

ANÁLISE DA PREDOMINÂNCIA SEXUAL DE GENITORES DE CANA-DE-AÇÚCAR COM O USO DO SOFTWARE R

Emanuel Araujo do Nascimento^{1*}; Wedja Barbosa Ferreira²; Paulo Pedro da Silva³; Carlos Assis Diniz³; João Messias dos Santos³

¹Mestrando em Produção Vegetal, Campus de Engenharias e Ciências Agrárias da Universidade Federal de Alagoas (CECA/UFAL); Rio Largo - AL;

²Graduanda em Agronomia, Campus de Engenharias e Ciências Agrárias da Universidade Federal de Alagoas (CECA/UFAL), Rio Largo - AL;

³Professor Doutor do Campus de Engenharias e Ciências Agrárias da Universidade Federal de Alagoas (CECA/UFAL), Rio Largo - AL;

*Autor correspondente: Emanuel Araujo do Nascimento, emanuel.nascimento@ceca.ufal.br.

RESUMO: Objetivou-se analisar a predominância sexual de genótipos de cana-de-açúcar com o uso do software R. O estudo foi realizado na Estação de Floração e Cruzamento Serra do Ouro, em Murici/AL, com inflorescências de 20 genitores coletadas em antese, entre março e julho. As amostras foram preparadas com lugol, as imagens microscópicas foram capturadas e processadas com o pacote *pliman* do software R para determinação automática da viabilidade polínica. Observou-se variação expressiva nas porcentagens de pólen viável, de 23,1% a 95,2%, com média de 69,4%. O uso do software R é promissor na determinação sexual de variedades de cana-de-açúcar e contribui para o planejamento de cruzamentos mais eficientes de plantas em programas de melhoramento genético.

PALAVRAS CHAVE: *Saccharum* spp., viabilidade do pólen, melhoramento genético, hibridação.

ANALYSIS OF SEXUAL PREDOMINANCE OF SUGARCANE PARENTS USING R SOFTWARE

ABSTRACT: The objective was to analyze the sexual predominance of sugarcane genotypes using the R software. The study was conducted at the Serra do Ouro Flowering and Crossing Station, in Murici, AL, with inflorescences from 20 parent plants collected at anthesis between March and July 2024. Samples were prepared with Lugol, and microscopic images were captured and processed using the *pliman* package in R for automatic determination of pollen viability. Significant variation was observed in the percentages of viable pollen, ranging from 23.1% to 95.2%, with an average of 69.4%. The use of R software shows promise in determining the sexual classification of sugarcane varieties and contributes to more efficient cross-breeding planning in plant breeding programs.

KEYWORDS: *Saccharum* spp., pollen viability, genetic breeding, hybridization.

INTRODUÇÃO

A cana-de-açúcar (*Saccharum* spp.) é uma cultura de grande relevância econômica, utilizada na produção de açúcar, etanol e bioenergia. Sua importância se reflete na necessidade de desenvolver variedades que sejam não apenas produtivas, mas também adaptadas às condições ambientais e resistentes a pragas e doenças. Assim, o melhoramento genético desempenha um papel crucial na busca por variedades mais produtivas e resistentes (Cursi et al., 2022).

A determinação sexual em variedades de cana-de-açúcar é essencial para os programas de melhoramento genético, pois a qualidade e a viabilidade do pólen afetam diretamente a polinização e a formação dos grãos. Técnicas tradicionais, como a coloração citológica e a observação microscópica estereoscópica têm sido utilizadas para avaliar a predominância sexual em cana-de-açúcar (Machado Jr., 1987; Amaral et al., 2012). No entanto, essas abordagens apresentam limitações em termos de precisão e eficiência, o que pode prejudicar a seleção dos melhores genótipos para a hibridação.

Nos últimos anos, o uso de ferramentas computacionais como o Software R tem se consolidado em pesquisas científicas no melhoramento vegetal por possibilitar o processamento de grandes volumes de dados. Segundo Padilha et al. (2024) esse avanço metodológico tem o potencial de contribuir para a redução de custos operacionais e otimização de tempo. A utilização de sistemas computacionais tem facilitado a aplicação de técnicas estatísticas, disponíveis em códigos abertos para a realização de análises complexas no sistema biológico. No entanto, a visão computacional para programas de melhoramento genético tem consolidado o uso de ferramentas de códigos abertos, a exemplo de *PollenCounter*, *Deep Learning* e *ImageJ* que foram testados por pesquisadores para análise de classificação de pólenes inviáveis e viáveis em culturas agrícolas, como tomate (Ayenan et al., 2020) e outras espécies (Zhang et al., 2024), embora, essa abordagem ainda tem sido pouco explorada em programas de melhoramento genético de cana-de-açúcar, a exemplo da utilização do software R. Diante desse contexto, o presente estudo tem como objetivo analisar a predominância sexual de genótipos de cana-de-açúcar com o uso do software R.

MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi realizado na Estação de Floração e Cruzamento Serra do Ouro (EFCSO), localizado no Município de Murici, AL (09°13'S, 35°50'W, 515 m), onde está localizado o banco de germoplasma da Rede Interuniversitária para o Desenvolvimento do Setor Sucroenergético (RIDESA).

Entre os meses de março e julho de 2024, foram coletadas inflorescências de 20 genitores de cana-de-açúcar em estágio de antese por volta das seis horas da manhã, em que três inflorescências de cada genitor foram colocadas dentro de um saco de papel Kraft, e posteriormente agitadas, com a finalidade de liberar os grãos de pólen. Em seguida, coletou-se uma amostra composta e fracionou-se em quatro subamostras de cada genitor. As análises da viabilidade polínica foram realizadas no laboratório da EFCSO, onde cada amostra foi preparada com uma solução de lugol, conforme o protocolo descrito por Dafni (1992).

Após a preparação das lâminas e exposição ao microscópio, imagens de cada amostra foram capturadas com um celular Samsung Galaxy A32. Para que as análises pudessem ser processadas, três padrões de imagens foram construídos a partir de 20 imagens capturadas, para serem utilizadas como referência pelo R no processamento das imagens: a) padrão 1, contendo fundo de lâmina, cuja área selecionada não continha grãos de polens; b) padrão 2, contendo grãos de polens inviáveis (que não reagiram com a solução lugol); c) padrão 3, contendo grãos de polens viáveis (que reagiram com a solução lugol).

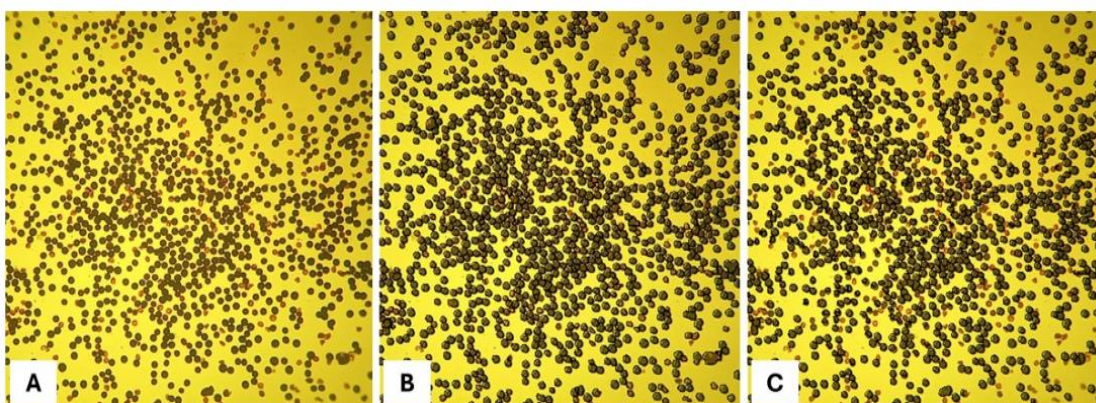
Após esse passo, a combinação dos tratamentos com imagens finais foi obtida e nomeada de acordo com a designação do pacote *pliman* para leitura pelo software R (Olivoto, 2022), com as nomeclaturas: *background1* (fundo 1, que corresponde ao padrão 1); *background2* (fundo 2, contendo as duas imagens: padrão 1 e padrão 2); *foreground1* (primeiro plano 1, combinação do padrão 2 e padrão 3) e *foreground2* (primeiro plano 2, que corresponde ao padrão 3). Finalmente, foi criada uma *pssta* no Windows contendo as

quatro imagens com os tratamentos mencionados anteriormente (background1, background2, foreground1 e foreground2), contendo um arquivo com terminação .Rmd, bem como a criação de três pastas: uma com nome originals, contendo as imagens originais dos genótipos a serem processadas na análise, Figura 1A; uma pasta de nome processed1, pasta em que as imagens são geradas automaticamente após a análise, contendo circulações de todos os grãos de polens, viáveis e não viáveis, Figura 1B) e processed2, pasta contendo as imagens geradas automaticamente, contendo apenas a circulação dos grãos de polens viáveis, Figura 1C.

Após o processamento das análises, na mesma pasta do diretório, tem-se a saída dos resultados das análises de forma automática em formato de tabela, contendo o nome dos genótipos, o total geral de grãos de polens, e o total viável, bem como a porcentagem de viabilidade.

Os dados foram submetidos à análise de estatística descritiva e classificados pela metodologia de Gómez (1962), que considera plantas masculinas com mais de 70% dos grãos de pólen viáveis, femininas com menos de 30% e intermediária entre 30 e 70%.

Figura 1. Exemplo de imagem utilizada para o processamento da contagem de grãos de polens com o uso do programa R. (A) Imagem original, com polens viáveis (coloração roxo escuro) e não viáveis (coloração roxo claro); (B) Imagem processada pelo R, com circulação automática de todos os grãos de polens (viáveis e não viáveis); (C) Imagem processada pelo R com circulação automática de apenas os grãos de polens viáveis.



Fonte: Autores (2024).

RESULTADOS E DISCUSSÃO: A análise da viabilidade de pólen entre os 20 genitores de cana-de-açúcar revelou variação expressiva nas porcentagens de polens viáveis, com valores de 23,1% (RB951514) a 95,2% (RB961003) e média geral de 69,4% (Tabela 1). Observou-se que a maioria dos genótipos apresentou predominância masculina ou intermediária, o que indica capacidade adequada de produção de polens viáveis para cruzamentos. Essa diversidade de viabilidade de pólen entre os genótipos é crucial para o planejamento de cruzamentos direcionados (Melloniet al., 2014), uma vez que o direcionamento correto, conforme a classificação de viabilidade (Machado Jr., 1987), aumenta a chance de gerar sementes férteis e produtivas, otimizando a probabilidade de obter genótipos superiores em populações segregantes.

Os genitores com maior porcentagem de pólen viável, como o RB961003 (95,2%) e o RB117224 (92,5%), apresentaram predominância masculina. Esses genótipos são desejáveis em programas de melhoramento devido à sua elevada capacidade de produção de polens viáveis, o que facilita o processo de cruzamento e aumenta a produção de sementes férteis. Por outro lado, genótipos com menor viabilidade de pólen, tais como o VIII Semana da Agronomia. 11 a 14 de novembro de 2024. Campus de Engenharias e Ciências Agrárias. Rio Largo – AL

RB951514 (23,10%), apresentaram predominância sexual feminina, o que indica o seu potencial para uso como receptores de pólen em cruzamentos, principalmente em biparentais. A viabilidade de pólen é um parâmetro essencial na seleção de genitores para a realização de hibridação, pois influencia diretamente a eficiência dos cruzamentos e a variabilidade genética obtida (Amaral et al., 2012).

Tabela 1. Estatística descritiva da viabilidade de pólen (%) e predominância sexual de 20 genitores de cana-de-açúcar avaliados na Serra do Ouro, Murici-AL, Brasil, 2024.

Genótipos	Polens Viáveis (%)	Desvio Padrão (%)	Mínimo (%)	Máximo (%)	Predominância Sexual
RB951514	23,1	9,0	14,1	32,1	Feminina
RB028008	36,1	14,6	16,3	51,0	Intermediária
RB855025	45,9	14,6	29,5	65,0	Intermediária
RB1079	58,6	18,1	39,7	74,6	Intermediária
RB015923	58,7	14,7	47,1	79,3	Intermediária
RB855536	61,0	17,3	41,6	78,9	Intermediária
RB011443	63,5	10,0	49,7	73,3	Intermediária
RB05651	68,4	17,6	49,0	91,6	Intermediária
RB011941	69,8	15,8	46,4	80,0	Intermediária
RB941019	71,3	16,3	48,4	85,1	Masculina
RB064291	73,6	12,8	58,9	90,2	Masculina
RB07663	76,5	8,9	68,1	87,5	Masculina
RB93509	77,4	4,3	74,0	83,4	Masculina
RB865230	77,9	9,2	64,4	85,2	Masculina
RB056380	81,5	15,9	59,1	95,0	Masculina
RB06404	83,1	6,1	74,5	87,6	Masculina
RB017914	84,6	5,7	76,7	89,9	Masculina
RB055971	89,9	6,0	81,1	94,0	Masculina
RB117224	92,5	1,9	90,6	94,4	Masculina
RB961003	95,2	2,0	93,1	97,2	Masculina
Média	69,4	11,0	56,1	80,8	

O uso do pacote *pliman* no R se mostrou promissor para automatizar a contagem dos grãos de pólen, viabilizando a contagem, bem como reduzindo o tempo de análise, e por conseguinte, aumentando a precisão e efficientização das hibridações. Essa abordagem tecnológica representa avanço significativo para o melhoramento genético de cana-de-açúcar, uma vez que a técnica permite trabalhar com um grande volume de imagens simultaneamente, permitindo uma análise rápida, com resultados imediatos de sexagem, e por conseguinte, obtenção de elevado volume de dados (Olivoto, 2022). Isto foi comprovado por Ascari et al. (2020), onde demonstraram que o uso de análise e classificação automatizadas de imagens aumentou significativamente o poder estatístico

dos ensaios de viabilidade de pólen, identificando mais de 75.000 grãos de pólen com alta precisão, quando comparada à contagem manual tradicional.

Por fim, a implementação de metodologias que permitam a avaliação precisa da viabilidade do pólen é fundamental para o planejamento de hibridações. Considera-se que o uso de técnicas de análise de imagem pode transformar o método como os estudos de viabilidade do pólen são conduzidos, oferecendo novas perspectivas para a pesquisa em cana-de-açúcar, por ser uma ferramenta que surge como mais uma alternativa para eficientizar o processo de melhoramento genético da cultura.

CONCLUSÃO

O uso do software R apresentou grande êxito na determinação sexual de genótipos de cana-de-açúcar, o que contribuirá expressivamente para o planejamento de cruzamentos mais eficiente em programas de melhoramento genético de cana-de-açúcar. Este estudo evidencia a importância de tecnologias de análise na caracterização sexual, o que facilita a identificação de genótipos com maior viabilidade de pólen e melhor adequação para cruzamentos específicos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Amaral, A. L.; Santos, J. M.; Camara, T. M. M.; Barbosa, G. V. S. Metodologia de conservação de pólen de cana-de-açúcar. Aracaju: Embrapa Tabuleiros Costeiros, **2012**.
- Ascari, L.; Novara, C.; Dusio, V.; Oddi, L.; Siniscalco, C. Quantitative methods in microscopy to assess pollen viability in different plant taxa. *Plant Reproduction*, **2020**, 33, 205-219.
- Ayenan, M. A. T.; Danquah, A.; Ampomah-Dwamena, C.; Hanson, P.; Asante, I. K.; Danquah, E. Y. Optimizing PollenCounter for high throughput phenotyping of pollen quality in tomatoes. *MethodsX*, **2020**, 7, 100977.
- Cursi, D. E.; Benício, M. S.; Silva, J. F.; Balsalobre, T. W. A.; Santos, J. M.; Barbosa, G. V. S. History and current status of sugarcane breeding, germplasm development, and molecular genetics in Brazil. *Sugar Tech*, **2022**, 24, 112-133.
- Dafni, A. Pollination ecology: a practical approach. Publisher, **1992**.
- Gómez, A. F. Caña de azúcar. 2. ed. Caracas: Edicampa, **1962**.
- Melloni, M. L. G.; Oliveira, A. F.; Lopes, M. A.; Monteiro, P. S.; Santos, J. F. Selfing rate estimation in sugarcane under unfavorable natural conditions of crossing by using microsatellite markers. *Genetics and Molecular Research*, **2014**, 13, 2278-2289.
- Olivoto, T. Lights, camera, pliman! An R package for plant image analysis. *Methods in Ecology and Evolution*, **2022**, 13, 789-798.
- Padilha, K. S. M. A.; Silva, M. A.; Torres, R. C.; Costa, A. M. Use of image analysis in the evaluation of radicular nodules in chickpeas. *Caderno Pedagógico*, **2024**, 21, e7318-e7318.
- Zhang, C. J.; Liu, H.; Yang, R.; Wu, S. DeepPollenCount: a swin-transformer-YOLOv5-based deep learning method for pollen counting in various plant species. *Aerobiologia*, **2024**, 1-12.