers. This study aimed to verify the existence of correlation between pollen viability and caryopsis fertility of sugarcane in order to justify the use of studies on pollen in breeding programs. The experiments were conducted at Estação de Floração e Cruzamento da Cana-de-açúcar de Devaneio and at Estação experimental de Cana-de-açúcar do Carpina, under completely randomized design. Twenty two genotypes were characterized using Lugol solution 2%, in pollen grains obtained from mature anthers, with four replications. The F test was applied and the genotypes grouped by test Schott e Knott (1974), the correlation was made using the Spearman correlation coefficient. The results showed that the genotypes had statistically significant differences at 1% by F test the G10 and G2 genotypes are recommended to be used as male parents, the access RB002504, RB931011, RB872552, RB813804, G5, RB863129, G1, G3, RB867515, G4, G12, G11, G9, G8 and G7 as intermediaries, and the genotypes G16, G6, G13, G15 and G14, were recommended as female parents. There was a positive correlation of 0,8015 between variables, being significant by t test.

**Keywords:** Lugol solution. Hybridization. Germination. Genetic Improvement. *Saccharum spp.*

## INTRODUÇÃO

Uma das mais importantes metodologias utilizadas para hibridizar a cana-de-açúcar é o cruzamento biparental (BP). Neste método os genitores masculinos e femininos são escolhidos, identificados e isolados em campânula para que ocorra a hibridação. Segundo Cesnik e Miocque (2004), através do cruzamento BP é possível explorar o máximo da heterose. Entretanto, problemas relacionados ao florescimento dificultam a realização do cruzamento biparental (AMARAL et al., 2012).

A emissão do pedúnculo floral e a viabilidade polínica são bastante influenciada por fatores ambientais, tais como temperatura, fotoperíodo e umidade (MOORE, 1987; OLIVEIRA, 2007; SCARPARI; BEAUCLAIR, 2010; TORRECILLA et al., 2010). As condições ambientais ideais para que a cana-de-açúcar emita a inflorescência e mantenha pólen fértil são temperaturas entre 18 e 32°C (ARALDI et al., 2010; BERDING, 1981; MOORE, 1987; NUSS; BERDING, 1999), fotoperíodo variando de 12 horas e 30 min a 12 horas e 55 min (BERDING, 1981) e umidade relativa acima de 67%, tendo máxima germinação em condições acima de 85% (MELLONI, 2012).

Além das influências ambientais na viabilidade polínica, existem também fatores genéticos que determinam a germinação dos grãos de pólen (KRISHNAMURTHI, 1977). Segundo Pozzobon et al. (2011), a possível ocorrência de anormalidades genéticas e/ou alterações cromossômicas podem resultar na formação de plantas macho-estéreis, prejudicando a produção de sementes. Assim, a viabilidade do pólen e o grau de deiscência das anteras da cana-de-açúcar variam de genótipo para genótipo (OLIVEIRA, 2007). Tomando conhecimento sobre a viabilidade polínica dos genitores, o pesquisador pode escolher e direcionar quais acessos serão utilizados como doadores ou receptores de pólen em cruzamentos artificiais (PEDERSEN et al., 2004).

Para avaliar a viabilidade dos grãos de pólen podem ser utilizadas diversas metodologias, tais como: análise visual das anteras e dos estigmas, teste de germinação da cariópse, cultivo *in vitro* do pólen e marcação citológica. Por apresentarem baixo custo, os métodos colorimétricos são os mais utilizados por programas de melhoramento genético no Brasil (MANOHAR; MURTHY, 2011; VIŽINTIN; BOHANEK, 2004). A marcação citológica também é importante devido a facilidade e a rapidez em obter os resultados (GALETTA, 1983). Os marcadores histoquímicos mais utilizados nos métodos colorimétricos são: corante de Alexander, carmim acético, carmim propiônico,orceína acética, azul lactofenol e solução de lugol. Segundo Machado Júnior (1987), a solução de lugol é a mais utilizada para analisar a viabilidade polínica da cana-de-açúcar.

Segundo Berding (1981), pode haver correlação entre o percentual de pólen viável e o número de *seedlings* produzidos a partir das cariópses obtidas de cruzamentos biparentais. Os procedimentos mais utilizados para determinar a correlação entre pares de variáveis são o coeficiente de correlação de Pearson ( $P_p$ ) e o coeficiente de correlação de Spearman ( $P_s$ ) (DIAS; BARROS, 2009).

Em relação à cana-de-açúcar, não foram identificados na literatura estudos de correlação entre a viabilidade do pólen e a fertilidade da cariópse. Acredita-se que havendo correlação positiva entre as variáveis, pode-se inferir que é pouca a influência da autoincompatibilidade genética nas hibridações. Assim, ao proceder a caracterização dos acessos quanto a viabilidade polínica, podem ocorrer melhorias na qualidade da cariópse e, portanto, otimizar o processo de produção de *seedlings* no melhoramento genético da cana-de-açúcar.

Diante do exposto, o presente trabalho objetivou caracterizar parentais quanto a viabilidade polínica e direcioná-los em cruzamentos biparentais, para estudar os reflexos na fertilidade da cariópse e determinar o grau de correlação entre as variáveis em cana-de-açúcar, afim de justificar o emprego de estudos sobre o pólen em programas de melhoramento genético.

## MATERIAL E MÉTODOS

Inicialmente foram selecionados 22 genótipos, sendo 16 clones em destaque no Programa de Melhoramento Genético da Cana-de-açúcar (PMGCA) da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), e seis variedades comerciais de cana-de-açúcar. Estes genótipos foram selecionados por apresentarem características agroindustriais importantes, tais como elevada produtividade agrícola e alto teor de sacarose. A tabela 1 mostra a identificação do material biológico em estudo.

**Tabela 1.** Identificação dos clones e variedades de cana-de-açúcar e seus genitores, avaliados quanto a viabilidade polínica.

CLONES / VARIEDADES	GENITORES		PROCEDÊNCIA
	FEMININO	MASCULINO	
G1*	RB867515⊗	-	UFRPE/RIDESA
G2*	SP80-1816	***	UFRPE/RIDESA
G3*	ROC3	RB83100	UFRPE/RIDESA
G4*	RB867515	***	UFRPE/RIDESA
G5*	SP81-3250	RB966928	UFRPE/RIDESA
G6*	RB855511	***	UFRPE/RIDESA
G7*	RB75126	RB72199	UFRPE/RIDESA
G8*	IAC68-12	***	UFRPE/RIDESA
G9*	R397	***	UFRPE/RIDESA
G10*	RB943365⊗	-	UFRPE/RIDESA
G11*	RB72454	***	UFRPE/RIDESA
G12*	RB835205	***	UFRPE/RIDESA
G13*	B42231	***	UFRPE/RIDESA
G14*	SP79-1011	RB732577	UFRPE/RIDESA
G15*	NA56-79	Co775	UFRPE/RIDESA
G16*	F147	***	UFRPE/RIDESA
RB002504**	SP80-1816	***	UFRPE/RIDESA
RB813804**	CP48-124	***	UFRPE/RIDESA
RB863129**	RB763411	***	UFRPE/RIDESA
RB867515**	RB72454	***	UFV/RIDESA
RB872552**	RB754665	RB773720	UFRPE/RIDESA
RB931011**	RB83160	RB72454	UFAL/RIDESA

\* Clones em experimentação; \*\* Variedade comercial; \*\*\* Genitor desconhecido; ⊗ Autofecundação.

Visando a coleta de pólen, os 22 acessos foram plantados no Banco Ativo de Germoplasma (BAG) em dois sulcos de cinco metros, espaçados em um metro entre sulcos e meio metro entre touceiras. O BAG utilizado foi o da Estação de Floração e Cruzamento da Cana-de-açúcar de Devaneio (EFCCD), que pertence a Estação Experimental de Cana-de-açúcar do Carpina (EECAC) da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), que é integrante da Rede Interuniversitária para Desenvolvimento do Setor Sucroalcooleiro (RIDESA).

A EFCCD fica localizada no Município de Amaraji, Zona da Mata Sul do Estado de Pernambuco, na latitude 08°19'8"S, longitude 35°24'893"W e altitude 514m. A precipitação média anual é de 2600 mm, com temperaturas mínimas e máximas de 18,92°C e 28,15°C, respectivamente. De acordo com Köppen (1928) o clima local é tropical com estação seca, classificado como As. Este ambiente é considerado propício ao florescimento da cana-de-açúcar, tornando possível realizar hibridações.

Segundo Heinz e Tew (1987), com o intuito de facilitar o manuseio dos colmos no ato da coleta da panícula e da realização dos cruzamentos, bem como promover a conservação das inflorescências e a manutenção da viabilidade polínica após o corte dos colmos, utiliza-se a tradicional solução ácida de Mangelsdorf (1966). Entretanto, como a referida solução apresenta alto custo, houve a substituição de tal solução pela realização de 10 alporques em cada acesso.

Os procedimentos de coleta dos pólenes seguiram a metodologia proposta por Amaral et al. (2012), na qual as panículas que apresentaram um terço das flores em antese foram coletadas e encaminhadas ao laboratório. As análises da viabilidade polínica foram realizadas no laboratório da EFCCD, onde foram retiradas de cada genótipo seis anteras maduras, as quais foram abertas em lâmina histológica contendo uma gota de Solução de Lugol a 2% (1g de iodo, 2g de iodeto de potássio e 100ml de água destilada) (DAFNI, 1992). De acordo com o autor, neste método o pólen é considerado viável quando apresenta tons de marrom, isso ocorre devido a presença de reserva de amido e da integridade das membranas, enquanto os grãos de pólen descorados, amarelo pálido e/ou translúcidos são considerados inviáveis ou malformados.

A contagem do número total de grãos de pólen corados e não corados, permitiu estimar a viabilidade polínica percentual. Posteriormente, os acessos foram classificados de acordo com as recomendações de Gómez (1962), nas quais os genótipos que exibiram mais de 70% dos grãos de pólen férteis foram considerados doadores de pólen (masculinos), entre 30 e 70% considerados intermediários e podem ser aproveitados tanto como parentais masculinos quanto

femininos, e os que apresentaram menos de 30% foram considerados como receptores de pólen (feminino) para cruzamentos biparentais.

Subsequentemente, dos 22 genótipos estudados e caracterizados, dez genótipos foram utilizados em cruzamentos para determinar a correlação entre a viabilidade polínica e a fertilidade da cariópse (Tabela 2).

**Tabela 2.** Identificação dos cruzamentos realizados para avaliar a correlação entre a viabilidade polínica e a fertilidade da cariópse

GENITORES	
FEMININO	MASCULINO
G10	*
G10⊗	-
G12⊗	-
G14⊗	-
G14	G15
G14	G7
G14	G16
G14	RB863129
G14	RB931011
RB002504	*
RB002504⊗	-
RB002504	RB931011
RB813804⊗	-
RB813804	RB002504
RB813804	RB931011
RB863129	*
RB863129⊗	-

\* Genitor desconhecido; ⊗ Autofecundação.

Para realizar os cruzamentos, os colmos oriundos das alporques foram coletados, quando estavam no início do florescimento, e foram isolados em campânula para que houvesse a fecundação das inflorescências sem contaminação por pólenes de outros acessos. Após a fecundação, os parentais foram isolados individualmente na campânula para maturação das cariópses.

Após trinta dias da polinização, as cariópses foram coletadas e selecionadas para o plantio. O teste de germinação para avaliação da fertilidade da cariópse foi conduzido na casa de vegetação da EECAC, situada no município de Carpina-PE com latitude 07°51'03"S e longitude 35°15'17"W e altitude 184m.

De cada cruzamento foram semeadas quatro amostras com 0,6g de cariópses em caixas plásticas (50 x 30cm) contendo substrato (composto de torta de filtro e palha de cana-de-açúcar), as quais subsequentemente foram cobertas com napa. Foi avaliado o número de cariópses germinadas por caixa, dez dias após o semeio, para estimar o percentual de germinação (%G). O valor de referência proposto por Cabral (2007) foi utilizado para estimar a quantidade de cariopse férteis em 0,6g. Segundo o autor, em 2g de cariópses não selecionadas é possível obter-se 1152 *seedlings*, logo, em 0,6g é possível obter-se 691 *seedlings*.

Os dados de viabilidade polínica, obtidos em percentagem, foram transformados para o arco seno  $\sqrt{x}$  (%). Segundo Ferreira (2000), essa transformação deve ser utilizada quando os dados são oriundos de uma distribuição binomial e extrapolam a amplitude de 30 a 70%. Após a transformação, a análise de variância e o agrupamento dos dados pelo método de Schott e Knott (1974) foram obtidos com auxílio do Programa Sisvar (FERREIRA, 2011).

O delineamento experimental adotado foi o inteiramente casualizado, segundo o modelo:  $y_{(ij)} = \mu + \tau_{(i)} + \varepsilon_{(ij)}$ , onde:  $y_{(ij)}$  é o dado observado na parcela  $ij$ ;  $\mu$  é uma constante (média geral);  $\tau_{(i)}$  é o efeito do tratamento  $i$  e  $\varepsilon_{(ij)}$  é o erro experimental da parcela  $ij$ .

O coeficiente de correlação de Spearman ( $P_s$ ) foi utilizado para determinar o grau de associação entre a viabilidade polínica e a fertilidade da cariópse, por ser um método não-paramétrico. O  $P_s$  é determinado pelo modelo:  $P_s = 1 - \frac{6 \sum_i d_i^2}{(n^3 - n)}$ , no qual:  $n$  é o número de pares (X, Y) e  $d_i$  é a diferença de postos entre X e Y.

Posteriormente, para verificar a significância do coeficiente de correlação de Spearman foi aplicado o teste t de Student, seguindo o modelo:  $t = P_s \sqrt{\frac{n-2}{1-P_s^2}}$ .

As transformações dos dados, o coeficiente de correlação de Spearman e o teste t de Student, foram obtidos com auxílio do software estatístico SAS (2002).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

De acordo com o teste F, houve diferença significativa ao nível de 1% de probabilidade para a fonte de variação genótipo. O coeficiente de variação foi de 11,96, o que segundo Gomes (1990), é considerado médio e demonstra boa precisão experimental (Tabela 3).

**Tabela 3.** Resultado da análise de variância, em delineamento inteiramente casualizado, dos valores médios da viabilidade polínica dos genótipos avaliados para fins de classificação.

FV	GL	SQ	QM	FC	PR>FC
Genótipos	21	5,0321	0,2396	30,0980	0,0000
Resíduo	66	0,5255	0,0080		
Total corrigido	87	5,5576			
CV (%) = 11,96					

FV - Fontes de variação; GL - Graus de liberdade; SQ - Soma dos quadrados; QM - Quadrado médio; VF - Valor de F; PR>F - Probabilidade de F.

Devido ao efeito significativo para a fonte de variação genótipo, foi aplicado o método de Schott e Knott (1974) para formar os agrupamentos das médias (Tabela 4).

**Tabela 4.** Agrupamento dos valores médios de viabilidade polínica dos genótipos avaliados de acordo com o teste de Schott e Knott (1974), para fins de recomendação dos genitores em cruzamentos biparentais (GÓMEZ, 1962).

Genótipos	Média agrupadas / erro padrão (%)	Recomendação do genitor em cruzamento
G2	78,82±2,66 a	Masculino
G10	76,85±2,35 a	Masculino
RB002504	68,82±5,83 b	Intermediário
RB931011	66,62±4,20 b	Intermediário
RB872552	65,59±3,51 b	Intermediário
RB813804	64,72±2,97 b	Intermediário
G5	63,63±3,46 b	Intermediário
RB863129	59,79±2,11 b	Intermediário
G1	58,42±2,96 b	Intermediário
G3	53,00±3,00 c	Intermediário
RB867515	51,80±5,84 c	Intermediário
G4	47,94±3,13 c	Intermediário
G12	44,35±6,01 c	Intermediário
G11	44,09±5,38 c	Intermediário
G9	41,23±3,85 c	Intermediário
G8	37,19±4,39 c	Intermediário
G7	35,97±4,90 c	Intermediário
G16	25,33±3,62 d	Feminino
G6	22,28±5,67 d	Feminino
G13	21,04±5,57 d	Feminino
G15	7,12±0,70 e	Feminino
G14	2,97±0,72 e	Feminino

Médias seguidas de mesma letra não diferem-se pelo teste de Schott e Knott (1974).

Foram formados cinco grupos distintos pelo método de Schott e Knott (1974). O primeiro grupo, formado pelos acessos G2 e G10, apresenta viabilidade polínica considerada alta, podendo serem utilizados como doadores de pólen (masculinos) (GÓMEZ, 1962). Enquanto o segundo grupo (RB002504, RB931011, RB872552, RB813804, G5, RB863129 e G1), assim como, o terceiro (G3, RB867515, G4, G12, G11, G9, G8 e G7), apresentaram genótipos com viabilidade polínica intermediária e podem ser utilizados tanto como parentais femininos quanto como parentais masculinos nos cruzamentos biparentais (GÓMEZ, 1962). Por fim, o quarto (G16, G6 e G13) e o quinto grupo (G15 e G14), apresentaram genótipos com a menor viabilidade dos grãos de pólen e podem ser usados como receptores de pólen (femininos) (GÓMEZ, 1962) (Tabela 4).

A viabilidade polínica média dos genótipos em estudo foi de 47,16%. Resultados semelhantes foram obtidos por Melloni (2013), que estudou quatro genótipos em três horários de coletas diferentes e obteve viabilidade média de 60,90%.

A tabela 4 mostra que a menor média observada foi de 2,97% para o genótipo G14, enquanto a maior média obtida foi de 78,82% para o genótipo G2. Esta variação acentuada poderia estar associada a forte influência do ambiente na expressão desta característica. Entretanto, as condições ambientais da EFCCD são consideradas ideais para o florescimento, manutenção da viabilidade polínica e para realização de cruzamentos. Assim, esta grande variação pode estar associada a fatores genéticos ou com a frequente má formação de gametas na cana-de-açúcar (BURNER; BENJAMIN, 1993).

Quanto à relação da viabilidade polínica com a fertilidade da cariópse dos cruzamentos, os genótipos G14 e G15 apresentaram os percentuais mais baixos em termos de fertilidade polínica e ao serem autofecundados ou utilizados como genitores masculinos em cruzamentos biparentais, as cariópses produzidas germinaram pouco nos testes de germinação. Este resultado vai de acordo com Gómez (1962) e McIntyre e Jackson (2001) que não recomendam a

utilização de genótipos que apresentam baixa viabilidade polínica como parentais masculinos em cruzamentos biparentais (Tabela 5).

**Tabela 5.** Valores médios da viabilidade polínica e fertilidade da cariópse dos cruzamentos utilizados no estudo de correlação.

FEMININO	MASCULINO	VIABILIDADE DO PÓLEN (%)	FERTILIDADE DA CARIÓPSE (%)
G10	*	100,00	62,97
G10⊗	-	76,85	39,45
G12⊗	-	44,35	7,61
G14⊗	-	2,97	1,53
G14	G15	7,12	1,76
G14	G7	35,97	9,16
G14	G16	25,33	5,34
G14	RB863129	59,79	15,46
G14	RB931011	66,62	18,94
RB002504	*	100,00	82,05
RB002504⊗	-	68,82	7,19
RB002504	RB931011	66,62	15,19
RB813804⊗	-	68,82	15,87
RB813804	RB002504	64,72	25,12
RB813804	RB931011	66,62	18,38
RB863129	*	100,00	44,26
RB863129⊗	-	59,79	34,84

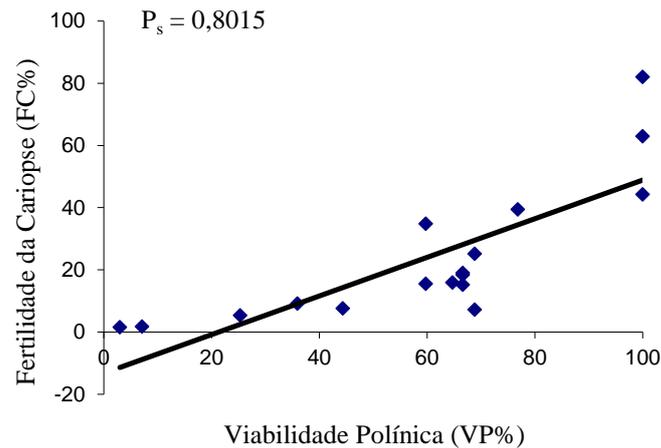
\* genitor desconhecido, ⊗ autofecundação.

A alta capacidade de se autofecundar foi verificada nos genótipos G10 e RB863129, o que pode refletir em maior quantidade de genótipos segregantes, os quais podem sofrer depressão endogâmica e assim diminuir a probabilidade de seleção de novos clones (Tabela 5).

Os genótipos RB002504 e RB813804 apresentaram viabilidade polínica considerada intermediária (GOMÉZ, 1962), porém, ao serem autofecundados, observou-se baixa fertilidade da cariópse. Entretanto, quando a polinização foi feita a partir de outros genótipos, mesmo estes apresentando viabilidade polínica relativamente mais baixa, apresentaram resposta positiva na produção de *seedlings* (Tabela 5). Este fenômeno pode estar relacionado a mecanismos de autoincompatibilidade genética, os quais fazem a planta preferencialmente apresentar fecundação cruzada, alogamia.

De acordo com a tabela 5, quando o genótipo G14 foi autofecundado e quando foi polinizado pelo G15 apresentou baixa fertilidade da cariópse, no entanto, ao receber pólen de

outros parentais apresentou grande variação na fertilidade da cariópse. A medida que a polinização foi realizada a partir de genitores com crescente viabilidade polínica houve uma resposta positiva na fertilidade da cariópse, o que concorda com os dados de correlação obtidos na pesquisa, conforme a Figura 1.



**Figura 1.** Correlação de Spearman, para as variáveis viabilidade polínica e fertilidade da cariópse.

A análise de correlação de Spearman mostrou alta correlação positiva de 80,15% entre a fertilidade da cariópse e a viabilidade polínica (Figura 1). Isto sugere que, com o aumento da viabilidade polínica, ocorre o aumento da fertilidade da cariópse, contanto que não esteja envolvido nenhum mecanismo de incompatibilidade genética.

O teste t de Student apresentou resultado significativo ao nível de 1% de probabilidade para a análise de correlação de Spearman, indicando que a tendência de resposta positiva entre as variáveis correlacionadas existe.

## CONCLUSÕES

1. A existência de grande variabilidade genética na cana-de-açúcar quanto a expressão da viabilidade polínica entre os genótipos é um fator limitante para realização dos cruzamentos biparentais. Sendo assim, torna-se importante caracterizar os acessos do banco ativo de germoplasma quanto a fertilidade do pólen.
2. Utilizando a viabilidade polínica como parâmetro é possível direcionar com precisão os genitores como masculinos e/ou femininos em cruzamentos biparentais, evitando a autofecundação e aumentando a fertilidade da cariópse.
3. A correlação positiva entre as variáveis analisadas justifica o uso de estudos do pólen para aumentar a eficiência dos cruzamentos e a exploração da variabilidade genética em cana-de-açúcar.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AMARAL, A. L. et al. **Metodologia de conservação de pólen de cana-de-açúcar**. Aracaju: EMBRAPA Tabuleiros Costeiros, 2012. 11p. (Comunicado Técnico 127).
- ARALDI, R.; SILVA, F. M. L.; ONO, E. O.; RODRIGUES, J. D. Florescimento em cana-de-açúcar. **Ciência Rural**, v. 40, n. 3, p. 694-702, 2010
- BERDING, N. Improved flowering and pollen fertility in sugarcane under increased night temperature. **Crop Science**, v. 21, n. 6, p. 863-867, 1981.
- BURNER, D. M.; BEIJAMIN, L. L. Chromosome transmission and meiotic stability of sugarcane (*Saccharum* spp.) hybrid derivatives. **Crop Science**, v. 33, n. 3, p. 600-606, 1993.
- CABRAL, F. F. **Qualidade fisiológica, determinação do teor de água, e armazenamento de sementes de cana-de-açúcar proveniente de diferentes cruzamentos**. 2007. 58 f. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal), Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Alagoas, Rio Largo, 2007.
- CESNIK, R.; MIOCQUE, J. **Melhoramento da cana-de-açúcar**. Brasília: Embrapa Informação Tecnologia, 2004. 307p.
- DAFNI, A. **Pollination ecology: a practical approach**. Oxford: Oxford University Press, 1992. 250p.
- DIAS, L. A. S.; BARROS, W. S. **Biometria experimental**. Viçosa: Suprema, 2009. 408p.
- FERREIRA, D. F. Sisvar: a computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 35, n. 6, p. 1039-1042, 2011.
- FERREIRA, P. V. **Estatística Experimental Aplicada à Agronomia**. Maceió: EDUFAL, 2000. 430p.
- GALETTA, G. J. Pollen and seed management. In: MOORE, J. N.; JANIK, J. **Methods in fruit breeding**. Indiana: Purdue University Press, 1983, p. 23-47.
- GOMES, F. P. **Curso de estatística experimental**. 13. ed. Piracicaba: Nobel, 1990. 467p.

- GÓMEZ, A. F. **Caña de azúcar**. 2. ed. Caracas: Edicampa, 1962. 661p.
- HEINZ, D. J.; TEW, T. L. Hybridization procedures. In: HEINZ, D.J. **Sugarcane improvement through breeding**. Amsterdam: Elsevier, 1987. p. 313-342.
- KÖPPEN, W.; GEIGER, R. **Klimate der erde**. Gotha: Verlag Justus Perthes. 1928. Wall-map 150 cm x 200 cm.
- KRISHNAMURTHI, M. The sugarcane pollen. *In*: Congress of International Society of Sugar Cane Technologists, 19. São Paulo. **Anais...** São Paulo: ISSCT Impress, 1977, p. 157-164.
- MACHADO JÚNIOR, G. P. Melhoramento da cana-de-açúcar. *In*: PARANHOS, S. B. (Coord.). **Cana-de-açúcar: cultivo e utilização**. Campinas: Fundação Cargill, 1987, p. 165-186.
- MANGELSDORF, A. J. Um programa de melhoramento da cana-de-açúcar para a agroindústria canavieira do Brasil. Rio de Janeiro: Instituto do Açúcar e do Alcool, 1966. 63p.
- MANOHAR S. H.; MURTHY H. N. Estimation of phenotypic divergence and powdery mildew resistance in a collection of *Cucumis sativus* L. **African Journal of Biotechnology**, v. 10, n. 11, p. 1978-1987, 2011.
- MCINTYRE, C. L.; JACKSON, P. A. Low level of selfing found in a sample of crosses in Australian sugarcane breeding programs. **Euphytica**, v. 117, p. 245-249, 2001.
- MELLONI, M. L. G. **Fisiologia do florescimento e viabilidade do grão-de-pólen da cana-de-açúcar (*Saccharum* sp.)**. 2012. 80 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia), Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2012.
- MELLONI, M. L. G. et. al. Comparison of two staining methods for pollen viability studies in sugarcane. **Sugar Tech**, v. 15, n. 1, p. 103-107, 2013.
- MOORE, P. H.; NUSS, K. J. Flowering and flower synchronization. *In*: HEINZ, D. J (Ed.), **Sugarcane Improvement through Breeding**. Aiea: Elsevier, 1987, cap. 7, p. 273–311.

NUSS, K. J.; BERDING, N. Planned recombination in sugarcane breeding: artificial initiation of flowering in sugarcane in subtropical and tropical conditions. *In: CONGRESS OF INTERNATIONAL SOCIETY OF SUGAR CANE TECHNOLOGISTS*, 23, New Delhi. Anais... New Delhi: ISSCT Impress, 1999, p. 202-205.

OLIVEIRA, J. F. **Viabilidade polínica e propagação em vitro de *Etilingera elatior* (Jack) R. M. Smith**. 2007. 73 f. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal), Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Alagoas, Rio Largo, 2007.

PEDERSEN, J. F. et al. Rapid iodine staining techniques for identifying the waxy phenotype in sorghum grain and waxy genotype in sorghum pollen. **Crop Science**, v. 44, n. 3, p. 764-767, 2004.

POZZOBON, M. T. et al. Meiose e viabilidade polínica em linhagens avançadas de pimenta. **Horticultura Brasileira**, v. 29, n. 2, p. 212-216, 2011.

SAS INSTITUTE INC. **Statistical Analysis System user's guide**. Version 9.0. Cary, North Carolina: Statistical Analysis System Institute, 2002. 513p.

SCARPARI, M. S.; BEAUCLAIR, E. G. F. Anatomia e Botânica. *In: DINARDO-MIRANDA, L. L.; VASCONCELOS, A. C. M.; LANDELL, M. G. A. Cana-de-açúcar*. 1. ed. Campinas: Instituto Agronômico, 2010, p. 47-56.

SCOTT, A. J.; KNOTT, M. A cluster analysis method for grouping means in the analysis of variance. **Biometrics**, v. 30, n. 3, p. 507-512, 1974.

TORRECILLA, V. C. et al. Effect of altitude on sugarcane flowering synchronisation in Cuba. *In: Congress of International Society of Sugar Cane Technologists*, 11. 2010, Veracruz. **Anais...** Veracruz: ISSCT Impress, 2010, p. 1-8.

VIŽINTIN, L.; BOHANEK, B. In vitro manipulation of cucumber (*Cucumis sativus* L.) Pollen and microspores: isolation procedures, viability tests, germination, maturation. **Acta Biologica Cracoviensia Series Botanica**, v. 46, p. 177-183, 2004.

## INSTRUÇÕES AOS AUTORES

**Atenção:** As normas da Revista Ciência Agronômica podem sofrer alterações, portanto, não deixe de consultá-las antes de fazer a submissão de um artigo. Elas são válidas para todos os trabalhos submetidos neste periódico. Um modelo de artigo pode ser visto em “MODELO ARTIGO” no endereço <http://www.ccarevista.ufc.br>.

### 1. Política Editorial

A Revista Ciência Agronômica destina-se à publicação de **artigos científicos, artigos técnicos e notas científicas que sejam originais e que não foram publicados (as) ou submetidos (as) a outro periódico, inerentes às áreas de Ciências Agrárias e Recursos Naturais**. A RCA também aceita e incentiva submissões de artigos redigidos em inglês e espanhol. Em caso de autores não nativos destas línguas, **o artigo deverá ser editado por uma empresa prestadora deste serviço** e o comprovante enviado para a sede da RCA no ato da submissão, através da nossa página no campo “Transferir Documentos Suplementares”. Os trabalhos submetidos à RCA serão **avaliados, preliminarmente, pelo Comitê Editorial** e só então serão enviados para, pelo menos, dois (2) revisores da área e publicados, somente, se aprovados por eles e pelo Comitê Editorial. A publicação dos artigos será baseada na originalidade, qualidade e mérito científico, **cabendo ao Comitê Editorial a decisão final do aceite**. O sigilo de identidade dos autores e revisores será mantido durante todo o processo. A administração da revista tomará o cuidado para que os revisores de cada artigo sejam, obrigatoriamente, de instituições distintas daquela de origem dos autores. **O artigo que apresentar mais de cinco autores não terá a sua submissão aceita pela Revista Ciência Agronômica, salvo algumas condições especiais (ver Autores)**. Não serão permitidas mudanças nos nomes de autores *a posteriori*.

### 2. Custo de publicação

O custo é de **R\$ 35,00 (trinta e cinco reais) por página editorada** no formato final. No ato da submissão é **requerido um depósito de R\$ 100,00 (cem reais) não reembolsáveis**. Se o trabalho for rejeitado na avaliação prévia do Comitê Editorial, a taxa paga não poderá ser reutilizada para outras submissões dos autores. O comprovante de depósito ou transferência deve ser enviado ao e-mail da RCA ([ccarev@ufc.br](mailto:ccarev@ufc.br)). No caso do trabalho conter impressão colorida deverá ser pago um **adicional de R\$ 80,00 (oitenta reais) por página**. Os depósitos ou transferências deverão ser efetuados em nome de:

### CETREDE CIENCIA AGRONOMIC

Banco do Brasil: Agência bancária: **3653-6** - Conta corrente: **46.375-2**

As opiniões emitidas nos trabalhos são de exclusiva responsabilidade de seus autores. A Revista Ciência Agronômica reserva-se o direito de adaptar os originais visando manter a uniformidade da publicação. A RCA não mais fornece separatas ou exemplares aos autores. A distribuição na forma impressa da RCA é de responsabilidade da Biblioteca de Ciência e Tecnologia da Universidade Federal do Ceará, sendo realizada por meio de permuta com bibliotecas brasileiras e do exterior. Na submissão online é requerido: 1. A concordância com a declaração de responsabilidade de direitos autorais;

2. O cadastro de **todos os autores no sistema**, pelo autor que fizer a submissão do trabalho; 3. Identificação do endereço completo do autor, para correspondência.

### 3. Formatação do Artigo

**DIGITAÇÃO:** no máximo 20 páginas digitadas em espaço duplo (exceto Tabelas), fonte Times New Roman, normal, tamanho 12, recuo do parágrafo por 1 cm. Todas as margens deverão ter 2,5 cm. As linhas devem ser numeradas de forma contínua.

**ESTRUTURA:** o trabalho deverá obedecer à seguinte ordem: título, título em inglês, resumo, palavras-chave, abstract, key words, introdução, material e métodos, resultados e discussão, conclusões, agradecimentos (opcional) e referências.

**TÍTULO:** deve ser escrito com apenas a inicial maiúscula, em negrito e centralizado na página com no **máximo 15 palavras**. Como chamada de rodapé numérica, extraída do título, devem constar informações sobre a **natureza do trabalho** (se extraído de tese/dissertação, se pesquisa financiada, etc.) e referências às instituições colaboradoras. Os subtítulos: Introdução, Material e métodos, Resultados e discussão, Conclusões, Agradecimentos e Referências devem ser escritos em caixa alta, em negrito e centralizados.

**AUTORES:** na primeira versão do artigo submetido, os nomes dos autores e a nota de rodapé deverão ser omitidos. Somente na versão final o artigo deverá conter o nome de todos os autores, com identificação em nota de rodapé, inclusive a do título. Os nomes completos (sem abreviaturas) deverão vir abaixo do título, somente com a primeira letra maiúscula, um após outro, separados por vírgula e centralizados na linha. Como nota de rodapé na primeira página, deve-se indicar, de cada autor, afiliação completa (departamento, centro, instituição, cidade, estado e país), endereço eletrônico e endereço completo do autor correspondente. O autor de correspondência deve ser identificado por um "\*". **Só serão aceitos artigos com mais de cinco autores, quando, comprovadamente, a pesquisa tenha sido desenvolvida em regiões distintas.**

**RESUMO e ABSTRACT:** devem começar com estas palavras, na margem esquerda, em caixa alta e em negrito, contendo no máximo **250 palavras**.

**PALAVRAS-CHAVE e KEY WORDS:** devem conter entre três e cinco termos para indexação. Os termos usados não devem constar no título. Cada **palavra-chave e key word** deve iniciar com letra maiúscula e ser seguida de ponto.

**INTRODUÇÃO:** deve ser compacta e objetiva, contendo citações atuais que apresentem relação com o assunto abordado na pesquisa. As citações presentes na introdução devem ser empregadas para fundamentar a discussão dos resultados,

criando, assim, uma contextualização entre o estudo da arte e a discussão dos resultados. Não deve conter mais de **550 palavras**.

**CITAÇÃO DE AUTORES NO TEXTO:** a NBR 10520/2002 estabelece as condições exigidas para a apresentação de citações em documentos técnico-científicos e acadêmicos. Nas citações, quando o sobrenome do autor, a instituição responsável ou título estiverem incluído na sentença, este se apresenta em letras maiúsculas/minúsculas, e quando estiverem entre parênteses, em letras maiúsculas.  
**Ex:** Santos (2002) ou (SANTOS, 2002); com dois autores ou três autores, usar Pereira e Freitas (2002) ou (PEREIRA; FREITAS, 2002) e Cruz, Perota e Mendes (2000) ou (CRUZ; PEROTA; MENDES, 2000); com mais de três autores, usar Xavier *et al.* (1997) ou (XAVIER *et al.*, 1997).

**VÁRIOS AUTORES CITADOS SIMULTANEAMENTE:** havendo citações indiretas de diversos documentos de vários autores, mencionados simultaneamente, e que expressam a mesma idéia, separam-se os autores por ponto e vírgula, **em ordem alfabética**, independente do ano de publicação.  
**Ex:** (FONSECA, 2007; PAIVA, 2005; SILVA, 2006).

**SIGLAS:** quando aparecem pela primeira vez no texto, deve-se colocar o nome por extenso, seguido da sigla entre parênteses.  
**Ex:** De acordo com a Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT) [...].

**TABELAS:** devem ser numeradas consecutivamente com algarismos arábicos na parte superior. Não usar linhas verticais. As linhas horizontais devem ser usadas para separar o título do cabeçalho e este do conteúdo, além de uma no final da tabela. Cada dado deve ocupar uma célula distinta. Usar espaço simples. Não usar negrito ou letra maiúscula no cabeçalho.

**FIGURAS:** gráficos, fotografias ou desenhos levarão a denominação geral de **Figura**, sucedida de numeração arábica crescente e legenda na parte superior. Para a preparação dos gráficos deve-se utilizar “softwares” compatíveis com “Microsoft Windows”. As figuras devem apresentar 8,2 cm de largura, não sendo superior a 17 cm. A fonte Times New Roman, corpo 10 e não deve-se usar negrito na identificação dos eixos. A Revista Ciência Agrônômica reserva-se o direito de não aceitar tabelas e/ou figuras com o papel na forma “paisagem” ou que apresentem mais de 17 cm de largura. **Tabelas e Figuras devem ser inseridas logo após a sua primeira citação.**  
**Obs.:** As figuras devem ser também enviadas em arquivos separados e com RESOLUÇÃO de no mínimo 500 dpi através do campo “Transferir Documentos Suplementares”.

**EQUAÇÕES:** devem ser digitadas usando o editor de equações do Word, com a fonte Times New Roman. As equações devem receber uma numeração arábica crescente. O padrão de tamanho deverá ser:  
Inteiro = 12 pt  
Subscrito/sobrescrito = 8 pt  
Sub-subscrito/sobrescrito = 5 pt  
Símbolo = 18 pt  
Subsímbolo = 14 pt

## **ESTATÍSTICA:**

1. Caso tenha realizado análise de variância, apresentar o "F" e a sua significância;
2. Dados quantitativos devem ser tratados pela técnica de análise de regressão;
3. Apresentar a significância dos parâmetros da equação de regressão;
4. Dependendo do estudo (ex: função de produção), analisar os sinais associados aos parâmetros.
5. É requerido, no mínimo, quatro pontos para se efetuar o ajuste das equações de regressão.
6. Os coeficientes do modelo de regressão devem apresentar o seguinte formato:  
 $y = a + bx + cx^2 + \dots$ ;
7. O Grau de Liberdade do resíduo deve ser superior a 12.

**CONCLUSÕES:** quando escritas em mais de um parágrafo devem ser numeradas.

**AGRADECIMENTOS:** logo após as conclusões poderão vir os agradecimentos direcionados à pessoas ou instituições, em estilo sóbrio e claro, indicando as razões pelas quais os faz.

**REFERÊNCIAS:** são elaboradas conforme a ABNT NBR 6023/2002. Inicia-se com a palavra REFERÊNCIAS (escrita em caixa alta, em negrito e centralizada). Devem ser digitadas em fonte tamanho 12, espaço duplo e justificadas. **UM PERCENTUAL DE 60%**

**DO TOTAL DAS REFERÊNCIAS DEVERÁ SER ORIUNDO DE PERIÓDICOS CIENTÍFICOS INDEXADOS COM DATA DE PUBLICAÇÃO INFERIOR A 10 ANOS. Não são contabilizadas neste percentual de 60% referências de livros, teses, anais,...** Com relação aos periódicos, é dispensada a informação do local de publicação, porém os títulos não devem ser abreviados. Recomenda-se um total de 20 a 30 referências.

### **Alguns exemplos:**

#### **- Livro**

NEWMANN, A. L.; SNAPP, R. R. **Beef cattle**. 7. ed. New York: John Willey, 1977. 883 p.

#### **- Capítulo de livro**

MALAVOLTA, E.; DANTAS, J. P. Nutrição e adubação do milho. *In*: PATERNIANI, E.; VIEGAS, G. P. **Melhoramento e produção do milho**. 2. ed. Campinas: Fundação Cargil, 1987. cap. 13, p. 539-593.

#### **- Monografia/Dissertação/Tese**

EDVAN, R. L. **Ação do óleo essencial de alecrim pimenta na germinação do matapasto**. 2006. 18 f. Monografia (Graduação em Agronomia) - Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2006.

SILVA, M. N. da. **População de plantas e adubação de nitrogenada em algodoeiro herbáceo irrigado**. 2001. 52 f. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) - Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2001.

### - Artigo de revista

XAVIER, D. F.; CARVALHO, M. M.; BOTREL, M. A. Resposta de *Cratylia argentea* à aplicação em um solo ácido. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 27, n. 1, p. 14-18, 1997.

ANDRADE, E. M. *et al.* Mapa de vulnerabilidade da bacia do Acaraú, Ceará, à qualidade das águas de irrigação, pelo emprego do GIS. **Revista Ciência Agronômica**, v. 37, n. 3, p. 280-287, 2006.

### - Resumo de trabalho de congresso

SOUZA, F. X.; MEDEIROS FILHO, S.; FREITAS, J. B. S. Germinação de sementes de cajazeira (*Spondias mombin* L.) com pré-embebição em água e hipoclorito de sódio. *In*: CONGRESSO BRASILEIRO DE SEMENTES, 11., 1999, Foz do Iguaçu. **Resumos...** Foz do Iguaçu: ABRATES, 1999. p. 158.

### - Trabalho publicado em anais de congresso

BRAYNER, A. R. A.; MEDEIROS, C. B. Incorporação do tempo em SGBD orientado a objetos. *In*: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE BANCO DE DADOS, 9., 1994, São Paulo. **Anais...** São Paulo: USP, 1994. p. 16-29.

### - Trabalho de congresso em formatos eletrônicos

SILVA, R. N.; OLIVEIRA, R. Os limites pedagógicos do paradigma da qualidade total na educação. *In*: CONGRESSO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFPe, 4., 1996, Recife. **Anais eletrônicos...** Recife: UFPe, 1996. Disponível em: <<http://www.propesq.ufpe.br/anais/anais/educ/ce04.htm>>. Acesso em: 21 jan. 1997.

GUNCHO, M. R. A educação à distância e a biblioteca universitária. *In*: SEMINÁRIO DE BIBLIOTECAS UNIVERSITÁRIAS, 10., 1998, Fortaleza. **Anais...** Fortaleza: Tec Treina, 1998. 1 CD-ROM.

**UNIDADES e SÍMBOLOS:** As unidades e símbolos do Sistema Internacional adotados pela Revista Ciência Agronômica.

Grandezas básicas	Unidades	Símbolos	Exemplos
Comprimento	metro	m	
Massa	quilograma	kg	
Tempo	segundo	s	
Corrente elétrica	amper	A	
Temperatura termodinâmica	Kelvin	K	
Quantidade de substância	mol	mol	
<b>Unidades derivadas</b>			
Velocidade	---	m s <sup>-1</sup>	343 m s <sup>-1</sup>

Aceleração	---	$\text{m s}^{-2}$	$9,8 \text{ m s}^{-2}$
Volume	metro cúbico, litro	$\text{m}^3, \text{L}^*$	$1 \text{ m}^3, 1\,000 \text{ L}^*$
Frequência	Hertz	Hz	10 Hz
Massa específica	---	$\text{kg m}^{-3}$	$1.000 \text{ kg m}^{-3}$
Força	newton	N	15 N
Pressão	pascal	Pa	$1,013.10^5 \text{ Pa}$
Energia	joule	J	4 J
Potência	watt	W	500 W
Calor específico	---	$\text{J (kg } ^\circ\text{C)}^{-1}$	$4186 \text{ J (kg } ^\circ\text{C)}^{-1}$
Calor latente	---	$\text{J kg}^{-1}$	$2,26. 10^6 \text{ J kg}^{-1}$
Carga elétrica	coulomb	C	1 C
Potencial elétrico	volt	V	25 V
Resistência elétrica	ohm	$\ddot{\text{Y}}$	29 $\ddot{\text{Y}}$
Intensidade de energia	Watts/metros quadrado	$\text{W m}^{-2}$	$1.372 \text{ W m}^{-2}$
Concentração	mol/metro cúbico	$\text{mol m}^{-3}$	$500 \text{ mol m}^{-3}$
Condutância elétrica	siemens	S	300 S
Condutividade elétrica	desiemens/metro	$\text{dS m}^{-1}$	$5 \text{ dS m}^{-1}$
Temperatura	grau Celsius	$^\circ\text{C}$	$25 ^\circ\text{C}$
Ângulo	grau	$^\circ$	$30^\circ$
Porcentagem	---	%	45%

**Números mencionados em seqüência devem ser separados por ponto e vírgula (;). Ex:**

2,5; 4,8; 25,3.

#### 4. Lista de verificação - Revista Ciência Agrônômica

Visando a maior agilidade no processo de submissão de seu artigo, o Comitê Editorial da Revista Ciência Agrônômica elaborou uma lista de verificação para que o autor possa conferir toda a formatação do manuscrito de sua autoria, **antes** de submetê-lo para publicação. A lista foi elaborada de acordo com as normas da Revista Ciência Agrônômica. Respostas **NEGATIVAS** significam que seu artigo ainda deve ser adaptado às normas da revista, e a submissão de tais artigos, implicará na sua devolução e retardo na tramitação.

Respostas **POSITIVAS** significam que seu artigo está em concordância com as normas, implicando em maior rapidez na tramitação.

**A. Referente ao trabalho** 1. O trabalho é original?

2. O trabalho representa uma contribuição científica para a área de Ciências Agrárias?

3. O trabalho está sendo enviado com exclusividade para a Revista Ciência Agrônômica?

## **B. Referente à formatação**

4. O trabalho pronto para ser submetido online está omitindo os nomes dos autores na versão Word?
5. O trabalho contém no máximo 20 páginas, está no formato A4, digitado em espaço duplo, incluindo as referências; fonte Times New Roman tamanho 12, incluindo títulos e subtítulos?
6. As margens foram colocadas a 2,5 cm, a numeração de páginas foi colocada na margem superior, à direita e as linhas foram numeradas de forma contínua?
7. O recuo do parágrafo de 1 cm foi definido na formatação do parágrafo? Lembre-se que a revista não aceita recuo de parágrafo usando a tecla "TAB" ou a "barra de espaço".
8. A estrutura do trabalho está de acordo com as normas, ou seja, segue a seguinte ordem: título, título em inglês, autores, resumo, palavras-chave, abstract, key words, introdução, material e métodos, resultados e discussão, conclusões, agradecimentos (opcional) e referências?
9. O título contém no máximo 15 palavras?
10. O resumo e o abstract apresentam no máximo 250 palavras?
11. As palavras-chave (key words) contém entre três e cinco termos, iniciam com letra maiúscula e são seguidas de ponto?
12. A introdução contém citações atuais que apresentam relação com o assunto abordado na pesquisa e apresenta no máximo 550 palavras?
13. As citações apresentadas na introdução foram empregadas para fundamentar a discussão dos resultados?
14. As citações estão de acordo com as normas da revista?
15. As tabelas e figuras estão formatadas de acordo com as normas da revista e estão inseridas logo em seguida à sua primeira citação? Lembre-se: não é permitido usar "enter" nas células que compõem a(s) tabela(s).
16. As tabelas estão no formato retrato?
17. As figuras apresentam boa qualidade visual?
18. As unidades e símbolos utilizados no seu trabalho encontram-se dentro das normas do Sistema Internacional adotado pela Revista Ciência Agronômica?
19. Os números estão separados por ponto e vírgula? As unidades estão separadas do número por um espaço? Lembre-se, não existe espaço entre o número e o símbolo de %.
20. O seu trabalho apresenta entre 20 e 30 referências, sendo 60% destas publicadas com menos de 10 anos em periódicos indexados?
21. Todas as referências estão citadas ao longo do texto?
22. Todas as referências citadas ao longo do texto estão corretamente descritas, conforme as normas da revista, e aparecem listadas?

## **C. Observações:**

1. Lembre-se que **SE** as normas da revista não forem seguidas rigorosamente, seu trabalho não irá tramitar. Portanto, é melhor retardar o envio por mais alguns dias e conferir todas as normas. A consulta de um trabalho já publicado na sua área pode lhe ajudar a sanar algumas dúvidas e pode servir como um modelo (acesse aos periódicos no site <http://www.ccarevista.ufc.br/busca>).

2. Caso suas respostas sejam todas **AFIRMATIVAS** seu trabalho será enviado com maior segurança. Caso tenha ainda respostas **NEGATIVAS**, seu trabalho irá retornar, retardando o processo de tramitação.  
**Lembre-se:** A partir da segunda devolução, por irregularidade normativa, principalmente em se tratando das referências, o mesmo terá a submissão cancelada e **não haverá devolução da taxa de submissão**. Portanto, é muito importante que os autores verifiquem, cuidadosamente, as normas requeridas pela Revista Ciência Agronômica.
3. Procure **SEMPRE** acompanhar a situação de seu trabalho pela página da revista (<http://ccarevista.ufc.br>) no sistema online de gerenciamento de artigos.
4. Esta lista de verificação não substitui a revisão técnica da revista, a qual todos os artigos enviados serão submetidos.