

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS

Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia
de Sementes



Tese

**FATORES AMBIENTAIS NA PRODUÇÃO DE SEMENTES DE
HÍBRIDOS INTERESPECÍFICOS DE *BRACHIARIA***

Leomara Vieira de França

Pelotas, 2011

LEOMARA VIEIRA DE FRANÇA

**FATORES AMBIENTAIS NA PRODUÇÃO DE SEMENTES DE HÍBRIDOS
INTERESPECÍFICOS DE *BRACHIARIA***

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Sementes da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do título de Doutor em Ciências (área do conhecimento: sementes de forrageiras tropicais).

COMITÊ DE ORIENTAÇÃO

Dr. Manoel de Souza Maia (UFPel)

Dr. Cláudio Takao Karia (Embrapa Cerrados)

PhD. Marcelo Ayres Carvalho (Embrapa Cerrados)

PhD. Ronaldo Pereira de Andrade (Embrapa SNT)

Dr^a Jaqueline Rosemeire Verzignassi (Embrapa Gado de Corte)

Pelotas, 2011

Dados de catalogação na fonte:
(Marlene Cravo Castillo – CRB-10/744)

F814f França, Leomara Vieira de

Fatores ambientais na produção de sementes de híbridos interespecíficos de brachiaria / Leomara Vieira de França ; orientador Manoel de Souza Maia .Pelotas, 2011.-129f.: il. .- Tese (Doutorado) –Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Sementes. Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel . Universidade Federal de Pelotas. Pelotas, 2011.

1.Braquiária 2.Qualidade fisiológica 3.Viabilidade polínica 4.Temperatura I.Maia, Manoel de Souza(orientador) II .Título.

CDD 633.2

Banca examinadora:

Dr. Manoel de Souza Maia – UFPel (Presidente)

PhD. Silmar Teichert Peske – UFPel (Examinador interno do Programa)

Dr. Paulo Dejalma Zimmer – UFPel (Examinador interno do Programa)

Dr. Carlos Eduardo Pedroso – UFPel (Examinador interno Fora do Programa)

PhD. Ronaldo Pereira de Andrade – Embrapa SNT (Examinador externo)

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho a meu pai Amaro Almeida de França (In memoriam) pelo exemplo de amigo, pai, esposo, bondade, honestidade, sinceridade e generosidade. Meu maior incentivador para ingressar neste trabalho, mas que não pôde estar aqui para ver sua conclusão.

Pai, o senhor sempre estará no meu coração.

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar a Deus o grande Doutor da vida por me capacitar em mais essa vitória profissional.

A meu pai Amaro Almeida de França (In memoriam) meu melhor amigo que me ensinou a amar a terra desde pequena, acompanhou e incentivou todo meu crescimento acadêmico e foi meu estagiário nos finais de semana e sempre que precisei realizar alguma atividade fora do expediente. A minha mãe Leonor Vieira Soares de França por todo investimento a mim aplicado incondicionalmente e incentivo nos momentos de dificuldade. Aos meus irmãos Leonice Vieira de França e Aleomar Vieira de França por apoiar e compreender essa fase.

À Universidade Federal de Pelotas, professores e funcionários do Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Sementes pelo conhecimento adquirido por intermédio deles.

Ao CNPq pela concessão da bolsa de estudos.

À UNIPASTO por acreditar e financiar este projeto.

A Embrapa Cerrados e Embrapa Gado de Corte pela disponibilização de suas instalações para o desenvolvimento deste trabalho.

Ao Professor Dr. Manoel de Souza Maia pela orientação, liberdade nas discussões referentes à tese e grandes ensinamentos profissionais e pessoais que levarei para vida.

Ao Dr. Cláudio Takao Karia pela co-orientação, viabilização técnica do trabalho e concessão de autonomia sabendo da responsabilidade a mim confiada.

Ao pesquisador da Embrapa Cerrados PhD. Marcelo Ayres Carvalho pela atenção, confiança e ensinamentos oferecidos sempre de forma descontraída.

Aos pesquisadores PhD. Diva Maria de Alencar Dusi (Embrapa Cenargen) pelas sugestões que contribuíram para realização e enriquecimento do trabalho, Dr^a Jaqueline Rosemeire Verzignassi pelo suporte na condução da parte experimental desenvolvida na Embrapa Gado de Corte, MSc. Lourival Vilela (Embrapa Cerrados) pela grande contribuição estatística, PhD. Cacilda Borges do Valle (Embrapa Gado de Corte) pela disponibilização dos híbridos utilizados no estudo e ao Dr. Nilton Tadeu Vilela Junqueira (Embrapa Cerrados) pela disponibilização de germinadores para o desenvolvimento do trabalho.

Aos funcionários da Embrapa Cerrados (Ivanilson Lopes, Evaldo Linhares, Paulo Rossi, Frans Herman, Edson Inácio, Edson Xavier), Unipasto (Ronaldo, Jean, Júlio, Vagner Moraes, Filadelfo Ribeiro) e Embrapa Gado de Corte (José Carlos Peixoto e Luiz de Jesus) pela ajuda na condução dos campos experimentais e beneficiamento das sementes, além da experiência prática transmitida. Às estagiárias Ingrid Vasconcelos, Aline Doxa e Juliana Dias pela ajuda nas avaliações finais do trabalho.

A todos os colegas do Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Sementes da Universidade Federal de Pelotas. Aos verdadeiros amigos (Felipe Nobre, Jadiyi Torales, Fernanda Plucani, Mirela Bertoncelo, Juliana Dode, Marivan Pinho, Glauco Foster, Nilson Mattioni, Janaína Silva, Gabriela Argüello e Suemar Avila) minha “família gaúcha” tornando mais agradáveis meus dias longe da minha família de sangue.

Aos membros desta banca de Defesa de Tese pela disponibilidade e colaborações para o trabalho.

Aqueles que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho, embora não citados, agradeço a todos.

A vocês, muito obrigada.

“Então te dará chuva sobre a tua semente, com que semeares a terra, como também pão como produto da terra, o qual será farto e nutritivo; naquele dia, o teu gado pastará em largos pastos.”

Isaías 30:23

RESUMO

Fatores ambientais na produção de sementes de híbridos interespecíficos de *brachiaria*. UFPel, 2011. 129f.

Autor: Leomara Vieira de França

Orientador: Manoel de Souza Maia

Nos últimos anos, para a maioria das espécies agrícolas, tem aumentado a utilização de híbridos graças a sua elevada produtividade além de outras qualidades que os colocam na frente das variedades. No gênero *Brachiaria* a hibridação tem sido realizada através da utilização do cruzamento de *B. ruziziensis*, que é sexual, e outras espécies apomíticas do mesmo gênero principalmente *B. brizantha* e *B. decumbens*. Entretanto, os híbridos de braquiária obtidos até o momento são interespecíficos e apresentam baixa produção de sementes, fator que limita a disseminação dos mesmos, visto a praticidade e menor custo de implantação/renovação de pastagens utilizando-se sementes ao invés de mudas. Na busca pelo motivo dessa baixa produção de semente, este trabalho teve como objetivo verificar a existência de interação genótipo x ambiente na produção de sementes de genótipos híbridos e o potencial produtivo de semente desses genótipos tendo como referência a cv. Marandú. Em um primeiro estudo, buscou-se verificar a interferência da temperatura sobre o gameta masculino de cinco híbridos interespecíficos de *brachiaria* (HBCG348, HBCG011, HBCG148, HBCG450 E HBCG148) e em um segundo estudo, foi avaliado a viabilidade polínica e a produção de semente desses mesmos híbridos em diferentes condições ambientais. Concluiu-se que: a) o fator temperatura afeta a viabilidade polínica dos híbridos; b) a viabilidade polínica dos híbridos HBGC348 e HBGC148 é inversamente proporcional a elevação da temperatura; c) todos os híbridos estudados tem anormalidade floral que afetam a disseminação polínica e conseqüente produção de sementes; d) houve interação genotípica dos híbridos estudados com o ambiente; e e) nenhum dos híbridos estudados tem potencial de produção de sementes que os credenciem para entrar no mercado sementeiro.

Palavras chaves: braquiária; qualidade fisiológica; viabilidade polínica; temperatura.

ABSTRACT

Environment factors in seed production of interspecific hybrids of *brachiaria*.
UFPel, 2011. 129f.

Student: Leomara Vieira de França
Adviser: Manoel de Souza Maia

In recent years, for most agricultural species, has increased the use of hybrids by to its high yield and other qualities that put them in front of varieties. In the genus *Brachiaria* hybridization has been accomplished through the use of crossing *B. ruziziensis*, that is sexual, and other species of the genus mainly apomictic *B. brizantha* and *B. decumbens*. However, hybrids of *Brachiaria* obtained until now are interspecific and have low seed production, factor limiting the spread of the same, because the convenience and lower cost of implementation / renewal of pastures using seeds instead of seedlings. In the search for the reason that low seed production, this work was to verify the existence of genotype-environment interaction in seed production of hybrid genotypes and seed production potential of these genotypes with reference to cv. Marandú. In a first study, we sought to verify the influence of temperature on the male gamete of five interspecific hybrids of *Brachiaria* (HBCG348, HBCG011, HBCG148, HBCG450 and HBCG148) and a second study evaluated the viability of pollen and seed production of these same genotypes in different environmental conditions. It was concluded that: a) the temperature factor affect the pollen viability of hybrids; b) the pollen viability of hybrids HBGC348 and HBGC148 is inversely proportional to the temperature rise; c) all the hybrids studied have floral abnormalities that affect the spread of pollen and subsequent seed production; d) were studied the hybrid genotype interaction with the environment; and e) none of the hybrids studied has the potential to produce seeds that credentials to sign in seed-bed market.

Keywords: braquiária; physiological quality; pollen viability; temperature.

LISTA DE TABELAS

Capítulo 1

1.1. Quantidade de pólen por antera de flores hermafroditas de *B. brizantha* cv. Marandú e genótipos híbridos interespecíficos de *brachiaria*. Planaltina – DF, 201067

Capítulo 2

2.1. Análise de solo referente a componentes químicos e biológico no segundo ano de produção de sementes em Planaltina – DF.....	117
2.2. Análise de solo referente a componentes químicos e biológico no primeiro ano de produção de sementes em Campo Grande – MS	117
2.3. Análise de variância para 21 variáveis (fenológicos, componentes de produção, qualidade fisiológica de semente e viabilidade polínica) com significância para interação genótipo x ambiente	118
2.4. Análise conjunta das fases fenológicas em Planaltina – DF e Campo Grande – MS na safra 2009/10	119
2.5. Análise conjunta dos componentes de produção de sementes em Planaltina – DF e Campo Grande – MS na safra 2009/10	120
2.6. Análise conjunta dos componentes de produção de sementes em Planaltina – DF e Campo Grande – MS na safra 2009/10	121
2.7. Análise conjunta da qualidade fisiológica das sementes e viabilidade polínica de genótipos de <i>brachiaria</i> produzidas em Planaltina – DF e Campo Grande – MS na safra 2009/10	122
2.8. Análise conjunta da qualidade fisiológica das sementes de genótipos de <i>brachiaria</i> produzidas em Planaltina e Campo Grande na safra 2009/10	123
2.9. Estimativas de correlação da análise de trilha dos grupos I, II e III	124
2.10. Análise de trilha do grupo IV	124
2.11. Análise de trilha do grupo V	127
2.12. Instruções para Execução dos Ensaios de Distinguilidade, Homogeneidade e Estabilidade (DHE) para espécies de <i>brachiaria brizantha</i> , <i>B. decumbens</i> , <i>B. ruziziensis</i> e híbridos (BRASIL, 2001) com adaptações.....	129

LISTA DE FIGURAS

Capítulo 1

- 1.1. Viabilidade polínica de *B. brizantha* cv. Marandú e híbridos interespecíficos de *brachiaria* (HBGC348, HBGC011, HBGC450, HBGC148, HBGC080) submetidos a diferentes temperaturas (15°C, 20°C, 25°C e 30°C). Planaltina – DF, 2010.....66

Capítulo 2

- 2.1. Histórico climático anual de temperatura, umidade relativa e precipitação pluvial durante o período de produção de sementes de *brachiaria* spp. (novembro a maio) em Planaltina-DF e Campo Grande-MS durante 10 anos agrícolas 112
- 2.2. Temperatura máxima e mínima semanal (linha) durante as fases fenológicas dos genótipos de *brachiaria* spp., no período de produção de semente na safra 2009/10 em Planaltina-DF e Campo Grande-MS..... 113
- 2.3. Umidade relativa máxima e mínima semanal (linha) durante as fases fenológicas dos genótipos de *brachiaria* spp., no período de produção de semente da safra 2009/10 em Planaltina-DF e Campo Grande-MS..... 114
- 2.4. Precipitação pluvial (mm) semanal (linha) durante as fases fenológicas dos genótipos de *brachiaria* spp., no período de produção de semente da safra 2009/10 em Planaltina-DF e Campo Grande-MS..... 115
- 2.5. Dendrograma do agrupamento de 6 genótipos de *brachiaria* spp. em Planaltina (vermelho) e Campo Grande (azul), pelo método Ward, utilizando-se 24 caracteres, em relação a correlação parcial ao quadrado (SPRSQ). 116

SUMÁRIO

DEDICATÓRIA.....	iv
AGRADECIMENTOS	v
EPÍGRAFE	vii
RESUMO.....	viii
ABSTRACT	ix
LISTA DE TABELAS	x
LISTA DE FIGURAS	xi
1. Introdução geral	14
2. Revisão de literatura – Braquiária: do domínio das pastagens no Brasil à obtenção de híbridos.....	15
2.1. Cenário atual da pecuária brasileira.....	15
2.1.1. <i>Brachiaria</i>	16
2.1.1.1. Sistema reprodutivo	18
2.1.1.2. Sementes de <i>brachiaria</i>	21
2.1.1.3. Híbridos de <i>brachiaria</i>	23
2.2. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	26
3. Capítulo 1 – Influência da temperatura na viabilidade polínica de híbridos interespecíficos de <i>Brachiaria</i> sp.....	34
RESUMO.....	35
ABSTRACT	36
3.1. INTRODUÇÃO	37
3.2. MATERIAL E MÉTODOS	40
3.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	42
3.3.1. Marandú.....	42
3.3.2. HBGC348	44
3.3.3. HBGC011	46
3.3.4. HBGC450	47
3.3.5. HBGC148	48
3.3.6. HBGC080	49
3.4. CONCLUSÕES	51
3.5. CONSIDERAÇÕES GERAIS	51

3.6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	52
ANEXO 1	65
4. Capítulo 2 – Interferência ambiental na produção de sementes de <i>B. brizantha</i> cv. Marandú e de híbridos interespecíficos de <i>Brachiaria</i>	68
RESUMO.....	69
ABSTRACT	70
4.1. INTRODUÇÃO	71
4.2. MATERIAL E MÉTODOS	74
4.2.1. Morfologia	76
4.2.2. Fenologia	76
4.2.3. Viabilidade polínica	77
4.2.4. Rendimento e componentes de produção de sementes.....	77
4.2.5. Qualidade fisiológica de sementes	78
4.2.6. Delineamento experimental	80
4.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	81
4.3.1. Análise de trilha	81
4.3.2. Análise em conjunto por comparação de genótipos em locais	82
4.3.2.1. Marandú	82
4.3.2.2. HBGC348	84
4.3.2.3. HBGC011	88
4.3.2.4. HBGC450	91
4.3.2.5. HBGC148	93
4.3.2.6. HBGC080	96
4.4. CONCLUSÕES	100
4.5. CONSIDERAÇÕES GERAIS	101
4.6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	102
ANEXO 2.....	111

1. INTRODUÇÃO GERAL

Dentre as espécies cultivadas de forrageiras tropicais, com importância econômica, estima-se que 70% a 80% das áreas com pastagens cultivadas no Brasil sejam ocupados por dois gêneros: *brachiaria* e *panicum*. A quantidade de cultivares disponíveis no mercado, desses dois gêneros, é pequena, resultando em cultivos de extensas áreas com poucos genótipos. Ademais nesses dois gêneros, todas cultivares comerciais são apomíticas, exceto a única cultivar de *B. ruziziensis*. Esses dois fatores determinam estreita base genética das cultivares e um risco permanente para as pastagens, sujeitos à quebra da resistência a pragas, doenças ou por outro agente biótico. Não somente essa vulnerabilidade genética pode comprometer a qualidade e a produção de forragem, mas, também a redução da capacidade de adaptação ou de resposta à variação nas condições de clima causando baixa produtividade para muitas cultivares, quando cultivados fora da sua faixa ótima de adaptação ambiental. Embora a maioria das cultivares disponíveis tenha ampla adaptação, em regiões tropicais, acredita-se que a geração de cultivares, mais específicas às diferentes ofertas ambientais, poderá resultar em melhores produtividades de forragem.

Na busca por geração de variabilidade e incorporação de cultivares forrageiros adaptados no atual cenário agropecuário, os programas de melhoramento dos centros de pesquisa nacionais têm desenvolvido híbridos apomíticos para continuarmos na condição de maior exportador de carne bovina, uma vez que a base alimentar do rebanho brasileiro é as pastagens.

Esses híbridos têm apresentado elevado valor forrageiro, entretanto, sua produção de sementes é baixa. Especula-se que essa baixa produção ocorra por irregularidades na meiose, entretanto, é possível que hajam interferências ambientais no controle genético dessa divisão celular, visto que já foram observados, em alguns híbridos de *brachiaria*, diferenças na produtividade de sementes, quando cultivadas em diferentes regiões do Cerrado brasileiro. Essa interação do ambiente com o genótipo pode estar afetando a viabilidade polínica, tornando-o macho estéril ou o genótipo híbrido tenha alelo de incompatibilidade gametofítica ou esporofítica, onde tanto a inviabilidade polínica quanto a incompatibilidade impedem a formação do endosperma e, conseqüentemente, o enchimento da semente.

O mais recente relatório do Painel Intergovernamental de Mudanças Climáticas (IPCC, 2007 a, b) prevê que a produção de alimentos em todo o mundo pode sofrer um impacto dramático nas próximas décadas por consequência das mudanças climáticas. A temperatura média global da atmosfera pode aumentar 1,8°C até 2050 em relação a 1990 e 4°C até 2100, com decréscimo da produção alimentícia de aproximadamente 10% a cada grau de incremento da temperatura. Em virtude disso, esse trabalho tem por objetivo identificar o (s) fator (es) ambiental (is) que induz(em) a baixa produção de semente de híbridos interespecífico de *brachiaria*.

2. REVISÃO DE LITERATURA – BRAQUIÁRIA: DO DOMÍNIO DAS PASTAGENS NO BRASIL À OBTENÇÃO DE HÍBRIDOS

2.1. Cenário atual da pecuária brasileira

Com o segundo maior rebanho comercial de bovinos do mundo, perdendo apenas para a Índia e tendo a China ocupando a terceira posição (ANUALPEC, 2010), o Brasil possui 202,3 milhões de cabeças, sendo a região Centro Oeste a maior produtora com 34% deste efetivo (IBGE, 2008). Uma parcela superior a 90% desse rebanho é alimentada em sistemas baseados exclusivamente em pastagens (ANUALPEC, 2004) que, em relação aos sistemas confinados, conferem menores produtividades, mas oferecem grande vantagem competitiva, permitindo a produção de produtos com baixo custo e de boa qualidade (EUCLIDES et al., 2001; SOUZA, 2006). Essa vantagem obtida, sobretudo, pela abundância de terras e pelo constante incremento tecnológico, se reflete na fatura de carne e leite ofertada no mercado interno e na crescente conquista de mercados internacionais de carne. No mercado interno a bovinocultura de corte representa a maior fatia do agronegócio brasileiro, gerando faturamento superior a R\$50 bilhões/ano e oferecendo cerca de 7,5 milhões de empregos (ABIEC, 2010). Já no mercado internacional, hoje o Brasil é o maior exportador mundial de produtos bovinos (carne *in natura*, industrializada, miúdos, tripas e salgados) tendo exportado em 2010 1,2 milhões de toneladas de produtos gerando ao País US\$4,8 bilhões (ABIEC, 2011).

Para dar suporte à pecuária, estima-se que a área de pastagens no país esteja em torno de 172 milhões de hectares, em que 68 milhões são de pastagens nativas e 104 milhões de pastagens cultivadas (BIERHALS e FERRAZ, 2008). Nesta última categoria destaca-se a predominância de gramíneas do gênero *brachiaria* ocupando 98 milhões de hectares (ANUALPEC, 2004). Somente na área do cerrado brasileiro 60 milhões de hectares são ocupados com pastagens cultivadas (MACEDO, 2005) e destes, 45 milhões tem predominância do gênero *brachiaria* (SANO et al., 1999). Levando em consideração que a área total de soja no Brasil, cultura de grãos mais cultivada, foi de 23,2 milhões de hectares na safra 2009/2010 (ABRASEM, 2010) *brachiaria* spp. é, sem dúvida o gênero mais cultivado no país.

2.1.1. *Brachiaria*

O gênero *brachiaria* possui cerca de 100 espécies (DAHLGREN et al., 1985; RENVOIZE et al., 1996) nos dois hemisférios nas regiões tropicais e subtropicais, mas o centro de origem das principais espécies de valor agrônomico é a África Oriental. Essas espécies são de ampla adaptação, mas sua ocorrência é mais comum nas savanas.

A introdução das diferentes espécies de braquiária no Brasil se deu de formas diversas. A *B. plantaginea* e, provavelmente, a *B. mutica*, foram introduzidas ainda no período do Brasil Colonial, vindas nos navios negreiros servindo de cama para os escravos (PARSONS, 1972; SENDULSKY, 1978). A espécie *B. ruziziensis* foi introduzida a partir de 1965. A *B. decumbens* foi introduzida oficialmente em 1952, através do Instituto de Pesquisas Agropecuária do Norte (Ipean), em Belém (SERRÃO e SIMÃO NETO, 1971) com o nome de *B. brizantha* e ficou conhecida como cv. Ipean. Outro ecótipo de *B. decumbens*, originária da Uganda, foi levada para a Austrália, em 1930, e lá registrada como cv. Basilisk (MACKAY, 1982). Esse mesmo ecótipo, em seguida, foi introduzido no Brasil pelo Instituto de Pesquisas Internacionais (IRI), em Matão-SP, no início da década de 1960. Entre 1968 e 1972, com incentivos governamentais para formação de pastagem e intensa importação de sementes da Austrália, esse cultivar formou extensos monocultivos nos Cerrados brasileiros. A boa adaptabilidade aos solos ácidos e pobres, a fácil multiplicação de sementes, associada à agressividade na competição com invasoras e, sobretudo, o

bom desempenho animal, comparado às pastagens nativas, explicam a rápida expansão desta braquiária nos trópicos.

Em busca de uma nova variedade que solucionasse os problemas gerados pelo monocultivo da Basilisk, em 1984 foi liberada pela Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa) a *B. brizantha* cv. Marandú (NUNES et al., 1984) resistente a cigarrinha das pastagens e que gradualmente substituiu a Basilisk, mas trouxe também com isso, um novo monocultivo que perdura até hoje.

A cultivar Marandú é uma gramínea tropical de porte alto, hábito de crescimento ereto e sem estolões. Suas folhas são arqueadas com alta pilosidade na bainha e com lâminas de comprimento e largura média, com 25cm e 1,9cm respectivamente. Suas lâminas possuem forma linear com pilosidade média na face ventral. As inflorescências possuem hastes florais longas com 28cm de comprimento em média, e eixo floral com média de 5,8cm. As espiguetas são dispostas em fila única nos racemos que são longos com 11,7cm de comprimento em média. Suas flores apresentam estigma receptivo de coloração vinácea e se torna gradualmente preto após a antese. As espiguetas possuem pouca pilosidade com comprimento e largura média. A sequência de abertura das inflorescências do genótipo Marandú é emborrachamento, saída de toda a inflorescência da folha bandeira, início da abertura das primeiras flores do racemo a partir do terço mediano e em seguida para as extremidades conhecido como tipo divergente (ALVES, 2000), abertura de todas as flores no racemo, início da degrana e final da degrana. Todo esse processo em cada inflorescência dura em média 36 dias. No momento da antese (início da abertura) as anteras saem fechadas do flósculo, e somente após estarem totalmente fora da espiguetas elas se rompem para liberação dos grãos de pólen. A cultivar Marandú é um genótipo de ciclo intermediário, e suas fases fenológicas são mais tardias em Planaltina do que em Campo Grande com média de 18 dias de diferença.

Em busca de variabilidade genética dentro do gênero entre 1984 e 1985 o Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT) realizou novas coletas no leste e sul Africano e parte desta coleção foi introduzida pela Embrapa, formando a coleção de trabalho para o programa de melhoramento genético do gênero (VALLE, 1990).

2.1.1.1. Sistema Reprodutivo

A reprodução no gênero *brachiaria* ocorre de forma sexuada e assexuada (apomítico), sendo que dentro de uma mesma espécie do gênero, existem plantas com ambos os sistemas (VALLE, 1990). O fator que determina o tipo de sistema reprodutivo de cada acesso é endógeno e determinado na megagametogênese, que é o processo de formação do saco embrionário. Os sistemas de reprodução do gênero *brachiaria* são:

Sexuado (Figura 1) – Na reprodução sexuada há produção de gametas haplóides (n) que após a fecundação geram um indivíduo diplóide ($2n$). Os gametas masculinos são formados nas anteras da flor a partir da célula mãe do micrósporo ($2n$) que sofrerá meiose dando origem a quatro células haplóides (tétrade haplóide). Estas sofrerão sucessivas mitoses produzindo grãos de pólen haplóides. Os gametas femininos são formados no ovário da flor a partir da célula mãe do megásporo (célula da nucela diferenciada por seu tamanho e constituição). Esta célula após o processo de meiose origina quatro megásporos, dos quais três serão degradados. O megásporo sobrevivente sofrerá três mitoses sucessivas dando origem ao saco embrionário do tipo *Polygonum* (DUSI e WILLEMSE, 1998; 1999 a, b). Este saco contém oito núcleos haplóides (oosfera, 2 sinérgides, 2 núcleos polares e 3 antípodas) distribuídos em 7 células, pois os dois núcleos polares se fundem formando uma célula diplóide. Após a formação dos gametas ocorre a polinização, que é a transferência do pólen para o estigma (VAN WENT e WILLEMSE, 1984; LAWRENCE, 1995), entretanto, considera-se que a polinização é um processo que se estende até a chegada do tubo polínico no óvulo (FOSKET, 1994). Assim, a polinização inicia-se quando o grão de pólen maduro é liberado da antera e entra em contato com um estigma compatível, onde sofre hidratação com consequente germinação do grão de pólen. O tubo polínico é formado e cresce através do estilete alcançando a micrópila e por fim o saco embrionário. O processo de fecundação ocorre quando o tubo polínico entra em uma sinérgide permitindo a ruptura do tecido do tubo para saída das duas células espermáticas. A união de uma célula espermática com a oosfera origina o zigoto ($2n$), futuro embrião, enquanto o núcleo da outra célula espermática se une com o núcleo diplóide da célula central para formar o núcleo triplóide ($3n$) do endosperma. O endosperma é um tecido de

reserva que irá envolver e nutrir o embrião durante a embriogênese e durante a germinação da semente (ASKER e JERLING, 1992; FOSKET, 1994). A reprodução sexual gera variabilidade genética, através de mecanismos de recombinação gênica, ou seja, a permuta entre os cromossomos homólogos durante a prófase da meiose I, a segregação aleatória dos cromossomos homólogos durante na anáfase I, ou ainda pelas diversas possibilidades de reunião dos gametas femininos e masculinos durante a fecundação (GAUER e CAVALLI-MOLINA, 2000).

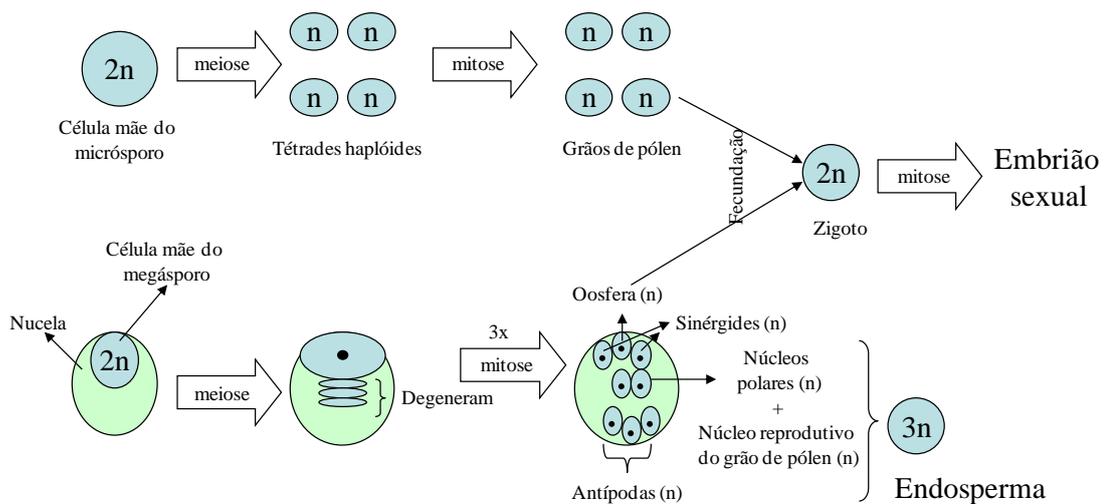


Figura 1. Formação dos gametas haplóides masculino (acima) e feminino (abaixo) e a fertilização para formação de partes da semente (embrião e endosperma) em plantas de *brachiaria* com reprodução sexual.

Apomítico (Figura 2) – O termo apomixia no sentido mais amplo significa ‘longe do ato da mistura’, pois apo quer dizer ‘longe de’ e mixia, ‘mistura’ (WINKLER apud ASKER e JERLING, 1992); é sinônimo de formação assexual da semente ou agamospermia. Segundo Koltunow (1993) o processo apomítico dá origem a sementes férteis. Existem vários tipos de apomixia, mas a apomixia descrita para plantas de *brachiaria* é a apomixia gametofítica (o embrião se desenvolve a partir do saco embrionário, sem sofrer meiose) com mecanismo apospórico (LUTTS et al., 1994; VALLE, 1990). Nesse mecanismo uma célula adicional da nucela (apóspero inicial) sofre duas mitoses sucessivas gerando o saco embrionário não reduzido (NOGLER, 1984; ASKER e JERLING, 1992) do tipo *Panicum* (NGENDAHOYO, 1988; VALLE, 1990; DUSI e WILLEMSE, 1998; DUSI e WILLEMSE, 1999a, b; ARAÚJO et al., 2000), com quatro núcleos diplóides (oosfera, 2 sinérgides e núcleo polar). A oosfera, por mitoses sucessivas, origina o embrião apomítico (2n) que é autônomo por não ser originado de fecundação (NOGLER, 1984; ASKER e

JERLING, 1992), fato comprovado devido sua presença em *brachiaria* mesmo antes da antese (DUSI e WILLEMSE, 1999b; ALVES, 2000; ARAUJO et al., 2000). Esse embrião dará origem a planta idêntica à planta mãe. Segundo Vale et al. (2008) dentro do ovário pode-se iniciar o desenvolvimento de vários apósporos iniciais, resultando em sacos embrionários múltiplos. Entretanto, nunca se observou mais de uma cariopse por espiguetas em *brachiaria*, assim supõe-se que algum mecanismo de seleção e eliminação se estabeleça para que apenas um embrião se desenvolva. Como o embrião se desenvolve de modo autônomo nas plantas apomíticas, a não formação de sementes, em plantas com o estigma excisado, indica que a fecundação é necessária à formação do endosperma (NGENDAHAYO et al., 1988). Para que este endosperma (ASKER e JERLING, 1992; FOSKET, 1994) seja formado, é preciso que ocorra a fecundação do núcleo reprodutivo (n) do progenitor masculino (grão de pólen) com o núcleo polar do saco embrionário (2n). Essa apomixia é conhecida por pseudogâmica, devido a necessidade de apenas uma fecundação para a formação de endosperma. De fato, análises citológicas de *brachiaria brizantha* apomítica, realizada por Ngendahayo (1988), Alves (2000) e Alves et al., (2001), comprovaram a fecundação do núcleo polar e o nível triploide do endosperma, fornecendo evidências diretas da pseudogamia em *brachiaria*. Esses estudos permitiram, também, verificar que a liberação do gameta masculino acontece cerca de 10 horas após a polinização (ALVES, 2000; ALVES et al., 2001). Nesse caso, conclui-se que a infertilidade polínica compromete o desenvolvimento do endosperma e, por consequência, o desenvolvimento das sementes, que ficam chochas (FELISMINO et al., 2008).

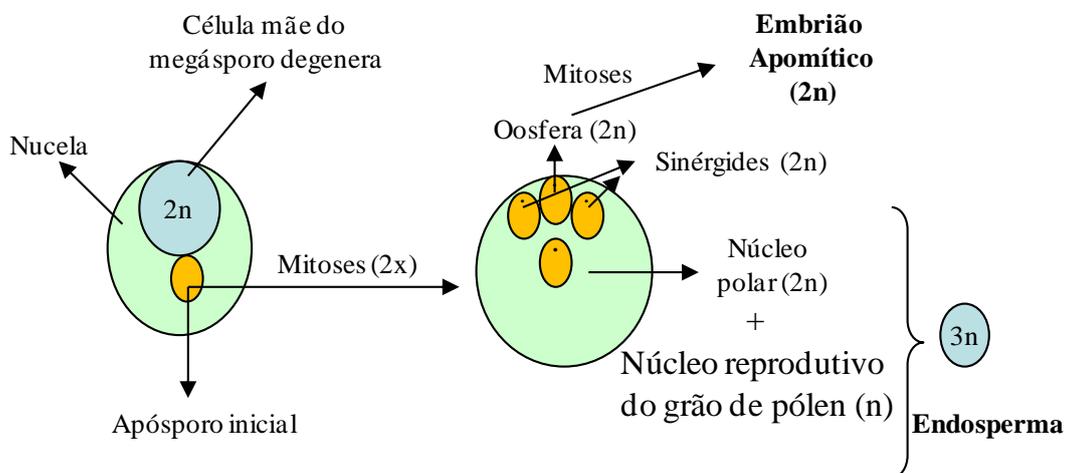


Figura 2. Apomixia gametofítica apospórica pseudogâmica.

A maioria das espécies de *brachiaria* cultivadas reproduzem-se por apomixia gametofítica, enquanto plantas sexuais não são cultivadas. A única exceção é a espécie *B. ruziziensis*, cujos acessos existentes são todos sexuais diplóides. Estudos em *brachiaria* vêm gerando informações sobre a biologia celular e molecular dos dois modos de reprodução (DUSI e WILLEMSE, 1999b; ARAUJO et al., 2000; ALVES et al., 2001; CARNEIRO e DUSI, 2002), visando a ampliação da variabilidade genética dentro do gênero e sua utilização no melhoramento genético, uma vez que na natureza esta é limitada pela apomixia (PEREIRA et al., 2001).

2.1.1.2. Sementes de *brachiaria*

A inflorescência de braquiária é uma panícula composta de racemos cuja quantidade varia com a espécie e cultivar. Os racemos sustentam as espiguetas dispostas em uma ou duas fileiras, da mesma forma, dependendo da espécie e cultivar. Cada espiguetas é dividida em dois flósculos, onde em cada flósculo se desenvolve uma flor, sendo uma flor masculina no flósculo inferior e uma flor hermafrodita no flósculo superior (NDIKUMANA, 1985; SKERMAN e RIVEROS, 1989). A flor masculina também conhecida por estaminada, contém três anteras nas quais se desenvolvem grãos de pólen normais e viáveis (ALVES, 2000; DUSI, 2001). A flor hermafrodita possui três anteras e um pistilo bastante ramificado na extremidade. A espiguetas se encontra envolvida por glumas e cada flósculo está envolvido por glumelas (pálea e lema) (SOUZA, 2001). A semente da braquiária, propriamente dita, se forma no flósculo hermafrodita, que botanicamente, é um fruto seco indeiscente conhecido por cariopse (SOUZA, 1991), visto que ele possui um pericarpo delgado delimitando a semente (embrião e endosperma). Esse pericarpo tornou-se delgado porque o embrião utilizou parte dele durante seu desenvolvimento. A olho nu não é possível ver o pericarpo na cariopse, entretanto ele pode ser visto através de exame histológico (MARCOS FILHO, 2005). O que é chamado de 'semente' de braquiária é, na verdade, a espiguetas. A semente botânica, na verdade, é a cariopse dentro do flósculo superior da espiguetas. Ou seja, a semente em si é o embrião, o endosperma e o tegumento, este originário dos integumentos da parede do ovário. Essa estrutura de sementes ocorre tanto nas

braquiárias de plantas sexuais, quanto nas apomíticas. As sementes formadas sexuadamente dão origem a plantas genética e morfológicamente diferentes, enquanto as plantas originadas de sementes apomíticas são idênticas a planta mãe (clone).

Conhecer o tipo de reprodução das plantas de *brachiaria* e a morfologia de suas sementes é importante quando se pretende produzi-las. Para produzir sementes de *brachiaria*, visando à comercialização, algumas normas e padrões devem ser seguidos. Estas são especificadas na Instrução Normativa nº 30 de 21 de maio de 2008 (BRASIL, 2008), regida pela Lei de Sementes e Mudas nº 10711 de 5 de agosto de 2003 (BRASIL, 2003), regulamentada pelo decreto nº 5153 de 23 de julho de 2004 (BRASIL, 2004). Essa Instrução Normativa, além das normas e padrões, determina que a porcentagem mínima de pureza e germinação para sementes de espécies de *brachiaria* spp., da categoria certificada, devem ser de 80% e 60% respectivamente, com exceção da *B. humidicola* cujo mínimo de germinação é de 40%. Pela Instrução Normativa que vigorava no Brasil antes dessa acima citada, o mínimo de pureza exigido era de 40%. O novo padrão demonstra uma maior preocupação com a qualidade sanitária, pois o aumento da pureza na amostra diminui o risco com contaminantes (sementes de invasoras, ovos de insetos, doenças, etc). Juntamente com esta preocupação de garantir a qualidade sanitária das sementes, por parte dos órgãos competentes, deve estar também, a preocupação com metodologias que avaliem a qualidade física, genética, fisiológica e sanitária das sementes de *brachiaria* sp. e outras, pois os testes preconizados são defasados, quando comparado com espécies de outras culturas.

Atualmente estão registradas no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), quinze cultivares do gênero *brachiaria* aptos para produção e comercialização (BRASIL, 2011) (*B. spp.* Iapar 56; *B. spp.* Mulato I; *B. spp.* Mulato II; *B. brizantha* Arapoty; *B. brizantha* Piatã; *B. brizantha* Capiporã; *B. brizantha* Marandú; *B. brizantha* MG-4; *B. brizantha* Xaraés; *B. decumbens* Australiana; *B. decumbens* Basilisk, *B. humidicola* Humidicola; *B. humidicola* Tupi; *B. humidicola* Llanero; *B. ruziziensis*). As cultivares Arapoty, Capiporã e Tupi ainda não estão disponíveis aos produtores e o IAPAR 56 e a Australiana não estão mais sendo comercializadas de forma que apenas dez cultivares possuem sementes disponíveis no mercado e duas, *B. brizantha* cv. Marandú e *B. decumbens* cv. Basilisk,

respondem por mais de 80% do volume de sementes de forrageiras tropicais comercializadas no Brasil (BRASIL, 2007). Considerando o número de cultivares disponíveis, a área plantada e a uniformidade genética dentro das cultivares do gênero tornam-se clara a necessidade de maior diversificação de genótipos de plantas forrageiras nos sistemas brasileiros de produção.

2.1.1.3. Híbridos de *brachiaria*

Na busca de aumentar da oferta de cultivares e, em consequência, a ampliação da base genética dos materiais cultivados, começaram a ser desenvolvidos híbridos de *brachiaria*. Na natureza, os cruzamentos são limitados por conta da existência da apomixia, em que na progênie, as plantas são clones da planta-mãe (VALLE e SAVIDAN, 1996). A hibridação de apomíticos obrigatórios com plantas de reprodução sexuada cria a oportunidade de produzir novas combinações gênicas e fixar, permanentemente, a progênie heterozigota para avaliação imediata como nova cultivar ainda em F1, tendo a conveniência da propagação por sementes (DALL'AGNOL e SCHIFINO-WITTMANN, 2005). A grande vantagem dos híbridos apomíticos de *brachiaria* em relação a híbridos sexuais de outras culturas, como milho e tomate, é que o híbrido de *brachiaria* perpetua um dado genótipo preservando as características de interesse ao longo das gerações (HANNA e BASHAW, 1987), sem precisar realizar novos cruzamentos a cada ciclo, além de dispensar a manutenção dos progenitores (linhagens) nos campos de produção de sementes.

Entre os 455 acessos de *brachiaria* do banco ativo de germoplasma (VALLE et al., 2008) e as 100 espécies descritas, há uma grande variação de ploidia, cujo número básico de cromossomos é $x=9$ e raramente $x=7$ (DARLINGTON e WYLIE, 1955). São identificados de diplóides ($2x$) a heptaplóides ($7x$), mas com predominância de tetraplóide ($2n=4x=36$) (VALLE e SAVIDAN, 1996; PENTEADO et al., 2000; BERNINI e MARIN-MORALES, 2001; MENDES-BONATO et al., 2002; VALLE et al., 2008). Para que ocorra hibridação é preciso que a planta sexual e a apomítica tenham ploidia compatível, o que não ocorre em braquiária, visto que as plantas apomíticas são poliplóides enquanto as sexuais são diplóides (VALLE, 1990; VALLE e SAVIDAN, 1996). Caso não haja compatibilidade entre a ploidia dos

genitores, o grau de esterilidade da progênie é elevado e não há, portanto, recuperação das plantas híbridas (FERGUSON e GROWDER, 1974). Inicialmente para driblar a barreira da ploidia, o cruzamento nas braquiárias foi realizado entre espécies (interespecíficos) devido à ausência, na época, de acessos tetraplóides sexuais das duas espécies de maior importância, *B. brizantha* e *B. decumbens*. Utilizou-se no cruzamento como progenitor sexual, uma planta de *B. ruziziensis* com cromossomos duplicados, utilizando-se a colchicina. Esse antimitótico inibe a formação do fuso durante a divisão celular, levando a formação de células com o dobro do número cromossômico (SCHIFINO-WITTMANN e DALL'AGNOL, 2003). Segundo Swenne et al. (1981) e Gobbe et al. (1981) a aplicação direta de colchicina em *B. ruziziensis* é eficiente na duplicação de materiais diplóides sexuais em tetraplóides sexuais. Através dessa técnica, Ndikumana (1985) conseguiu produzir os primeiros híbridos interespecíficos entre *B. ruziziensis*, *B. decumbens* e *B. brizantha*. A herança da apomixia em *brachiaria* tem caráter dominante, em relação à sexualidade (VALLE et al., 1994; SHERWOOD, 2001), e é controlada por poucos genes (DALL'AGNOL e SCHIFINO-WITTMANN, 2005). Acredita-se que a herança seja controlada por um único *locus* genético (VALLE et al., 1994; PESSINO et al., 1997).

Atualmente o híbrido interespecífico comercial existente no Brasil é o Mulato II, desenvolvido pelo Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT). Seu desenvolvimento exigiu 12 anos de pesquisa. Neste período foram realizadas três gerações de cruzamento: 1ª geração - *B. ruziziensis* (sexual - mãe) x *B. decumbens* (apomítico - pai); 2ª geração - acessos sexuais da 1ª geração foram expostos a polinização aberta com *B. brizantha* (apomítico); 3ª geração – selecionou um sexual proveniente da 2ª geração, cruzou com *B. brizantha* (apomítico) do qual surgiu o Mulato II (FRANCO, 2006).

Híbridos interespecíficos entre *B. ruziziensis* com *B. brizantha* ou *B. decumbens* têm sido obtidos com algumas limitações, sobretudo pela baixa produção de sementes e alto índice de mortalidade de plântulas (RODRIGUES-OTUBO et al., 1998). Risso-Pascotto et al. (2004) identificaram citologicamente, em um híbrido de *B. ruziziensis* x *B. decumbens*, que após a metáfase I ocorre a suspensão da meiose, e agregado a isso, outras anormalidades ligadas à migração precoce ou retardada dos cromossomos para os pólos na metáfase, redundando em

números cromossômicos desbalanceados, e até micrósporos anucleados (VALLE et al., 2008). Essas anomalias podem levar a esterilidade completa do gameta masculino, sendo essa, a provável causa da pouca ou nulidade da produção de sementes. Mesmo que o híbrido tenha qualidade de forragem, resistência a pragas e doenças, persistência, fixação de nitrogênio, resistência a seca e frio, tolerância a salinidade, e tolerância ao alumínio do solo, ele não poderá ser liberado comercialmente, pois a escassez de sementes da cultivar encarecerá os processos de implantação/renovação de pasto e de produção de sementes. Este é o ponto limitante da disseminação do Mulato II e de alguns outros híbridos em desenvolvimento em Centros de Pesquisa. Desta forma, a identificação do fator ou dos fatores que induzem a baixa produção de semente de híbridos interespecífico de *brachiaria* é o objetivo de estudo deste trabalho.

2.2. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABIEC - Associação Brasileira da Indústria Exportadora de Carnes. **Pecuária Brasileira**. Disponível em: <http://www.abiec.com.br/3_pecuaria.asp>. Acesso em 08 ago. 2010.

ABIEC - Associação Brasileira da Indústria Exportadora de Carnes. **Exportações de carne bovina do Brasil**. Disponível em: <<http://www.abiec.com.br/download/exp%20jan%20-%20dez%2010.pdf>>. Acesso em: 27 jan. 2011.

ABRASEM. **Anuário da Associação Brasileira de Sementes e Mudanças**. Brasília: Abrasem, 2010. 82 p.

ALVES, E.R. **Aspectos da reprodução em *Brachiaria brizantha* cv. Marandú**. 2000.94p. Dissertação (mestrado) – Universidade de Brasília, Brasília, 2000.

ALVES, E.R.; CARNEIRO, V.T.C.; ARAUJO, A.C.G. Direct evidence of pseudogamy in an *Brachiaria brizantha* (Poaceae). **Sexual Plant Reproduction**, v.14, n.4, p.207-212, 2001.

ANUALPEC. **Anuário da Pecuária Brasileira**. São Paulo: Argos Comunicação FNP, 2004. 376p.

ANUALPEC. **Anuário da Pecuária Brasileira**. São Paulo: Argos Comunicação FNP, 2010. 360p.

ARAUJO, A.C.G.; MUKHAMBETZHANOV, S.; POZZOBON, M.T.; SANTANA, E.F.; CARNEIRO, V.T.C. Female gametophyte development in apomitic and sexual *Brachiaria brizantha* (Poaceae). **Reveu de Cytologie et de Biologie Vegetales**, v.1/2, n.23, p.13-28, 2000.

ASKER, S.E.; JERLING, L. **Apomixis in Plants**. Boca Raton: Ann Arbor London Tokyo, 1992. 298p.

BERNINI, C.; MARIN-MORALES, M.A. Karyotype analysis in *Brachiaria* (Poacea) species. **Cytobios**, v.104, n.25, p.157-171, 2001.

BIERHALS, J.D.; FERRAZ, J.V. O pasto perde espaço para a lavoura. **Anuário da Pecuária Brasileira**, p.34-40, 2008.

BRASIL. Instrução Normativa nº 30, de 11 de maio de 2008. Estabelece normas e padrões para produção e comercialização de sementes de espécies forrageiras,... **Diário Oficial da União**, Poder Executivo, Brasília, DF, 23 mai. 2008. Seção I, p.45.

BRASIL. Lei nº 10.711, de 5 de Agosto de 2003. **Diário Oficial da União**, Brasília, 6 de agosto de 2003. Seção 1, 1p.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. SNPC – **Registro Nacional de Cultivares**. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br>>. Acesso em: 23 jul. 2007.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. SNPC – **Registro Nacional de Cultivares**. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br>>. Acesso em: 27 jan. 2011.

BRASIL. Decreto nº 5.153, de 23 de Julho de 2004. **Diário Oficial da União**, Brasília, 26 de Julho de 2004. Seção 1, 6p.

CARNEIRO, V.T.C.; DUSI, D.M.A. Apomixia: em busca de tecnologias de clonagem de plantas por sementes. **Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento**, v.25, p.36-42, 2002.

DAHLGREN, R.M.T.; CLIFFORD, H.T.; YEO, P.F. **The families of the monocotyledons**, New York Tokyo: Springer-Verlag, 1985. 520p. .

DALL'AGNOL, M.; SCHIFINO-WITTMANN, M.T. Apomixia, genética e melhoramento de plantas. **Revista Brasileira Agrociência**, v.11, n.2, p.127-133, 2005.

DARLINGTON, C.D.; WYLIE, A.P. **Chromosome atlas of flowering plants**. Londres: Allen and Unwin 1955.

DUSI, D.M.A. **Apomixis in *Brachiaria decumbens* stapf**. 2001. 167p. Tese (doutorado) - Wageningen Universiteit, Wageningen, 2001.

DUSI, D.M.A.; WILLEMSE, M.T.M. Apomixis in *Brachiaria decumbens* Stapt.; gametophytic development and reproductive calendar. **Acta Botanica Cracoviensia Series Botanica**, v. 41, p.151-162, 1999b.

DUSI, D.M.A.; WILLEMSE, M.T.M. Apomixis in *Brachiaria decumbens*: calendar, carbohydrates and callose. In: INTERNATIONAL CONGRESS OF SEXUAL PLANT REPRODUCTION, 15., 1998, Wageningen. **Anais...** Wageningen: Wageningen UR, 1998. p.24.

DUSI, D.M.A.; WILLEMSE, M.T.M. Activity and localisation of sucrose synthase and invertase in ovules of sexual and apomitic *Brachiaria decumbens*. **Protoplasma**, v.208, p.173-185, 1999a.

EUCLIDES, V.P.B.; EUCLIDES FILHO, K.; COSTA, F.P.; FIGUEREDO, G.R. Desempenho de novilhos F1s angus-nelore em pastagens de *Brachiaria decumbens* submetidos a diferentes regimes alimentares. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.30, n.2, p.470-481, 2001.

FELISMINO, M.F.; PAGLIARINI, M.S.; VALLE, C.B. A differential phenotypic expression of a divergent spindle mutation in interspecific *Brachiaria* hybrids. **Cell Biology International**, v.32, p.1459-1463, 2008.

FERGUSON, J.E.; CROWDER, L.V. Cytology and breeding behavior of *Brachiaria ruziziensis* Germain et Evrard. **Crop Science**, v.14, p.893-895, 1974.

FOSKET, D.E. **Plant growth and development: a molecular approach**. San Diego: Academic Press, 1994. 580p.

FRANCO, M. Mulato II: Chega ao mercado novo híbrido de braquiária. **Revista DBO**, ano 25, n.310, 44-46p. 2006. Disponível em: <<http://www.portaldbo.com.br>>. Acesso em: 07 mai. 2010.

GAUER, L.; CAVALLI-MOLINA, S. Apomixia: um método alternativo para a produção de sementes em plantas. **Pesquisa Agropecuária Gaúcha**, v.6, n.1, p.157-170, 2000.

GOBBE, J.; SWENNE, A.; LOUANT, B.P. Diploides naturels et autotétraploides induits chez *Brachiaria ruziziensis* Germain et Evrard: critères d'identification. **Agronomie Tropicale**, v.36, p.339-346, 1981.

HANNA, W.W; BASHAW, E.C. Apomixis: its identification and use in plant breeding. **Crop Science**, v.27, p.1136-1139, 1987.

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Produção da pecuária municipal**, Rio de Janeiro: IBGE, 2008, v.36. 55p.

IPCC – Intergovernmental Panel on Climate Change. **Climate change 2007: the physical science basis**. Paris: WMO/UNEP, 2007a. 21p.

IPCC – Intergovernmental Panel on Climate Change. Summary for policymakers. In: PARRY, M.; CANZIANI, O.; PALUTIKOF, J.; VAN DER LINDEN, P.; HANSON, C. (Eds.). **Climate change 2007: impacts, adaptation and vulnerability. Contribution of Working Group II to the Fourth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change**. Cambridge: Cambridge University Press, 2007b. p.7–22.

KOLTUNOW, A.M. Apomixis: embryo sacs and embryos formed without meiosis or fertilization in ovules. **The plant cell**, v.5, p.1425-1437, 1993.

LAWRENCE, E. **Henderson's dictionary of biological terms**. 11.ed. London: Longman, 1995. 693p.

LUTTS, S.; NDIKUMANA, J.; LOUANT, B.P. Male and female sporogenesis and gametogenesis in apomitic *Brachiaria brizantha*, *Brachiaria decumbens* and F1 hybrids with sexual colchicines induced tetraploid *Brachiaria ruziziensis*. **Euphytica**, v. 78, p.19-25, 1994.

MACEDO, M.C.M. Pastagens no ecossistema cerrados: evolução das pesquisas para o desenvolvimento sustentável. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 42., 2005, Goiânia, GO. **Anais...** Goiânia, GO: SBZ-UFG, 2005. p.56-84.

- MACKAY, J.H. **Register of Australian herbage plant cultivars**. Canberra: Commonwealth Scientific and Industrial Research Organization, 1982. 122p.
- MARCOS FILHO, J. **Fisiologia de sementes de plantas cultivadas**. Piracicaba: Fealq, 2005. 495p.
- MENDES-BONATO, A.B.; PAGLIARINI, M.S.; FORLI, C.B.; VALLE, C.B.; PENTEADO, M.I.O. Chromosome number and microsporogenesis in *Brachiaria brizantha* (Gramineae). **Euphytica**, v.125, n.3, p. 419-425, 2002.
- NDIKUMANA, J. **Étude de l'hybridation entre espèces apomitiques et sexuées dans Le genre *Brachiaria***. 1985. 210p. Tese (Ph.D.) – Université Catholique de Louvain, Belgium, 1985.
- NGENDAHOYO, M. **Mechanismes de la reproduction dans le genre *Brachiaria* Gris. et strategies d'amélioration et de selection**. 1988. 82p. Tese (Doutorado) – Université Catholique de Louvain, Belgium, 1988.
- NGENDAHOYO, M.; COPPENS D'EECKENBRUGGE, G.P.; LOUANT, B. Self-incompatibility studies in *Brachiaria ruziziensis*. Germain et Evrard, *Brachiaria decumbens* Stapf and *Brachiaria brizantha* (Hochst) Stapf and their interespecific hybrids. **Phytomorphology**, v.38, n.1, p.175-182, 1988.
- NOGLER, G.A. Gametophytic Apomixis. In: JOHRI, B.M. (Ed.). **Embryology of angiosperms**. Berlin: Springer-Verlag, 1984. p.475-518.
- NUNES, S.G.; BOOCK, A.; PENTEADO, M.I.O.; GOMES, D.T. ***Brachiaria brizantha* cv. Marandú**. Campo Grande: Embrapa Gado de Corte, 1984. 31p. (Embrapa Gado de Corte. Documentos, 21).
- PARSONS, J.J. Spread of African grasses to the American tropics. **Journal of Range Management**, v.25, n.1, p.12-17, 1972.
- PENTEADO, M.I.O.; SANTOS, A.C.M.; RODRIGUES, I.F.; VALLE, C.B.; SEIXAS, M.A.C.; ESTEVES, A. **Determinação de ploidia e avaliação da quantidade de DNA total em diferentes espécies do gênero *Brachiaria***. Campo Grande:

Embrapa Gado de Corte, 2000. 32p. (Embrapa Gado de Corte. Boletim de Pesquisa, 11).

PEREIRA, A.V.; VALLE, C.B.; FERREIRA, R.P.; MILES, J.W. Melhoramento de forrageiras tropicais. In: NASS, L.L.; VALOIS, A.C.C.; MELO, I.S.; VALADARES-INGLI, M.C. (Eds.). **Recursos genéticos e melhoramento de plantas**. Rondonópolis: Fundação MT, 2001. p.549-601.

PESSINO, S. C.; ORTIZ, J.P.A.; LEBLANC, O.; VALLE, C.B.; EVANS, C.; HAYAWARD, M.D. Identification of a maize linkage group related to apomixis in *Brachiaria*. **Theoretical and Applied Genetics**, v.94, p.439-444, 1997.

RENVOIZE, S.A.; CLAYTON, W.D.; KABUYE, C.H. Morphology, Taxonomy, and natural distribution on *Brachiaria* (Trin.) Griseb. In: MILES, J.W.; MAASS, B.L.; VALLE, C.B. (Eds.). **Brachiaria Biology Agronomy and Improvement**. Cali: CIAT, Embrapa Gado de Corte, 1996, p.1-15.

RISSO-PASCOTTO, C.; PAGLIARINI, M.S.; VALLE, C.B.; JANK, L. Asynchronous meiotic rhythm as the cause of selective chromosome elimination in an interespecific *Brachiaria* hybrid. **Plant Cell Reports**, v.22, n.12, p.945-950, 2004.

RODRIGUES-OTUBO, B.M.; PENTEADO, M.I.O.; VALLE, C.B. Comportamento in vitro de híbridos interespecíficos de *Brachiaria* spp. In: CONGRESSO NACIONAL DE GENÉTICA, 44., 1998, Águas de Lindóia, SP. **Suplemento...** Águas de Lindóia, SP: SBG, 1998. v.21, n.3, p.388.

SANO, E. E.; BARCELLOS, A.O.; BEZERRA, H.S. **Área e distribuição espacial de pastagens cultivadas no Cerrado brasileiro**. Planaltina: Embrapa Cerrados, 1999. 21p. (Embrapa Cerrados. Boletim de Pesquisa, 3).

SCHIFINO-WITTMANN, M.T.S.; DALL'AGNOL, M. Indução de poliploidia no melhoramento de plantas. **Pesquisa Agropecuária Gaúcha**, v.9, n.1/2, p.155-163, 2003.

SENDULSKY, T. *Brachiaria*: taxonomy of cultivated and native species in Brazil. **Hoehnea**, v.7, p.99-139, 1978.

SERRÃO, E.A.S.; SIMÃO NETO, M. **Informações sobre duas espécies de gramíneas forrageiras do gênero *Brachiaria* na Amazônia: *B. decumbens* Staf e *B. ruziziensis* Germain et Evrard.** Belém: Instituto de Pesquisa Agropecuária do Norte, 1971. 31p. (IPEAN. Estudos sobre forrageiras na Amazônia, v.2, n.1)

SHERWOOD, R.T. Genetic analysis of apomixis. In: SAVIDAN, Y.; CARMAN, J.G.; DRESSELHAUS, T. **The flowering of apomixis: from mechanisms to genetic engineering.** El Batan: CIMMYT, 2001. p.64-82.

SKERMAN, P.J.; RIVEROS, F. Tropical grasses. In: FAO. **Plant Production and protection Series.** Rome: FAO, 1989. v.23, p.238-242.

SOUZA, F.H.D. **Produção de sementes de gramíneas forrageiras tropicais.** São Carlos: Embrapa Pecuária Sudeste, 2001. 43 p.

SOUZA, F.H.D. As sementes de espécies forrageiras do gênero *Brachiaria* no Brasil Central. In: ENCONTRO PARA DISCUSSÃO SOBRE CAPINS DO GÊNERO *BRACHIARIA*, 2., 1991. Nova Odessa, SP. **Anais...** Nova Odessa, SP: Instituto de Zootecnia, 1991. p.137-185.

SOUZA, F.H.D. Sementes brasileiras de pastagens tropicais. **Anuário da Associação Brasileira de Sementes e Mudanças**, p.16-18, 2006.

SWENNE, A.; LOUANT, B.P.; DUJARDIN, M. Induction par la colchicine de formes autotétraploides chez *Brachiaria ruziziensis* Germain et Evrard (Graminée). **Agronomie Tropicale**, v.36, n.2, p.134-142, 1981.

VALLE, C.B.; GLIENKE, C.; LEGUISAMON, G.O.C. Inheritance of apomixis in *Brachiaria*, a tropical forage grass. **Apomixis Newsletter**, v.7, p.42-43, 1994.

VALLE, C.B.; SIMIONI, C.; RESENDE, R.M.S.; JANK, L. Melhoramento genético de *Brachiaria*. In: RESENDE, R.M.S.; VALLE, C.B.; JANK, L. (Eds.). **Melhoramento de forrageiras tropicais.** Campo Grande: Embrapa Gado de Corte, 2008. p.13-53.

VALLE, C.B. **Coleção de germoplasma de espécies de *Brachiaria* no CIAT: estudos básicos visando ao melhoramento genético.** Campo Grande: Embrapa Gado de Corte, 1990. 33p. (Embrapa Gado de Corte. Documentos, 46).

VALLE, C.B.; SAVIDAN, Y.H. Genetics, cytogenetics, and reproductive biology of *Brachiaria*. In: MILES, J.W.; MAAS, B.L.; VALLE, C.B. (Eds.). ***Brachiaria: biology, agronomy, and improvement***. Cali: CIAT, Embrapa, 1996. p.147-163.

VAN WENT, J.L.; WILLEMSE, M.T.M. Fertilization. In: JOHRI, B.M. (Ed.). ***Embryology of angiosperms***. Berlin: Springer-Verlag, 1984. p.273-317.

3. CAPÍTULO 1

INFLUÊNCIA DA TEMPERATURA NA VIABILIDADE POLÍNICA DE HÍBRIDOS
INTERESPECÍFICOS DE *BRACHIARIA* SP.

(Artigo a ser enviado a Revista Crop Breeding and Applied Biotechnology)

RESUMO

INFLUÊNCIA DA TEMPERATURA NA VIABILIDADE POLÍNICA DE HÍBRIDOS INTERESPECÍFICOS DE *BRACHIARIA* SP.

A necessidade de diversificação genética dentro do gênero *brachiaria* é de extrema importância para o setor agropecuário brasileiro visto que atualmente apenas uma cultivar é responsável por 80% das áreas de *Brachiaria* cultivadas. Para atender essa demanda os Centros de Pesquisa tem desenvolvido híbridos interespecíficos deste gênero buscando variabilidade genética associada à apomixia (reprodução assexuada), esta permitindo que a heterose híbrida seja mantida entre as gerações. Mesmo esses híbridos sendo apomíticos para que eles se perpetuem é preciso que os mesmos tenham gameta masculino (grão de pólen) viável para formar o endosperma. Fatores ambientais podem interferir no desenvolvimento do grão de pólen o inviabilizando. Pouco se sabe sobre o comportamento dos grãos de pólen de *brachiaria* em virtude da interferência ambiental. Em virtude disso, em estudo conduzido na Embrapa Cerrados no ano de 2010, objetivou-se determinar qual a interferência do fator temperatura sobre o gameta masculino de *B. brizantha* cv. Marandú e de cinco híbridos interespecíficos de *brachiaria* sp. Para isso perfilhos reprodutivos com micrósporos em estágio de díades e tétrades foram submetidos a temperatura constante de 15°C, 20°C, 25°C e 30°C até a pré-antese, momento em que se avaliou a viabilidade dos grãos de pólen das anteras hermafroditas em 0,5mg/mL do corante *lissamine green* com meia concentração de sal B5 sem hormônio enriquecido com 6,5% de sacarose. Concluiu-se que: dentre as temperaturas estudadas cv. Marandú, HBGC348 e HBGC148 tem viabilidade polínica e HBGC011, HBGC450 e HBGC080 são inviáveis; a viabilidade polínica de cada genótipo se comporta de forma diferenciada no intervalo de 15°C a 30°C, tendo a cv. Marandú a viabilidade polínica total inversamente proporcional a elevação da temperatura e os híbridos HBGC348 e HBGC148 diretamente proporcional.

Palavras chaves: Braquiária, microsporogênese, grão de pólen, esterilidade gamética.

ABSTRACT

TEMPERATURE INFLUENCE ON POLLEN VIABILITY OF INTERSPECIFIC HYBRIDS OF BRACHIARIA SP.

The need for genetic diversification within the genus *brachiaria* is of extreme importance for the Brazilian agricultural sector since currently only one cultivar is responsible for 80% of the cultivated areas of brachiaria. To meet this demand, the research centers have developed interspecific hybrids of this genus seeking genetic variability associated with apomixis (asexual reproduction), this allowing the hybrid heterosis is maintained between the generations. Although these hybrids being apomictic to their perpetuation is necessary that they have male gamete (pollen grain) to form a viable endosperm. Environmental factors can affect the development of the pollen grain unfeasible. Little is known about the behavior of pollen grains *brachiaria* due to environmental interference. As a result, in a study conducted at Embrapa Cerrados in 2010, aimed to determine the influence of temperature on the male gamete of *B. brizantha* cv. Marandú and of five interspecific hybrids of *brachiaria* sp. For that reproductive tillers with microspore stage of dyads and tetrads were subjected to constant temperature of 15 °C, 20 °C, 25 °C and 30 °C until the pre-anthesis, at which to evaluate the viability of pollen grains hermaphrodite anthers in 0.5 mg/ml of dye *lissamine green* with half the salt concentration B5 hormone-free enriched with 6.5% sucrose. It was concluded that among the temperatures studied cv. Marandú, HBGC348 and HBGC148 has the pollen viability and HBGC011, HBGC450 and HBGC080 are impractical; the pollen viability of each genotype behave differently in the range of 15 °C to 30 °C, with cv. Marandú the total pollen viability are inversely proportional to the temperature rise and the hybrids HBGC348 and HBGC148 are directly proportional.

Keywords: Braquiária, microsporogenesis pollen grain, sterility gametic.

3.1. INTRODUÇÃO

Atualmente o Brasil possui o segundo maior rebanho de bovino mundial, ocupando uma área de pastagem de 172 milhões de hectares, dos quais 104 milhões são de pastagens cultivadas (BIERHALS e FERRAZ, 2008), com predominância do gênero *brachiaria*. O tipo de reprodução dos materiais cultivados deste gênero é assexuado (apomixia) o que impossibilita a geração de variabilidade genética natural e torna o sistema pecuário suscetível, uma vez que 80% das áreas ocupadas por esse gênero no Brasil pertencem a uma única cultivar (*B. brizantha* cv. Marandú). Uma alternativa para mudar esse cenário dentro do gênero é gerando variabilidade genética através da obtenção de híbridos utilizando genótipos sexuais no cruzamento como genitor feminino, visto que dentro do gênero existem genótipos não comerciais com reprodução sexuada (VALLE, 1990). Entretanto, para que ocorra essa hibridação é preciso que a planta sexual e a apomítica tenham ploidia compatível, o que não ocorre em *brachiaria*, visto que as plantas apomíticas são poliplóides enquanto as sexuais são diplóides (VALLE, 1990; VALLE e SAVIDAN, 1996). Para superar essa barreira de ploidia os híbridos têm sido obtidos utilizando materiais sexuais tetraploidizados artificialmente através de colchicina (GOBBE et al., 1981; SWENNE et al., 1981). A hibridação no gênero *brachiaria* entre plantas apomíticas e sexuais permite recombinar características de interesse, mantendo a heterose, fixando-as ao longo das gerações em progênie apomíticas heterozigotas superiores, uma vez que a semente é um clone da planta-mãe. Essa apomixia é fixada nos híbridos de *brachiaria* por ser um caráter dominante sobre a sexualidade (MILES e VALLE, 1996).

Entretanto, a apomixia no gênero *brachiaria* normalmente ocorre associada à poliploidia (GRANT, 1981; VALLE e SAVIDAN, 1996) e esta por sua vez tem participação na esterilidade gamética devido à irregularidades meióticas (RISSO-PASCOTTO et al., 2003). Estas irregularidades podem ocorrer devido a problemas no pareamento cromossômico por formar associações polivalentes comprometendo a separação celular em diferentes pólos, produzindo células com quantidades cromossômicas diferentes (VALLE et al., 2004) causando a esterilidade gamética (MENDES-BONATO et al., 2001; 2002) masculina (ARAÚJO et al., 2008) que resulta em grande número de flósculos inférteis (REUSCH, 1961). As braquiárias, mesmo

se reproduzindo assexuadamente elas precisam que o grão de pólen se forme para fecundar o núcleo polar do saco embrionário do tipo *panicum* (NGENDAHOYO, 1988; VALLE, 1990; DUSI e WILLEMSE, 1998; DUSI e WILLEMSE, 1999 a, b; ARAÚJO et al., 2000) e produzir o endosperma da semente (NGENDAHOYO, 1988; ALVES, 2000; ALVES et al., 2001). Plantas apomíticas produzem sementes férteis (KOLTUNOW, 1993), entretanto por conta da esterilidade dos gametas masculinos (grão de pólen), que afeta a formação do tecido de reserva que nutrirá o embrião em sua formação e germinação (ASKER e JERLING, 1992; FOSKET, 1994), gerada pelo desequilíbrio durante o pareamento cromossômico de indivíduos poliplóides ocorre o baixo enchimento de espiguetas em *B. decumbens* (STÜR e HUMPHREYS, 1987) e *B. Brizantha* cv. Marandú (SOUZA, 2001), com 22% e 35% respectivamente, o que reduz bastante o potencial de produção de sementes.

A esterilidade gamética ocorrida por conta da poliploidia nas braquiárias pode ainda ter seu efeito mais agravado devido à hibridação, pois nela se observaram outras anormalidades meióticas como cromossomo pegajoso, citocinese anormal, alta formação de micronúcleos, núcleo desintegrado (FUZINATTO et al., 2008), ausência de citocinese, ascensão precoce de cromossomos, eliminação cromossômica por falta de sincronia meiótica (RISSO-PASCOTTO et al., 2004 a) e segregação cromossômica irregular devido aos cromossomos sexuais serem mais lentos que os apomíticos o que causa retardamento nos mesmos por parte dos sexuais durante o pareamento na meiose e conseqüente formação de células com números cromossômicos desbalanceados. Todas essas anormalidades reduzem a viabilidade polínica como visto em vários acessos de híbridos interespecíficos de *brachiaria* (MENDES-BONATO et al., 2004; RISSO-PASCOTTO et al., 2004 a, b; 2005; FELISMINO et al., 2010). Mendes-Bonato et al. (2004) encontraram também anormalidade em híbridos gerados por uma mutação ainda não especificada (MENDES-BONATO et al., 2004).

Pouco se sabe sobre o comportamento dos grãos de pólen do gênero *brachiaria* durante a microsporogênese visto a escassez de informação encontrada na literatura. Os grãos de pólen são sensíveis e precisam de condições adequadas durante e após seu desenvolvimento (STANLEY e LINSKENS, 1974) para se manterem viáveis dentro da antera, uma vez que após a maturidade eles permanecem dentro da antera armazenados até o momento da antese em que são

disseminados para polinização. Durante esse período os grãos podem sofrer interferências de fatores ambientais no campo prejudicando sua viabilidade antes do momento de sua utilização. Os grãos de pólen das braquiárias, da mesma forma que das gramíneas forrageiras em geral, têm longevidade curta por não apresentarem dormência (HESLOP-HARRISON, 2000) de forma que é neste curto período de viabilidade que as condições ambientais devem ser favoráveis para sua manutenção, visto que os estresses abióticos são mais agressivos durante o processo reprodutivo (BAKER et al., 1992; SATO et al., 2002; STEINMETZ, 2004; SATO et al. 2006). Entretanto, a esterilidade polínica será manifestada de formas diferentes em função do estágio reprodutivo da planta no momento do estresse, que pode ocorrer durante a meiose da célula mãe do micrósporo (microsporogênese) ou durante a maturação do micrósporo na antera (antese) (HALL, 1992; GROSS e KIGEL, 1994; ISSARAKRAISILA e CONSIDINE, 1994; MATSUI et al., 1997; PRASAD et al., 2001; 2002; CRAUFURD et al., 2003; REDDY e KAKANI, 2007). Caso o estresse ocorra na microsporogênese, em uma ação pré-meiótica, o resultando será anteras sem pólen e, caso o estresse ocorra na antese, a ação será pós-meiótica resultando em pólen mal formado (ALCOCHETE, 2005) ou morto (POLOWICK e SAWHNEY, 1988).

Dentre os fatores que podem afetar a viabilidade polínica estão temperatura (KUANG e TU, 1935; CHIRA, 1963; PEET et al., 1998; SATO et al., 2002; GIORDANO et al., 2003), estágio de desenvolvimento da flor (LACERDA et al., 1994), disponibilidade de água (SUN et al., 2004), nutrientes (HOWLETT, 1936), luminosidade (GOSS, 1971), salinidade (SUN et al., 2004), defensivos agrícolas e outras substâncias químicas (MACDANIELS e HILDEBRAND, 1939; DUBEY e MALL, 1972). Destes, a temperatura ambiental afeta a germinação polínica de gramíneas tropicais (HUMPHREYS, 1979) chegando a determinados níveis que os inviabilizam (GEORGE, 1983) durante a microsporogênese (formação do grão de pólen), semelhante ao que já foi constatado em pimenta (MERCADO et al., 1997; ERICKSON e MARKHART, 2002), feijão (HALL, 1992; GROSS e KIGEL, 1994; PORCH e JAHN, 2001; PRASAD et al., 2001), trigo (SAINI e ASPINALL, 1982), arroz (COIMBRA et al., 2008), amendoim (PRASAD et al., 1999; CRAUFURD et al., 2003) e manga (ISSARAKRAISILA e CONSIDINE, 1994). Este trabalho teve por objetivo determinar qual a interferência do fator temperatura sobre o gameta

masculino de *B. brizantha* cv. Marandú e de híbridos interespecíficos de *brachiaria* sp.

3.2. MATERIAL E MÉTODOS

Os ensaios foram realizados nas dependências da Embrapa Cerrados (Planaltina – DF), entre abril e junho de 2010. Foram utilizados quatro genótipos híbridos interespecíficos (HBGC348; HBGC450; HBGC148 e HBGC080) de *brachiaria ruziziensis* tetraploidizada (sexual) com *B. brizantha* tetraplóide (apomítico) e um genótipo híbrido interespecífico (HBGC011) de *B. ruziziensis* tetraploidizada (sexual) com *B. decumbens* cv. Basilisk (apomítico). Todos esses genótipos híbridos foram identificados pelo programa de melhoramento genético da Embrapa Gado de Corte (Campo Grande – MS). O único material comercial apomítico utilizado foi a *B. brizantha* cv. Marandú. Plantas dos seis genótipos foram conduzidas em vasos de cinco litros em casa de vegetação, onde permaneceram até a indução do florescimento. Após essa indução foram realizadas as seguintes avaliações:

Quantificação polínica – de cada genótipo foram coletadas dez espiguetas em pré-antese (espiguetas fechadas ao lado de espiguetas já em antese – flor aberta) de diferentes inflorescências. Sob uma lupa, com auxílio de pinça cada espiguetas foi aberta para retirada de uma antera do flósculo hermafrodita, que foi macerada com uma agulha dentro de um microtubo de 2mL contendo 200µL do meio de sal B5 sem hormônio (GAMBORG et al., 1968) enriquecido com 6,5% de sacarose (DUSI e WILLEMSE, 1999 b), para extração do pólen contido na antera. Após a maceração foram adicionados outros 200 µL da solução do meio B5 e sacarose. Em seguida o tubo foi agitado para homogeneização dos grãos de pólen. Foram retirados 20 µL desta solução, colocados em uma lâmina e realizada a quantificação de todos os grãos de pólen com auxílio de microscópio com lente objetiva de ampliação de 10x. Posteriormente, a quantificação foi extrapolada para 400 µL e o resultado foi expresso em quantidade de grão de pólen por antera, independente de sua morfologia e viabilidade.

Viabilidade polínica – de cada genótipo foram coletados três perfilhos reprodutivos no momento que apresentavam sinal de emissão floral (engrossamento

do perfilho reprodutivo). Ainda com a inflorescência fechada dentro da folha bandeira, os perfilhos foram cortados da planta mãe deixando quatro folhas verdadeiras por perfilho. Por ser difícil encontrar a fase exata da divisão celular na microsporogênese, devido ao tamanho das células, em teste preliminar realizado na Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia (Brasília – DF) foi identificado que no estágio morfológico que os perfilhos foram coletados da planta mãe os micrósporos estavam no estágio de formação de díades e tétrades da microsporogênese, cujo pistilos tinham entre 0,9mm e 1,2mm de comprimento (DUSI e WILLEMSE, 1999 b). Cada perfilho foi colocado em um tubo de ensaio contendo 70 mL de água destilada, que era trocada a cada 48 horas para oxigenação. Os tubos com os perfilhos foram colocados em germinadores tipo BOD com fotoperíodo de 12:30 horas em temperaturas constante de 15°C, 20°C, 25°C e 30°C. Assim que a primeira espiguetas entrou em antese no racemo, foram coletadas duas espiguetas em pré-antese acima e duas abaixo da espiguetas em antese. Foram coletadas quatro espiguetas em pré-antese do racemo terminal (ápice da inflorescência) e quatro do segundo racemo (contando do ápice para a base da inflorescência). De cada espiguetas em pré-antese, as três anteras do flósculo hermafrodita foram colocadas em uma lâmina de microscopia, que continha duas gotas de meia concentração de sal B5 sem hormônio (GAMBORG et al., 1968) enriquecido com 6,5% de sacarose e cinco gotas de 0,5mg/mL do corante *lissamine green*[®]. Sobre esta gota as anteras foram cortadas com a ponta de uma agulha fina, os grãos de pólen espalhados e retirados os resíduos das anteras. Após a colocação de uma lamínula sobre a gota contendo os grãos de pólen, as laminas foram fotografadas com câmera digital SONY sob um microscópio ZEISS com lente objetiva de ampliação de 10x. Em cada lamina foram fotografadas quatro regiões para quantificação das frações de pólen viável (coloração marrom) e inviável (coloração verde ou transparente) (HOLMBERG, 1961). Neste estudo convencionou-se denominar 'pólen viável' quando mais de 50% do pólen contido nas anteras hermafroditas de cada espiguetas estava vivo (coloração marrom) (KHATUN e FLOWERS, 1995) e 'viabilidade total' do genótipo quando um mínimo de 50% das espiguetas analisadas apresentavam pólen viável, pois quanto mais espiguetas com pólen viável maior a chance dos grãos polinizarem.

Para quantificação polínica o delineamento utilizado foi inteiramente ao acaso, com dez repetições, utilizando o programa Sisvar[®] (FERREIRA, 2000) para a análise estatística. Os dados foram transformados em $(x)^{1/2}$ e as médias dos tratamentos comparadas pelo teste de Dunnett a 5% de probabilidade, utilizando a cultivar Marandú como parâmetro. Para a viabilidade polínica o delineamento foi inteiramente ao acaso com vinte quatro repetições, utilizando para cada genótipo duas análises, uma através do estudo de probabilidade de distribuição de frequência utilizando o programa Microsoft Office Excel[®] e outra por meio do ajuste de equações de regressão polinomial através do programa estatístico SigmaPlot 11.0[®] (JANDEL SCIENTIFIC, 2008) utilizando os valores encontrados no estudo de frequência. Para os genótipos que apresentaram viabilidade total a regressão foi realizada com a somatória das espiguetas viáveis, já para os que não apresentaram viabilidade total a regressão foi feita com as modas da frequência de pólen viável.

3.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Acessos apomíticos de *brachiaria* quando desenvolvidos a campo apresentam uma ampla variabilidade de pólen vivo dentro de um mesmo genótipo (ALVES, 2000) cuja alteração ambiental pode contribuir para tal variabilidade (SHIVANNA e JOHRI, 1985) e isso foi observado entre as espiguetas analisadas dentro de cada tratamento em todos os genótipos estudados, entretanto cada genótipo manifestou um comportamento.

3.3.1. Marandú

Por conta da variabilidade da viabilidade polínica entre os indivíduos nas diferentes temperaturas analisadas foi realizado um estudo para verificar a maior frequência (moda) de pólen vivo em cada tratamento (Figura 1.1a) e observou que os grãos de pólen quando desenvolvidos a 15°C apresentaram moda na classe entre os 51% e 60% de pólen vivo, ou seja, apresentavam viabilidade. Entretanto, quando desenvolvidos a 20°C, 25°C e 30°C essa moda caiu uma classe ficando entre os 41% e 50% de pólen vivo, ou seja, pela moda não foi possível observar viabilidade nessas temperaturas.

Entretanto pelo estudo de frequência (Figura 1.1a) foi observado que neste genótipo houve viabilidade polínica em todos os tratamentos a que os grãos foram submetidos, entretanto o comportamento foi diferente em cada tratamento. Quando desenvolvidos a 15°C, 62,5% das espiguetas analisadas apresentaram viabilidade, resultado semelhante ao observado em pólen de manga na mesma temperatura (ISSARAKRAISILA e CONSIDINE, 1994). A 20°C e 25°C a quantidade de espiguetas com pólen viável foi reduzida ficando por volta de 50% e a 30°C apenas 37,5% das espiguetas apresentavam viabilidade. Neste genótipo através da equação de regressão (Figura 1.1b) fica claro que quando a planta é desenvolvida em ambiente com temperatura de 15°C à 23,2°C ocorre viabilidade polínica total mesmo que decrescente, de 62,5% à 50% de espiguetas com pólen viável, entretanto em temperaturas acima de 23,2°C até 30°C a viabilidade polínica é reduzida não tendo o mínimo de espiguetas com pólen viável (50%) para garantir a polinização (KHATUN e FLOWERS, 1995). O processo de produção de pólen viável é sensível à alta temperatura (IWAHORI e TAKAHASHI, 1964; IWAHORI, 1965; ABDALLA e VERKERK, 1968; STEVENS e RUDICH, 1978; HERRERO e JOHNSON, 1980) e isso foi observado neste cultivar Marandú, dentro do intervalo de temperaturas analisadas. A elevação da temperatura durante a microsporogênese afetou negativamente a viabilidade polínica (HUMPHREYS, 1979), provavelmente esterilizando o gameta masculino semelhante ao observado em batata (ROSA, 2007), sorgo (PRASAD et al., 2006 a), soja (KOTI et al., 2005), amendoim (PRASAD et al., 1999), capim-setária (BOYCE, 1970 apud HUMPHREYS, 1979), pimenta (MERCADO et al., 1997; ALONI et al., 2001; ERICKSON e MARKHART, 2002), feijão (WEAVER et al., 1985; PORCH e JAHN, 2001), tomate (ABDALLA e VERKERK, 1968; DEMPSEY, 1970; RUDICH et al., 1977; LEVY et al., 1978; PEET et al., 1998; SILVA et al., 2000; SATO et al., 2002), trigo (SAINI e ASPINALL, 1982), milho (HERRERO e JOHNSON, 1980), arroz (BONG, 2000; REDDY et al., 2000; KU et al., 2001; PRASAD et al., 2006 b; MATSUI et al., 1997) e em canola (POLOWICK e SAWHNEY, 1988) espécies na qual ondas de calor com temperaturas acima de 29°C reduzem a viabilidade polínica. Sabendo que a poliamina é capaz de defender plantas de vários estresses ambientais (TIBURCIO et al., 1993; WANG et al., 2003) como observado em pólen de tomate cuja poliamina inibiu a ação térmica (35°C)

mantendo os grãos viáveis (SONG et al., 1999), provavelmente o Marandú não tenha quantidade suficiente de poliamina na antese que o faça tolerar o calor.

O Marandú produz em média 6598 grãos de pólen por antera (Tabela 1.1) quantidade superior a encontrada em cultivares de maçã cuja produção variou de 1200 a 5200 grãos de pólen por antera (DALL'ORTO et al., 1985; ALBUQUERQUE JUNIOR et al., 2010) e em romã com média de 2139 grãos por antera (DERIN e ETI, 2001). Isso torna essa cultivar de *brachiaria* um excelente produtor polínico.

3.3.2. HBGC348

Pelo estudo de frequência (Figura 1.1c) foi observado que quando plantas do híbrido HBGC348 são desenvolvidas a 15°C a moda de pólen vivo fica na classe entre os 31% e 40%, quando à 20°C essa moda é reduzida para a classe entre 1% e 30% de pólen vivo. Aos 25°C e 30°C essa moda subiu para a classe entre 51% e 60% de pólen vivo. Entretanto, mesmo com essa variação observada pela moda, neste híbrido foi observada viabilidade polínica em todas as temperaturas em que eles foram desenvolvidos (Figura 1.1c).

A 15°C e 20°C não foi observada viabilidade polínica total, pois apenas 21% e 17% de espiguetas apresentaram pólen viável, respectivamente, sendo que a espiguetas com maior quantidade de pólen vivo à 15°C não ultrapassou os 60%. A 25°C esse quadro foi alterado, pois 62% das espiguetas apresentaram viabilidade total e a 30°C esse valor aumentou para 71%, sendo que nesta última temperatura foi observada uma maior quantidade de espiguetas com mais de 70% de pólen vivo (Figura 1.1c). Pela equação de regressão (Figura 1.1d) feita com esses dados observa-se que a elevação da temperatura e a viabilidade polínica são fatores diretamente proporcionais, mas a viabilidade total dentro das temperaturas analisadas só ocorre acima dos 24,4°C. Desta forma a probabilidade de ocorrer polinizações em condições climáticas elevadas é maior do que em temperaturas abaixo de 24,4°C. Com base nessa informação, ambientes com drásticas quedas de temperatura durante o período reprodutivo, principalmente durante a noite não são indicados para produção de sementes desse híbrido, pois a baixa temperatura inviabiliza os polens, deixando a planta macho estéril semelhante ao que ocorre em cebola (MEER e BENNEKOM, 1969), berinjela (NOTHMANN e KOLLER, 1973),

sorgo (BROOKING, 1979), pimenta (POLOWICK e SAWHNEY, 1985), capim quicuío (YOUNGER, 1961) e arroz (COIMBRA et al., 2008). Algumas espécies apresentam um sistema fisiológico cuja esterilidade ou fertilidade é dependente da temperatura a que a planta está sendo desenvolvida (ZHANG et al., 1992; IRRI, 1997; LANG et al., 1999; KU et al., 2001), entretanto não existe relato deste sistema no híbrido HBGC348.

Mendes-Bonato et al. (2006), Fuzinato et al. (2008) e Felismino et al. (2010) perceberam a ocorrência de anormalidade meiótica conhecida por *dv* (divergente spindle – fuso divergente) em diversos híbridos interespecíficos de *brachiaria* sendo que no híbrido HBGC348 essa anormalidade é responsável por 45% de micrósporos anormais (MENDES-BONATO et al., 2006). Essa anormalidade afeta a estrutura das fibras celulares do fuso, de forma que essas estruturas por serem radiais ao invés de divergentes (SHAMINA et al., 2000) não convergem para os pólos para os quais deveriam convergir durante a divisão celular (CLARK, 1940), resultando em grãos de pólen de tamanhos diferentes, em que no final da meiose ao invés de tétrades são encontradas héxades e óctades (FELISMINO et al., 2008). Em milho Clark (1940) determinou que essa anormalidade é uma mutação, entretanto em HBGC348 ainda não está confirmado que essa anormalidade seja mutação (FELISMINO et al., 2008). Fuzinato et al. (2008) propuseram que a anormalidade da orientação do fuso em híbridos interespecíficos de *brachiaria* seja resultado de mudanças na condição ambiental, como a temperatura, durante o crescimento da planta, o que nos leva a acreditar que nas temperaturas mais amenas essa anormalidade no fuso seja expressa causando macho esterilidade, enquanto temperaturas mais elevadas conseguem alterar a expressão do gene que controla a meiose e inibe a anormalidade do fuso, permitindo maior viabilidade polínica. Assim o fator temperatura pode permitir a determinação de uma área de produção de sementes deste genótipo em regiões mais ao norte do Brasil, onde a viabilidade polínica será maior e que poderá garantir formação de endosperma.

Este híbrido produz em média 8100 grãos de pólen por antera (Tabela 1.1) valor superior ao encontrado nos outros híbridos estudados e em um acesso de noqueira que produziu 7666 (SÜTYEMEZ, 2007). A cultivar comercial Marandú foi significativamente inferior na produção de pólen, pois produziu 6598 grãos por antera, uma diferença de 1502 grãos quando comparado ao HBGC348. Visto que

este híbrido apresenta viabilidade polínica total em temperaturas acima de 24,4°C, através desse caráter ele tende a ter produção de sementes mais elevada que o Marandú, quando semeado em locais que garantam que sua viabilidade polínica seja expressa tornando este híbrido promissor na produção de sementes, contradizendo Mendes-Bonato et al. (2006), desde que ele não apresente incompatibilidade para fecundação situação esta que ainda precisa ser estudada.

3.3.3. HBGC011

Através da Figura 1.1e, em perfilhos do genótipo híbrido HBGC011, quando submetidos durante a microsporogênese a temperatura de 15°C, foi possível observar espiguetas com máxima de 17% de pólen vivo que é um valor abaixo do considerado viável para polinização; e de todas as espiguetas analisadas 50% apresentaram 0% de pólen vivo, sendo esta situação conhecida por inviabilidade polínica total. A 20°C houve uma redução na quantidade de espiguetas com pólen totalmente inviável e foi observado espiguetas com 37,5% de pólen vivo, comparado com o valor 17%, na temperatura de 15°C. Entretanto ainda assim impróprio para polinização em nível de produção de sementes, pois segundo Khatun e Flowers (1995) o mínimo para fecundação seria de 50% de pólen vivo. A 25°C não foi mais observado espiguetas com grãos de pólen totalmente inviáveis de forma que elas apresentaram pólen vivo no intervalo de 3% a 39% demonstrando assim que nesta temperatura é possível ter viabilidade polínica. A 30°C ocorreram 33% de espiguetas com pólen totalmente inviável, um valor menor que o observado a 15°C e 20°C, nos quais a percentagem de espiguetas inviáveis foi de 50% e 37,5%, respectivamente.

Não foi observada viabilidade polínica em nenhuma das temperaturas nas quais os grãos foram desenvolvidos (Figura 1.1e), levando a inferir que este genótipo híbrido apresenta problema de formação gamética, provavelmente devido a desequilíbrio durante o pareamento cromossômico na divisão celular em plantas poliplóides (RISSO-PASCOTTO et al., 2003), à hibridação ou mutação (MENDES-BONATO et al., 2004), pois híbridos interespecíficos da família Poaceae são altamente estéreis (ARAÚJO et al., 2008). Entretanto, através da equação de regressão realizada com a moda de cada temperatura (Figura 1.1f) pode-se observar que mesmo que esse híbrido não apresente viabilidade, o fator

temperatura tem influência sobre a porcentagem de pólen vivo, pois aumentou até 23,3°C com 10,83% de pólen vivo, embora o aumento da temperatura até 30°C resultou em inviabilidade total. Assim pode-se inferir que a baixa (15°C) e a alta temperatura (30°C) inviabilizam o pólen, embora a 23,3°C, mesmo sem viabilidade polínica, ocorre o melhor potencial reprodutivo entre os tratamentos estudados para este genótipo híbrido, semelhante a pólen de mamona que também teve inviabilidade à 15°C e 30°C, mas viabilidade a 20°C (CUCHIARA et al., 2008).

A produção de grão de pólen do híbrido HBGC011 é semelhante a da cv. Marandú (Tabela 1.1), mas esse híbrido HBGC011 não apresenta viabilidade polínica nas temperaturas estudadas, caráter polínico este que inviabiliza uma produção de sementes semelhante a da cv. Marandú.

3.3.4. HBGC450

Os grãos de pólen deste genótipo, em resposta semelhante ao híbrido HBGC011, também não apresentaram viabilidade polínica, provavelmente devido a esterilidade polínica elevada encontrada em híbridos interespecíficos da família da Poaceae (ARAÚJO et al., 2008). Entretanto, ao analisarmos as frequências de pólen viável, apresentava um comportamento diferenciado do híbrido HBGC450 em relação ao verificado no híbrido HBGC011. Observou-se que a 15°C houve maior porcentagem de espiguetas com pólen totalmente inviável do que a 20°C, com 12% e 5% respectivamente (Figura 1.1g). Nas temperaturas de 25°C e 30°C não foram observadas espiguetas totalmente inviáveis, demonstrando assim que as temperaturas mais amenas abaixo de 20°C tem maior tendência de inviabilizar os grãos de pólen, assim como na cultura do arroz (KUANG e TU, 1935).

A 15°C a maior frequência de espiguetas com pólen vivo estava na classe entre 1% e 10%, a 20°C esta moda subiu para a classe de frequência entre 11% a 20%, tendo 58% das espiguetas analisadas nesta classe. Já a 25°C e 30°C houve a subida em mais uma classe, ficando entre 21% e 30% de pólen vivo. A partir dessas classes foram obtidas as modas que deram origem a equação polinomial (Figura 1.1h) em que se observa que mesmo o híbrido não apresentando viabilidade, a temperatura influencia a porcentagem de pólen vivo por espiguetas, visto que existe uma relação linear entre elevação da temperatura e aumento de quantidade de

pólen vivo, onde com 15°C observou apenas 8% de pólen vivo e a 30°C este valor alcançou 28%. Isso determina que temperaturas mais amenas (15°C à 20°C) durante a microsporogênese no híbrido HBGC450 acentua a inviabilidade polínica. A produção de grãos de pólen deste híbrido (6919 grãos) é semelhante a da cv. Marandú com 6598 grãos (Tabela 1.1), mas devido a alta inviabilidade polínica, da mesma forma que o híbrido HBGC011, o híbrido HBGC450 também terá produção de semente inferior a da cv. Marandú.

3.3.5. HBGC148

Foi observada uma maior frequência de espiguetas na classe de 41% a 50% de pólen vivo nas temperaturas de 15°C e 20°C (Figura 1.1i). Com a elevação da temperatura para 25°C e 30°C essa frequência subiu para a classe seguinte. Da mesma forma que observado com a cv. Marandú e com o híbrido HBGC348, no híbrido HBGC148 houve viabilidade polínica em todas as temperaturas testadas. Pela regressão (Figura 1.1j) observa-se que a 15°C e a 20°C não foi constatada a viabilidade polínica total, pois apresentaram 33% e 42% de espiguetas com pólen viável, respectivamente. A 25°C esse quadro foi alterado, pois 54% das espiguetas apresentaram viabilidade e a 30°C esse valor aumentou para 62%, sendo que nesta última temperatura foi observado 21% de espiguetas contendo mais de 80% de pólen vivo quando comparado com as demais temperaturas analisadas que foram de 4%, 8% e 8% para 15°C, 20°C e 25°C respectivamente (Figura 1.1i). Assim, a temperatura sob a qual as flores deste genótipo se desenvolvem tem influência direta na viabilidade polínica, pois o aumento da temperatura resulta em acréscimo na viabilidade polínica, embora somente a partir da temperatura de 23,5°C é possível ter viabilidade total (Figura 1.1j).

A observação de que esse híbrido teve maior expectativa reprodutiva na maior temperatura testada (30°C) permite sugerir que os grãos de pólen deste híbrido toleram alta temperatura semelhante à milho (HERRERO e JOHNSON, 1980), algodão (KAKANI et al., 2005), soja (SALEM et al., 2007), mostarda da Índia (RAO et al., 1992), pimenta (REDDY e KAKANI, 2007), tomate (RUDICH et al., 1977; SILVA et al., 2000). Com essa informação fica claro que o comportamento da viabilidade polínica do híbrido HBGC148 com relação a temperatura em que as

plantas se desenvolvem é semelhante ao do híbrido HBGC348, embora sem a confirmação da presença de anormalidades das fibras do fuso durante a divisão celular. Os dados indicam que temperaturas mais amenas aumentam a macho esterilidade no híbrido HBGC148 como observado em capim quicuío (YOUNGER, 1961), cebola (MEER e BENNEKOM, 1969), berinjela (NOTHMANN e KOLLER, 1973), sorgo (BROOKING, 1979), pimenta (POLOWICK e SAWHNEY, 1985) e arroz (KUANG e TU, 1935; COIMBRA et al., 2008). Dessa forma o HBGC148 pode ter o sistema de divisão celular influenciado pela temperatura em que baixa temperatura no estágio de tétrade esteriliza o pólen conforme observado em arroz por Satake e Hayase (1970).

Com isso, regiões com drásticas quedas de temperatura durante o período reprodutivo, principalmente durante a noite, não são indicadas para produção de semente deste híbrido, pois baixas temperaturas inviabilizam os polens. Assim, temperatura é um fator de determinação de que regiões de produção de sementes de HBGC148 se localizem em regiões mais ao norte do Brasil. A produção de pólen deste híbrido não difere estatisticamente da produção observada na cv. Marandú (Tabela 1.1). Como este híbrido apresentou viabilidade polínica, pode-se dizer que sua produção de sementes tende a ser similar a da cv. Marandú, caso este híbrido seja semeado em regiões cuja temperatura não seja muito abaixo de 23,5°C.

3.3.6. HBGC080

Neste genótipo foi observado espiguetas com inviabilidade total nas condições de 15°C, 20°C e 30°C (Figura 1.1k), entretanto a quantidade de espiguetas inviáveis foi diminuindo com a elevação da temperatura, de forma que a 15°C eram 33% de espiguetas inviáveis, valor este reduzido para 8% a 20°C e 4% a 30°C. Assim pode-se inferir que a temperatura a que a planta se desenvolve interfere no comportamento do desenvolvimento dos polens do híbrido HBGC080 de forma que o aumento da temperatura diminui a possibilidade de se ter espiguetas com inviabilidade total (Figura 1.1k). A elevação na temperatura de 15°C para 20°C reduziu a quantidade de espiguetas com pólen totalmente inviável e fez com que a moda de espiguetas com pólen vivo fosse para a classe de 31% a 40% à 20°C, que na temperatura de 15°C se encontrava na inviabilidade total. Foi observada

viabilidade polínica a 20°C e 30°C com 12% e 4% de espiguetas com pólen viável respectivamente (Figura 1.1k) o que não torna o genótipo com viabilidade total para futura fecundação. Este híbrido provavelmente tenha inviabilidade polínica devido ao genótipo e ao ambiente, pois ele teve sua viabilidade afetada pela temperatura, semelhante ao observado em arroz (KUANG e TU, 1935) e tomate (CHIRA, 1963; GIORDANO et al., 2003) e apresentou baixa porcentagem de pólen vivo, demonstrando a esterilidade do genótipo, característica comum em híbridos interespecíficos de Poaceae (ARAÚJO et al., 2008). A produção de pólen deste híbrido é estatisticamente similar a da cv. Marandú (Tabela 1.1), mas por ele não ter apresentado viabilidade, sua possível produção de semente não se equivalerá ao Marandú que é polinicamente viável.

3.4. CONCLUSÕES

- Dentre as temperaturas estudadas cv. Marandú, HBGC348 e HBGC148 tem viabilidade polínica e HBGC011, HBGC450 e HBGC080 foram inviáveis.
- A viabilidade polínica de cada genótipo se comporta de forma diferenciada no intervalo de 15°C a 30°C, tendo a cv. Marandú a viabilidade polínica total inversamente proporcional a elevação da temperatura e os híbridos HBGC348 e HBGC148 diretamente proporcional.

3.5. CONSIDERAÇÕES GERAIS

- A literatura cita que existem diferentes tipos e frequências de anormalidade em híbridos interespecíficos (RISSO-PASCOTTO et al., 2005; FUZINATTO et al., 2007; ADAMOVSKI et al., 2008) indicando a possibilidade de que híbridos com viabilidade polínica possam ser encontrados. Um deles foi o híbrido HBGC324 apomítico com apenas 18% de anormalidade meiótica (FELISMINO et al., 2010). Os dados deste trabalho indicam que os híbridos HBGC348 e HBGC148 tiveram viabilidade elevada em temperaturas elevadas, embora sejam ainda necessários estudos sobre morfologia e composição do pólen, germinação com receptividade e compatibilidade no estigma para definição precisa sobre o real comportamento desses genótipos em diferentes condições térmicas. Só então será possível definir os híbridos HBGC348 e HBGC148 viáveis ou não para produção endospermática.
- É preciso realizar um estudo citológico nos híbridos HBGC011, HBGC450 e HBGC080 para verificar realmente se a inviabilidade gamética desses genótipos híbridos é devido a anormalidade de desequilíbrio devido a poliploidia, hibridação e/ou mutação, afirmando assim anormalidade genética.

3.6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABDALLA, A.A., VERKERK, K. Growth flowering and fruit set of the tomato at high temperature. **Netherland Journal of Agricultural Science**, v.16, p.71-76, 1968.

ADAMOWSKI, E.V.; PAGLIARINI, M.S.; VALLE, C.B. Meiotic behaviour in three interspecific three-way hybrids between *Brachiaria ruziziensis* and *B. brizantha* (Poaceae: Paniceae). **Journal of Genetics**, v.87, p.33-38, 2008.

ALBUQUERQUE JÚNIOR, C.L.; DENARDI, F.; DANTAS, A.C.M.; NODARI, R.O. Número de anteras por flor, grãos de pólen por antera e capacidade germinativa do pólen de diferentes cultivares de macieira. **Revista Brasileira de Fruticultura** [on line], 2010. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0100-29452010005000129&script=sci_arttext>. Acesso em: 31 jan. 2010.

ALCOCHETE, A.A.N. **Diversidade genética e mapeamento de qtls do sistema gênico de macho-esterilidade termosensível (tgms) do genoma de arroz (*Oryza sativa* L.)**. 2005. 157p. Dissertação (mestrado) – Universidade de Brasília, Brasília, 2005.

ALONI, B.; PEET, M.; PHARR, M.; KARNI, L. The effect of high temperature and high atmospheric CO₂ on carbohydrate changes in bell pepper (*Capsicum annuum*) pollen in relation to its germination. **Physiologia Plantarum**, v.112, p.505–512, 2001.

ALVES, E.R. **Aspectos da reprodução em *Brachiaria brizantha* cv. Marandú**. 2000. 94p. Dissertação (mestrado) – Universidade de Brasília, Brasília, 2000.

ALVES, E.R.; CARNEIRO, V.T.C.; ARAUJO, A.C.G. Direct evidence of pseudogamy in na *Brachiaria brizantha* (Poaceae). **Sexual Plant Reproduction**, v.14, n.4, p.207-212, 2001.

ARAUJO, A.C.G.; MUKHAMBETZHANOV, S.; POZZOBON, M.T.; SANTANA, E.F.; CARNEIRO, V.T.C. Female gametophyte development in apomitic and sexual *Brachiaria brizantha* (Poaceae). **Reveu de Cytologie et de Biologie Vegetales**, v.1-2, n.23, p.13-28, 2000.

ARAÚJO, S.A.C.; DEMINICIS, B.B.; CAMPOS, P.R.S.S. Melhoramento genético de plantas forrageiras tropicais no Brasil. **Archivos de zootecnia**, v.57, p.61-76, 2008.

ASKER, S.E.; JERLING, L. **Apomixis in Plants**. Boca Raton: Ann Arbor London Tokyo, 1992. 298p.

BAKER, J.T.; ALLEN JR., L.H.; BOOTE, K.J. Temperature effects on rice at elevated CO₂ concentration. **Journal of Experimental Botany**, v.43, p.959-964, 1992.

BIERHALS, J.D.; FERRAZ, J.V. O pasto perde espaço para a lavoura. **Anuário da Pecuária Brasileira**, p.34-40, 2008.

BONG, B.B. Genetic improvement of rice varieties for The Mekong Delta of Vietnam: Current status and future approaches. **Rice Research and Development in Vietnam**, p. 123-134, 2000.

BROOKING, I.R. Male sterility in *Sorghum bicolor* (L.) Moench induced by low temperature. II. Genotypic differences in sensitivity. **Australian Journal of Plant Physiology**, v.6, p.143-147, 1979.

CARVALHO, N.M.; NAKAGAWA, J. **Sementes: ciência, tecnologia e produção**. 4ed. Jaboticabal: FUNEP, 2000. 588p.

CHIRA, E. The Pollen Sterility of Scots and Black Pines (*Pinus silvestris* L., *P. nigra* Arnold.). **Lesn. asopis**, [s.l.], v. 9, p.821–826, 1963.

CLARK, F.J. Cytogenetic studies of divergent meiotic spindle formation in *Zea mays*, **American Journal of Botany**, v.27, p.547–559, 1940.

COIMBRA, J.L.M.; BERTOLDO, J.G.; VALE, N.M. Uso da macho-esterilidade no melhoramento de híbridos comerciais de arroz. **Revista de Ciências Agroveterinárias**, v.7, n.1, p.61-72, 2008.

CRAUFURD, P.Q.; PRASAD, P.V.V.; KAKANI, V.G.; WHEELER, T.R.; NIGAM, S.N. Heat tolerance in groundnut. **Field Crop Research**, v.80, p.63-77, 2003.

CUCHIARA, C.C.; JUSTO, P.S.; SILVA, S.D.A.; BOBROWSKI, V.L. Avaliação da viabilidade polínica de mamoneira em diferentes temperaturas. In: Congresso de Iniciação Científica, 17., 2008, Pelotas, RS. **Anais...** Pelotas, RS: UFPel, 2008.

DALL'ORTO, F.A.C.; BARBOSA, W.; OJIMA, M.; CAMPOS, S.A.F. Análise do pólen em dezoito cultivares de macieira. **Bragantia**, v.44, n.1, p.421-427, 1985.

DEMPSEY, W.H. Effect of temperature on pollen germination and tube growth. **Tomato Genetics Cooperative**, v.20, p.15-16, 1970.

DERIN, K.; ETI, S. Determination of pollen quality, quantity and effect of cross pollination on the fruit set and quality in the pomegranate. **Turkish Journal of Agriculture and Forestry**, v.25, p.169-173, 2001.

DUBEY, P.S.; MALL, L.P. Herbicidal pollution. Pollen damage by the herbicide vapours. **Experientia**, p. 600, 1972.

DUSI, D.M.A.; WILLEMSE, M.T.M. Activity and localisation of sucrose synthase and invertase in ovules of sexual and apomitic *Brachiaria decumbens*. **Protoplasma**, v.208, p173-185, 1999a.

DUSI, D.M.A.; WILLEMSE, M.T.M. Apomixis in *Brachiaria decumbens* Stapt. gametophytic development and reproductive calendar. **Acta Botanica Cracoviensia Series Botanica**, v. 41, p.151-162, 1999b.

DUSI, D.M.A.; WILLEMSE, M.T.M. Apomixis in *Brachiaria decumbens*: calendar, carbohydrates and callose. In: INTERNATIONAL CONGRESS OF SEXUAL PLANT REPRODUCTION, 15., 1998, Wageningen. **Anais...** Wageningen: Wageningen UR, 1998. p.24.

ERICKSON, A.N.; MARKHART, A.H. Flower developmental stage and organ sensitivity of bell pepper (*Capsicum annuum* L.) to elevated temperature. **Plant Cell Environmental**, v.25, p.123-130, 2002.

FELISMINO, M.F.; PAGLIARINI, M.S.; VALLE, C.B. A differential phenotypic expression of a divergent spindle mutation in interspecific *Brachiaria* hybrids. **Cell Biology International**, v.32, p.1459-1463, 2008.

FELISMINO, M.E.; PAGLIARINI, M.S.; VALLE, C.B. Meiotic behavior of interespecific hybrids between artificially tetraploidized sexual *Brachiaria ruziziensis* and tetraploid apomictic *B. brizantha* (Poaceae). **Scientia Agricola**, v.67, n.2, p.191-197, 2010.

FERREIRA, D.F. Análises estatísticas por meio do Sisvar para Windows versão 4.0. In: REUNIÃO ANUAL DA REGIÃO BRASILEIRA DA SOCIEDADE INTERNACIONAL DE BIOMETRIA, 45., 2000, São Carlos, SP. **Anais...** São Carlos, SP: UFSCar, 2000. p.255-258.

FOSKET, D.E. **Plant growth and development: a molecular approach**. San Diego: Academic Press, 1994. 580p.

FUZINATTO, V.A.; PAGLIARINI, M.S.; VALLE, C.B. Microsporogenesis in sexual *Brachiaria* hybrids (Poaceae). **Genetics and Molecular Research**, v.6, p.1107-1117, 2007.

FUZINATTO, V.A.; PAGLIARINI, M.S.; VALLE, C.B. Evaluation of microsporogenesis in an interespecific *Brachiaria* hybrid (Poaceae) collected in distinct years. **Genetics and Molecular Research**, v.7, n.2, p.424-432, 2008.

GAMBORG, O.L.; MILLER, R.A.; OJIMA, K. Nutrient requirements of suspension cultures of soybean root cells. **Experimental Cell Research**, v.50, p.151-158, 1968.

GEORGE, R.A.T. **Tecnología de las semillas de hortalizas: guía técnica de la producción, procesamiento, almacenamiento y control de calidad de semillas de hortalizas**. Roma: Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación, 1983. 117p.

GIORDANO, L.B.; ARAGÃO, F.A.S.; BOITEUX, L.S. Melhoramento genético do tomateiro. **Informe Agropecuário**, v.24, n.219, p.43-57, 2003.

GOBBE, J.; SWENNE, A.; LOUANT, B.P. Diploïdes naturels et autotétraploïdes induits chez *Brachiaria ruziziensis* Germain et Evrard: critères d'identification. **Agronomie Tropicale**, v.36, p.339-346, 1981.

GOSS, J.A. Effect of Salinity on Pollen. **American Journal of Botany**, v.58, n.8, p.721-725, 1971.

GRANT, V. **Plant Speciation**. New York: Columbia University Press, 1981. 563p.

GROSS, Y.; KIGEL, J. Differential sensitivity to high temperature of the reproductive development of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). **Field Crops Research**, v.36, p.201-212, 1994.

HALL, A.E. Breeding for heat tolerance. **Plant Breeding Review**, v.10, p.129-167, 1992.

HERRERO, M.P., JOHNSON, R.R. High temperature stress and pollen viability of maize. **Crop Science**, v.20, p.796-800, 1980.

HESLOP-HARRISON, Y. Control Gates and micro-ecology: the pollen-stigma interaction in perspective. **Annals of Botany Company**, v.85, p.5-13, 2000.

HOLMBERG, B. On the permeability to lissamine green and other dyes in the course of cell injury and cell death. **Experimental Cell Research**, v.22, p.406-411, 1961.

HOWLETT, F.S. The effect of carbohydrate and nitrogen deficiency upon microsporogenesis and the development of the male gametophyte in the tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.). **Annals of Botany**, v.50, p.767-804, 1936.

HUMPHREYS, I.R. **Tropical Pature seed production**. Rome: FAO, 1979. 143p.

IRRI – International Rice Research Institute. **Hybrid Rice Breeding Manual**. Philippines: IRRI, 1997. 151p.

ISSARAKRAISILA, M.; CONSIDINE, J.A. Effects of temperature on pollen viability in Mango cv. Kensington. **Annals of Botany**, v.73, p.231-240, 1994.

IWAHORI, S. High temperature injuries in tomato IV. Development of normal lower buds and morphological abnormalities of flower buds treated with high temperature. **Journal of the Japanese Society for Horticultural Science**, v.34, p.33-41, 1965.

IWAHORI, S., TAKAHASHI, K. High temperature injuries in tomato III. Effects of high temperature on flower buds and flowers of different stages of development. **Journal of the Japanese Society for Horticultural Science**, v.33, p.67-74, 1964.

- JANDEL, S. **Sigma Plot 11.0 for Windows™**. Jandel Scientific: Core Madera, 2008.
- KAKANI, V.G.; REDDY, K.R.; KOTI, S.; WALLACE, T.P.; PRASAD, P.V.V.; REDDY, V.R.; ZHAO, D. Differences in *in vitro* Pollen Germination and Pollen Tube Growth of Cotton Cultivars in Response to High Temperature. **Annals of Botany**, v.96, p.59-67, 2005.
- KHATUN,S.; FLOWERS,T.J. The estimation of pollen viability in rice. **Journal of Experimental Botany**, v.46, n.1, p.151-154, 1995.
- KOLTUNOW, A.M. Apomixis: embryo sacs and embryos formed without meiosis or fertilization in ovules. **The plant cell**, v.5, p.1425-1437, 1993.
- KOTI, S.; REDDY, K.R.; REDDY, V.R.; KAKANI, V.G.; ZHAO, D. Interactive effects of carbon dioxide, temperature, and ultraviolet-B radiation on soybean (*Glycine max* L.) flower and pollen morphology, pollen production, germination, and tube lengths. **Journal of Experimental Botany**, v.56, n.412, p.725-736, 2005.
- KU, S.J.; CHO, K.H.; CHOI, Y.J.; BAEK, W.K.; KIM, S.; SUH, H.S.; CHUNG, Y.Y. Cytological observation of two environmental genic male-sterile lines of rice. **Molecular cells**, v.12, n.3, p.403-406, 2001.
- KUANG, H.H.; TU, D.S. Studies on the fertile percentage in varietal crosses of Rice hybrids. **Agronomy Journal**, v.23, p.190, 1935.
- LACERDA, C.A.; ALMEIDA, E.C.; LIMA, J.O.G. Estádio de desenvolvimento da flor de *Lycopersicon esculentum* Mill. Cv. Santa Cruz Kada ideal para coleta de pólen a ser germinado em meio de cultura. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.29, n.2, p.169-175, 1994.
- LANG, N.T.; SUBUDHI, P.K.; VIRMANI, S.S.; BRAR, D.S.; KHUSH, G.S.; LI, Z.; HUANG, N. Development of PCR-based markers for thermosensitive genetic male sterility gene tms3(t) in rice (*Oryza sativa* L.). **Hereditas**, v.131, n.2, p.121-127, 1999.
- LEVY, A.; RABINOWITCH, H.D.; KEDAR, N. Morphological and physiological characters affecting flower drop and fruit set of tomatoes at high temperatures. **Euphytica**, v.27, p.211-218, 1978.

MacDANIELS, L.H.; HILDEBRAND, E.M. A study of pollen germination upon the stigmas of apple flowers treated with fungicides. **Proceedings of the American Society for Horticultural Science**, p.137, 1939.

MATSUI, T.; NAMUCO, O.S.; ZISKA, L.H.; HORIE, T. Effects of high temperature and CO₂ concentration on spikelet sterility in indica Rice. **Field Crops Research**, v.51, p.213-219, 1997.

MEER, Q.P.; BENNEKOM, J.L. Effect of temperature on the occurrence of male sterility in onion (*Allium cepa* L.). **Euphytica**, v.18, p.389-394, 1969.

MENDES-BONATO, A.B.; PAGLIARINI, M.S.; FORLI, F.; VALLE, C.B. PENTEADO, M.I.O. Chromosome numbers and microsporogenesis in *Brachiaria brizantha* (Gramineae). **Euphytica**, v.125, p.419-425, 2002.

MENDES-BONATO, A.B.; PAGLIARINI, M.S.; SILVA, N.; VALLE, C.B. Meiotic instability in invader plants of signal grass *Brachiaria decumbens* Stapf (Gramineae). **Acta Scientiarum**, v.23, p.619-625, 2001.

MENDES-BONATO, A.B.; PAGLIARINI, M.S.; VALLE, C.B. Abnormal spindle orientation during microsporogenesis in an interspecific *Brachiaria* (Gramineae) hybrid, **Genetics and Molecular Biology**, v.29, n.1, p.122-125, 2006.

MENDES-BONATO, A.B.; PAGLIARINI, M.S.; VALLE, C.B.; JANK, L. Abnormal pollen mitoses (PM I e PM II) in an interspecific hybrid of *Brachiaria ruziziensis* e *B. decumbens* (Gramineae). **Journal of Genetics**, v.83, n.3, p.279-283, 2004.

MERCADO, J.A.; MARTREGO, M.; REID, M.S.; VALPUESTA, V. Effects of low temperature on pepper pollen morphology and fertility: evidence of cold induced exine alterations. **Journal of Horticultural Science**, v.72, p.217-226, 1997.

MILES, J.W.; VALLE, C.B. Manipulation of apomixes in *Brachiaria* breeding. In: MILES, J.W.; MASS, B.L.; VALLE, C.B. (Eds.) **Brachiaria: biology, agronomy and improvement**. Cali: CIAT/Brasília: EMBRAPA-CNPGC, 1996. p.164-177.

NGENDAHOYO, M. **Mechanismes de la reproduction dans le genre *Brachiaria* Gris. et strategies d'amelioration et de selection.** 1988. 82p. Tese (Doutorado) - Université Catholique de Louvain, Belgique, 1988.

NOTHMANN, J.; KOLLER, D. Morphogenetic effects of low temperature stress on flower of eggplant (*Solanum melongena*). **Israel Journal of Botany**, v.22, p.231-235, 1973.

PEET, M.M.; SATO, S.; GARDNER, R.G. Comparing heat stress effects on male-fertile and male-sterile tomatoes. **Plant Cell and Environment**, v.21, p.225-231, 1998.

POLOWICK, P.L.; SAWHNEY, V.K. Temperature effects on male fertility and flower and fruit development in *Capsicum annuum* L. **Scientia Horticulture**, v.25, p.117-127, 1985.

POLOWICK, P.L.; SAWHNEY, V.K. High temperature induced male and female sterility in Canola (*Brassica napus* L.). **Annals of Botany**, v.62, p.83-86, 1988.

PORCH, T.G.; JAHN, M. Effects of high-temperature stress on microsporogenesis in heat-sensitive and heat tolerant genotypes of *Phaseolus vulgaris*. **Plant Cell and Environment**, v.24, p.723-731, 2001.

PRASAD, P.V.V.; BOOTE, K.J.; ALLEN, H.; THOMAS, J.M.G. Effect of elevated temperature and carbon dioxide on seed set and yield of kidney bean (*Phaseolus vulgaris* L.). **Global Change Biology**, v.8, p.710-721, 2002.

PRASAD, P.V.V.; CRAUFURD, P.Q.; SUMMERFIELD, R.J. Fruit number in relation to pollen production and viability in groundnut exposed to short episodes of heat stress. **Annals of Botany**, v.84, p.381-386, 1999.

PRASAD, P.V.V.; CRAUFURD, P.Q.; KAKANI, V.G.; WHEELER, T.R. BOOTE, K.J. Influence of temperature during pre- and post-anthesis stages of floral development on fruit-set and pollen germination in groundnut (*Arachis hypogea* L.). **Australian Journal of Plant Physiology**, v.28, p.233-240, 2001.

PRASAD, P.V.V.; BOOTE, K.J.; ALLEN JR, L.H. Adverse high temperature effects on pollen viability, seed-set, seed yield and harvest index of grain-sorghum [*Sorghum bicolor* (L.) Moench] are more severe at elevated carbon dioxide due to higher tissue temperatures. **Agricultural and Forest Meteorology**, v.139, p.237–251, 2006a.

PRASAD, P.V.V.; BOOTE, K.J.; ALLEN JR, L.H.; SHEEHY, J.E. ; THOMAS, J.M.G. Species, ecotype and cultivar differences in spikelet fertility and harvest index of rice in response to high temperature stress. **Field Crops Research**, v.95, p.398–411, 2006b.

RAO, G.U.; JAIN, A.; SHIVANNA, K.R. Effects of High Temperature Stress on *Brassica* Pollen: Viability, Germination and Ability to Set Fruits and Seeds. **Annals of Botany**, v.68, p.193-198, 1992.

REDDY, K.R.; KAKANI, V.G. Screening *Capsicum* species of different origins for high temperature tolerance by in vitro pollen germination and pollen tube length **Scientia Horticulturae**, v.112, p.130–135, 2007.

REDDY, O.U.K.; SIDDIQ, E.A.; SARMA, N.P.; ALI, J.; HUSSAIN, A.J.; IMMAKAYALA, P.; RAMASAMY, P.; PAMMI, S.; REDDY, A.S. Genetic analysis of temperature-sensitive male sterility in rice. **Theoretical and Applied Genetics**, v.100, n.5, p.794-801, 2000.

REUSCH, J.D.H. The relationship between reproductive factors and seed set in *Paspalum dilatatum*. **South African Journal of Agricultural Science**, v.4, p.513-530, 1961.

RISSO-PASCOTTO, C.; PAGLIARINI, M.S.; VALLE, C.B.; JANK, L. Asynchronous meiosis in an interspecific hybrid of *Brachiaria ruziziensis* and *B. brizantha*. **Plant Cell Reports**, v.23, n.5, p.304-310, 2004a.

RISSO-PASCOTTO, C.; PAGLIARINI, M.S.; VALLE, C.B.; JANK, L. Asynchronous meiotic rhythm as the cause of selective chromosome elimination in an interspecific *Brachiaria* hybrid. **Plant Cell Reports**, v.22, n.12, p.945-950, 2004b.

RISSO-PASCOTTO, C.; MENDES-BONATO, A.B.; PAGLIARINI, M.A.; VALLE, C.B. **Comportamento citológico atípico durante microsporogênese em *brachiaria*.**

Campo Grande: Embrapa Gado de Corte, 2003. 29p. (Campo Grande. Boletim de pesquisa e desenvolvimento, 16).

RISSE-PASCOTTO, C.; PAGLIARINI, M.S.; VALLE, C.B. Meiotic behavior in interespecific hybrids between *Brachiaria ruziziensis* and *B. brizantha* (Poaceae). **Euphytica**, v.145, n.1-2, p.155-159, 2005.

ROSA, S.S. **Influência da temperatura na ocorrência de pólenes não reduzidos em batata diplóide**. 2007. 100p. Tese (doutorado) – Universidade de Passo Fundo, Passo Fundo, 2007.

RUDICH, J.; ZAMSKI, E.; REGEV, Y. Genotypic variation for sensitivity to high temperature in the tomato: pollination and fruit set. **Botanical Gazette**, v.138, n.4, p.448-452, 1977.

SAINI, H.S.; ASPINALL, D. Abnormal sporogenesis in wheat (*Triticum aestivum* L.) induced by short periods of high temperature. **Annals of Botany**, v.49, p.835-846, 1982.

SALEM, M.A.; KAKANI, V.G.; KOTI, S.; REDDY, K.R. Pollen-Based Screening of Soybean Genotypes for High Temperatures. **Crop Science**, v.47, p.219–231, 2007.

SATAKE, T.; HAYASE, H. Male sterility caused by cooling treatment at the young microspore stage in rice plants. V. Estimation of pollen development stage and the most stage to coolness. **Proceeding of the Crop Science Society of Japan**, v.39, p.468–473, 1970.

SATO, S.; KAMIYAMA, M.; IWATA, T.; MAKITA, N.; FURUKAWA, H.; IKEDA, H. Moderate increase of mean daily temperature adversely affects fruit set of *Lycopersicon esculentum* by disrupting specific physiological processes in male reproductive development. **Annals of Botany**, v.97, p.731-738, 2006.

SATO, S.; PEET, M.M.; THOMAS, J.F. Determining critical pre- and post-anthesis periods and physiological processes in *Lycopersicon esculentum* Mill. exposed to moderately elevated temperatures. **Journal of Experimental Botany**, v.53, p.1187-1195, 2002.

SHAMINA, N.; DOROGOVA, N.; TRUNOVA, S. Radial spindle and the phenotype of the maize meiotic mutant, dv. **Cell Biology International**, v.24, n.10, p.729–736, 2000.

SHIVANNA, K.R.; JOHRI, B.M. **The angiosperm pollen: structure and function**. New Dehli: Wiley Eastern Ltd., 1985. 374p.

SILVA, A.C.T.F.; LEITE, I.C; BRAZ, L.T. Avaliação da viabilidade do pólen como possível indicativo de tolerância a altas temperaturas em genótipos de tomateiro. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v.12, n.2, p.156-165, 2000.

SONG, J.; NADA, K.; TACHIBANA, S. Ameliorative effect of polyamines on the high temperature inhibition of in vitro pollen germination in tomato. **Scientia Horticultural**, v.80, p.203-212, 1999.

SOUZA, F.H.D. **Produção de sementes de gramíneas forrageiras tropicais**. São Carlos: Embrapa Pecuária Sudeste, 2001. 43p.

STANLEY, R.G.; LINSKENS, H.F. **Pollen: biology, biochemistry, management**. Berlin: Heidelberg, 1974. 307p.

STEINMETZ, S. Influência do clima na cultura do arroz irrigado no Rio Grande do Sul. In: GOMES, A.S.; MAGALHÃES JÚNIOR, A.M. **Arroz irrigado no sul do Brasil**. Brasília: Embrapa Informação tecnológica, 2004. p.45-74.

STEVENS, M.A., RUDICH, J. Genetic potential for overcoming physiological limitations on adaptability, yield, and quality in the tomato. **HortScience**, v.13, p.673-678, 1978.

STÜR, W.W.; HUMPHREYS, L.R. Tiller development and flowering in swards of *Brachiaria decumbens*. **Annals of Applied Biology**, v.110, p.639-644, 1987.

SUN, K.; HUNT, K.; HAUSER, B.A. Ovule abortion in *Arabidopsis* triggered by stress. **Plant Physiology**, v.135, p.2358-2367, 2004.

SÜTYEMEZ, M. Determination of pollen production and quality of some local and foreign walnut genotypes in Turkey. **Turkish Journal of Agriculture and Forestry**, v.31, p.109-114, 2007.

SWENNE, A.; LOUANT, B.P.; DUJARDIN, M. Induction par la colchicines de formes autotétraploides chez *Brachiaria ruziziensis* Germain et Evrard (Graminée). **Agronomie Tropicale**, v.36, n.2, p.134-142, 1981.

TIBURCIO, A.F.; CAMPOS, J.L.; FIGUERAS, X.; BESFORD, R.T. Recent advances in the understanding of polyamine functions during plant development. **Plant Growth Regulation**, v.12, p.331-340, 1993.

VALLE, C.B.; BONATO, A.L.V.; PAGLIARINI, M.S.; RESENDE, R.M.S.; JANK, L. Apomixia no melhoramento de *Brachiaria*. In: CARNEIRO, V.T.C; DUSI, D.M.A. (Eds.). **Clonagem de plantas por sementes: estratégias de estudo da apomixia**. Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, , 2004. p.47-65.

VALLE. C.B. **Coleção de germoplasma de espécies de *Brachiaria* no CIAT: estudos básicos visando ao melhoramento genético**. Campo Grande: Embrapa Gado de Corte, 1990. 33p. (Embrapa Gado de Corte. Documentos, 46)

VALLE. C.B.; SAVIDAN, Y.H. Genetics, cytogenetics, and reproductive biology of *Brachiaria*. In: MILES, J.W.; MAAS, B.L.; VALLE, C.B. (Eds.). ***Brachiaria: biology, agronomy, and improvement***. Cali: CIAT/Brasília: Embrapa Gado de Corte, 1996. p.147-163.

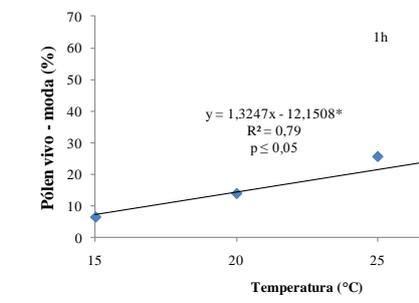
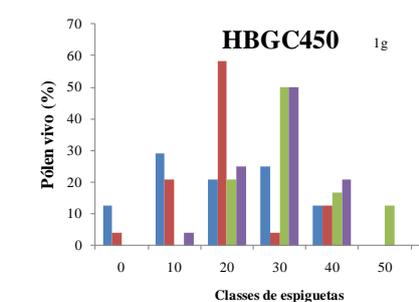
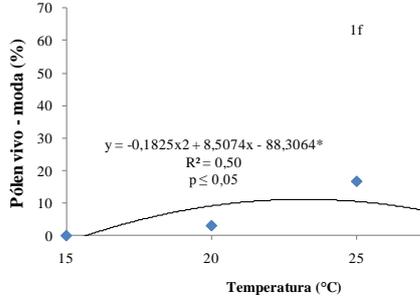
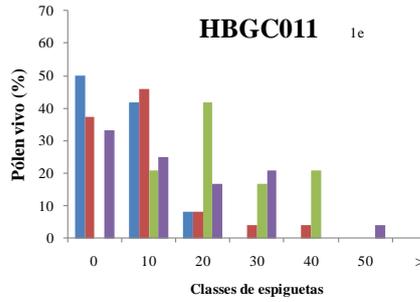
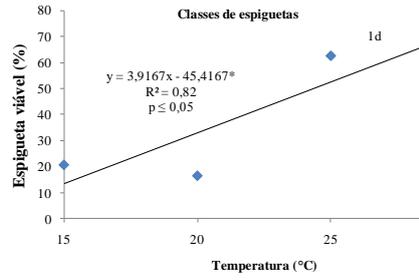
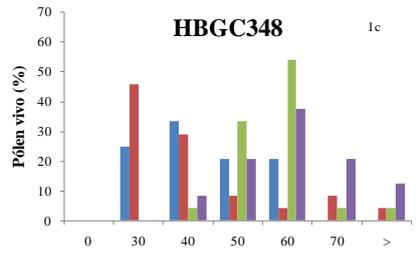
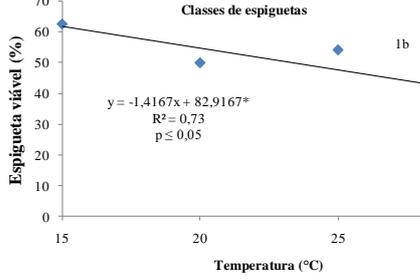
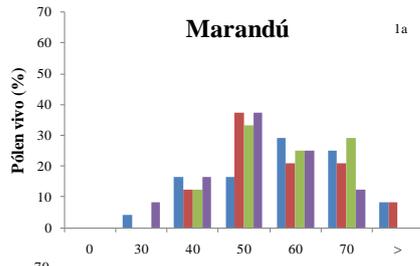
WANG, C.; DELCROS, J.G.; CANNON, L.; KONATE, F.; CARIAS, H.; BIGGERSTAFF, J.; GARDNER, R.; PHANSTIEL, O. Defining the molecular requirements for the selective delivery of polyamine-conjugates into cells containing active polyamine transporters. **Journal of Medicinal Chemistry**, v.46, p.5129-5138, 2003.

WEAVER, M.L.; TIMM, H.; SILBERNAGEL, M.J.; BURKE, D.W. Pollen staining and high-temperature tolerance of bean. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, v.110, p.797-799, 1985.

YOUNGER, V.B. Low temperature induced male sterility in male fertile *Pennisetum clandestinum*. **Science**, v.133, p.577, 1961.

ZHANG, Z., ZEN, H., YUAN, S., ZHANG, D., WANG, B., LI, Y. Studies on the model of photothermo reaction of fertility alteration in photosensitive genic male sterile rice. **Journal Huazhong Agriculture Universal**, v.11, n.1, p.-6, 1992.

ANEXO 1



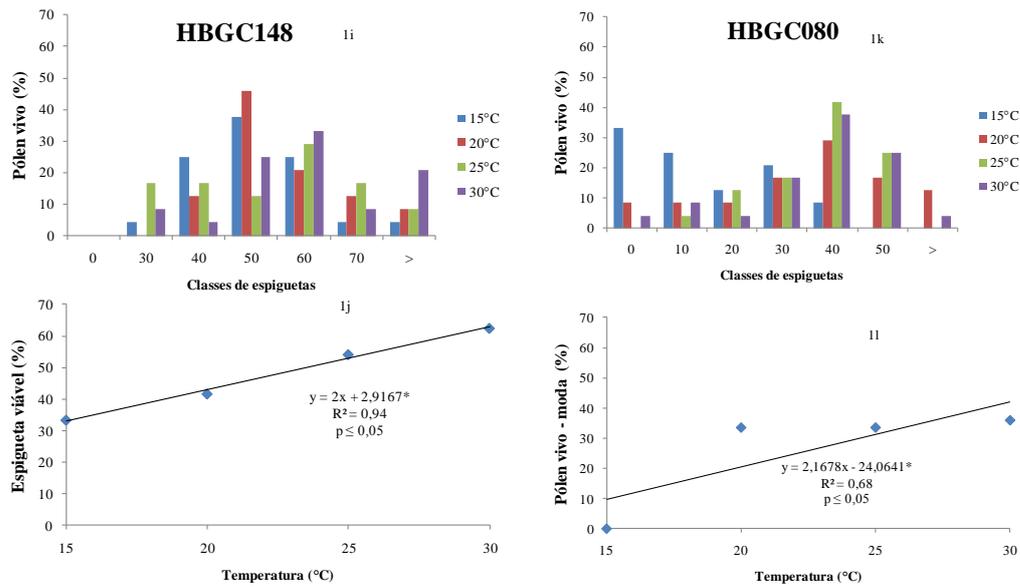


Figura 1.1. Viabilidade polínica de *B. brizantha* cv. Marandú e híbridos interespecíficos de *brachiaria* (HBGC348, HBGC011, HBGC450, HBGC148, HBGC080) submetidos a diferentes temperaturas (15°C, 20°C, 25°C e 30°C). Planaltina – DF, 2010.

Tabela 1.1. Quantidade de pólen por antera de flores hermafroditas de *B. brizantha* cv. Marandú e genótipos híbridos interespecíficos de *brachiaria*. Planaltina – DF, 2010.

Genótipos	Quantidade de pólen
Marandú	6598
HBGC348	8100*
HBGC011	6078
HBGC450	6916
HBGC148	6848
HBGC080	6464
CV(%)	7,27

*diferente do padrão (cv. Marandú) pelo teste de Dunnett a 5% de probabilidade

4. CAPÍTULO 2

INTERFERÊNCIA AMBIENTAL NA PRODUÇÃO DE SEMENTES DE *B.*
BRIZANTHA CV. MARANDÚ E DE HÍBRIDOS INTERESPECÍFICOS DE
BRACHIARIA

(Artigo a ser enviado a Revista Brasileira de Sementes)

RESUMO

INTERFERÊNCIA AMBIENTAL NA PRODUÇÃO DE SEMENTES DE *B. BRIZANTHA* CV. MARANDÚ E DE HÍBRIDOS INTERESPECÍFICOS DE *BRACHIARIA*

Tendo em vista a predominância do cultivo da *B. brizantha* cv. Marandú, evidentemente as pastagens, base alimentar da pecuária brasileira podemos considerada uma extensa monocultura clonal, o que coloca em risco todo um sistema produtivo. Para reverter este cenário o mercado tem demandado novas cultivares para aumentar a variabilidade genética o que é possível ser obtido dentro do gênero *Brachiaria* spp. com a obtenção de híbridos interespecíficos apomíticos. Entretanto, esses híbridos apresentam baixa produção de sementes viáveis sendo essa condição atribuída à anormalidades citogenéticas com a hipótese de que o componente ambiental também interfere em interação ou não com os fatores genéticos, produção de sementes de híbridos interespecíficos de *brachiaria*, este trabalho teve por objetivos pesquisar a existência de interação genótipo x ambiente interferindo na produção de sementes de genótipos de híbridos interespecíficos de *Brachiaria*, indicar possíveis regiões para produção de sementes, e verificar se algum dos híbridos estudados tem o potencial de produção de sementes da cultivar Marandú. Para isso foram implantados campos de produção de sementes com cinco híbridos interespecíficos de *Brachiaria* (HBGC348, HBGC011, HBGC450, HBGC148 e HBGC080) em Planaltina – DF e Campo Grande – MS. Nessas duas regiões do Brasil Central foram acompanhadas as condições climáticas juntamente com a avaliação polínica, produção e qualidade fisiológica das sementes. Utilizando análise de trilha e de comparação de médias concluiu-se que: todos os genótipos estudados têm produção de sementes afetada pela condição ambiental; a condição ambiental de Planaltina é superior a de Campo Grande para produzir sementes híbridas de *Brachiaria* spp.; os híbridos estudados têm alguma anormalidade floral que afeta a disseminação polínica; HBGC348 e HBGC148, são dentre os híbridos estudados, os que mais produzem sementes, em especial na condição de Planaltina.

Palavras chaves: Braquiária, fenologia reprodutiva, viabilidade polínica, qualidade fisiológica.

ABSTRACT

ENVIRONMENTAL INTERFERENCE IN SEED PRODUCTION OF *B. BRIZANTHA* CV. MARANDU AND INTERSPECIFIC HYBRIDS OF *BRACHIARIA*

Considering the predominance of the cultivation of *B. brizantha* cv. Marandú clearly the grasslands, the food base of Brazilian livestock can be considered an extensive clonal monoculture, which puts at risk all a production system. To reverse this scenario, the market has demanded new cultivars to increase genetic variability which can be obtained within the genus *Brachiaria* spp. with obtaining apomictic interspecific hybrids. However, these hybrids have low viable seed production is attributed to this condition cytogenetic abnormalities with the hypothesis that the environmental component also interfere with or otherwise interact with genetic factors, seed production of interspecific hybrids of *Brachiaria*, this work aimed investigate the existence of genotype-environment interaction interfering with the production of seeds of genotypes in interspecific hybrids of *Brachiaria* indicate potential regions for seed production, and check if any of the hybrids studied have the potential to produce seeds of cultivar Marandú. For that were implanted seed production fields with five interspecific hybrids of *Brachiaria* (HBGC348, HBGC011, HBGC450, and HBGC148 HBGC080) in Planaltina - DF and Campo Grande - MS. In these two regions of Central Brazil weather conditions were monitored along with the pollen evaluation, production and physiological quality of seeds. Using path analysis and mean comparison was concluded that: all genotypes have seed production affected by environmental conditions; the environmental condition is more than Planaltina from Campo Grande to produce hybrid seeds of *Brachiaria* spp.; hybrids studied have floral abnormality that affects the spread pollen; HBGC348 and HBGC148 are among the hybrids studied, those that produce more seeds, especially in the condition of Planaltina.

Keywords: Braquiária, reproductive phenology, pollen viability, physiological quality.

4.1. INTRODUÇÃO

A produção de sementes de forrageiras tropicais apresenta uma trajetória de sucesso e tem uma perspectiva futura promissora (VILLAS BOAS, 2005), devido à existência de fatores climáticos, edáficos, econômico-sociais, agronômicos e de infraestrutura propícios da região do Brasil Central (ANDRADE et al., 2004), com altas produções de sementes de qualidade, tornando a produção de sementes forrageiras uma atividade competitiva (ANDRADE, 2001). Além disso, as pastagens são a base da exploração da pecuária de corte e de leite no Brasil e isto gera um mercado de alta demanda por sementes (PEREIRA, 2004; VILELA, 2004).

A formação de boas pastagens apresenta uma excelente opção para a alimentação dos rebanhos, pois além de se constituir no alimento mais barato disponível, quando bem manejada, oferece proteína, energia e parte dos minerais necessários para um bom desempenho dos animais, que criados em pastagens são mais saudáveis e resistentes (PUPO, 1981). Assim, tanto a expansão de áreas de formação de pastagens, quanto a necessidade de recuperação de pastagens degradadas, são fatores que geram um mercado demandante por sementes de forrageiras.

A evolução histórica do setor no Brasil é expressiva, pois de maior importador de sementes de forrageiras tropicais até a década de 70, o país se tornou o maior produtor, consumidor e exportador dessas sementes (ANDRADE et al., 2004), onde 97% do volume exportado é destinado para mais de 20 países da América Latina e o restante para 8 países da Europa, África e Ásia (VILLAS BOAS, 2005; SOUZA, 2006) em que a braquiária é a espécie responsável por mais de 80% do total exportado (TSUHAKO, 2006).

O mercado de sementes de pastagens tropicais brasileiro é o maior do mundo. O País em 2008 somente com exportações de sementes de forrageiras tropicais teve um faturamento de US\$ 61,8 milhões com 11,5 mil toneladas (SILVA, 2009). Estima-se que a cada ano, cerca de 14% da área cultivada com pastagens tropicais – de 104 milhões de hectares – seja renovada (10%) ou semeada (4%). Considerando uma taxa média de semeadura de 5 kg de sementes puras e viáveis (VC=100%) por hectare, a demanda anual por sementes de forrageiras é de 72,80

mil toneladas, em que as cultivares de *brachiaria* spp., são responsáveis por 80% deste mercado (VITA, 2003).

As boas características agrônômicas das cultivares do gênero justificam a preferência dos pecuaristas por sua utilização, em regiões tropicais: rápido estabelecimento, boa ressemeadura natural, facilidade de manejo, resistência ao pisoteio, tolerância aos solos ácidos, eficiência no aproveitamento de nutrientes do solo, alto potencial de resposta à aplicação de fertilizantes, bom valor nutritivo, resistência à cigarrinha-das-pastagens (cultivar Marandú) e excelente produção de sementes (VALLE et al., 2000). Essa última característica permitiu uma rápida disseminação dessas forrageiras e é o fator chave de sucesso a ser considerado no desenvolvimento de novas cultivares, visto que a implantação e/ou renovação utilizando semente é mais prática e mais barata que utilizando mudas (CAMPELO, 1997).

A falta de diversificação no gênero *brachiaria* spp. associada a reprodução predominantemente assexuada (apomixia) tornam a área da pecuária brasileira uma extensa monocultura clonal que a suscetibilidade a alguma praga e/ou doença coloca em risco todo um sistema produtivo. Para reverter este cenário, o mercado tem demandado novos materiais e juntamente com o avanço de estudo na área de genética e citogenética permitiu duplicar cromossomos do gênero *brachiaria* spp. (VALLE et al., 2001) e assim desenvolver híbridos interespecíficos apomíticos resultantes do cruzamento de *B. ruziziensis* com *B. decumbens* e/ou *B. brizantha*. São confeccionados híbridos interespecíficos devido a falta de genótipos sexuais nas espécies importantes, *B. decumbens* e *B. brizantha* (VALLE et al., 2008). Assim no cruzamento para confecção dos híbridos é utilizado um acesso sexual tetraploidizado artificialmente como linhagem materna e um acesso apomítico de outra espécie como linhagem paterna. Esses híbridos carregam a característica da apomixia, pois esta é dominante sobre a sexualidade (VALLE et al., 1994; SHERWOOD, 2001) permitindo que esses híbridos não segreguem com o avanço de gerações, apresentem fácil disseminação e multiplicação clonal via semente, a produção de sementes ocorre independente da necessidade de isolamento para evitar a contaminação genética. Também não existe a necessidade de multiplicação das linhagens parentais pelo obtentor da cultivar, o que facilita o processo de produção de sementes por o produtor de semente não depender dessas linhagens

para produção do híbrido que mantêm suas características genéticas entre as gerações. Com essas vantagens, os híbridos apomíticos de *brachiaria* apresentam um menor custo na produção de sementes.

Entretanto, a baixa produção de sementes viáveis é o grande problema dos híbridos interespecíficos de *brachiaria* (LUTTS et al., 1991; VALLE et al., 1991; FUZINATTO et al., 2008) e de capim elefante com milho (PAIVA, 2006). Acredita-se que esta baixa produção ocorre devido a fator genético acarretando anormalidades meióticas que reduzem a viabilidade dos gametas masculinos e prejudicam a produção de sementes por não formar endosperma, o tecido de nutrição do embrião. Dentre as anormalidades meióticas dos híbridos tem-se: segregação cromossômica irregular; cromossomo pegajoso; citocinese anormal levando a esterilidade de mais de 65% dos grãos de pólen (RISSO-PASCOTTO et al., 2005); célula de tamanho maior que as normais após citocineses (MENDES-BONATO et al., 2004); número cromossômico desbalanceado (FELISMINO et al., 2010); ausência de citocinese, ascensão precoce de cromossomos e aderência cromossômica (MENDES-BONATO et al., 2002; BOLDRINI et al., 2006); falta de sincronismo durante o período da metáfase I até o final da meiose e, também, durante a metáfase II; o genoma sexual se move de forma mais lenta na meiose que o genoma apomítico, provocando a eliminação de cromossomos, ou até mesmo do genoma inteiro, de uma das espécies; além de outras anormalidades resultante de mutações em genes que controlam o processo meiótico podendo comprometer a viabilidade gamética (VALLE et al., 2004).

Observações preliminares não publicadas com alguns genótipos de híbridos interespecíficos de *brachiaria* demonstraram que a produtividade de sementes foi diferente em diferentes regiões do Brasil Central. Essas observações indicam uma influência ambiental no sistema de produção de sementes dos genótipos híbridos, visto que a expressão da planta é resultante da interação do seu potencial genético com o meio ambiente. A existência de interação de componente ambiental com fatores genéticos na produção e qualidade das sementes de híbridos interespecíficos de *brachiaria* se constitui na hipótese deste estudo. Assim os objetivos deste trabalho são: verificar se há interação genótipo x ambiente interferindo na produção de sementes de genótipos híbridos interespecíficos de

brachiaria; qual melhor região para produzir essas sementes; e qual dos híbridos estudados é tão bom produtor de sementes quanto a cultivar Marandú.

4.2. MATERIAL E MÉTODOS

Os ensaios foram conduzidos em duas unidades da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa) localizadas em Planaltina – DF (Embrapa Cerrados) e Campo Grande – MS (Embrapa Gado de Corte). Em Planaltina, a uma altitude de 1217m, o solo foi classificado como latossolo vermelho escuro, com as coordenadas geográficas 15°35'S e 47°42'W com clima classificado como Aw tropical chuvoso de inverno seco (Köppen), com duas estações bem definidas (seca e chuvosa) com presença de invernos secos e verões chuvosos, que ocasionalmente apresentam veranicos dentro desta estação. No período de produção de sementes (novembro a maio) a média da temperatura é de 22,3°C (Figura 2.1), da umidade relativa do ar 78% (Figura 2.1) e precipitação máxima pluvial por semana de 73,3mm (Figura 2.1). Em Campo Grande, na altitude de 530m, o solo foi classificado como latossolo vermelho escuro distrófico, com as seguintes coordenadas geográficas 20°27'S e 54°37'W e clima classificado como Aw tropical chuvoso de savana (Köppen) caracterizado pela má distribuição das chuvas com ocorrência bem definida de um período seco durante os meses mais frios do ano e um período chuvoso durante os meses de verão. No período de produção de sementes (novembro a maio) a média da temperatura é de 24,3°C (Figura 2.1), da umidade relativa do ar 73% (Figura 2.1) e precipitação máxima pluvial por semana de 65,4mm (Figura 2.1).

Foram utilizados quatro genótipos híbridos (HBGC348; HBGC450; HBGC148 e HBGC080) de *brachiaria ruzizensis* tetraploidizada (sexual) com diferentes acessos de *B. brizantha* tetraplóide (apomítico) e 1 genótipo híbrido (HBGC011) de *B. ruzizensis* tetraploidizada (sexual) com *B. decumbens* cv. Basilisk (apomítico). Todos esses genótipos híbridos foram selecionados pelo programa de melhoramento genético da Embrapa Gado de Corte. Como material testemunha foi utilizado a cultivar comercial apomítico *B. brizantha* cv. Marandú.

A implantação dos ensaios foi realizada através de mudas, dispostas em linhas espaçadas em 0,70m com distância entre plantas de 0,30m. As parcelas

mediam 4m x 2,80m (11,2m²), sendo considerado 3,64m² de área útil. O delineamento experimental utilizado foi de blocos ao acaso com quatro repetições. A condução dos ensaios em cada região está descrita a seguir:

- Planaltina (DF)

1º ano – a implantação do campo foi realizada em 05 de janeiro de 2009. Em 19 de janeiro após as mudas estarem estabelecidas realizou-se um corte de uniformização e na sequência adubação nitrogenada (50kg N/ha) de cobertura em linha na forma de uréia. A colheita das sementes foi realizada na inflorescência no período de 07 de maio a 08 de julho de 2009.

2º ano – com o início das chuvas, em 22 de outubro de 2009, realizou-se um corte de uniformização, retirou-se a palhada e deixou-se resíduo de 20 cm nas plantas (HUMPHREYS, 1979). Após, realizou-se adubação nitrogenada (50kg N/ha), na forma de uréia, e de fósforo (50kg P₂O₅/ha) na forma de super fosfato simples, aplicados em cobertura a lanço. Uma segunda adubação foi realizada em 14 de janeiro de 2010 utilizando-se 50kg N/ha (uréia) e 44kg P₂O₅/ha (super fosfato simples). As referidas adubações foram realizadas segundo resultado da análise de solo realizada na Embrapa Cerrados (Tabela 2.1). A colheita das sementes foi realizada no período de janeiro a abril de 2010 a semelhança do primeiro ano.

- Campo Grande (MS)

Com mudas provenientes da área experimental da Embrapa Cerrados do primeiro ano de produção realizou-se a implantação do campo experimental em 09 de novembro de 2009. A área recebeu preparo de solo convencional sendo aplicado 2 toneladas de calcário por hectare e adubada com o fertilizante formulado 04.20.20 (300kg/ha), conforme resultado da análise de solo realizada na Embrapa Cerrados (Tabela 2.2). Adubações nitrogenadas com 50kg N/ha na forma de uréia, foram realizadas em 28 de novembro, em linha, e em 29 de janeiro a lanço acompanhada de super fosfato simples (42kg P₂O₅/ha). A colheita das sementes foi realizada no período de março a junho de 2010 a semelhança da realizada em Planaltina.

Os dados climatológicos referentes à temperatura (Figura 2.2), umidade relativa (Figura 2.3) e precipitação pluvial (Figura 2.4) foram acompanhados durante todo o período de produção de sementes, com informações coletadas na Estação

Meteorológica da Embrapa Cerrados no ensaio de Planaltina e com dados coletados do INMET no ensaio de Campo Grande. Nas Figuras 2.2, 2.3 e 2.4 a linha vermelha representa o parâmetro na condição de mínima e a linha azul na condição de máxima. As linhas tracejadas são a média dos últimos 10 anos da condição máxima e mínima em cada região.

4.2.1. Morfologia

Os materiais em estudo, com exceção da cv. Marandú, não tinham suas características morfológicas descritas. Assim, para identificação dessas características cada genótipo teve seus descritores morfológicos avaliados conforme determinação de Instruções para Execução dos Ensaio de Distingibilidade, Homogeneidade e Estabilidade (DHE) para espécies de *brachiaria brizantha*, *B. decumbens*, *B. ruziziensis* e híbridos (BRASIL, 2001) com adaptações. Os descritores foram avaliados em 40 plantas (4 repetições de 10 plantas) (Tabela 2.12).

4.2.2. Fenologia

As fases da fenologia reprodutiva dos genótipos foram avaliadas durante o segundo ano de produção de sementes em Planaltina e durante o primeiro ano em Campo Grande, utilizando-se como unidade o número de dias a partir do plantio/corte, foram avaliados os seguintes estágios fenológicos:

- Emborrachamento (formação das inflorescências ainda dentro da folha bandeira)
- Início do florescimento (5-10 inflorescências para fora da folha bandeira/m²) (BOONMAN, 1971)
- Florescimento pleno (mais de 10 inflorescências em antese/m²) (SOUZA, 1995)
- Início da degrana (quando as primeiras espiguetas se soltarem do ráculo)
- Fim da degrana (quando não existiam espiguetas presas aos racemos)

Em plantas dos ensaios foram marcadas com fita crepe cinco inflorescências antes da antese. Essas foram observadas diariamente até a antese completa dos racemos para identificação do comportamento de antese dentro do racemo.

4.2.3. Viabilidade polínica

Nos dois ensaios foi analisada a viabilidade polínica dos genótipos em estudo na primeira florada. Quando os genótipos estavam no estágio de pleno florescimento às 16h foram coletadas 12 inflorescências/bloco com uma espiguetas no terço médio do racemo em antese. As hastes dessas inflorescências foram colocadas em água e mantidas no laboratório a temperatura ambiente. Na manhã do dia seguinte à coleta, retirou-se uma espiguetas em pré-antese (espiguetas fechada ao lado da espiguetas em antese) de cada inflorescência. Da espiguetas em pré-antese, foram obtidas três anteras do flósculo hermafrodita em uma lâmina de microscopia. Sobre as anteras colocou duas gotas de meia concentração de sal B5 sem hormônio (GAMBORG et al., 1968) enriquecido com 6,5% de sacarose (DUSI e WILLEMSE, 1999) e cinco gotas de 0,5mg/ml do corante lissamine green. Sobre esta gota as anteras foram cortadas com a ponta de uma agulha fina, os grãos de pólen espalhados e os resíduos das anteras retirados. Uma lamínula foi colocada sobre a gota contendo os grãos de pólen e levadas ao microscópio ZEISS com lente objetiva de ampliação de 10x para obtenção de fotografias utilizadas nas avaliações. Na avaliação foi identificado pólen viável (coloração marrom) e inviável (coloração verde e transparente) (HOLMBERG, 1961). De cada lamina foram fotografadas quatro regiões para quantificação de cada fração de pólen. Os resultados foram expressos em porcentagem de pólen viável.

4.2.4. Rendimento e componentes de produção de sementes

Nos dois ensaios, para colheita de sementes sem perdas por degrana, inflorescências de 4 plantas (0,84m²) de cada parcela foram colocadas dentro de coletores. Cada coletor foi confeccionados com clarite 0,6m x 0,84m costurado em pedaços de 0,03m de comprimento de cano de PVC de 250mm de diâmetro e presos em estacas de madeira de 0,5m com parafusos. Este conjunto foi fixado no

campo à estaca de 1,5m. As inflorescências foram colocadas dentro do coletor e a parte de baixo do mesmo foi amarrada com um barbante, para que a semente degranada (madura) não caísse ao chão. A cada 15 dias foram colhidas as sementes contidas nos coletores para evitar deterioração das mesmas no campo. Com essas sementes foram avaliados os seguintes componentes de produção de sementes:

- Número de inflorescência por planta.
- Número de racemo por inflorescência – foram contados racemos de 40 inflorescências (10 inflorescências/bloco).
- Número de pontos de ocorrência de espiguetas/racemo - contados nos racemos de 40 inflorescências (10 inflorescências/bloco) os pontos de espiguetas. Não foram contados as espiguetas pouco desenvolvidas, aquelas pequeninas, que eram 1/3 menor que o tamanho da maioria.
- Número de semente/grama.
- Produtividade de sementes puras por hectare.

4.2.5. Qualidade fisiológica de sementes

As sementes colhidas nos coletores dos dois ensaios foram beneficiadas na Unidade de Beneficiamento, acondicionadas em sacos e armazenadas sob condição de câmara fria da Embrapa Cerrados até a colheita da semente de todos os genótipos. Após, as sementes foram homogenizadas e divididas pelo método manual de divisão sucessiva (BRASIL, 2009) por bloco e foi realizou-se as avaliações de qualidade fisiológica das mesmas no Laboratório de Análise de Sementes da Embrapa Cerrados, através das seguintes determinações:

- Teste de pureza – antes do beneficiamento quatro repetições de 18 gramas de cada material foram passadas pelo soprador na abertura 4cm separando material pesado e leve (semente chocha, insetos, impurezas). A porção pesada foi verificada sobre uma mesa lisa com auxílio de uma lupa para retirada de sementes chochas (remanescentes) entre as sementes puras. Todas as frações foram pesadas e o resultado expresso em porcentagem de semente pura (BRASIL, 2009) e de semente chocha.

- Peso de 1000 sementes – quatro repetições de 1000 sementes de cada material foram pesados e o resultado expresso em gramas.
- Teste de germinação – antes de iniciar o teste as sementes foram escarificadas com 0,3ml de ácido sulfúrico concentrado por grama de semente, pelo período de 15 minutos e secas por 24 horas a temperatura ambiente (FRANÇA et al., 2010). Após isso quatro repetições de 200 sementes de cada genótipo foram distribuídas sobre duas folhas de papel mata-borrão previamente umedecidas com 13ml de solução de 0,2% de KNO_3 (GARCIA e CÍCERO, 1992) colocadas em gerbox e levadas ao germinador tipo BOD em temperatura alternada de 20°C sem luz (16 horas) e 35°C com luz (8 horas) (BRASIL, 2009). Durante o teste quando observado substrato com umidade insuficiente, foram feitas adições periódicas e adequada para germinação com água destilada, para manter a umidade homogênea entre os gerbox. As avaliações foram realizadas a cada sete dias, mas a última e válida para o teste ocorreu com vinte e oito dias após a instalação do teste, visto que aos vinte e um dias (BRASIL, 2009) haviam várias sementes em estágio inicial de germinação. Os resultados foram expressos em porcentagem de plântulas normais.
- Primeira contagem da germinação – realizada conjuntamente com o teste de germinação, com contagem ao 7º dia após a instalação do teste de germinação.
- Emergência de plântulas – quatro repetições de 200 sementes (escarificadas com ácido sulfúrico semelhante ao realizado no teste de germinação) de cada genótipo foram semeadas em bandejas plásticas utilizando areia lavada como substrato. O teste foi desenvolvido em casa de vegetação com avaliação aos 42 dias.
- Índice de velocidade de emergência – realizado juntamente com o teste de emergência. O índice foi calculado segundo a expressão proposta por Maguire (1962), onde:

$$VG = + \frac{N1}{D1} + \frac{N2}{D2} + \frac{Nn}{Dn}$$
 tendo-se: VG = velocidade de germinação N1, N2, ..., Nn = número de plântulas germinadas a um, dois e n dias após a semeadura, respectivamente. D1, D2, ..., Dn = número de dias após a implantação do teste. Foram realizadas contagens diárias a partir da

emergência da primeira plântula até a estabilização da emergência aos 42 dias.

- Teste de tetrazólio – quatro repetições de 50 semente foram embebidas entre papel à 30°C/16 horas, em seguida cortadas longitudinalmente, mantendo as duas metades da cariopse ligadas pelas glumelas, e imersas em solução aquosa (0,1%) de 2,3,5 cloreto de trifetil-tetrazólio a 37°C/3h (DIAS e ALVES, 2008) e em seguida foi realizado a identificação das sementes viáveis e inviáveis na lupa, mediante ilustrações de Dias e Alves (2000). O resultado foi expresso em porcentagem de semente viável.

4.2.6. Delineamento experimental

O delineamento utilizado foi de blocos ao acaso, em esquema fatorial 6x2 (genótipos x locais), com quatro repetições. Foi realizada uma análise multivariada com todas as variáveis para obtenção de um dendrograma que permitisse a separação dos genótipos em grupos semelhantes. De cada grupo foi calculado a matrix de correlações entre todas as variáveis e realizado o diagnóstico de multicolinearidade, em que se mantiveram na análise as variáveis que proporcionaram multicolinearidade fraca, ou seja, o número de condições menor que 100, conforme recomendação de Cruz e Regazzi (1994). Em seguida, realizou-se a análise de trilha entre as demais variáveis, em que a produtividade de sementes foi considerada como dependente principal e, após o diagnóstico da multicolinearidade, as demais variáveis foram consideradas independentes. Para a análise de correlação entre as variáveis estudadas utilizou-se o aplicativo SAS[®] Learning Edition 2.0 (SAS, 2004) e para diagnóstico de multicolinearidade e análise de trilha utilizou-se o aplicativo Genes[®] (CRUZ, 2006). Simultaneamente a esta análise os dados foram submetidos à análise de variância e comparação de médias pelo teste de Tukey entre locais ($p \leq 0,05$) e Dunnett entre genótipos em cada local ($p \leq 0,05$) tendo neste, a cultivar Marandú como padrão. Alguns dados expressos em porcentagem foram transformados em $(x+0,5)^{1/2}$ (primeira contagem e germinação) e alguns dados numéricos provenientes da própria contagem das variáveis foram transformados em $(x)^{1/2}$ (inflorescência por planta, produtividade e quantidade de racemo por inflorescência). Os resultados foram apresentados com as médias

originais. Para as análises de comparação de média foi utilizado o programa estatístico Sisvar[®] (FERREIRA, 2000).

4.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.3.1. Análise de trilha

As interações significativas obtidas entre os genótipos e os ambientes (Tabela 2.3) demonstraram necessidade de estudo de correlação de trilha na busca da causa para a baixa produtividade de sementes. Através do dendrograma (Figura 2.5) foi possível identificar cinco grupos de genótipos com características em comum. O grupo I foi formado pelos genótipos Marandú e HBGC148 ambos na condição de Campo Grande. O grupo II ficou representado apenas pelo genótipo Marandú na condição de Planaltina. No grupo III ficaram os genótipos HBGC348 na condição de Planaltina e de Campo Grande e o HBGC148 na condição de Planaltina. O grupo IV englobou os genótipos HBGC011, HBGC450 e HBGC080 na condição de Planaltina e o grupo V os mesmos genótipos, entretanto na condição de Campo Grande. Pela análise de trilha os grupos I, II e III (Tabela 2.9) apresentaram baixo coeficiente de determinação (R^2), indicativo que as variáveis independentes pouco explicam a variação da produtividade, e alto valor de efeito residual, indicando que nenhuma das variáveis estudadas contribuiu significativamente com a produtividade de semente nesses grupos. Quando o ambiente interage nas relações das variáveis independentes a maior parte da matriz de correlação fenotípica apresenta multicolinearidade de moderada a forte (CARVALHO et al., 2002) e isso ocorreu nesses três grupos (dados não apresentados). Nesses três grupos fica claro que o ambiente é um dos responsáveis por explicar em média 83% da produtividade de sementes, entretanto neste trabalho não foi possível identificar qual fator ambiental foi o responsável, visto que os mesmos foram eliminados durante o diagnóstico de multicolinearidade. Os genótipos que constituem esses três grupos foram os que mais produziram sementes, de forma que a interação genótipo x ambiente é tal que as variáveis avaliadas não permitiram separá-los em grupos por genótipo ou por região, por esses se confundirem.

O grupo IV e V apresentaram coeficiente de determinação elevado, 0,7621 (Tabela 2.10) e 0,6636 (Tabela 2.11) respectivamente, permitindo dizer que nestes grupos as variáveis independentes explicam grande parte da variação da produtividade. Em ambos os grupos o ambiente teve interferência na produtividade, entretanto bem menor que a interferência dos grupos I, II e III. A interferência ambiental no grupo IV foi menor que no V, com 48% (Tabela 2.10) e 58% (Tabela 2.11) de interferência, respectivamente em Planaltina e Campo Grande. Isso indica que na condição de Planaltina o ambiente interferiu em menor proporção nos genótipos HBGC011, HBGC450 e HBGC080 quando comparado a interferência ambiental da condição de Campo Grande, sugerindo que a condição de Planaltina favorece a produção de sementes.

4.3.2. Análise em conjunto por comparação de genótipos em locais

4.3.2.1. Marandú

A produção de inflorescência por planta em Planaltina foi maior que em Campo Grande com uma superioridade média de 55 inflorescências por planta (Tabela 2.5). Por sua vez as plantas desenvolvidas em Campo Grande tiveram maior produção de racemos por inflorescência e de número de espiguetas por racemo que as plantas desenvolvidas em Planaltina (Tabela 2.5). Desta forma a menor quantidade de inflorescência produzida pelas plantas em Campo Grande foi compensada pelos outros componentes de produção de sementes aqui demonstrados (racemo/inflorescência e espiguetas/racemo) de forma que em ambos locais a quantidade de espiguetas produzidas por planta foi similar com 5460 e 5465 em Planaltina e Campo Grande respectivamente (Tabela 2.5).

O local de produção não deve ter interferido na fisiologia das plantas quanto a sua capacidade de translocação de nutrientes para as sementes, pois em ambos locais houve uma média de 130 sementes por grama (Tabela 2.6), não se diferenciando significativamente.

Com base nesses componentes de produção tanto Planaltina como Campo Grande são locais adequados para o desenvolvimento fisiológico das plantas de

Marandú com tendência de produzir sementes em similar quantidade em ambos locais.

Mesmo com os componentes de produção indicando que em ambos locais a produtividade de sementes seria similar, isso não foi observado na prática, pois a produtividade de sementes das plantas desenvolvidas em Planaltina foi de 675,28 kg/ha enquanto em Campo Grande foi de 213,46 kg/ha (Tabela 2.6), uma inferioridade de 68%. Essa diferença também pode ser observada através da pureza de sementes, valor esse que representa o percentual de sementes cheias produzida em cada local de produção. Em Planaltina 68% da produção representavam semente cheia (Tabela 2.7) enquanto em Campo Grande estas representaram apenas 44,96% da produção. Nas duas regiões a porcentagem de enchimento foi superior ao observado por Souza (2001) cujo máximo foi de 35% de enchimento devido à apomixia. Isso indica que o genótipo Marandú na condição de Planaltina tem seu potencial produtivo favorecido enquanto em Campo Grande algo o afetou não permitindo que sua produtividade fosse tão boa quanto à de Planaltina.

Pela análise de trilha foram usadas dentre as variáveis independentes a somatória térmica de máxima, mínima e de precipitação pluvial durante as fases reprodutivas, mas estes foram eliminados no diagnóstico de multicolinearidade não sendo possível os relacionar a variação de produtividade nos dois locais, entretanto a análise de trilha mostra que o ambiente e outros fatores tiveram 81% de responsabilidade na produção em Planaltina (Tabela 2.9) enquanto em Campo Grande eles foram responsáveis por 85%. Isso demonstra que Planaltina favorece a produção de semente.

Alguns fatores ambientais ocorridos na fase reprodutiva podem explicar a diferença produtiva deste genótipo nas diferentes condições ambientais. O primeiro é a temperatura, pois no período reprodutivo em Planaltina a temperatura máxima alcançou 32,3°C e a mínima de 16°C, enquanto em Campo Grande chegou a 35,8°C e 20,5°C respectivamente (Figura 2.2). Com relação à menor temperatura alcançada nas duas áreas de produção, podemos inferir que ela não tenha inviabilizado os polens, pois em Planaltina as plantas ficaram expostas a temperatura inferior a de Campo Grande e mesmo assim conseguiram ter maior número de sementes cheias, além do que segundo França (2011) os grãos de pólen deste genótipo quando desenvolvidos na temperatura de 15°C não apresentam problema de viabilidade.

Entretanto a alta temperatura pode ter sido o fator responsável pelo baixo enchimento de sementes devido a inviabilização polínica, visto que em Campo Grande durante o estágio de desenvolvimento polínico a temperatura máxima foi 3,5°C maior que em Planaltina e segundo França (2011) o acréscimo de temperatura aumenta a probabilidade de inviabilizar os grãos de pólen. O segundo fator ambiental que pode ter interferido na produtividade de sementes é a incidência de chuva somada ao efeito do fator alta temperatura na condição de Campo Grande que pode ter inviabilizado os polens, pois em apenas uma semana durante a fase reprodutiva choveu 139,38mm, enquanto em Planaltina o máximo de precipitação pluvial nesta fase foi de 41,2mm (Figura 2.4). No estudo de viabilidade polínica foi observado que os grãos de pólen produzidos em Campo Grande apresentaram viabilidade significativamente inferior a de Planaltina com 65% e 75% respectivamente (Tabela 2.7), sendo este um indício que a condição de Campo Grande acima citada teve interferência na viabilidade polínica e conseqüentemente no enchimento da semente.

Para a cultivar Marandú infere-se que a elevada temperatura e as elevadas precipitações sobre o campo de produção em Campo Grande foram fatores que interferiram na produtividade de sementes, pois as altas temperaturas podem ter inviabilizado o pólen ou comprometido o estigma impedindo a aderência e germinação do grão de pólen e as precipitações podem ter removido os grãos de pólen das anteras ou os umedecido causando deterioração. Desta forma os grãos de pólen de Marandú desenvolvidos em Campo Grande apresentaram baixa viabilidade o que foi expresso no baixo enchimento das sementes. Entretanto essa interferência do ambiente afetou somente na produtividade de sementes, pois estas foram fisiologicamente semelhantes tanto através da germinação quanto no vigor (Tabela 2.8) independente do local de produção.

4.3.2.2. HBGC348

Observou que o genótipo híbrido HBGC348 é uma gramínea tropical de porte alto, de hábito de crescimento ereto e sem estolões. Suas folhas são arqueadas com alta pilosidade na bainha. Suas lâminas são largas, de comprimento médio, forma linear e alta pilosidade nas duas faces. As inflorescências possuem hastes florais

curtas com 11,3cm de comprimento em média, e eixo floral com média de 6,0cm. As espiguetas são dispostas em fila dupla nos racemos que são médios com 7,5cm de comprimento em média. Suas flores apresentam estigma receptivo de coloração branca e, após, a antese quando não está receptivo tem coloração amarelo envelhecido. As espiguetas não possuem pilosidade e tem comprimento longo com 5,8cm e largura média com 2,4cm. A sequência da abertura das inflorescências de HBGC348 é diferente das observadas na cultivar Marandú, pois neste híbrido após o emborrachamento, as primeiras flores começam a se abrir ainda com o racemo dentro da folha bandeira, estas flores entram em antese a partir do terço superior do racemo em seguida em direção a parte basal do racemo. Juntamente com a abertura das flores a inflorescência vai saindo de dentro da folha bandeira. Após a inflorescência sair totalmente de dentro da folha bandeira ocorre início e final da degrana. Todo esse processo em cada inflorescência dura em média 31 dias. HBGC348 é um híbrido de ciclo tardio com média de 190 dias, e suas fases fenológicas são mais tardias em Campo Grande que em Planaltina com média de 21 dias de diferença (Tabela 2.4).

Em cada planta desenvolvida em Planaltina a quantidade de inflorescência produzida foi superior àquela observada em Campo Grande, com 68 e 37 inflorescências por planta, respectivamente (Tabela 2.5). Entretanto a quantidade de racemo em cada inflorescência foi superior em Campo Grande (Tabela 2.5). Como a quantidade de espiguetas por racemo foi similar nos dois campos de produção (Tabela 2.5), pode-se dizer que em Campo Grande a superioridade na quantidade de racemo compensou a menor quantidade de inflorescência produzida, semelhante à compensação observada em *B. decumbens* (STÜR e HUMPHREYS, 1985) de forma que em ambos os campos a quantidade de espiguetas foi estatisticamente similar com média de 5915 espiguetas por planta (Tabela 2.5). O número de semente por grama foi similar nos dois locais de produção com média de 105 sementes por grama (Tabela 2.6), de forma que a translocação de nutrientes da planta para a semente ocorreu da mesma forma nos dois locais, onde o enchimento de sementes foi semelhante nas duas regiões permitindo que o máximo potencial de enchimento fosse alcançado. Neste caráter é possível observar a heterose híbrida, pois suas sementes são maiores que a média do tamanho das espécies de seus

progenitores onde *B. brizantha* tem 150 sementes por grama e *B. ruziziensis* tem 230 sementes por grama (SOUZA, 1991).

Com base na ação compensatória observada nos componentes de produção de sementes não houve diferença significativa entre locais quanto à de produção, com produtividade média de 163 kg/ha de sementes (Tabela 2.6). Entretanto, em valor absoluto a diferença de produtividade entre Planaltina e Campo Grande foi de 40,23kg/ha a mais em Planaltina e isso representa uma grande quantidade de semente, pois considerando uma taxa de semeadura de 4kg de sementes puras por hectare, com a produtividade de sementes da área de Planaltina semeia-se 10 hectares a mais quando comparado a produtividade de Campo Grande. Essa diferença provavelmente seja um reflexo da diferença de viabilidade polínica que em Planaltina foi de 82,68% contra 76,03% em Campo Grande. Essa excelente viabilidade polínica em contraste a reduzida produção de semente é típica em *B. brizantha* sexuada (dados não publicados citados em DUSI et al., 2004). No híbrido HBGC348 uma possível explicação pode ser atribuída ao fato de que a avaliação polínica foi realizada na primeira floração, período no qual a temperatura mínima registrada em ambos locais de produção foi superior àquela registrada em todo restante do ciclo reprodutivo (Figura 2.2), uma condição que beneficia a ocorrência de alta viabilidade polínica possibilitando inclusive valores maiores que a viabilidade máxima de 55% do híbrido encontrada por Mendes-Bonato et al. (2006) e que também explica a origem das sementes produzidas. Sendo o híbrido tardio as plantas receberam durante o estagio reprodutivo, temperaturas de 13,6°C e 6,4°C em Planaltina e Campo Grande respectivamente (Figura 2.2) que podem reduzir ou impedir a produção de sementes (ANDRADE et al., 1981) uma vez que estão abaixo da temperatura base inferior das braquiárias que se situa em torno dos 15°C (MENDONÇA e RASSINI, 2006; GUIMARÃES et al., 2007). Condições com temperatura menores que esse limite reduzem ou paralizam o desenvolvimento da planta (RODRIGUES et al., 1993) anulando o acúmulo de fitomassa (McWILLIAM, 1978). Além disso, segundo França (2011), o genótipo híbrido HBGC348 tem baixa viabilidade polínica quando submetido a temperatura inferior a 24,4°C, o que permite a interferência de que as baixas temperaturas observadas tenham resultado em polens inviáveis provavelmente pela manifestação de anormalidade meiótica dv, que

ocorre nesse híbrido (MENDES-BONATO, et al., 2006) e que pode se expressar devido a mudanças nas condições ambientais (SHAMINA et al., 2000).

Observou-se baixo número de sementes formadas (Tabela 2.6) em relação à quantidade de espiguetas produzidas (Tabela 2.5) representando apenas 6% de semente cheia, valor este inferior aos 15-20% de espiguetas cheias observado em gramíneas forrageiras (CROWDER e CHHEDA, 1982). Como houve formação de grãos de pólen, então a alta quantidade de semente chocha (Tabela 2.7) deste híbrido, pode ocorrer por conta da falta de pólen viável em determinados momentos da produção, onde o estigma se encontra receptivo, mas o pólen foi inviabilizado pelo ambiente devido à baixa temperatura (KUANG e TU, 1935), impedindo a fecundação para formação do endosperma, em especial na condição de Campo Grande, que teve durante o período reprodutivo vários momentos com temperatura inferior a 10°C, explicando assim a inferioridade de produtividade de semente em Campo Grande.

Na condição de Campo Grande este híbrido conseguiu facilmente competir em produtividade de sementes com a cv. Marandú, pois estatisticamente não diferiram entre si com uma produtividade média de 178,14kg/ha (Tabela 2.6) mesmo com pureza de 24,62% (Tabela 2.7), valor baixo ao comparar com os 44,96% de pureza do Marandú. Já em Planaltina essa situação não foi observada, visto que o híbrido HBGC348 teve produtividade de sementes 73% menor que o Marandú (Tabela 2.6), fato ocorrido por HBGC348 ser tardio sofrendo na condição de Planaltina infestação de mela, da mesma forma que Souza (1995) também observou em acessos tardios em Planaltina, cuja mela formou uma camada negra envolvendo as espiguetas e assim reduzindo a produção de sementes.

As sementes dos dois campos de produção apresentaram potencial germinativo e viabilidade (Tabela 2.8) similar, entretanto o vigor das sementes de Planaltina foi superior ao vigor das sementes produzidas em Campo Grande (Tabela 2.8). Como essa característica é bastante afetada por condições ambientais na colheita, o menor vigor das sementes produzidas em Campo Grande pode ser atribuída a ocorrência de chuvas durante o período que as sementes degranadas ficaram nos coletores.

Além da interferência ambiental na viabilidade polínica o genótipo HBGC348 também sofreu interferência de fatores genéticos manifestados por anormalidade

funcional dos órgãos reprodutivos que impediram o sucesso da polinização (RAGHAVAN, 1997). No híbrido HBGC348, as anteras se rompem no início da antese numa condição que ainda estão envoltas pelas glumelas e, a não exposição das anteras para fora da espiguetas (ALVES, 2000) impede a disseminação polínica. Também deve ser mencionado que antera rompida faz com que os grãos viáveis reduzam sua viabilidade dentro da espiguetas visto que a longevidade polínica no gênero *brachiaria* é curta (HESLOP-HARRISON, 2000). Assim, quando ocorre a exposição das anteras para fora da espiguetas a probabilidade da existência de pólen viável era muito pequena. Esse atraso entre abertura da gluma e saída da antera pode ter sido agravado pelo ambiente, pois elevada temperatura causou essa condição isso em *Paspalum* (BURTON, 1942) e *Setaria* (BOYCE e SILSBURY, 1969 apud LOCH, 1980; BOYCE, 1970 apud LOCH, 1980).

4.3.2.3. HBGC011

Observou que o genótipo híbrido HBGC011 é uma gramínea tropical de porte baixo com hábito de crescimento ereto e estolonífera. Suas folhas possuem arquitetura ereta com alta pilosidade na bainha. As lâminas das folhas possuem comprimento curto e largura estreita, com forma linear e alta pilosidade nas duas faces. As inflorescências possuem hastes florais mediana com 15,2cm de comprimento em média, e eixo floral curto com 3,6cm em média. As espiguetas são dispostas em fila dupla nos racemos que são curtos com 4,3cm de comprimento em média. Suas flores apresentam estigma receptivo com coloração vinácea e quando não receptivo com coloração marrom. As espiguetas são medianamente pilosas, curtas de comprimento com 5,08cm e estreitas de largura com 2,0cm. A sequência de abertura das inflorescências deste híbrido é semelhante a do Marandú com emborrachamento, saída de toda a inflorescência da folha bandeira, início da abertura das primeiras flores do racemo a partir do terço mediano com sequência do tipo divergente, ou seja, abrindo para as extremidades semelhante a *B. decumbens* (NDIKUMANA, 1985) e *B. brizantha* (ALVES, 2000), abertura de todas as flores no racemo, início da degrana e final da degrana. Todo esse processo em cada inflorescência dura em média 25 dias. HBGC011 é um genótipo de ciclo precoce com 142 dias, sendo que seu ciclo total em Planaltina e Campo Grande não diferiu,

mas suas fases reprodutivas são mais precoces em Planaltina que em Campo Grande com média de 15 dias de diferença (Tabela 2.4).

A produção de inflorescência por planta em Planaltina foi maior que a de Campo Grande com uma superioridade média de 93 inflorescências por plantas (Tabela 2.5). Por sua vez, as plantas desenvolvidas em Campo Grande tiveram maior produção de racemos por inflorescência e de número de espiguetas por racemo que as plantas desenvolvidas em Planaltina e desta forma a quantidade de inflorescência inferior produzidas pelas plantas em Campo Grande foi compensada pelos outros componentes de produção de sementes (racemo/inflorescência e espiguetas/racemo) resultando que em ambos locais o número de espiguetas produzidas por planta foi estatisticamente similar (Tabela 2.5). Os componentes de produção deste genótipo, responsáveis pela compensação na produtividade foram similares aos observados em HBGC348 deste estudo e em *B. decumbens* por Stür e Humphreys (1985). Pela análise de trilha tanto na condição de Planaltina quanto em Campo Grande quanto mais cedo ocorrer o final da degrana, ou seja, quanto mais precoce for o florescimento do genótipo (Tabelas 2.10 e 2.11) maior a produtividade de semente.

Em um grama há mais sementes produzidas em Campo Grande do que em Planaltina (Tabela 2.6), ou seja, as sementes produzidas em Campo Grande possuem um endosperma mais leve, provavelmente devido a translocação de nutrientes quando comparado as produzidas em Planaltina, desta forma como os tratos culturais foram semelhantes nas duas áreas, o ambiente pode ter provocado algum efeito às plantas desse genótipo em Campo Grande não as permitindo translocar os nutrientes das plantas para a semente tão eficiente como ocorreu em Planaltina. Com base nos componentes de produção, em Planaltina, têm uma tendência de produção de espiguetas similar a de Campo Grande (Tabela 2.5), entretanto as de Planaltina com sementes mais pesadas.

Conforme os componentes de produção indicaram a produção de sementes em ambos locais apresentaram similaridade e isso foi observado na prática com 39,50 kg/ha e 22,52 kg/ha, respectivamente em Planaltina e Campo Grande (Tabela 2.6). Essa menor produtividade em valor absoluto em Campo Grande pode ser devido a condição ambiental em Campo Grande ter mais influência na produtividade que em Planaltina conforme observado pelo resíduo da análise de trilha de

Planaltina com 48% (Tabela 2.10) e de Campo Grande com 58% (Tabela 2.11). Entretanto as produtividades encontradas foram muito baixas quando comparado com a produtividade do material comercial Marandú e com outros híbridos deste estudo (HBGC348, HBGC450 e HBGC148) o que faz que o híbrido HBGC011 não tenha potencial para substituir cultivares já disponíveis no mercado devido sua falta de competitividade produtiva, uma vez que a produtividade de sementes aliada ao valor forrageiro são parâmetros de melhoramento que viabilizam ou não a forrageira no mercado.

A produção de sementes de *brachiaria* está intimamente ligada à viabilidade de grão de pólen para formação do endosperma, e em estudo com pólen desse genótipo tanto em Planaltina quanto em Campo Grande a viabilidade não ultrapassou 30% (Tabela 2.7) valor baixo quanto aos 50-80% de viabilidade adequado para fecundação (KHATUN e FLOWERS, 1995), indicativo de que este genótipo não apresenta viabilidade gamética, um sinal de problema genético (RAGHAVAN, 1997) pois alta porcentagem de pólen inviável é indicativo de irregularidade meiótica (STEBBINS, 1971) em si, provavelmente devido a hibridação que gera o abortamento gamético (MENDES-BONATO et al., 2004; RISSO-PASCOTTO et al., 2004 a, b; 2005; FELISMINO et al., 2010). Essa inviabilidade por motivo genético pode ser o motivo do elevado número de sementes chochas na faixa dos 95% (Tabela 2.7) em ambos os campos de produção. Entretanto o ambiente, mesmo assim, ainda tem sua parcela de responsabilidade na inviabilidade do gameta masculino, pois conforme observado por França (2011) a variação de temperatura tem influencia na viabilidade polínica.

Além da inviabilidade gamética, outro fator genético que inviabiliza a polinização deste híbrido é um distúrbio no funcionamento floral (RAGHAVAN, 1997), pois normalmente em braquiária as glumelas se intumescem, se rompem e a antera sai fechada de dentro da espiguetas (DUSI, 2001) para só então se romper. No híbrido HBGC011, entretanto as espiguetas se rompem, a antera fica exposta, mas não se rompe impedindo que a pequena quantidade de grãos de pólen maduros sejam disseminados. Isso pode ser uma consequência da má formação polínica, pois os polens após formados se expandem e tendem a romper a antera (MATSUI et al., 2000), mas estes polens podem não ter se formado adequadamente e por isso não são disseminados. Todos esses fatores explicam o fato de que nos

dois locais apenas 0,7% das espiguetas produzidas se encherem formando semente ao contrário do Marandú em Planaltina que das 5460 espiguetas (Tabela 2.5) encheu 1785 (Tabela 2.6), ou seja, 32%.

As poucas sementes produzidas por este híbrido apresentaram potencial germinativo similar (Tabela 2.8) quando produzidas em ambos locais de estudo, entretanto as sementes produzidas em Campo Grande apresentaram vigor inferior as sementes produzidas em Planaltina (Tabela 2.8). Esse baixo vigor das sementes se deve basicamente as plantas desenvolvidas em Campo Grande ter tido problema fisiológico durante seu desenvolvimento como já discutido anteriormente e isso acarretou uma menor translocação de nutrientes da planta para a semente.

4.3.2.4. HBGC450

Observou que o genótipo híbrido HBGC450 é uma gramínea tropical de porte mediano com hábito de crescimento ereto e sem estolões. Suas folhas são arqueadas com bainha glabra. A lâmina das folhas é estreita na largura, com comprimento médio, forma linear e com pouca pilosidade na face ventral. As inflorescências possuem hastes florais medianas com 14,0cm de comprimento em média e eixo floral longo com média de 7,0cm. As espiguetas são dispostas em fila única nos racemos que são longos com 10,9cm de comprimento em média. Suas flores apresentam estigma receptivo de coloração vinho com a parte ramificada branca e após a antese quando não está receptivo tem coloração preto com a parte ramificada branca. As espiguetas são glabras e tem comprimento longo com 5,6cm e largura estreita com 2,1cm em média. A sequência da abertura das inflorescências de HBGC450 é diferente de Marandú, pois após o emborrachamento as primeira flores começam a se abrir ainda com o racemo dentro da folha bandeira, estas flores entram em antese no racemo do tipo divergente (NDIKUMANA, 1985). Juntamente com a abertura das flores a inflorescência vai sendo exposta por fora da folha bandeira. Antes de todas as flores do racemo sofrerem antese as que primeiro se abriram já começam a degranar. Todo esse processo em cada inflorescência dura em média 28 dias. HBGC450 é um genótipo de ciclo precoce com média de 138 dias (Tabela 2.4).

A produção de inflorescência nas plantas desenvolvidas em Planaltina foi maior que nas plantas de Campo Grande com uma superioridade média de 73 inflorescências por planta (Tabela 2.5), pois temperatura diurna alta inibe a produção de inflorescência (PRITCHARD e DELACY, 1974) e em Campo Grande a alta temperatura ficou entre 31°C e 35,8°C e em Planaltina entre 29°C e 32°C (Figura 2.2). Por sua vez, as plantas desenvolvidas em Campo Grande tiveram maior produção de racemos por inflorescência e de número de espiguetas por racemo que as plantas desenvolvidas em Planaltina e desta forma a quantidade de inflorescência inferior produzidas pelas plantas em Campo Grande foi compensada pelos outros componentes de produção de sementes (racemo/inflorescência e espiguetas/racemo) de forma que em ambos locais a quantidade de espiguetas produzida por planta foi estatisticamente similar com média de 7422 espiguetas por planta (Tabela 2.5). Compensação similar foi observada para HBGC348, HBGC011 nesse trabalho e em *B. decumbens* por Stür e Humphreys (1985). Pela análise de trilha tanto na condição de Planaltina quanto em Campo Grande, quanto mais cedo ocorrer o final da degrana, ou seja, quanto mais precoce for o florescimento do genótipo (Tabelas 2.10 e 2.11) maior a produtividade.

O número sementes contidas em um grama da produção de Campo Grande foi maior que da produção de Planaltina com 182 e 123 sementes por grama respectivamente (Tabela 2.6) e isso indica que algo afetou fisiologicamente as plantas desenvolvidas em Campo Grande fazendo com que elas fossem mais leves e isso é uma resposta direta da translocação dos nutrientes da planta para as sementes, produzindo sementes, em Campo Grande, apenas com uma quantidade de reserva menor visto que o número de semente foi similar (Tabela 2.6). Essa baixa reserva também se manifestou no vigor das sementes, visto que em todos testes de qualidade fisiológica (potencial germinativo e vigor – Tabela 2.8) as sementes produzidas em Campo Grande apresentaram qualidade inferior as produzidas em Planaltina.

Com base nos componentes de produção tanto em Planaltina quanto em Campo Grande a produtividade de sementes seria similar e isso aconteceu com relação ao número de sementes puras e viáveis que não diferiu estatisticamente (Tabela 2.6). Entretanto, devido ao problema fisiológico das plantas desenvolvidas em Campo Grande, a produtividade em peso foi inferior a de Planaltina com 91,85

kg/ha e 218,73 kg/ha, respectivamente, uma vez que o peso de mil sementes produzidas em Campo Grande foi de 5,4841g e em Planaltina foi de 8,1445g (Tabela 2.7), ou seja as sementes de Campo Grande são mais leves que as de Planaltina. Este híbrido mesmo não expressando todo seu potencial produtivo em Campo Grande é estatisticamente tão bom quanto o Marandú, podendo ser um possível substituto nessa condição ambiental com relação a produtividade de sementes (Tabela 2.6), entretanto em Planaltina ele é tão produtivo quanto HBGC348 e HBGC148, mas é 68% menos produtivo que o Marandú.

Mesmo em Planaltina a pureza de sementes (35,37%) sendo superior ao de Campo Grande (18,31%) (Tabela 2.7) este valor é considerado baixo e não pode-se relacionar isso a viabilidade polínica, pois esta foi similar em ambos campos de produção na faixa dos 50%, então os prováveis motivos do reduzido enchimento são: 1) a concentração de chuva de 139,4 mm de água em Campo Grande em apenas uma semana reprodutiva provavelmente tenha sido a responsável pela diferença de sementes cheias, pois houve viabilidade polínica, entretanto os mesmos foram lavados (Figura 2.3); 2) problema genético do híbrido com manifestação na fisiologia reprodutiva (RAGHAVAN, 1997), pois as anteras durante a antese saem da espiguetas e depois se rompem permitindo a disseminação do pólen, entretanto a abertura no ápice da antera para a liberação dos grãos é tão pequena que impede a saída dos mesmos; problema gamético devido a hibridação por ter elevado número de pólen inviável que é sinal de irregularidade na divisão celular (STEBBINS, 1971).

4.3.2.5. HBGC148

Observou que o genótipo híbrido HBGC148 é uma gramínea tropical de porte médio com hábito de crescimento ereto e sem estolões. Suas folhas são arqueadas com alta pilosidade na bainha. As lâminas das folhas tem largura média, de comprimento curto, forma linear e alta pilosidade nas duas faces. As inflorescências possuem hastes florais médias com 17,5cm de comprimento em média, e eixo floral curto com média de 4,7cm. As espiguetas são dispostas em fila dupla nos racemos que são médios com 7,0cm de comprimento em média. Suas flores apresentam estigma receptivo na antese com coloração branca e quando não receptivo após

antese com coloração amarelo envelhecido. As espiguetas possuem pilosidade média e tem comprimento longo com 5,9cm e largura média com 2,2cm. A sequência de abertura das inflorescências é similar a do Marandú com emborrachamento, saída de toda inflorescência da folha bandeira, abertura das flores no racemo do tipo divergente a partir do terço médio (Alves, 2000), abertura de todas as flores no racemo, início e final da degrana. Todo esse processo em cada inflorescência dura em média 32 dias. HBGC148 é um genótipo de ciclo intermediário com 168 dias em média (Tabela 2.4).

A produção de inflorescência por planta do genótipo HBGC148 em Planaltina foi superior a observada em Campo Grande, com 139 e 45 respectivamente (Tabela 2.5) devido a temperatura diurna média em Campo Grande (32°C) ter sido maior que a de Planaltina (30°C) inibindo a formação de inflorescência (PRITCHARD e DELACY, 1974). Por sua vez as plantas desenvolvidas em Campo Grande tiveram maior produção de racemos por inflorescência e de número de espiguetas por racemo que as plantas desenvolvidas em Planaltina, e desta forma a quantidade de inflorescência inferior produzidas pelas plantas de Campo Grande foi compensada pelos outros componentes de produção de sementes (racemo/inflorescência e espiguetas/racemo) de forma que em ambos locais a quantidade de espiguetas produzida por planta foi estatisticamente similar com 10530 espiguetas por planta em média (Tabela 2.5). O efeito compensatório pode ser exercido de várias formas, mas neste híbrido foi similar a HBGC348, HBGC011, HBGC450 e *B. decumbens* (STÜR e HUMPHREYS, 1985). O número de semente por grama foi similar nos dois locais de produção com média de 115 sementes por grama (Tabela 2.6), de forma que a translocação de nutrientes da planta para a semente ocorreu da mesma forma nos dois locais fazendo com que o enchimento de sementes fosse semelhante permitindo um similar potencial de enchimento em ambos locais, de forma que o ambiente não interferiu fisiologicamente nas plantas. As sementes deste híbrido são maiores que das espécies de importância no Brasil uma vez que *B. brizantha* tem 150 sementes por grama, *B. decumbens* 195, *B. ruziziensis* 230 e *B. humidicola* 267 (SOUZA, 1991).

Não foi possível relacionar condição ambiental, produtividade de semente e viabilidade polínica com causa-efeito, pois as condições ambientais estudadas na análise de trilha foram descartadas no diagnóstico de multicolinearidade, mas

observou que o ambiente afetou 85% (Grupo I, Tabela 2.9) a produtividade em Campo Grande, enquanto em Planaltina afetou 82% (Grupo III, Tabela 2.9). Mesmo com todas as variáveis indicando que a produtividade seria similar em ambos os locais isso não foi observado na prática, pois a produtividade de sementes em Planaltina foi superior a de Campo Grande com 339,50 kg/ha e 219,20 kg/ha respectivamente (Tabela 2.6). Uma diferença de 120,30 kg de semente por hectare indicativos que o ambiente afeta a produtividade deste genótipo mais que as demais variáveis analisadas. Quanto a capacidade das espiguetas produzidas (Tabela 2.5) em Campo Grande encher e formar semente é menor que o Marandú, pois este encheu 10% enquanto o HBGC148 encheu apenas 6%, entretanto mesmo com essa diferença o HBGC148 tem produtividade tão boa quanto Marandú (Tabela 2.6), pois o HBGC148 tem elevada produção de espiguetas podendo ser um possível substituto nessa condição ambiental, entretanto em Planaltina o HBGC148 é tão produtivo quanto HBGC348 e HBGC450, entretanto é 50% menos produtivo que o Marandú visto que em Planaltina o Marandú encheu 32% de espiguetas contra os 6% do HBGC148, o que não compensou. A qualidade fisiológica das sementes produzidas em ambos locais foi similar (Tabela 2.7 e 2.8).

A viabilidade polínica observada não teve relação direta com a produtividade de sementes, pois na condição de Campo Grande foi observado 71,37% de viabilidade polínica (Tabela 2.8) com produtividade de 219,20kg/ha (Tabela 2.6), enquanto em Planaltina a viabilidade foi de 64,21% com uma produtividade de 339,50kg/ha. Essa viabilidade polínica em Campo Grande superior a de Planaltina ocorre por naquela condição a temperatura média durante a formação do pólen ter sido de 26°C e em Planaltina de 24°C e conforme França (2011) os grãos de pólen deste híbrido a partir de 23,5°C quanto maior a temperatura maior a viabilidade o que favoreceu a viabilidade polínica em Campo Grande na primeira floração. A viabilidade polínica é favorecida pela elevada temperatura, mas a produção de sementes não, pois algumas espécies tem redução na produção de sementes devido a semente não tolerar elevada temperatura durante seu desenvolvimento e em Campo Grande a temperatura foi sempre mais elevada (HERRERO e JOHNSON, 1980; SAINI et al., 1983; CARLSON, 1990; NUTTAL et al., 1992; MORRISON, 1993; SHONNARD e GEPTS, 1994; GUSTA et al.,1997; SPEARS et al., 1997; PEET et al., 1998; ANGADI et al., 2000; SATO et al., 2002)

O problema de enchimento de sementes e a variação produtiva nas regiões deste híbrido tem causa genética, mas não por inviabilidade polínica e sim por fisiologia floral (RAGHAVAN, 1997), pois as anteras se rompem antes de estarem totalmente fora da espiguetas e isso faz com que os pólen que estavam viáveis reduzam sua viabilidade e no momento em que são disseminados não tem potencial de fecundação e isso se expressa no baixo enchimento das sementes principalmente em Campo Grande cuja temperatura diária ficou entre 30°C e 34°C e em Planaltina entre 28°C e 32°C e segundo Burton (1942); BOYCE e SILSBURY (1969) apud LOCH (1980); BOYCE (1970) apud LOCH (1980) a alta temperatura causa o atraso de abertura da antera, assim as plantas de Campo Grande abriram menos e como consequência tiveram menor produção. Além disso, em Campo Grande a condição ambiental com temperatura mais elevada (Figura 2.2) associada a umidade relativa (Figura 2.3) superior a observada em Planaltina são prejudiciais aos grãos de pólen, pois os que estavam viáveis para fecundação e formação do endosperma acabam se deteriorando antes da polinização. Isso resulta no menor enchimento de sementes em Campo Grande.

As sementes produzidas em ambas as condições ambientais apresentaram potencial germinativo e viabilidade (Tabela 2.8) similar, entretanto o vigor das sementes de Planaltina foi superior ao vigor das sementes produzidas em Campo Grande (Tabela 2.8). Contudo isso não significa que sementes quando produzidas em Planaltina sempre serão mais vigorosas que as de Campo Grande. Essa diferença de vigor ocorreu somente por as sementes produzidas em Campo Grande terem degranado e pegado chuva no campo, enquanto em Planaltina isso não ocorreu.

4.3.2.6. HBGC080

Observou que o genótipo híbrido HBGC080 é uma gramínea tropical de porte médio com hábito de crescimento ereto e sem estolões. Suas folhas são arqueadas com alta pilosidade na bainha. As lâminas das folhas tem largura média, de comprimento curto, forma linear e alta pilosidade nas duas faces. As inflorescências possuem hastes florais médias com 13,2cm de comprimento em média, e eixo floral curto com média de 4,3cm. As espiguetas são dispostas em fila dupla nos racemos

que são médios com 6,3cm de comprimento em média. Suas flores apresentam estigma receptivo com coloração branca e ramificações vinho e quando não receptivo todo branco. As espiguetas possuem pouca pilosidade e tem comprimento longo com 5,7cm e estreitos de largura com média de 2,17cm. A sequência de abertura das inflorescências é similar a do Marandú com emborrachamento, saída de toda inflorescência da folha bandeira, início da abertura das primeiras flores do racemo a partir do terço médio e em seguida para as extremidades (NDIKUMANA, 1985; ALVES, 2000), abertura de todas as flores no racemo, início da degrana e final da degrana. Todo esse processo em cada inflorescência dura em média 37 dias. HBGC080 é um genótipo de ciclo intermediário com 169 dias em média (Tabela 2.4).

A produção de inflorescência por planta em Planaltina foi maior que a de Campo Grande com uma superioridade média de 140 inflorescências por plantas (Tabela 2.5). Por sua vez as plantas desenvolvidas em Campo Grande tiveram maior produção de racemos por inflorescência e de número de espiguetas por racemo que as plantas desenvolvidas em Planaltina (Tabela 2.5), entretanto a quantidade de inflorescência inferior produzidas pelas plantas em Campo Grande não foi compensada pelos outros componentes de produção de sementes (racemo/inflorescência e espiguetas/racemo) semelhante ao observado em todos os outros genótipos deste estudo, de forma que a quantidade de espiguetas produzida por planta não foi estatisticamente similar com 13841 e 7977 espiguetas por planta em Planaltina e Campo Grande respectivamente (Tabela 2.5). Além disso, o número de sementes contidas em um grama em Campo Grande foi maior que a observada em Planaltina (Tabela 2.6) indicando que algum fator interferiu fisiologicamente nas plantas desenvolvidas em Campo Grande. Possivelmente essa situação foi expressa na translocação dos nutrientes da planta para as sementes, produzindo sementes em Campo Grande com uma quantidade de reserva menor. Pela análise de trilha tanto na condição de Planaltina quanto em Campo Grande quanto mais cedo ocorrer o final da degrana, ou seja, quanto mais precoce for o florescimento do genótipo (Tabelas 2.10 e 2.11) maior a produtividade.

Com base nos componentes de produção em ambos locais de produção a produtividade de sementes não seria similar, e isso foi o que aconteceu, pois a produtividade em Planaltina foi superior a de Campo Grande com 66,65 kg/ha e 12,47 kg/ha, respectivamente (Tabela 2.6). Esse híbrido teve baixa produtividade, e

isso faz dele um genótipo que não compete com o Marandú, pois a produtividade é um parâmetro de melhoramento que o viabiliza ou não ao mercado. Essa diferença de produtividade, além da questão dos componentes de produção, também estão relacionados com a viabilidade polínica, pois em Planaltina 54% dos grãos de pólen foram viáveis (Tabela 2.7), enquanto em Campo Grande a viabilidade foi observada em 45,68% dos grãos, apresentando diferença estatística. Não foi possível relacionar as condições ambientais e produtividade com causa-efeito por a primeira ser eliminada no diagnóstico de multicolinearidade, mas pode-se supor que a diferença de viabilidade entre os locais se deve basicamente a uma elevada quantidade de chuva em uma semana durante o período reprodutivo em Campo Grande com 139,4 mm de água (Figura 2.4) que deteriorou os grãos presentes nas anteras, situação que não ocorreu em Planaltina.

Em ambos locais houve baixo enchimento de sementes com mais de 90% de sementes chochas (Tabela 2.7) devido à interação genótipo ambiente (Tabela 2.3) em que três fatores se somam para explicar isso. O primeiro é que o genótipo em si apresenta dificuldade em produzir gametas (RAGHAVAN, 1997) provavelmente por conta da hibridação como já relatado por França (2011), o segundo fator é que a temperatura em Planaltina alcançou mínima de 14,3°C e em Campo Grande 12,9°C (Figura 2.2) e conforme França (2011) temperaturas próximas aos 15°C tendem a inviabilizar os grãos de pólen prejudicando assim o pouco de pólen viável presente nas duas regiões e o terceiro fator é genético (RAGHAVAN, 1997) pois as anteras deste híbrido se rompem antes de estarem totalmente fora da espiguetta e isso faz com que os pólen que estavam viáveis percam sua viabilidade e no momento em que são disseminados não tem potencial de fecundação e isso se expressa no baixo enchimento das sementes, comportamento semelhante ao observado nos híbridos HBGC348 e HBGC148.

As sementes produzidas em Campo Grande apresentaram menor peso de mil sementes (Tabela 2.7), mas isso não fez com que elas fossem menos vigorosas (Tabela 2.8) que as produzidas em Planaltina, de forma que todas foram fisiologicamente semelhantes. Entretanto pelo teste de viabilidade de sementes – tetrazólio (Tabela 2.8) este genótipo apresentou superioridade ao apresentado em seu potencial germinativo e isso indica que este híbrido não teve sua dormência superada com o tratamento de escarificação, visto que a viabilidade dela foi maior

que o potencial germinativo observado nos dois locais. Assim HBGC080 além de baixa produtividade ainda apresenta problema de dormência fenômeno no qual as sementes apesar de viáveis e dispendo das condições ambientais necessárias não germinam (CARVALHO e NAKAGAWA, 2000). Fenômeno este que nas braquiárias ocorre devido a restrição de oxigênio imposta pela cobertura (WHITERMAN e MENDRA, 1982) e também por algum fator de natureza fisiológica que atua no embrião impedindo a germinação. A dormência é geneticamente controlada e fisiologicamente complexa (HOPKINS e EAGLES, 1980).

4.4. CONCLUSÕES

- Todos os genótipos estudados tem produção de sementes afetada pela condição ambiental.
- A condição ambiental de Planaltina é superior a de Campo Grande para produzir sementes híbridas de *Brachiaria* spp.
- Os híbridos estudados tem alguma anormalidade floral que afeta a disseminação polínica.
- HBGC348 e HBGC148, são dentre os híbridos estudados, os que mais produzem sementes, em especial na condição de Planaltina.

4.5. CONSIDERAÇÕES GERAIS

- Seria interessante fazer um estudo de germinabilidade polínica em HBGC348 e HBGC148 uma vez que este estudo polínico ficou restrito na pré-antese e pode ser que os grãos que polinizem tenham incompatibilidade gametofítica ou esporofítica gerando inibição do crescimento do tubo polínico no trato transmissor do estilete ou na parte superior da parede ovariana (RAGHAVAN, 1997) fato já observado em algumas gramíneas (HESLOP-HARRISON e HESLOP-HARRISON, 1980, 1981, 1982). Essa incompatibilidade pode explicar o baixo número de sementes formadas em relação ao alto número de espiguetas produzidas, pois pode ser que o pólen seja viável, mas não consiga penetrar no estilete para realizar a fecundação no núcleo polar. Para isso será necessário uma metodologia que viabilize este processo, visto que a manipulação de pólen de *Brachiaria* spp. é delicada. Seria interessante fazer isso, por esses genótipos apresentarem viabilidade polínica, mas não ter apresentado produção de sementes tão boa quanto dos materiais comerciais disponíveis no mercado.
- Seria interessante fazer um estudo com a viabilidade polínica x produção de sementes por florada.
- Quanto às fases fenológicas deste estudo não é possível falar que elas terão o mesmo comportamento que foi observado neste estudo sempre, visto que há uma interação entre essas fases e as condições do ambiente. Seria preciso observações durante vários ciclos de florescimento com monitoramento das condições climáticas para definir as práticas de manejo nestes híbridos.

4.6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALVES, E.R. **Aspectos da reprodução em *Brachiaria brizantha* cv. Marandú**. 2000.94p. Dissertação (mestrado) – Universidade de Brasília, Brasília, 2000.

ANDRADE, R.P. Pasture seed production technology in Brasil. In: **Proceeding of the XXI International Grassland Congress 2001**. Piracicaba: FEALQ, 2001. p.129-132.

ANDRADE, R.P.; VILLAS BOAS, H.D.; SILVEIRA, G.C.; PAIVA, L. A parceria embrapa-unipasto e seu impacto na pesquisa e desenvolvimento de pastagens tropicais do Brasil. **Anuário Abrasem**, p.27-32, 2004.

ANDRADE, R.P.; THOMAS, D.; FERGUSON, J.E.; COSTA, N.M.S.; CURADO, T.F.C. Importância da escolha de áreas para a produção de sementes forrageiras. **Revista Brasileira de Sementes**, v.3, n.1, p.159-163, 1981.

ANGADI, S.V.; CUTFORTH, H.W.; MILLER, P.R.; MCCONKEY, B.G.; ENTZ, M.H.; BRANDT, S.A.; VOLKMAR, K.M. Response of three Brassica species to high temperature stress during reproductive growth. **Canadian Journal of Plant Science**, v.80, p.693-701, 2000.

BOLDRINI, K.R.; PAGLIARINI, M.S.; VALE C.B. Abnormal timing of cytokinesis in microsporogenesis in *Brachiaria humidicola* (Poaceae: Paniceae). **Journal of Genetics**, v.85, n.3, p. 225-228, 2006.

BOONMAN, J.G. Experimental studies on seed production of tropical grasses in Kenya. 1. General introduction and analysis of problems. **Netherlands Journal of Agricultural Science**, v.19, p.23-36, 1971.

BRASIL. 2009. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de sementes**. Brasília: MAPA/ACS. 399p.

BRASIL. Atos de 09 de abril de 2001. Estabelece instruções para execução de ensaios de distinguibilidade, homogeneidade e estabilidade a cultivares de *brachiaria*,... **Diário Oficial da União**, Poder Executivo, Brasília, DF, 16 abr. 2001, Seção 1, p.11.

BURTON, G.W. Observations on the flowering habits of four paspalum species. **American Journal of Botany**, v.29, p.843-848, 1942.

CAMPELO, J.E.G. **Produção de sementes de forrageiras no Brasil**. Viçosa: UFV, 1997. 14p. Disponível em: <<http://www.forragicultura.com.br>>. Acesso em: 20 fev. 2005.

CARLSON, R.E. Heat stress, plant-available soil moisture, and corn yields in Iowa: a short- and long-term view. **Journal of Production Agriculture**, v.3, p.293-297, 1990.

CARVALHO, N.M.; NAKAGAWA, J. **Sementes: ciência, tecnologia e produção**. 4 ed. Jaboticabal: FUNEP, 2000. 588p.

CARVALHO, C.G.P.; ARIAS, C.A.A.; TOLEDO, J.F.F.; OLIVEIRA, M.F.; VELHO, N.A. Correlações e análise de trilha em linhagens de soja semeadas em diferentes épocas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.37, n.3, p.311-320, 2002.

CROWDER, L.V.; CHHEDA, H.R. Seed production, multiplication and processing. In:_____. **Tropical grassland husbandry**. New York: Longman, 1982. p.507-547.

CRUZ, C.D. **Programa Genes: Análise multivariada e simulação**. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 2006. 175p.

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

DIAS, M.C.L.L.; ALVES, S.J. Avaliação da viabilidade de sementes de *Brachiaria brizantha* (Hochst. Ex A. Rich) Stapf. pelo teste de tetrazólio. **Revista Brasileira de Sementes**, v.30, n.3, p. 145-151, 2008.

DIAS, M.C.L.L.; ALVES, S.J. **Teste de tetrazólio em sementes de *Panicum maximum* e *Brachiaria brizantha***. Londrina: IAPAR, 2000. 11p.

DUSI, D.M.A. **Apomixis in *Brachiaria decumbens* stapf**. 2001. 167p. Tese (doutorado) – Wageningen Universiteit, Wageningen, 2001.

DUSI, D.M.A.; ARAUJO, A.C.G.; ALVES, E.R.; VALLE, C.B.; CARNEIRO, V.T.C. Estudo da polinização no gênero *Brachiaria*. In: CARNEIRO, V.T.C.; DUSI, D.M.A. **Clonagem de plantas por sementes: estratégia de estudo da apomixia**. Brasília: Embrapa Recurso Genético e Tecnologia, 2004. p.81-99.

DUSI, D.M.A.; WILLEMSE, M.M.T. Apomixis in *Brachiaria decumbens* Staf.: Gametophytic development and reproductive calendar. **Acta Biologica Cracoviensia**, v.41, p.151-162, 1999.

FELISMINO, M.E.; PAGLIARINI, M.S.; VALLE, C.B. Meiotic behavior of interespecific hybrids between artificially tetraploidized sexual *Brachiaria ruziziensis* and tetraploid apomictic *B. brizantha* (Poaceae). **Scientia Agricola**, v.67, n.2, p.191-197, 2010.

FERREIRA, D.F. Análises estatísticas por meio do Sisvar para Windows versão 4.0. In: REUNIÃO ANUAL DA REGIÃO BRASILEIRA DA SOCIEDADE INTERNACIONAL DE BIOMETRIA, 45., 2000, São Carlos, SP. **Anais...** São Carlos, SP: UFSCar, 2000. p.255-258.

FRANÇA, L.V. Influência da temperatura na viabilidade polínica de híbridos interespecíficos de *Brachiaria* sp. **Capítulo 2 da tese doutorado**. 2011. No prelo

FRANÇA, L.V.; CARVALHO, M.A.; MAIA, M.S.; KARIA, C.T.; VASCONCELOS, I.G. Redução na quantidade de ácido sulfúrico na escarificação de sementes de *Brachiaria* spp. In: SEMINÁRIO PANAMERICANO DE SEMILLAS, 22., 2010, Assunção. **Anais...** Assunção: FELAS, 2010. p. 212.

FUZINATTO, V.A.; PAGLIARINI, M.S.; VALLE, C.B. Evaluation of microsporogenesis in an interespecific *Brachiaria* hybrid (Poaceae) collected in distinct years. **Genetics and Molecular Research**, v.7, n.2, p.424-432, 2008.

GAMBORG, O.L.; MILLER, R.A.; OJIMA, K. Nutrient requirements of suspension cultures of soybean root cells. **Experimental Cell Research**, v.50, p.151-158, 1968.

GARCIA, J.; CICERO, S.M. Superação de dormência em sementes de *Brachiaria brizantha* cv. Marandú. **Scientia Agricola**, v.49, n.1, p.9-13, 1992.

GUIMARÃES, M.S.; LEONELLI, C.; LARA, M.A.S.; COLLUCCI, D.; CURCELLI, F.; PEDREIRA, C.G.S. **Temperatura base inferior de cinco cultivares de *Brachiaria* spp.** Piracicaba: Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, 2007. 13p.

GUSTA, L.V.; O'CONNOR, B.J.; BHATTY, R.S. Flax (*Linum usitatissimum* L.) responses to chilling and heat stress on flowering and seed yield. **Canadian Journal of Plant Science**, v.77, p.97-99, 1997.

HERRERO, M.P.; JOHNSON, R.R. High temperature stress and pollen viability of maize. **Crop Science**, v.20, p.796-800, 1980.

HESLOP-HARRISON, Y. Control Gates and micro-ecology: the pollen-stigma interaction in perspective. **Annals of Botany Company**, v.85, p.5-13, 2000.

HESLPO-HARRISON, J.; HESLPO-HARRISON, Y. The pollen-stigma interaction in the grasses. I. Fine-structure and cytochemistry of the stigmas of *Hordeum* and *Secale*. **Acta Botanica Neerlandica**, v.29, n.4, p.261-276, 1980.

HESLPO-HARRISON, J.; HESLPO-HARRISON, Y. The pollen-stigma interaction in the grasses. 2. Pollen-tube penetration and the stigma response in *Secale*. **Acta Botanica Neerlandica**, v.30, n.4, p.289-307, 1981.

HESLPO-HARRISON, J.; HESLPO-HARRISON, Y. The pollen-stigma interaction in the grasses. 4. An interpretation of the self-incompatibility response. **Acta Botanica Neerlandica**, v.31, n.5/6, p.429-439, 1982.

HOLMBERG, B. On the permeability to lissamine green and other dyes in the course of cell injury and cell death. **Experimental Cell Research**, v.22, p.406-411, 1961.

HOPKINS, J.M.; EAGLES, D.A. Seed production and processing. In: CLEMENTS, R.J.; CAMERON, D.G. (Eds.). **Collectiong and testing tropical forage plants**. Melbourne: CWSIRO, 1980. p.88-101.

HUMPHREYS, L.R. **Tropical pasture seed production**. Rome: FAO, 1979. 143p.

KUANG, H.H.; TU, D.S. Studies on the fertile percentage in varietal crosses of Rice hybrids. **Agronomy Journal**, v.23, p.190, 1935.

LOCH, D.S. Selection of environment and cropping system for tropical grass seed production. **Tropical Grasslands**, v.14, n.3, p.159-168, 1980.

LUTTS, S.; NDIKUMANA, J.; LOUANT, B.P. Fertility of *Brachiaria ruziziensis* in interespecific crosses with *Brachiaria decumbens* and *Brachiaria brizantha*: meiotic behavior, pollen viability and seed set. **Euphytica**, v.57, p.267-274, 1991.

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

MATSUI, T.; OMASA, K.; HORIE, T. Mechanism of septum opening in anthers of two-rowed barley (*Hordeum vulgare* L.). **Annals of Botany**, v.86, p.47-51, 2000.

McWILLIAM, J.R. Response of pasture plants to temperature. WILSON, J.R. (Ed.). In: **Plant relation in pastures**. Melbourne: CSIRO, 1978. p.17-34.

MENDES-BONATO, A.B.; PAGLIARINI, M.S.; FORLI, F.; VALLE, C.B.; PENTEADO, M.I.O. Chromosome numbers and microsporogenesis *Brizantha* (Gramineae). **Euphytica**, n.125, p.419-425, 2002.

MENDES-BONATO, A.B.; PAGLIARINI, M.S.; VALLE, C.B. Abnormal spindle orientation during microsporogenesis in an interspecific *Brachiaria* (Gramineae) hybrid. **Genetics and Molecular Biology**, v.29, n.1, p.122-125, 2006.

MENDES-BONATO, A.B.; PAGLIARINI, M.S.; VALLE, C.B.; JANK, L. Abnormal pollen mitoses (PM I e PM II) in an interespecific hybrid of *Brachiaria ruziziensis* e *B. decumbens* (Gramineae). **Journal of Genetics**, v.83, n.3, p.279-283, 2004.

MENDONÇA, F.C.; RASSINI, J.B. **Temperatura base inferior estacionalidade de producao gramineas forrageira tropical**. São Carlos: Embrapa Sudeste, 2006. 9p. (Embrapa Sudeste. Circular técnica, 45).

MORRISON, M.J. Heat stress during reproduction in summer rape. **Canadian Journal of Botany**, v.71, p.303-308, 1993.

NDIKUMANA, J. **Étude de l'hybridation entre espèces apomictique et sexuées dans le genre *Brachiaria***. 1985. 210p. Tese (PhD.) - Université Catholique de Louvain, Belgium, 1985.

NUTTAL, W.F.; MOULIN, A.P.; TOWNLEY SMITH, L.J. Yield response of canola to nitrogen, phosphorus, precipitation, and temperature. **Agronomy Journal**, v.84, p.765-768, 1992.

PAIVA, E.E.E. **Meiose em híbridos hexaplóides de capim-elefante e milheto**. 2006. 53p. Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Lavras. Lavras, 2006.

PEET, M.M.; SATO, S.; GARDNER, R.G. Comparing heat stress effects on male-fertile and male-sterile tomatoes. **Plant, Cell and Environment**, v.21, p.225-231, 1998.

PEREIRA, J. C. As pastagens no contexto dos sistemas de produção de bovinos. In: MANEJO INTEGRADO: INTEGRAÇÃO AGRICULTURA-PECUÁRIA, 1., 2004, Viçosa, MG. **Anais...** Viçosa, MG: UFV, DFP, DFT, 2004. p.287-330.

PRITCHARD, A.J.; DELACY, I.H. The cytology, breeding system and flowering behavior of *Panicum coloratum*. **Australian Journal of Botany**, v.22, p.57-66, 1974.

PUPO, N.I.H. **Manual de pastagens forrageiras: formação-conservação-utilização**. Campinas, SP: Instituto Campineiro de Ensino Agrícola, 1981. 343p.

RAGHAVAN, V. **Molecular Embryology of Flowering Plants**. Cambridge: University Press, 1997. 690p.

RISSE-PASCOTTO, C.; PAGLIARINI, M.S.; VALLE, C.B.; JANK, L. Asynchronous meiosis in an interspecific hybrid of *Brachiaria ruziziensis* and *B. brizantha*. **Plant Cell Reports**, v.23, p.304-310, 2004a.

RISSE-PASCOTTO, C.; PAGLIARINI, M.S.; VALLE, C.B.; JANK, L. Asynchronous meiotic rhythm as the cause of selective chromosome elimination in an interspecific *Brachiaria* hybrid. **Plant Cell Reports**, v.22. p.945-950, 2004b.

RISSE-PASCOTTO, C.; PAGLIARINI, M.S.; VALLE, C.B. Mitotic behavior in interespecific hybrids between *Brachiaria ruziziensis* and *B. brizantha* (Poaceae). **Euphytica**, v.145, n.1-2, p.155-159, 2005.

RODRIGUES, T.J.D.; RODRIGUES, L.R.A.; REIS, R.A. Adaptação de plantas forrageiras a condições adversas. In: FAVORETTO, V.; RODRIGUES, L.R.A.; REIS,

R.A. (Eds.). SIMPÓSIO SOBRE ECOSISTEMAS DE PASTAGENS, 2., 1993, Jaboticabal, SP. **Anais...** Jaboticabal, SP: FUNEP-UNESP, 1993. p. 17-61.

SAINI, H.S.; SEDGLEY, M.; ASPINALL, D. Effect of heat stress during oral development on pollen tube growth and ovary anatomy in wheat (*Triticum aestivum* L.). **Australian Journal of Plant Physiology**, v.10, p.137-144, 1983.

SAS Institute Inc. SAS[®]. **Learning Edition 2.0**. North Carolina: Cary, 2004. 86p.

SATO, S.; PEET, M.M.; THOMAS, J.F. Determining critical pre- and post-anthesis periods and physiological processes in *Lycopersicon esculentum* Mill. exposed to moderately elevated temperatures. **Journal of Experimental Botany**, v.53, p.1187-1195, 2002.

SHAMINA, N.; DOROGOVA, N.; TRUNOVA, S. Radial spindle and the phenotype of the maize meiotic mutant, dv. **Cell Biology International**, v.24, p.729–736, 2000.

SHERWOOD, R.T. Genetic analysis of apomixis. In: SAVIDAN, Y.; CARMAN, J.G.; DRESSELHAUS, T. **The flowering of apomixis: from mechanisms to genetic engineering**. El Batan: CIMMYT, 2001. p. 64-82.

SHONNARD, G.C.; GEPTS P. Genetics of heat tolerance during reproductive development in common bean. **Crop Science**, v.34, p.1168-1175, 1994.

SILVA, A.L. Sementes de capim preço e mercado. **Carta Insumo - Scot Consultoria**, ano 4, ed. 39, 2009. 2p.

SOUZA, F.H.D. As sementes de espécies forrageiras do gênero *Brachiaria* no Brasil Central. In: ENCONTRO PARA DISCUSSÃO SOBRE CAPINS DO GÊNERO *BRACHIARIA*, 2., 1991, Nova Odessa, SP. **Anais...** Nova Odessa, SP: Instituto de Zootecnia, 1991. p.137-185.

SOUZA, F.H.D. **Produção de sementes de gramíneas forrageiras tropicais**. São Carlos: Embrapa Pecuária Sudeste, 2001. 43p.

SOUZA, F.H.D. Sementes brasileiras de pastagens tropicais. In: **Anuário da Associação Brasileira de Sementes e Mudanças**. p. 16-18, 2006.

SOUZA, M.A. **Fenologia e morfologia reprodutivas de ecótipos de *brachiaria* spp.** 1995. 85p. Dissertação (mestrado) – ESALQ, Piracicaba, 1995.

SPEARS, J.F.; TEKRONY, D.M.; EGLI, D.B. Temperature during seed filling and soybean seed germination. **Seed Science and Technology**, v.25, n.2, p.233-244, 1997.

STEBBINS, G.L. **Chromosomal evolution in higher plants**. London: Addison-Wesley, 1971. 216p.

STÜR, W.W.; HUMPHREYS, L.R. Burning, cutting and the structure of seed yield in *Brachiaria decumbens*. In: PROCEEDING OF THE XV INTERNATIONAL GRASSLAND CONGRESS, 15., 1985, Kyoto, Japan. **Anais...** Kyoto, Japan, 1985. p.303-304.

TSUHAKO, A.T. A produção de sementes de forrageiras no Brasil – A visão da iniciativa privada. In: WORKSHOP SOBRE SEMENTES DE FORRAGEIRAS, 1., 1999, Sete Lagoas, SP. **Anais...** Sete Lagoas, SP: Embrapa Negócios Tecnológicos/Escritório de Negócios de Sete Lagoas, 2000. p.11-22.

TSUHAKO, A.T. Exportação de sementes de forrageiras tropicais. **Seednews**, ano X, n.3, p.34-35, 2006.

VALLE, C.B.; EUCLIDES, V.P.B.; MACEDO, M.C.M.; VALÉRIO, J.R.; CALIXTO, S. Selecting new *Brachiaria* for brazilian pastures. In: INTERNATIONAL GRASSLAND CONGRESS, 19., 2001, São Pedro, SP. **Proceedings...** Piracicaba: FEALQ, 2001. p.13-14.

VALLE, C.B.; EUCLIDES, V.P.B.; MACEDO, M.C.M. Características das plantas forrageiras do gênero *Brachiaria*. In: SIMPÓSIO SOBRE MANEJO DA PASTAGEM, 17., 2000, Piracicaba, SP. **Anais...** Piracicaba, SP: FEALQ, 2000. p 65-108.

VALLE, C.B.; BONATO, A.L.V.; PAGLIARINI, M.S.; RESENDE, R.M.S.; JANK, L. Apomixia e sua utilização no melhoramento de *brachiaria*. In: CARNEIRO, V.T.C.;

DUSI, D.M.A. **Clonagem de plantas por sementes: estratégia de estudo da apomixia**. Brasília: Embrapa Recurso Genético e Tecnologia, 2004. p. 47-65.

VALLE, C.B.; GLIENKE, C.; LEGUISAMON, G.O.C. Inheritance of apomixis in *Brachiaria*, a tropical forage grass. **Apomixis Newsletter**, v.7, p.42-43, 1994.

VALLE, C.B.; LEGUIZAMON, G.O.C.; GUEDES, N.R. Interspecific hybrids of *Brachiaria* (*Gramineae*). **Apomixis Newsletter**, v.3. p.10–11, 1991.

VALLE, C.B.; SIMIONI, C.; RESENDE, R.M.S.; JANK, L. Melhoramento genético de *Brachiaria*. In: RESENDE, R.M.S.; VALLE, C.B.; JANK, L. (Eds.). **Melhoramento de forrageiras tropicais**. Campo Grande: Embrapa Gado de Corte, 2008. 13-53p.

VILELA, D. Produção de leite em pasto: atualidades e perspectivas futuras. PEREIRA, O.G.; OBEID, J.A.; FONSECA, D.M.; NASCIMENTO JR, D. (Eds.). In: SIMPÓSIO SOBRE MANEJO ESTRATÉGICO DA PASTAGEM, 2., 2004, Viçosa. **Anais...** Viçosa: UFV, DZO, 2004. p.419-462.

VILLAS BOAS, H. Produção de sementes de forrageiras tropicais cresce e moderniza-se. **Seednews**, ano IX, n.4, p.20-21, 2005.

VITA, G. **Grupo Papalotla lança no Brasil a primeira variedade de *Brachiaria* híbrida do mundo**, 2003. Disponível em: < http://www.agrolink.com.br/noticias/pg_detalhe_noticia>. Acesso em: 20 ago. 2007.

WHITERMAN, P.C.; MENDRA, K. Effects os storage and seed treatments on germination of *Brachiaria decumbens*. **Seed Science and Technology**, v.10, p.233-242, 1982.

ANEXO 2

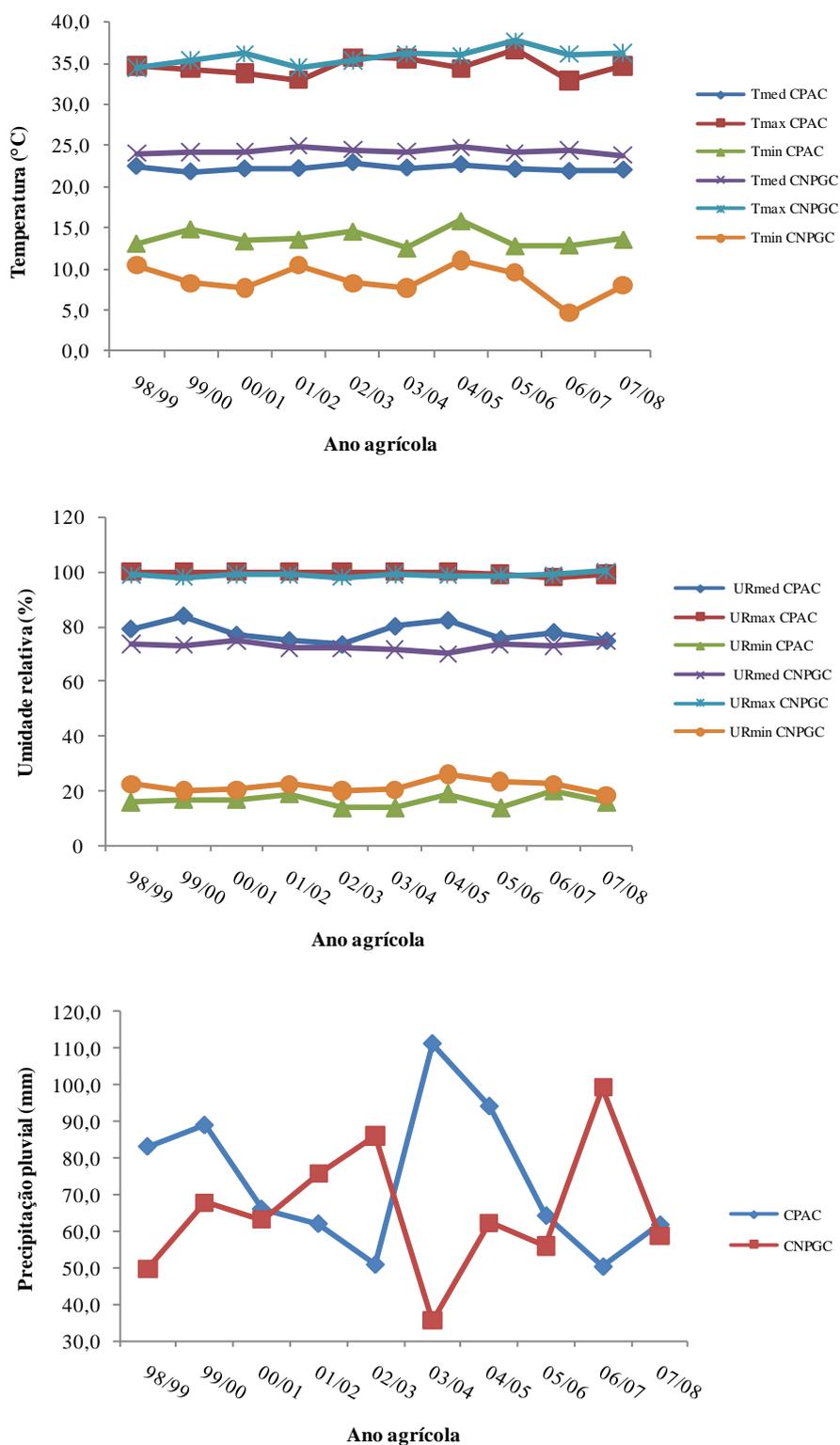


Figura 2.1. Histórico climático anual de temperatura, umidade relativa e precipitação pluvial durante o período de produção de sementes de *brachiaria* spp. (novembro a maio) em Planaltina-DF (CPAC) e Campo Grande-MS (CNPGC) durante 10 anos agrícolas.

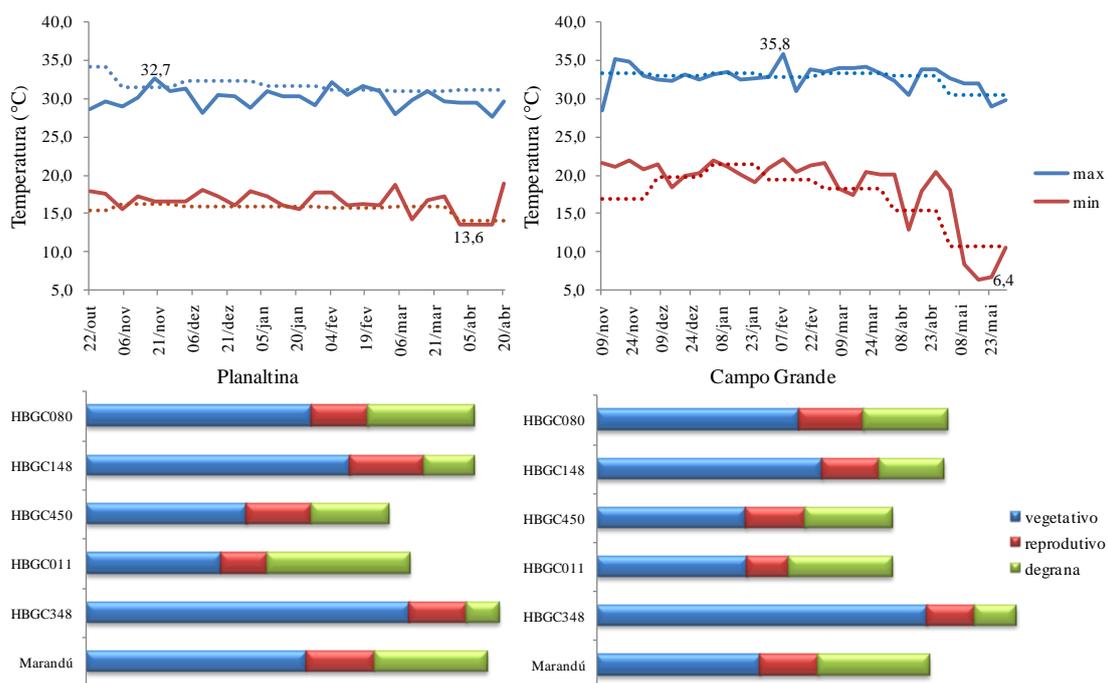


Figura 2.2. Temperatura máxima e mínima semanal (linha) durante as fases fenológicas dos genótipos de *brachiaria* spp., no período de produção de semente na safra 2009/10 em Planaltina-DF e Campo Grande-MS. Linha tracejada é a média da temperatura máxima e mínima mensal dos 10 últimos anos agrícolas.

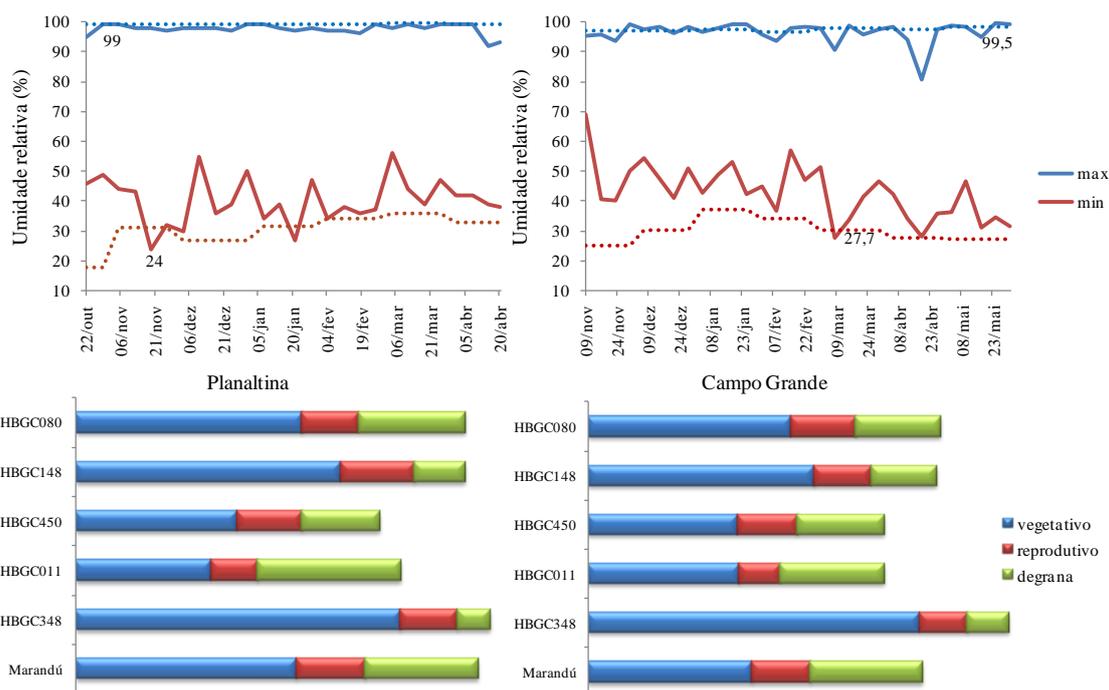


Figura 2.3. Umidade relativa máxima e mínima semanal (linha) durante as fases fenológicas dos genótipos de *brachiaria* spp., no período de produção de semente da safra 2009/10 em Planaltina-DF e Campo Grande-MS. Linha tracejada é a média da umidade relativa máxima e mínima mensal dos 10 últimos anos agrícolas.

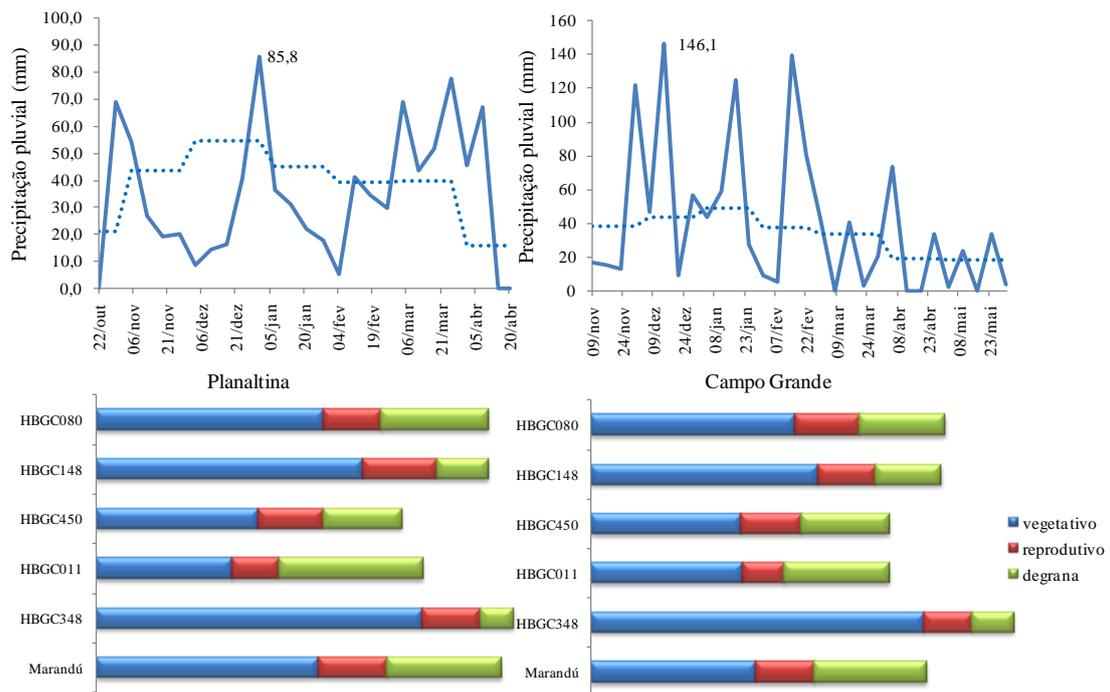


Figura 2.4. Precipitação pluviométrica (mm) semanal (linha) durante as fases fenológicas dos genótipos de *brachiaria* spp., no período de produção de semente da safra 2009/10 em Planaltina-DF e Campo Grande-MS. Linha tracejada é a média da precipitação mensal dos 10 últimos anos agrícolas.

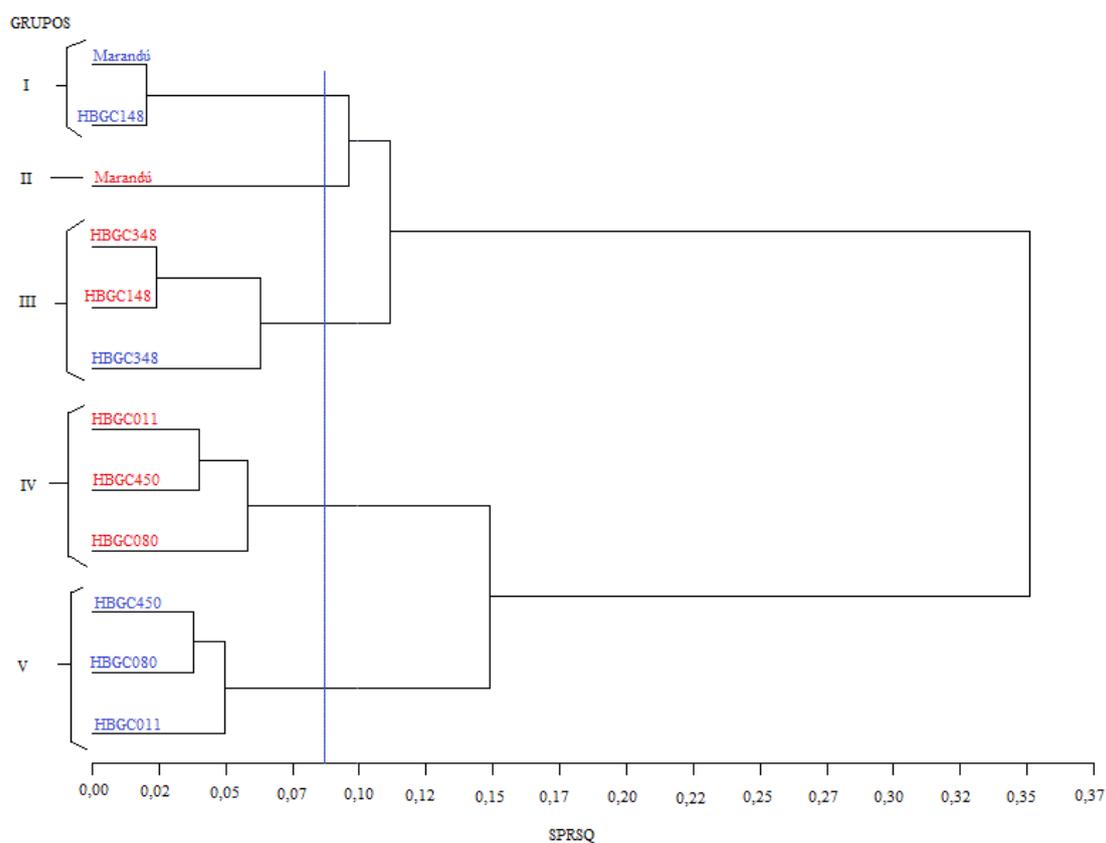


Figura 2.5. Dendrograma do agrupamento de 6 genótipos de *brachiaria* spp. em Planaltina (vermelho) e Campo Grande (azul), pelo método Ward, utilizando-se 24 caracteres, em relação a correlação parcial ao quadrado (SPRSQ). A reta vertical representa o momento de parada do algoritmo para formação dos cinco grupos de genótipos x ambiente.

Tabela 2.1. Análise de solo referente a componentes químicos e biológico no segundo ano de produção de sementes em Planaltina – DF.

PH	Al	P	K	CaAA	MgAA	H+Al	MO
H2O	(me/100cc)	(mg/l)	(mg/l)	(me/100cc)	(me/100cc)	(me/100cc)	
5,62	0,31	1,23	18,00	1,64	0,67	5,46	2,35

Tabela 2.2. Análise de solo referente a componentes químicos e biológico no primeiro ano de produção de sementes em Campo Grande – MS.

PH	Al	P	K	CaAA	MgAA	H+Al	MO
H2O	(me/100cc)	(mg/l)	(mg/l)	(me/100cc)	(me/100cc)	(me/100cc)	
5,46	0,49	1,77	48	1,69	0,67	8,24	3,06

Tabela 2.3. Análise de variância para 21 variáveis (fenológicos, componentes de produção, qualidade fisiológica de semente e viabilidade polínica) com significância para interação genótipo x ambiente.

Variáveis	Média	CV(%)	Significância
Emborrachamento (dias)	98	1,43	*
Início do florescimento (dias)	105	1,33	*
Final do florescimento (dias)	114	1,27	*
Início da degrana (dias)	124	1,14	*
Final da degrana (dias)	163	0,87	*
Nº inflorescência/planta	90	15,03	*
Nº racemo/inflorescência	3	13,85	*
Nº espiguetas/racemo	38	18,94	*
Nº semente/grama	134	5,64	*
Produtividade (kg/ha)	185	21,93	*
Nº semente/planta	483	22,17	*
Nº espiguetas/planta	8999	20,66	*
Semente cheia (%)	25	19,24	*
Semente chocha (%)	75	6,33	*
Peso de 1000 sementes (g)	8	6,05	*
Primeira contagem (%)	35	15,28	*
Germinação (%)	51	13,35	*
Emergência (%)	33	18,87	*
Índice velocidade emergência	2	18,77	*
Tetrazólio (%)	55	10,74	*
Pólen viável (%)	59	17,49	*

*Significativo ao nível de 5% de probabilidade.

Tabela 2.4. Análise conjunta das fases fenológicas em Planaltina – DF e Campo Grande – MS na safra 2009/10.

Genótipo	Emborrachamento		Início		Florescimento		Início		Final	
	(dias)		Florescimento		Pleno		da degrana		dadegrana	
	DF	MS	DF	MS	DF	MS	DF	MS	DF	MS
Marandú	96 Aa	79 Ab	106 Aa	88 Ab	115 Aa	98 Ab	126 Aa	107 Ab	175 Aa	161 Ab
HBGC348	141 Bb	160 Ba	147 Bb	171 Ba	154 Bb	177 Ba	166 Bb	183 Ba	180 Bb	203 Ba
HBGC011	59 Bb	73 Ba	62 Bb	77 Ba	69 Bb	85 Ba	79 Bb	93 Ba	141 Ba	143 Ba
HBGC450	70 Ba	72 Ba	77 Bb	80 Ba	85 Bb	88 Ba	98 Bb	101 Ba	132 Bb	143 Ba
HBGC148	115 Ba	109 Bb	126 Ba	116 Bb	134 Ba	127 Bb	147 Ba	137 Bb	169 Ba	168 Ba
HBGC080	98 Aa	98 Ba	102 Bb	107 Ba	112 Bb	120 Ba	123 Bb	129 Ba	169 Ba	170 Ba
CV(%)	1,43		1,33		1,27		1,14		0,87	

Médias seguidas pela mesma letra minúscula na linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na coluna, não diferem da testemunha (cv. Marandú) pelo teste de Dunnett, a 5% de probabilidade.

Tabela 2.5. Análise conjunta dos componentes de produção de sementes em Planaltina – DF e Campo Grande – MS na safra 2009/10.

Genótipo	Inflorescência/planta		Racemo/ inflorescência		Espiguetas/ racemo		Espiguetas/planta	
	DF	MS	DF	MS	DF	MS	DF	MS
Marandú	78 Aa	23 Ab	2,0 Ab	4,4 Aa	35 Ab	54 Aa	5460Aa	5465Aa
HBGC348	68 Aa	37 Ab	3,1 Bb	4,8 Aa	30 Aa	31 Ba	6324Aa	5506Aa
HBGC011	197 Ba	104 Bb	2,3 Ab	3,8 Ba	25 Bb	39 Ba	11327Aa	15413Ba
HBGC450	122 Aa	49 Ab	2,2 Ab	2,6 Ba	33 Ab	47 Ba	8857Aa	5988Aa
HBGC148	139 Ba	45 Ab	2,4 Ab	4,5 Aa	34 Ab	48 Ba	11342Aa	9720Aa
HBGC080	177 Ba	37 Ab	2,3 Ab	4,4 Aa	34 Ab	49 Ba	13841Ba	7977Ab
CV(%)	15,03		13,85		18,94		20,66	

Médias seguidas pela mesma minúscula na linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na coluna, não diferem da testemunha (cv. Marandú) pelo teste de Dunnett, a 5% de probabilidade.

Tabela 2.6. Análise conjunta dos componentes de produção de sementes em Planaltina – DF e Campo Grande – MS na safra 2009/10.

Genótipo	Número de semente/ grama		Produtividade (kg/ha)		Nº semente/ planta	
	DF	MS	DF	MS	DF	MS
Marandú	126 Aa	135 Aa	675,28 Aa	213,46 Ab	1785 Aa	600 Ab
HBGC348	105 Ba	105 Ba	183,05 Ba	142,82 Aa	405 Ba	312 Aa
HBGC011	153 Bb	164 Ba	39,50 Ba	22,52 Ba	127 Ba	77 Ba
HBGC450	123 Ab	182 Ba	218,73 Ba	91,85 Bb	560 Ba	353 Aa
HBGC148	112 Aa	119 Ba	339,50 Ba	219,20 Ab	805 Ba	553 Aa
HBGC080	128 Ab	151 Ba	66,65 Ba	12,47 Bb	180 Ba	40 Bb
CV(%)	5,64		21,93		22,17	

Médias seguidas pela mesma minúscula na linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na coluna, não diferem da testemunha (cv. Marandú) pelo teste de Dunnett, a 5% de probabilidade.

Tabela 2.7. Análise conjunta da qualidade fisiológica das sementes e viabilidade polínica de genótipos de *brachiaria* produzidas em Planaltina – DF e Campo Grande – MS na safra 2009/10.

Genótipo	Semente Cheia (%)		Semente Chocha (%)		Peso 1000 semente (g)		Pólen viável (%)	
	DF	MS	DF	MS	DF	MS	DF	MS
Marandú	68,00 Aa	44,96 Ab	30,83 Ab	54,88 Aa	7,9963 Aa	7,4368 Aa	75,06 Aa	65,27 Ab
HBGC348	24,71 Ba	24,62 Ba	74,17 Ba	75,34 Ba	9,5831 Ba	9,5574 Ba	82,68 Ba	76,03 Bb
HBGC011	5,09 Ba	3,25 Ba	94,48 Ba	96,71 Ba	6,5541 Ba	6,0900 Ba	37,57 Ba	30,00 Bb
HBGC450	35,37 Ba	18,31 Bb	63,21 Bb	81,28 Ba	8,1445 Aa	5,4841 Bb	50,93 Ba	52,86 Ba
HBGC148	34,16 Ba	27,94 Ba	65,54 Ba	71,98 Ba	8,9688 Ba	8,4469 Ba	64,21 Bb	71,37 Ba
HBGC080	6,23 Ba	2,17 Ba	93,53 Ba	97,72 Ba	7,7879 Aa	6,6656 Ab	54,00 Ba	45,68 Bb
CV(%)	19,24		6,33		6,05		17,49	

Médias seguidas pela mesma letra minúscula na linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na coluna, não diferem da testemunha (cv. Marandú) pelo teste de Dunnett, a 5% de probabilidade.

Tabela 2.8. Análise conjunta da qualidade fisiológica das sementes de genótipos de *brachiaria* produzidas em Planaltina – DF e Campo Grande – MS na safra 2009/10.

Genótipo	Emergência (%)		Índice de Velocidade de Emergência		Tetrazólio (%)		Primeira Contagem (%)		Germinação (%)	
	DF	MS	DF	MS	DF	MS	DF	MS	DF	MS
	Marandú	48 Aa	43 Aa	2,59 Aa	2,38 Aa	65 Aa	56 Ab	51 Aa	41 Ab	63 Aa
HBGC348	39 Aa	22 Bb	2,57 Aa	1,40 Bb	59 Aa	61 Aa	47 Aa	25 Ab	59 Aa	51 Ab
HBGC011	49 Aa	30 Bb	2,24 Aa	1,05 Bb	64 Aa	53 Ab	56 Aa	26 Ab	68 Aa	53 Ab
HBGC450	36 Ba	6 Bb	1,79 Ba	0,43 Bb	53 Ba	34 Bb	40 Aa	21 Bb	52 Aa	35 Ab
HBGC148	49 Aa	29 Bb	2,85 Aa	1,86 Ab	52 Ba	50 Aa	44 Aa	34 Ab	57 Aa	54 Ab
HBGC080	21 Ba	20 Ba	0,84 Ba	0,73 Ba	58 Aa	51 Aa	22 Ba	15 Bb	43 Aa	31 Ab
CV(%)	18,87		18,77		10,74		15,28		13,35	

Médias seguidas pela mesma letra minúscula na linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na coluna, não diferem da testemunha (cv. Marandú) pelo teste de Dunnett, a 5% de probabilidade.

Tabela 2.9. Estimativas de correlação da análise de trilha dos grupos I, II e III.

Grupo		Estimativa de correlação
I	Coeficiente de determinação (R ²)	0,2783
	Efeito da variável residual	0,8495
II	Coeficiente de determinação (R ²)	0,3461
	Efeito da variável residual	0,8087
III	Coeficiente de determinação (R ²)	0,3281
	Efeito da variável residual	0,8197

Tabela 2.10. Análise de trilha do grupo IV.

Variáveis	Estimativa de correlação		Coeficiente de correlação
	Efeito direto	Efeito indireto	
FINAL DA DEGRANA			
produtividade	-0,7518		
inflorescência por planta		-0,0213	
espiguetas por racemo		0,0111	
espiguetas por planta		0,1031	
germinação		0,0711	
emergência		0,1657	
pólen viável		-0,0338	
TOTAL			-0,4559
INFLORESCÊNCIA POR PLANTA			
produtividade	-0,6531		
final da degrana		-0,0245	
espiguetas por racemo		0,0204	
espiguetas por planta		0,1608	
germinação		-0,0314	
emergência		-0,0021	
pólen viável		-0,0247	
TOTAL			-0,5547
ESPIGUETA POR RACEMO			
produtividade	-0,0635		

final da degrana		0,1315	
inflorescência por planta		0,2093	
espiguetas por planta		-0,0150	
germinação		0,1002	
emergência		0,2365	
pólen viável		-0,0825	
TOTAL			0,5164
<hr/>			
ESPIGUETA POR PLANTA			
produtividade	0,2376		
final da degrana		-0,3262	
inflorescência por planta		-0,4421	
espiguetas por racemo		0,0040	
germinação		0,0707	
emergência		0,1554	
pólen viável		-0,0526	
TOTAL			-0,3531
<hr/>			
GERMINAÇÃO			
produtividade	-0,2066		
final de degrana		0,2586	
inflorescência por planta		-0,0994	
espiguetas por racemo		0,0308	
espiguetas por planta		-0,0814	
emergência		-0,2287	
pólen viável		0,1424	
TOTAL			-0,1842
<hr/>			
EMERGÊNCIA			
produtividade	-0,4018		
final da degrana		0,3101	
inflorescência por planta		-0,0035	
espiguetas por racemo		0,0374	
espiguetas por planta		-0,0919	
germinação		-0,1176	
pólen viável		0,0490	

TOTAL		-0,2182
<hr/>		
PÓLEN VIÁVEL		
produtividade	-0,2510	
final de degrana		-0,1011
inflorescência por plana		-0,0643
espiguetas por racemo		-0,0209
espiguetas por planta		0,0498
germinação		0,1173
emergência		0,0785
TOTAL		-0,1917
<hr/>		
Coeficiente de determinação (R ²)		0,7621
Efeito da variável residual		0,4877
<hr/>		

Tabela 2.11. Análise de trilha do grupo V.

Variáveis	Estimativa de correlação	Coefficiente de correlação
	Efeito direto	Efeito indireto
FINAL DE DEGRANA		
produtividade	-0,6818	
racemo por inflorescência		0,0837
espiguetas por racemo		0,2440
índice velocidade emergência		0,0331
tetrazólio		-0,0405
pólen viável		-0,0047
TOTAL		-0,3661
RACEMO POR INFLORESCÊNCIA		
produtividade	0,2272	
final de degrana		-0,2513
espiguetas por racemo		-0,0113
índice velocidade emergência		0,0172
tetrazólio		-0,2856
pólen viável		-0,0594
TOTAL		-0,3633
ESPIGUETA POR RACEMO		
produtividade	0,4620	
final de degrana		-0,3600
racemo por inflorescência		-0,0055
índice velocidade emergência		-0,0476
tetrazólio		-0,0166
pólen viável		0,1145
TOTAL		0,1468
ÍNDICE VELOCIDADE EMERGÊNCIA		
produtividade	0,2845	
final de degrana		-0,0794
racemo inflorescência		0,0137

espiguetas racemo		-0,0774	
tetrazólio		-0,3318	
pólen viável		-0,1226	
TOTAL			-0,3130
<hr/>			
TETRAZÓLIO			
produtividade	-0,6723		
final da degrana		-0,0411	
racemo por inflorescência		0,0965	
espiguetas por racemo		0,0114	
índice velocidade emergência		0,1404	
pólen viável		-0,1031	
TOTAL			-0,5681
<hr/>			
PÓLEN VIÁVEL			
produtividade	0,2425		
final degrana		0,0131	
racemo inflorescência		-0,0557	
espiguetas racemo		0,2183	
índice velocidade emergência		-0,1439	
tetrazólio		0,2857	
TOTAL			0,5600
<hr/>			
Coeficiente de determinação (R ²)		0,6636	
Efeito da variável residual		0,5800	
<hr/>			

Tabela 2.12. Instruções para Execução dos Ensaio de Distinguilidade, Homogeneidade e Estabilidade (DHE) para espécies de *brachiaria brizantha*, *B. decumbens*, *B. ruziziensis* e híbridos (BRASIL, 2001) com adaptações.

- Planta
 - Estolonífera ou sem estolão.
 - Hábito de crescimento (ereto, intermediário ou prostrado) – observação realizada no período vegetativo na época de máximo crescimento da planta.
 - Altura (alta, média ou baixa) – observação realizada antes do florescimento no centro da planta.
- Folha – observações realizadas no período vegetativo, no terço médio da planta.
 - Arquitetura (ereta, arqueada ou geniculada).
 - Pilosidade da bainha (ausente ou muito pouca, pouca, média, alta ou muito alta).
 - Distribuição da pilosidade na bainha (glabra, basal, apical, nas margens ou dispersas).
 - Forma da lâmina (linear ou lanceolada).
 - Comprimento da lâmina (curta, média ou longa).
 - Largura da lâmina (estreita, média ou larga).
 - Pilosidade da lâmina (ausente ou muito pouca, pouca, média, alta ou muito alta).
 - Distribuição da pilosidade na lâmina (glabra, face dorsal, face ventral, duas faces, base ou margens).
- Inflorescência – observações realizadas no período de pleno florescimento.
 - Comprimento da haste floral (curto, médio ou longo) - distância entre o nó da folha bandeira até a inserção do racemo basal.
 - Comprimento do eixo floral (curto, médio ou longo) - distância entre o racemo basal e terminal.
 - Comprimento do racemo basal (curto, médio ou longo).
 - Amplitude de variação de racemo por inflorescência.
 - Tipo de fila de espiguetas (única ou dupla)
- Espiguetas
 - Coloração do estigma receptivo na antese.
 - Coloração do estigma não receptivo após antese.
 - Pilosidade (ausente ou muito pouca, pouca, média, alta ou muito alta).
 - Comprimento da espiguetas (curta, média ou longa).
 - Largura da espiguetas (estreita, média ou larga).