

EFEITO DA VENTILAÇÃO NA GERMINAÇÃO DE CARIOPSES
E DO VÁCUO NA INOCULAÇÃO DE *Ustilago scitaminea*,
EM CANA-DE-AÇÚCAR

JORGE BLEICHER

Orientador: Dr. Hasime Tokeshi

Dissertação apresentada à Escola Superior de
Agricultura "Luiz de Queiroz", da Universi-
dade de São Paulo, para obtenção do título
de Mestre em Fitopatologia.

P I R A C I C A B A
Estado de São Paulo - Brasil
Abril, 1978

*À minha esposa e
aos nossos pais,
DEDICO.*

AGRADECIMENTOS

Externamos nossos agradecimentos a todos aqueles que diretamente ou indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho, principalmente às seguinte pessoas e entidades:

- Ao Prof. Dr. HASIME TOKESHI, pela orientação, amizade, interesse científico e dedicação ao trabalho.

- À EMPRESA CATARINENSE DE PESQUISAS AGROPECUÁRIAS (EMPASC) pela oportunidade e suporte financeiro durante a realização do curso.

- À EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISAS AGROPECUÁRIAS (EMBRAPA), pela concessão da bolsa de Estudos, para a realização do curso.

- Ao PLANALSUCAR pela aquisição das sementes de cana-de-açúcar.

- À ESCOLA SUPERIOR DE AGRICULTURA "LUIZ DE QUEIROZ" pela cessão de instrumentos e material utilizado.

- Ao Dr. SIZUO MATSUOKA, pela revisão dos originais e valiosas sugestões.

- Aos COLEGAS do curso de pós-graduação pelas valiosas sugestões apresentadas.

- Aos PROFESSORES DO DEPARTAMENTO DE FITOPATOLOGIA pelo apoio dado durante o curso.

- Ao DEPARTAMENTO DE TECNOLOGIA DE SEMENTES e em especial ao Dr. SILVIO DE MOURA CICERO pelas sugestões.

INDICE

	<u>página</u>
1. RESUMO	1
2. INTRODUÇÃO	3
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	5
3.1. Efeito da pureza física das sementes sobre a germinação e o vigor	5
3.2. Influência de microorganismos na germinação e desenvolvimento de plântulas de cana-de-açúcar	7
3.2.1. Fungos presentes em cariopses com casca de cana-de-açúcar	7
3.2.2. Controle químico e físico dos fungos contaminantes de cariopses	7
3.3. Influência do vácuo e do descascamento na colonização de plântulas de cana-de-açúcar por <i>U. scitaminea</i>	8
3.3.1. Técnicas de inoculação com <i>U. scitaminea</i> e outros <i>Ustilago</i> spp. em gramíneas	8
3.3.2. Uso do vácuo na inoculação de <i>Ustilago</i> spp. em gramíneas	10
3.3.3. Influência do descascamento dos cariopses, na inoculação de sementes de gramíneas por <i>Ustilago</i> spp. ..	11
4. MATERIAL E MÉTODO	13
4.1. Efeito da ventilação sobre a germinação, vigor e pureza física de cariopses sem "FUZZ"	13

4.1.1. Efeito da ventilação no número de cariopses beneficiadas de cana-de-açúcar	14
4.1.2. Porcentagem média de impurezas eliminadas pela ventilação, em cariopses de 5 cultivares de cana-de-açúcar	15
4.1.3. Efeito da ventilação na germinação média e no vigor médio de cariopses de cana-de-açúcar	16
4.2. Mortalidade de plântulas de cana-de-açúcar, por microorganismos	17
4.2.1. Efeito do vácuo, descascamento e inoculação de <i>U. scitamínea</i> na mortalidade de plântulas de cana-de-açúcar	17
4.2.1.1. Fungos encontrados em plântulas mortas, após inoculação nas cariopses por <i>U. scitamínea</i>	18
4.2.2. Influência do formol na porcentagem de sobrevivência de plântulas de cana-de-açúcar	19
4.3. Efeito do vácuo na germinação de clamidósporos de <i>U. scitamínea</i> e de cariopses de cana-de-açúcar	19
4.3.1. Efeito do vácuo na porcentagem de germinação de clamidósporos de <i>U. scitamínea</i>	20
4.3.2. Efeito do vácuo na porcentagem de germinação de cariopses de cana-de-açúcar	20
4.4. Efeito do vácuo, formol e descascamento, aplicados às cariopses, na colonização de plântulas de cana-de-açúcar por	

<i>U. scitaminea</i>	21
4.4.1. Efeito do vácuo e do formol, aplicados às cariopses, na colonização de plântulas por <i>U. scitaminea</i>	22
4.4.2. Efeito do vácuo e do descascamento aplicados às cariopses, na colonização de plântulas por <i>U. scitaminea</i>	23
4.4.3. Efeito do vácuo aplicado às cariopses, na colonização de plântulas por <i>U. scitaminea</i>	23
4.5. Análise dos ensaios	24
5. RESULTADOS	25
5.1. Efeito da ventilação sobre a germinação, vigor e pureza física de cariopses sem "FUZZ"	25
5.1.1. Efeito da ventilação no número de cariopses beneficiadas de cana-de-açúcar	25
5.1.2. Porcentagem média de impurezas eliminadas pela ventilação, em cariopses de 5 cultivares de cana-de-açúcar	25
5.1.3. Efeito da ventilação na germinação média de cariopses de cana-de-açúcar	27
5.1.4. Efeito da ventilação no vigor médio de cariopses de cana-de-açúcar	27
5.2. Mortalidade de plântulas de cana-de-açúcar por microorganismos	28
5.2.1. Efeito do vácuo, descascamento e inoculação de <i>U. scitaminea</i> na mortalidade de plântulas de cana-de-	

açúcar	28
5.2.1.1. Fungos encontrados em plântulas mortas, após inoculação nas cariopses por <i>U. scitamínea</i>	31
5.2.2. Influência do formol na porcentagem de sobrevivência de plântulas de cana-de-açúcar	32
5.3. Efeito do vácuo na germinação de clamidósporos de <i>U. scitamínea</i> e de cariopses de cana-de-açúcar	33
5.3.1. Efeito do vácuo na porcentagem de germinação de clamidósporos de <i>U. scitamínea</i>	33
5.3.2. Efeito do vácuo na porcentagem de germinação de cariopses de cana-de-açúcar	33
5.4. Efeito do vácuo, formol e descascamento aplicados às cariopses, na colonização de plântulas de cana-de-açúcar por <i>U. scitamínea</i>	33
5.4.1. Efeito do vácuo e do formol, aplicados às cariopses, na colonização de plântulas por <i>U. scitamínea</i>	33
5.4.2. Efeito do vácuo e do descascamento aplicados às cariopses na colonização de plântulas por <i>U. scitamínea</i>	37
5.4.3. Efeito do vácuo, aplicado às cariopses, na colonização de plântulas por <i>U. scitamínea</i>	37
6. DISCUSSÃO	40
6.1. Efeito da ventilação sobre a germinação, vigor e pureza fisiológica das cariopses sem FUZZ"	40

6.2. Mortalidade de plântulas de cana-de-açúcar por microorganismos	42
6.3. Efeito do vácuo na germinação de clamidósporos de <i>U. scitaminea</i> e de cariopses de cana-de-açúcar	44
6.4. Efeito do vácuo, formol e descascamento, aplicados às cariopses, na colonização de plântulas de cana-de-açúcar por <i>U. scitaminea</i>	45
7. CONCLUSÕES	47
8. SUMMARY	49
9. LITERATURA CITADA	51
APÊNDICE	56

1. RESUMO

Foi beneficiado o "FUZZ" de cariopses de 5 cultivares de cana-de-açúcar, as quais foram ventiladas, eliminando-se as impurezas físicas. Na ventilação com a força de $9,6 \text{ mg/cm}^2$, foram eliminados em média 56% de impurezas, diminuindo o peso inicial do lote em mais de 63%. A porcentagem de germinação e o Índice de vigor, das cariopses ventiladas em condições ideais, foi superior às não ventiladas.

Cariopses de cana-de-açúcar foram tratadas com formol antes de serem inoculadas com *Ustilago scitaminea*. As plântulas oriundas deste tratamento não apresentaram diferenças estatísticas significativas na sobrevivência comparadas às não tratadas. Também não houve significância estatística na colonização de plântulas de cana-de-açúcar por *Ustilago scitaminea*, oriundas de cariopses tratadas com formol e não tratadas.

Nas plântulas mortas durante o ensaio foram identificados os fungos: *Phoma* sp., *Curvularia* sp. e *Helminthosporium* sp.

Foram inoculadas cariopses com casca e sem casca de *U. scita*

minea, na concentração de 6.10^6 esporos/ml, verificando-se que houve um aumento superior a 43% de plântulas colonizadas oriundas de cariopses sem casca. Por outro lado o descascamento aumentou a porcentagem de plântulas mortas em mais de 58%.

Submeteu-se ao vácuo de 250 a 55 mm/Hg clamidósporos de *U. scitaminea* e cariopses de cana-de-açúcar, verificando-se que os clamidósporos não foram afetados na germinação e as cariopses à 250 mm/Hg sofreram a redução superior a 14% na germinação.

Foi usado o vácuo como método de inoculação de cariopses de cana-de-açúcar por *U. scitaminea* em vários cultivares. Observou-se que o vácuo substitui o método de inoculação por descascamento das cariopses, não interferindo na mortalidade de plântulas e aumentando significativamente a porcentagem de plântulas colonizadas (42,8% na cultivar CO 62-175) em relação àquelas oriundas de cariopses não submetidas ao vácuo.

2. INTRODUÇÃO

O carvão da cana-de-açúcar, causado por *Ustilago scitaminea* Sidow, é uma doença de grande importância para a economia açucareira do Brasil (CARVALHO, 1949; ARRUDA e TOFFANO, 1951 e BRIEGER, 1965). O controle da doença, por intermédio de variedades resistentes, vem sendo recomendado como o método mais eficiente (ANTOINE, 1961 e GALLI et alii, 1968).

Uma das metas, na procura de cultivares resistentes a *U.scitaminea*, é conseguir um método precoce de seleção de plantas resistentes, para tornar o método de melhoramento mais econômico.

A produção de sementes livres de contaminantes e com bom Índice de germinação e vigor é considerada fundamental, para o êxito nos trabalhos que preconizam uma metodologia precoce de obtenção de cultivares resistentes. Isto fica evidente nos trabalhos de SANGUINIO (1976), que deu ênfase à patologia de sementes, pois observou que os contaminantes presentes nas cariopses prejudicam a germinação e o desenvolvimento das plântulas de cana-de-açúcar. Procurando-se aumentar a germinação das cariopses

de cana-de-açúcar e eliminar o máximo possível as impurezas e cariopses chochas, optou-se pela ventilação dos mesmos, procurando desta maneira eliminar alguns fatores que podem influir no método precoce de seleção de plântas resistentes ao carvão.

Visando fornecer subsídios ao método de inoculação de plântulas de cana-de-açúcar com *U. scitaminea*, para seleção de cultivares resistentes, *DUARTE e TOKESHI (1977)* concluíram que é perfeitamente possível e viável o método de inoculação em plântulas de cana-de-açúcar, sendo considerado um método auxiliar de grande eficiência.

Nos estudos destes autores, ficou evidente a necessidade de se estudar a influência do descascamento das cariopses, na inoculação de plântulas por *U. scitaminea*, procurando uma possibilidade de contornar o processo lento da retirada da palea e lema. O descascamento, além de ser um processo de pouca aceitação na prática, dependendo do operador, prejudicava sensivelmente as cariopses, diminuindo a porcentagem de germinação.

Neste trabalho, cariopses e sementes são usadas como sinônimos, assim como cariopses descascadas e cariopses sem palea e lema.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

A presente revisão procura destacar três aspectos distintos:

- a. o efeito da pureza física das sementes sobre a germinação e o vigor;
- b. influência de microorganismos na germinação e desenvolvimento das plântulas de cana-de-açúcar;
- c. influência do vácuo e do descascamento das sementes, na colonização de plântulas por *Ustilago* spp.

3.1. Efeito da pureza física das sementes sobre a germinação e o vigor

Vários trabalhos têm sido realizados em diversas espécies de gramíneas, no sentido de se determinar a influência do peso das sementes sobre a germinação e o vigor.

FERRAZ (1974), estudando a influência do tamanho e do peso de sementes de arroz sobre a germinação e o vigor, concluiu que estes estão associados àqueles e que as sementes pequenas e leves devem ser eliminadas, para a obtenção de uma germinação mais uniforme.

CICERO (1976) concluiu que, em cultivares de arroz estuda-

dos, a germinação e o vigor foram afetados pelo peso das sementes. As sementes pesadas e médias apresentaram maior porcentagem de germinação e também se mostraram mais vigorosas que as sementes leves de todos os cultivares estudados.

A pureza física é a característica que reflete a composição física e mecânica de um lote de sementes. Segundo *BLEASDALE (1977)*, as sementes maiores e mais pesadas, numa amostra, têm mais probabilidade de serem viáveis. Assim, sementes pequenas poderão ser eliminadas por peneiração e triagem.

MUSIL (1961) descreve um aparelho, o "assoprador de sementes", que consiste em passar uma corrente de ar uniforme, diretamente através de um tubo de diâmetro específico. A pressão, dada pela corrente de ar, é regulada por uma válvula, na parte superior. Pelo controle da corrente de ar, podemos separar cariopses leves e impurezas físicas leves, das cariopses mais pesadas que ficam, como resíduo, no tubo. É necessário saber a abertura correta da válvula, que regula a pressão do assoprador de sementes, e o tempo necessário de ventilação, para sementes de cada espécie que se quer ventilar.

Procurando melhorar as condições físicas e biológicas das sementes de cana-de-açúcar utilizadas no trabalho de melhoramento, *SILVA (1974)* desenvolveu um processo de produção de plântulas de cana-de-açúcar pela beneficiamento do "FUZZ" e transplanta precoce. O autor concluiu que, após o beneficiamento, a redução do volume de sementes foi de 64% e a redução do peso foi de 17%, aproximadamente, o que melhorou as condições de armazenamento e transporte das sementes, tornando o processo mais econômico. Mostrou tam -

bém que o beneficiamento do "FUZZ" não melhora a germinação e vigor das sementes.

3.2. Influência de microorganismos na germinação e desenvolvimento de plântulas de cana-de-açúcar

3.2.1. Fungos presentes em cariopses com casca de cana-de-açúcar

Muitas são as espécies de microorganismos patogênicos (fungos, bactérias e vírus) que podem ser carregados pelas sementes. Tais agentes contaminantes podem causar doenças nas próprias sementes, nas plântulas, nas plantas adultas e, mesmo, nas sementes da geração seguinte (TOLEDO, 1977). Como se nota, sementes portadoras de microorganismos são de péssima qualidade, prejudicando quaisquer trabalhos que se queiram desenvolver.

Em cana-de-açúcar, observou-se que *Helminthosporium sacchari* causou falhas na germinação e morte de plântulas de 3 a 6 dias de idade (LOVELESS e SMITH, 1956). Estas observações foram confirmadas por SANGUINIO (1976), que detectou a presença de 12 gêneros de fungos, em cariopses de cana-de-açúcar, sendo os mais importantes: *Helminthosporium* spp. (63%), *Curvularia* sp. (56%) e *Fusarium* sp. (46%). Estes dados confirmados por DUARTE (1976) e DUARTE e TOKESHI (1977), que relatam a colonização interna de tecidos de plântulas de cana-de-açúcar por *Helminthosporium* sp., *Curvularia* sp. e *Phoma* sp.

3.2.2. Controle químico e físico dos fungos contaminantes de cariopses

KLINE e ROANE (1972), trabalhando com sementes de cevada, de

envolveram um ensaio com fungicidas mercuriais, maneb, carboxin, thiram, benomyl, captan e ciclohexano. Aplicados isoladamente ou em combinações para o controle de *Helminthosporium* spp, os autores concluíram que as melhores combinações foram carboxin associado ao thiram e DCNA associado ao captan, podendo ser empregados em outras espécies do gênero. Devido à sensibilidade de *U. scitaminea* a estes fungicidas, eliminou-se a possibilidade de usá-los no controle de contaminantes de cariopses de cana-de-açúcar.

SANGUINIO (1976) controlou eficazmente a maior parte dos fungos de cariopses de cana-de-açúcar, com aplicações de formol e thiram, abrindo uma possibilidade de controle de contaminantes de cariopses, sem interferir na inoculação de plântulas por *U. scitaminea*.

A fim de impedir a interferência de contaminantes de cariopses, *DUARTE e TOKESHI (1977)* beneficiaram as cariopses, inicialmente, segundo o processo preconizado por *SILVA (1974)*, e, depois, atritando as cariopses entre duas telas de "nylon". Por este processo, despreendeu-se a casca dos cariopses. As cariopses foram selecionadas sob lupa estereoscópica. Este processo diminuiu o teor de contaminantes e melhorou a germinação das cariopses.

3.3. Influência do vácuo e descascamento das cariopses, na colonização de plântulas de cana-de-açúcar por *U. scitaminea*

3.3.1. Técnicas de inoculação com *U. scitaminea* e outros e *Ustilago* spp em gramíneas

As técnicas mais eficientes usadas nas inoculações de cana-

-de-açúcar, buscando resistência varietal são: pincelamento de pasta de clamidósporos sobre gemas, com ou sem fermentos; imersão de toletes de cana-de-açúcar em suspensão de clamidósporos e pulverização de suspensão de esporos sobre gemas (LADD e STEINER, 1971; BYTHER e STEINER, 1972, 1973).

MUTHSAMY (1974) estudou as interações na germinação da gema, tamanho, forma da gema, posição dos poros e incidência de brocas no caule, na susceptibilidade a *U. scitaminea*. Observou uma correlação positiva entre incidência do carvão e germinação das gemas. A posição dos poros de germinação dos brotos, em quase todas as variedades resistentes, é sub-apical e, nas variedades susceptíveis, é apical. Houve correlação positiva entre incidência do carvão, tamanho da gema e incidência da broca do caule.

BYTHER e STEINER (1973) ressaltam que, entre os vários fatores que interferem na eficiência de inoculação de *U. scitaminea*, pelo método de imersão, sobressaem-se: concentração de esporos e idade das gemas. A pressão de seleção pode aumentar ou diminuir, de acordo com os fatores citados.

Todos esses métodos e considerações foram desenvolvidos para inoculação de gemas de colmo, não se prestando para inoculação de sementes botânicas de cana-de-açúcar.

TALBALLA (1969) observou que, as sementes botânicas de cana-de-açúcar, provenientes de flexas contaminadas com esporos de *U. scitaminea*, deram origem a plântulas que produziram chicotes, 10 semanas após a semeadura, mostrando que o fungo pode causar doenças em plântulas.

DUARTE (1976) resalta a necessidade de realizar novos trabag

lhos, para melhor aquilatar os efeitos do descascamento das cariopses, na inoculação de plântulas de cana-de-açúcar por *U. scitaminea*.

DUARTE e TOKESHI (1977) inocularam plântulas de cana-de-açúcar, oriundas de cariopses descascadas, com uma suspensão de clamidósporos de *U. scitaminea*. Os autores concluíram que o método de inoculação de sementes botânicas de cana-de-açúcar é promissor, apresentando correlação entre a presença de micélio interno nas folhas primárias e produção de chicotes nas plantas susceptíveis.

3.3.2. Uso do vácuo na inoculação de *Ustilago* spp. em gramíneas

HIRSHHORN (1949) testou vários métodos de inoculação de gemas de cana-de-açúcar com *U. scitaminea*. Concluiu que a melhor técnica de inoculação foi aquela que submeteu gemas de cana-de-açúcar à imersão, numa suspensão de esporos recém-colhidos, à uma pressão de 0,6 atmosferas, durante 15 a 20 minutos. Este método também foi preconizado por *TÖFFANO (1965)*.

TOKESHI e SANGUINIO (1976) concluíram que, nos testes de resistência de cana-de-açúcar, o uso do vácuo é prejudicial à brotação e crescimento de gemas.

MORRE (1936), trabalhando com *Ustilago* spp, em trigo e cevada, usou um aparelho que consistia em um frasco para a suspensão de inóculo, uma câmara que envolvia a panícula da gramínea e uma bomba manual para causar vácuo. Por este método, a panícula foi completamente submergida em uma suspensão de esporos, com vácuo parcial. O autor conseguiu a colonização de plantas por *Ustilago* sp., nos cultivares estudados.

SHANDS e SCHALLER (1946) usaram o vácuo parcial, para inoculação de *U. nuda*, em cevada. Compararam a sua eficiência, com o método de injeção de esporos nas flores. Este, se mostrou bastante superior ao vácuo parcial.

ROWELL e DEVAY (1952) concluíram que um método rápido e eficiente, para determinar características de patogenicidade e compatibilidade sexual em mutantes e isolados de *U. zae*, é aquele que consiste em cortar a extremidade do coleóptilo de plântulas germinadas de milho e imergí-los no inóculo, sob vácuo parcial.

KAVANAGH (1959) relatou uma técnica para inoculação de cevada e trigo em plântulas com clamidósporos de *U. nuda* e *U. tritici*. As plântulas eram imersas em uma suspensão de esporos e colocadas no vácuo à 686,8 mm/Hg, durante dois minutos. Uma grama de clamidósporos por litro de água estéril produziu um máximo de 73% de infecção, em cevada, e 31%, em trigo.

KAVANAGH (1961) usou o método de inoculação a vácuo em plântulas de trigo e cevada, com bons resultados. Numa pressão de vácuo de 50,8 mm/Hg e 76,2 mm/Hg, durante 2 minutos, a concentração de inóculo, que melhores resultados ofereceu, sem afetar a germinação, foi de 1 grama de clamidósporos por litro de água estéril.

3.3.3. Influência do descascamento das cariopses na inoculação de sementes de gramíneas por *Ustilago* spp.

TISDALE e TAPKE (1924), trabalhando com sementes de trigo, verificaram que a infecção, nas plântulas por *U. nuda*, é muito maior em

plântulas oriundas de cariopses descascadas, do que quando a inoculação era feita em plântulas oriundas de cariopses com casca. *BAYLES e COFFMAN (1929)* também verificaram que, quando se inoculavam plântulas oriundas de cariopses descascadas, havia uma maior porcentagem de plantas de aveia colonizadas por *U. levis*.

Os dados, conseguidos por *TISDALE e TAPKE (1924)* e *BAYLES e COFFMAN (1929)*, mostram que a germinação de cariopses sem casca é menor que a das cariopses com casca.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Efeito da ventilação sobre a germinação, vigor e pureza física de cariopses sem "FUZZ"

Nos ensaios, foram utilizadas cariopses, obtidas por hibridação entre progenitores de origem nacional e estrangeira, oriundos da Estação de Floração e Cruzamento de Serra do Duro, Alagoas, pertencente ao Programa Nacional de Melhoramento da Cana-de-Açúcar - PLANALSUCAR.

As sementes de cana-de-açúcar foram beneficiadas, deslindando-se a penugem, pela pressão manual sobre as mesmas, em movimentos circulares, num tapete de cerdas sintéticas, de acordo com o processo de beneficiamento do "FUZZ", descrito por *SILVA (1974)*.

O armazenamento e conservação das cariopses foi feito em dessecadores, com sílica-gel, à temperatura ambiente. A umidade das cariopses era de aproximadamente 7%.

4.1.1. Efeito da ventilação no número de cariopses beneficiadas, de cana-de-açúcar

Cariopses, obtidas por cruzamento da cultivar CB 53-29 com progenitor masculino desconhecido, foram beneficiadas e divididas em 6 lotes de 1,5 gramas cada. Cada lote foi submetido à ventilação controlada de um assoprador de sementes, Modelo B, Série 333, Marca E.L. Ericson Products, Brokings, S. Dakota, USA, tipo console. Este aparelho permite separar cada lote em 2 frações, sementes pesadas que ficam dentro do tubo e sementes leves com impurezas, que são eliminadas.

Cada lote de sementes permaneceu no tubo do assoprador, sob diferentes forças de ventilação, por 2 minutos. Em seguida, as cariopses, foram retiradas e pesadas.

Na regulagem do aparelho, cada abertura da válvula, corresponde a uma determinada força de ventilação, que foi calculada da seguinte maneira: esferas de isopor, de diâmetros variáveis, foram colocadas no assoprador de sementes. O aparelho foi posto a funcionar com a abertura numérica da válvula, uma unidade superior àquela do nosso interesse (abertura 17), por dois minutos. As esferas, que ficaram no tubo, foram eliminadas. As esferas assopradas foram colocadas novamente no tubo, com abertura numérica 16 por período, idêntico ao anterior. As esferas, que ficaram em equilíbrio com a força de ventilação, foram coletadas e, destas, tomou-se uma amostra de 12, ao acaso. Essas esferas foram pesadas em uma balança de precisão e mediu-se o diâmetro de cada uma. A partir desses dados, calculou-se a força de ventilação necessária para mantê-las flutuando, no tubo do assoprador. A média das 12 esferas forneceu a força de ventilação em mg/

cm², da abertura 16. O mesmo comportamento foi seguido para as outras aberturas usadas nos ensaios, conforme indicadas abaixo:

Abertura numérica da válvula do assoprador	Força de ventilação em mg/cm ²
8	5,9
10	7,0
12	9,5
14	9,8
16	10,0

As cariopses, obtidas após a ventilação, foram pesadas e depois beneficiadas, retirando-se a pálea e lema, segundo *DUARTE e TOKESHI (1977)*. Atritaram-se as cariopses, entre duas telas de "nylon", contando-se as cariopses sem pálea e lema de cada lote. Em seguida, calculou-se o número de cariopses, por grama.

4.1.2. Porcentagem média de impurezas eliminadas pela ventilação, em cariopses de 5 cultivares de cana-de-açúcar

Foram utilizadas cariopses obtidas por polinização livre dos seguintes cultivares: CO 62-175; F 154; NCO 339; PR 1117 e RB 68121. Cariopses, de cada cultivar, foram divididas em 6 lotes e, este, por sua vez, sub-dividido em 5 parcelas de 2 gramas. A parcela foi ventilada, pelo período de dois minutos. As forças de ventilação empregadas foram as abaixo indicadas:

Abertura numérica da válvula do assoprador	Força de ventilação em mg/cm ²
0	0,0
11	8,7
12	9,5
13	9,6
14	9,8
15	9,9

Após a ventilação, foram pesadas as partes eliminadas e as que ficaram no tubo. Os resultados da parte eliminada foram transformados em porcentagem e calculou-se a média das 5 repetições de cada força de ventilação. Para determinar a força de ventilação ideal, para limpeza das sementes, determinou-se o coeficiente de variação para cada abertura da válvula do assoprador.

4.1.3. Efeito da ventilação na germinação média e no vigor médio de cariopses de cana-de-açúcar

Foram utilizados os cultivares citados no item 4.1.2. As cariopses foram limpas, por ventilação, no assoprador, utilizando-se as forças; 0,0 mg/cm²; 8,7 mg/cm²; 9,5 mg/cm²; 9,6 mg/cm²; 9,8 mg/cm² e 9,9 mg/cm².

As cariopses obtidas, após a pesagem, foram mergulhadas em uma solução de Zinco Omadine (Zinco-2-pyridinethiol -1- oxido), para con -

trole de fungos contaminantes, na concentração de 1440 ppm de princípio ativo, por litro de água (3 gramas do produto comercial com 48% de princípio ativo por litro de água), durante 2 horas.

As cariopses tratadas foram colocadas em bandejas esmaltadas de, aproximadamente, 5 x 15 x 30 centímetros, contendo 400 ml de substrato esterilizado agar-água (A/A) (18 gramas de agar em 1 litro de água destilada). Em seguida, cobriu-se, com vidro transparente, e incubou-se por 7 dias, à $29^{\circ} \text{C} \pm 2^{\circ} \text{C}$, sob luz contínua, fornecida por 9 lâmpadas fluorescentes, luz do dia, de 40 wats, à distância de, aproximadamente, 1 metro.

Para avaliação da porcentagem da germinação, a contagem foi feita no 7º dia, considerando-se como cariopse germinada aquela que possuía radícula e caulículo, normalmente desenvolvido.

Paralelamente, foi determinado o índice de vigor das cariopses, pela velocidade de germinação, pelo período de 7 dias. O princípio deste método é que, as cariopses que germinam mais rapidamente, são as mais vigorosas, segundo a metodologia descrita por *MARCOS FILHO et alii* (1977).

O ensaio constou de 6 tratamentos, 4 repetições e cada parcela constou de 100 cariopses.

4.2. Mortalidade de plântulas de cana-de-açúcar por microorganismos

4.2.1. Efeito do vácuo, descascamento e inoculação com *U. scitaminea*, na mortalidade de plântulas de cana-de-açúcar

Cariopses do cultivar CO 62-175 receberam os seguintes tratata

mentos: a. cariopses sem casca foram inoculadas com *U. scitaminea*, utilizando-se suspensão a 6.10^6 esporos/ml; b. cariopses com casca foram inoculadas, na mesma concentração anterior, e submetidas à vácuo de 250 mm/Hg, durante 2 minutos; c. cariopses com casca foram inoculadas na concentração acima citada, sem vacuo.

Em todos os tratamentos, adicionaram-se 2 gotas de tween 20 a 20% e as cariopses foram incubadas, como descrito no item 4.1.3.

A inoculação, com esporos no 2º e 8º dia após a semeadura, foi feita por pulverização de uma suspensão de *U. scitaminea*, na concentração já citada.

As cariopses germinadas foram transplantadas para placas de Petri, contendo 25 ml de A/A. Em cada placa, foram colocadas 30 plântulas, correspondendo a uma parcela. Após 10 dias, foi avaliada a porcentagem de plântulas mortas.

O experimento constou de 3 tratamentos e 12 repetições.

4.2.1.1. Fungos encontrados nas plântulas mortas, após inoculação nas cariopses por *U. scitaminea*.

Duzentas plântulas mortas dos tratamentos a e b descritos em 4.2.1. foram coletadas e transferidas para tubos de cultura. A seguir, procedeu-se a coloração de tecidos, como descrito por POPP (1958). Concluído o processo de coloração, as plântulas foram examinadas sob microscópio, para determinar a presença de fungos internos na raiz, mesocótilo e folhas. Os fungos foram identificados pela chave de BARNETT e HUNTER (1972) e pelo

método descrito por *DUARTE e TOKESHI (1977)*.

4.2.2. Influência do formol na porcentagem de sobrevivência de plântulas de cana-de-açúcar

Dois lotes de cariopses do cultivar RB 68121 foram submetidos à uma força de ventilação de $9,6 \text{ mg/cm}^2$ (abertura 13). Um lote não foi tratado e o outro, foi imerso numa solução de formol 1:20 v/v (1 volume de lysoform bruto comercial, com $19,9 \text{ cm}^3$ de formaldeído por litro/20 volumes de água destilada), durante 20 minutos.

As cariopses foram incubadas como em 4.1.3. e, após 72 horas, aquelas germinadas foram transplantadas para placas de Petri, contendo 25 ml do meio A/A. Cada placa recebeu 30 plântulas, correspondendo a uma parcela.

Após 10 dias, foi avaliado a porcentagem de plântulas sobreviventes. O ensaio constou de 2 tratamentos e 8 repetições.

4.3. Efeito do vácuo na germinação de clamidósporos de *U. scitaminea* e de cariopses de cana-de-açúcar

Clamidósporos de *U. scitaminea* foram produzidos sobre cana-de-açúcar (*Saccharum* spp.) cultivar CP 52-1, em condições de casa de vegetação, e processados de acordo com *MATA (1975)* e *MATA e TOKESHI (1976)*.

De clamidósporos armazenados, preparou-se o inóculo na concentração aproximada de $6 \cdot 10^6$ esporos/ml e com, aproximadamente, 81% de germinação média.

4.3.1. Efeito do vácuo na germinação de clamidósporos de *U. scitami* *nea*.

Cerca de 200 miligramas de esporos foram imersos em frascos de Erlenmeyer, contendo 200 ml de água estéril. Duas gotas de solução tween 20 à 20% foram adicionadas, para quebrar a tensão superficial dos clamidósporos. As suspensões de clamidósporos foram, a seguir, submetidas a diferentes níveis de vácuo, durante 2 minutos.

Após a aplicação do vácuo, pipetou-se 0,5 ml de cada suspensão para placas de Petri, contendo 20 ml do meio A/A. As placas foram incubadas em estufa bacteriológica, à temperatura de 28°C. Após 6 horas de incubação, os esporos germinados foram mortos pela adição de 5 gotas de azul de lactofenol.

O percentual de germinação foi calculado, contando-se o número de esporos germinados e não germinados, presentes em amostras, contendo no mínimo 400 esporos distribuídos ao acaso, em diferentes campos microscópicos, de acordo com *MATA (1975)*. O ensaio constou de 5 tratamentos e 3 repetições.

4.3.2. Efeito do vácuo na germinação de cariopses de cana-de-açúcar.

Cariopses do cultivar RB 68121 foram previamente beneficiadas e ventiladas. A seguir, foram mergulhadas em uma suspensão de Zinco Omadine, na concentração de 1.440 ppm de princípio ativo por litro de água destilada, por duas horas.

A seguir, as cariopses foram postas em frascos de Erlemmeyer, contendo 200 ml de água estéril. Estas suspensões foram submetidas a diferentes níveis de vácuo, durante 2 minutos. Após o vácuo, as cariopses foram semeadas e incubadas como no item 4.1.3.. Em cada parcela usaram-se 100 cariopses. O ensaio constou de 5 tratamentos e 4 repetições.

4.4. Efeito do vácuo, formol e descascamento aplicados às cariopses, na colonização de plântulas de cana-de-açúcar por *U. scitaminea*.

As cariopses foram beneficiadas e armazenadas, segundo *SILVA (1974)* e, antes de serem usadas, foram ventiladas com uma força de 9,6 mg/cm² (abertura 13), no assoprador de sementes.

As cariopses foram semeadas em bandejas esmaltadas, contendo 400 ml de meio A/A, formando uma camada de 1 cm de espessura e cobertas com placas de vidro e incubadas como em 4.1.3..

Nos ensaios, as inoculações foram feitas, pulverizando-se a suspensão de esporos sobre as plântulas de cana-de-açúcar, no 2º e 8º dia. Setenta e duas horas após a semeadura, 30 plântulas, por parcela, foram transplantadas para placas, contendo 25 ml do meio A/A.

Depois de 12 dias, as plântulas foram coletadas e transferidas para tubos de cultura, procedendo-se à coloração de tecido, segundo a metodologia de *POPP (1958)*.

Concluído o processo de coloração, as plântulas foram examinadas, microscopicamente, para determinar a presença ou ausência de micélio interno de *U. scitaminea*. Consideraram-se, como plantas colonizadas, àque-

las com micélio interno na raiz, mesocótilo e/ou folhas, como descrito em *DUARTE e TOKESHI (1977)*. Os resultados foram transformados em porcentagem de plântulas colonizadas, para fins de apresentação nas tabelas estatística.

4.4.1. Efeito do vácuo e do formol, aplicados às cariopse na colonização de plântulas de cana-de-açúcar por *U. scitaminea*.

Cariopses do cultivar CO 62-175 foram beneficiadas e ventiladas, como descrito em 4.4.. Em seguida, foram divididas em 3 lotes, recebendo cada um o seguinte tratamento: a) cariopses com casca foram mergulhadas em solução do formol diluído, na proporção de 1:20 v/v, durante 20 minutos e, após a secagem, foram imersas em uma suspensão de *U. scitaminea* de $6 \cdot 10^6$ esporos/ml e submetidas ao vácuo de 250 mm/Hg, por 2 minutos; b) cariopses com casca foram mergulhadas na solução diluída de formol como no item anterior, e, após a secagem, foram imersas no inóculo de *U. scitaminea*, por 2 minutos; c) cariopses com casca foram imersas em uma suspensão de esporos de *U. scitaminea*, sem o tratamento com formol. O formol usado foi o Lysoform bruto, com 19,9% de formaldeído por litro.

As inoculações no 2º e 8º dia, transplante, coleta de plântulas e posterior coloração de tecido foram efetuados, como se descreveu em 4.4..

O ensaio constou de 3 tratamentos, 8 repetições e cada parcela era constituída de 30 plântulas.

4.4.2. Efeito do vácuo e do descascamento, aplicados às cariopses, na colonização de plântulas de cana-de-açúcar por *U. scitamínea*.

Cariopses do cultivar CO-62-175 foram beneficiadas e ventiladas, como descrito no item 4.4.1. e, em seguida, foram divididas em 3 lotes, sendo que cada lote recebeu um dos tratamentos descritos a seguir: a) cariopses descascadas foram mergulhadas em uma solução de hipocloreto de sódio comercial (Q-BOA), com 5.5% de cloro ativo diluído na proporção de 3:1, durante 10 minutos, conforme descrito em DUARTE e TOKESHI (1977) e, após a lavagem em água, foram inoculadas com *U. scitamínea*, na concentração de $6 \cdot 10^6$ esporos por mililitro; b) cariopses com casca foram mergulhadas, por 20 minutos, em formol diluído na proporção de 1:20 v/v e, posteriormente, inoculadas e submetidas à vácuo de 250 mm/Hg, por 2 minutos; c) cariopses com casca foram mergulhadas, por 20 minutos, em formol diluído na proporção de 1:20 v/v e, depois de lavadas, foram imersas na suspensão acima de *U. scitamínea*, por 2 minutos.

Em todos os tratamentos, adicionaram-se 2 gotas de tween 20 a 20%. A semeadura, incubação, inoculação transplante e avaliações foram feitas, conforme descrito em 4.4..

O ensaio constou de 3 tratamentos, 12 repetições e cada parcela foi contituida de 30 plântulas.

4.4.3. Efeito do vácuo, aplicada às cariopses, na colonização de plântulas de cana-de-açúcar por *U. scitamínea*.

Cariopses dos cultivares CO 62-175, RB 68121 e CO 419 depois

de beneficiadas, ventiladas, tratadas com formol 1:20 v/v, inoculadas com *U. scitaminea* na concentração de $6 \cdot 10^6$ esporos/ml, sob vácuo de 250 mm/Hg, por 2 minutos, foram semeadas e incubadas, como no item 4.1.3.

As inoculações, transplante e coleta de dados foram feitos como em 4.4. O ensaio constou de 3 tratamentos, 6 repetições e cada parcela contou de 30 plântulas.

4.5. Análise dos ensaios

Todos os ensaios, com exceção daqueles correspondentes aos itens 4.1.1. e 4.2.1.1., em que não há esquema estatístico nenhum, nem repetições, seguem o esquema estatístico, inteiramente casualizado, de acordo com GOMES (1973), sendo que os dados, quando necessário, transformados em $\text{arc sen } \sqrt{\text{índice de vigor}}$ ou $\text{arc sen } \sqrt{\text{porcentagem}}$, para efeito de análise.

5. RESULTADOS

5.1. Efeito da ventilação sobre a germinação, vigor e pureza física de cariopses sem "FUZZ".

5.1.1. Efeito da ventilação do número de cariopses beneficiados de cana-de-açúcar.

Na tabela 1 são mostrados os resultados da ventilação de 1,5 gramas de sementes, peso da amostra após a ventilação, número total de cariopses após a ventilação e o número de cariopses por grama após a ventilação.

5.1.2. Porcentagem média de impurezas eliminadas pela ventilação em cariopses de 5 cultivares de cana-de-açúcar.

A tabela 2 mostra a quantidade de material que foi eliminado entre fragmentos de panícula e cariopses chochos de 5 cultivares de cana-de-açúcar.

O coeficiente de variação foi analisado para cada força de ventilação.

Tabela 1. Efeito da ventilação no número de cariopses beneficiados de cana-de-açúcar. Cultivar CB 53-29.

Força de ventilação mg/cm ²	Ventilação de 1,5 gramas de impurezas eliminadas		cariopses retidos		Total de cariopses após a ventilação	Nº de cariopses por grama após a ventilação
	gramas	%	gramas	%		
0	0,0	0,0	1,50	0,0	180	120
5,9	0,23	15,3	1,27	84,7	157	123
7,0	0,77	51,3	0,73	48,7	155	212
9,5	1,06	70,7	0,44	29,3	151	343
9,8	1,28	85,3	0,22	14,7	105	477
10,0	1,39	92,7	0,11	7,3	47	427

Tabela 2. Porcentagem média de impurezas eliminadas pela ventilação em cariopses de 5 cultivares de cana-de-açúcar.

Força de ventilação mg/cm ²	Cultivares					Média %	* C.V.
	CO 62-175	F 154	NCO 339	PR 1117	RB 68121		
0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
8,7	36,1	29,4	56,2	17,4	47,0	37,2	40,54
9,5	45,3	44,4	71,3	33,6	52,0	49,3	28,26
9,6	49,2	55,5	76,5	40,9	58,0	56,0	23,57
9,8	57,4	70,0	86,0	59,9	60,0	66,6	17,76
9,9	63,2	80,4	88,8	67,1	64,3	72,7	15,51

* C.V. = Coeficiente de variação.

5.1.3. Efeito da ventilação na germinação média de cariopses de cana-de-açúcar.

Na Tabela 3 e apêndice 1 encontram-se os dados resultantes do ensaio, visando estudar o efeito da força de ventilação na germinação. A análise de variância apêndice 2, dos dados transformados, revelou F significativo ao nível de 1% em todos os ensaios.

5.1.4. Efeito da ventilação no vigor média de cariopses de cana-de-açúcar.

Os resultados do efeito da ventilação no vigor médio das cariopses acham-se reunidos na Tabela 4 e detalhados no apêndice 3. A análise

se de variância, apêndice 4, revelou F significativo ao nível de 1% em todos os ensaios.

5.2. Mortalidade de plântulas de cana-de-açúcar por microorganismos.

5.2.1. Efeito do vácuo, descascamento e inoculação de *U. scitaminea* na mortalidade de plântulas de cana-de-açúcar.

A Tabela 5 apresenta dados, transformados em porcentagem, de plântulas mortas por microorganismos, quando as cariopses inoculadas por *U. scitaminea*. A análise de variância mostrou F significativo ao nível de 1%.

Tabela 3. Efeito da ventilação na germinação média de cariopses de cana-de-açúcar.

Força de ventilação mg/cm ²	Cultivares				
	CO 62-175	F 154	NCO 339	PR 1117	RB 68121
0,0	37,12a	27,08a	7,39a	34,34a	27,72a
8,7	53,80b	31,98b	20,24b	36,26ab	56,57b
9,5	54,51bc	34,04abc	19,90bc	39,79bc	63,24bc
9,6	58,06bcd	38,48bcd	28,91d	41,26c	62,40bc
9,8	56,19bcd	43,40d	29,55d	38,91bc	66,81c
9,9	62,76bcd	41,25d	22,04bcd	40,10bc	62,42bc
C.V.	16,15	17,64	37,72	7,88	24,66
DMS 5%	7,52	7,06	7,47	4,65	8,74

Obs. As médias dos dados transformados, que apresentam a mesma letra, são estatisticamente iguais, pelo teste Tukey ao nível de 5%.

Tabela 4. Efeito da ventilação no vigor das cariopses de cana-de-açúcar.

Força de ventilação mg/cm ²	Cultivares				
	CD	F	NCO	PR	RB
	62-175	154	339	1117	68121
0,0	20,60a	14,40a	3,68a	17,42a	16,50a
8,7	27,56b	16,88ab	10,15b	18,38a	31,51b
9,5	27,07bc	17,79bc	9,13b	20,32b	34,69bc
9,6	30,60d	19,77bcd	14,30c	20,58b	34,77bc
9,8	28,70bcd	22,04d	13,97c	19,74ab	36,37c
9,9	30,90d	21,10d	10,55b	19,83b	35,49c
C.V.	13,16	15,59	36,69	7,58	22,70
DMS 5%	2,48	3,00	2,95	2,37	3,30

Obs. As médias dos dados transformados, que apresentam a mesma letra, são estatisticamente iguais, pelo teste Tukey ao nível de 5%.

Tabela 5. Efeito do vácuo, descascamento e inoculação com *U. scitaminea* na mortalidade de plântulas de cana-de-açúcar por microorganismos presentes nas cariopses. Cultivar CO 62-175. Dados em porcentagem-

Repetições	Plântulas oriundas de cariopses		
	Sem casca	com casca	
		sem vácuo	sem vácuo
1	63,34	23,34	26,67
2	80,00	13,34	10,00
3	60,00	20,00	10,00
4	60,00	33,34	16,67
5	60,00	20,00	30,00
6	60,00	33,34	26,67
7	60,00	13,33	23,33
8	76,66	16,66	10,00
9	83,33	6,66	20,00
10	90,00	43,33	16,66
11	83,33	26,66	13,33
12	66,66	23,33	3,33
Média Original	70,27	22,77	17,22
Média Transformada	57,43a	27,95b	23,85b
C.V. = 45,86	DMS 5% = 7,21		

Obs. As médias transformadas, que apresentam a mesma letra, são estatisticamente iguais, pelo teste de Tukey a 5%.

5.2.1.1. Fungos encontrados em plântulas mortas, após inoculação nas cariopses por *U. scitaminea*.

A Tabela 6 mostra as porcentagem de fungos encontrados em plântulas mortas no cultivar CO 62-175.

Tabela 6. Porcentagem de fungos encontrados em plântulas de cana-de-açúcar mortas, após inoculação com *U. scitaminea* nas cariopses. Cultivar CO 62-175.

Fungos encontrados em 200 plântulas mortas	Cariopses inoculados	
	com casca	sem casca
<i>Ustilago scitaminea</i>	24,50	27,00
<i>Phoma</i> spp.	62,00	60,00
<i>Curvularia</i> sp.	44,50	54,00
<i>Helminthosporium</i> spp.	4,50	4,00
Não identificados	22,50	25,00
Total em porcentagem	158,00%	170,00%

Obs. A soma total de porcentagem é superior a 100%, porque dois ou mais fungos colonizaram a mesma plântula.

5.2.2. Influência do formol na porcentagem de sobrevivência de plântulas de cana-de-açúcar.

O tratamento químico das cariopses, antes da semeadura, pelo formol, produziu os resultados da Tabela 7. A análise de variância mostrou F não significativo.

Tabela 7. Influência do formol na porcentagem de sobrevivência de plântulas de cana-de-açúcar. Cultivar RB 68121.

Repetições	Cariopses tratadas	
	com formol	sem formol
1	10,00	23,34
2	10,00	30,00
3	40,00	10,00
4	26,67	33,34
5	20,00	20,00
6	40,00	10,00
7	10,00	20,00
8	10,00	10,00
Média Original	20,83	19,59
Média Transformada	26,23a	25,71a
C.V. = 30,20	OMS 5% = 8,69	

Obs. As médias transformadas, que apresentam a mesma letra, são estatisticamente iguais, pelo teste Tukey ao nível de 5%.

5.3. Efeito do vácuo na germinação de clamidósporos de *U. scitaminea* e de cariopses de cana-de-açúcar.

5.3.1. Efeito do vácuo na germinação de clamidósporos de *U. scitaminea*.

Na Tabela 8, são apresentados os dados, em porcentagem, de germinação de clamidósporos de *U. scitaminea* submetidos a vários níveis de vácuo. A análise de variância revelou que F não é significativo.

5.3.2. Efeito do vácuo na germinação de cariopses de cana-de-açúcar.

A porcentagem de germinação de cariopses com casca da cultivar RB 68121, submetidos a várias pressões, se encontram na Tabela 9. A análise de variância acusou F significativo ao nível de 1%.

5.4. Efeito do vácuo, do formol e do descascamento aplicado às cariopses, na colonização de plântulas de cana-de-açúcar por *U. scitaminea*.

5.4.1. Efeito do vácuo e do formol aplicado às cariopses, na colonização de plântulas por *U. scitaminea*.

Na Tabela 10, acham-se os dados referentes à porcentagem de colonização de *U. scitaminea* em plântulas oriundas de cariopses, tratadas com formol mais vácuo, somente com vácuo e, sem formol e sem vácuo. A Análise de variância mostrou que F foi significativo ao nível de 1%.

Tabela 8. Efeito do vácuo na porcentagem de germinação de clamidósporos de *U. scitaminea*.

Vácuo mm/hg	Repetições			Média original	Média transformada
	1	2	3		
0	78,48	75,40	77,00	76,92	61,30a
250	76,40	76,50	75,44	76,11	60,73a
350	77,05	76,88	79,34	75,72	60,48a
450	76,21	77,59	77,23	76,97	61,32a
550	74,70	76,83	71,59	74,37	59,60a

C.V. = 1,89

DMS 5% = 3,00

Obs. Cada parcela continha no mínimo 400 clamidósporos. As médias transformadas, com a mesma letra, são estatisticamente iguais, pelo teste Tukey ao nível de 5%.

Tabela 9. Efeito do vácuo na porcentagem de germinação de cariopses de cana-de-açúcar. Cultivar RB 68121.

Vácuo em mm/hg	Repetições				Média original	Média transformada
	1	2	3	4		
0	83	75	84	82	81,00	64,24a
250	61	62	74	68	66,25	54,54b
350	62	68	73	64	66,75	54,82b
450	65	65	58	63	62,75	52,39b
550	63	66	66	59	63,50	52,84b

C.V. = 9,12

DMS 5% = 7,72

Obs. Cada parcela continha 100 cariopses com casca. As médias transformadas, com a mesma letra, são estatisticamente iguais, pelo teste Tukey ao nível de 5%.

Tabela 10. Efeito do vácuo e do formol aplicados às cariopses, na colonização de plântulas de cana-de-açúcar por *U. scitaminea*. Cultivar CO 62-175. Dados em porcentagem.

Repetições	Cariopses inoculados		
	Com formol	sem formol	
	com vácuo	com vácuo	sem vácuo
1	53,33	40,00	20,00
2	46,66	60,00	16,66
3	40,00	43,33	13,33
4	43,33	40,00	16,66
5	46,66	36,66	16,66
6	43,33	40,00	13,33
Média Original	45,55	43,33	15,99
Média Transformada	42,44a	41,15a	23,61b

C.V. = 26,28

DMS 5% = 5,07

Obs. As médias transformadas, com a mesma letra, são estatisticamente iguais, pelo teste Tukey ao nível de 5%.

5.4.2. Efeito do vácuo e do descascamento aplicados às cariopses, na colonização de plântulas de cana-de-açúcar, por *U. scitamínea*.

Cariópses com casca e sem casca do cultivar CO 62-175 foram inoculadas com clamidósporos de *U. scitamínea*, com e sem auxílio de vácuo. A Tabela 11, mostra os resultados conseguidos. A análise de variância mostrou F significativo ao nível de 1%.

5.4.3. Efeito do vácuo aplicado às cariopses, na colonização de plântulas, por *U. scitamínea*.

As cultivares CO 419, RB 68121 e CO 62-175 foram inoculadas com clamidósporos de *U. scitamínea*, com auxílio do vácuo. Os resultados, em porcentagem, de plântulas colonizadas acham-se na Tabela 12. Na análise de variância, obteve-se F significativo ao nível de 1%.

Tabela 11. Efeito do vácuo e do descascamento aplicado às cariopses de plântulas de cana-de-açúcar, por *U. scitaminea*. Cultivar CO 62-175. Dados em porcentagem.

Repetições	cariopses inoculadas		
	Sem casca	Com casca	
	sem vácuo	sem vácuo	com vácuo
1	35,00	26,66	33,33
2	50,00	13,33	36,66
3	45,00	20,00	50,00
4	25,00	6,66	30,00
5	45,00	16,66	46,66
6	40,00	16,66	30,00
7	26,66	26,66	36,66
8	46,66	20,00	36,66
9	30,00	26,66	33,33
10	33,33	23,33	33,33
11	26,66	26,66	40,00
12	43,33	30,00	36,66
Média Original	37,22	21,10	36,94
Média Transformada	37,47a	27,02b	36,90a

C.V. = 19,67

DMS 5% = 4,68

Obs. As médias transformadas, que apresentam a mesma letra, são estatisticamente iguais, pelo teste Tukey à 5%.

Tabela 12. Efeito do vácuo aplicada às cariopses, na colonização de plântulas, por *U. scitaminea*.

Repetições	Cultivares inoculadas		
	CO 419	CO 62-175	RB 68121
1	43,33	36,66	63,33
2	36,66	36,66	60,00
3	40,00	33,33	70,00
4	50,00	33,33	63,33
5	50,00	40,00	73,33
6	46,66	36,66	66,66
Média Original	44,44	36,10	66,10
Média Transformada	41,79b	36,93a	54,42c

C.V. = 17,93 DMS 5% = 3,98

Obs. As médias transformadas, com a mesma letra, são estatisticamente iguais pelo, teste de Tukey à 5%.

6. DISCUSSÃO

6.1. Efeito da ventilação sobre a germinação, vigor e pureza física de cariopses sem "FUZZ".

A ventilação de cariopses de cana-de-açúcar causa uma nítida diminuição no peso da amostra, devido à eliminação de impurezas. Diferentes intensidades de ventilação eliminam quantidades diferentes de impurezas, aumentando a pureza física das cariopses, pela eliminação de cariopses mal formadas. Em consequência, ocorre aumento do peso médio de cariopses e aumenta o número de cariopses por grama (Tabela 1).

A transformação dos resultados, em número de cariopses por grama, mostra que até $9,8 \text{ mg/cm}^2$ de força, houve aumento significativo no número de cariopses viáveis. Estas passaram a ser eliminadas a partir daquela força de ventilação, sendo, portanto, prejudicial.

Na ventilação de sementes de 5 cultivares, conforme resultados mostrados na Tabela 2, resultados idênticos foram obtidos na Tabela 1. Observa-se a eliminação de impurezas, à proporção que aumenta a força de

ventilação. As variações nas porcentagens de impurezas removidas devem ser atribuídas, em parte, ao peso médio diferente das cariopses de cada cultivar.

A utilização de uma força de ventilação, que apresente um pequeno coeficiente de variação, será útil na padronização da abertura da válvula do assoprador. Esta escolha deverá ser feita, adotando-se o critério de não eliminar as cariopses viáveis.

A germinação média e o vigor médio das cariopses elevaram-se com o aumento da força de ventilação, propiciando um maior número de plântulas por lote de sementes, em todos os cultivares estudados (Tabela 3 e 4). A partir de uma ventilação de $9,6 \text{ mg/cm}^2$ de força (abertura 13), todos os cultivares diferiram, estatisticamente, da testemunha, pelo teste tukey ao nível de 5%, na germinação média e no índice de vigor.

Pelos resultados da Tabela 4, verifica-se que o vigor das cariopses foi superior à testemunha, sempre que se usou força de ventilação de $9,5$ a $9,6 \text{ mg/cm}^2$. Os melhores índices de vigor médio estiveram nos tratamentos com ventilação de $9,6$; $9,8$ e $9,9 \text{ mg/cm}^2$. Em nenhum caso, houve diferença estatística entre as três médias acima, pelo teste tukey ao nível de 5%.

A separação de cariopses em dois lotes, um mais leve e outro mais pesado, pela ventilação, proporciona um aumento no índice de vigor e na porcentagem de germinação no lote mais pesado. Estes dados estão de acordo com *FERRAZ (1974 e CICERO (1976))*, encontrados em sementes de arroz.

A utilização do assoprador de sementes **está condicionado ao** beneficiamento do "FUZZ", segundo a metodologia preconizada por **SILVA (1974)**. O beneficiamento do "FUZZ" facilita o armazenamento e o transporte das cariopses, reduzindo o peso em 17% e o volume em 64%. A ventilação das cariopses, em condições ideais, pode eliminar 56% das impurezas. Os dois processos, beneficiamento do "FUZZ" e ventilação das cariopses, reduzem o peso inicial em aproximadamente 63% em média.

A ventilação, além de reduzir o peso das cariopses, ~~propor-~~ proporcionando, conseqüentemente, melhores condições e economia na armazenagem e transporte, aumenta a porcentagem de germinação e o índice de vigor de um lote de sementes, reduzindo o efeito da mortalidade de plântulas. A mortalidade de plântulas, durante o processo de seleção de cultivares resistentes a *U. scitaminea*, geralmente causado por microorganismos, pode ser diminuído pela ventilação dos cariopses, reduzindo o potencial de inóculo, pela eliminação de sementes inviáveis e outras impurezas, que, provavelmente, es tão mais sujeitas a fungos do que as sementes viáveis.

6.3. Mortalidade de plântulas de cana-de-açúcar por microorganismos.

As cariopses, sem casca, inoculadas com *U. scitaminea*, apresentaram mais de 70% de plântulas mortas. As cariopses com casca, também inoculadas, apresentaram uma mortalidade de apenas 17,22%, no tratamento à vácuo, e de 22,77%, no tratamento sem vácuo (Tabela 5).

Os fungos, presentes nas cariopses, provocaram a morte ~~das~~ das plântulas, após a germinação. O aumento da mortalidade da ordem de 58,5% (Tabela 5), em plântulas oriundas de cariopses descascadas, permite supor

que a retirada da pálea e lema, com a finalidade de diminuir a interferência de contaminantes, presentes externamente nas cariopses, é prejudicial à germinação e desenvolvimento das plântulas. Provavelmente, isto se deu pelo fato dos embriões ficarem, feridos, durante o descascamento sob pressão.

O vácuo não interfere na mortalidade das plântulas inoculadas com *U. scitaminea*, conforme pode-se observar na Tabela 5. Não houve diferenças estatísticas no número de plântulas mortas, após a inoculação com ou sem vácuo.

Observaram-se, que os contaminantes principais de plântulas de cana-de-açúcar mortas foram *Phoma* sp, *Curvalaria* sp. e *Helminthosporium* sp. Todos estes fungos colonizaram internamente as plântulas. Estas observações confirmaram os resultados encontrados por LOVELESS e SMITH (1956) e SANGUINIO (1976). Fungos do gênero *Fusarium* sp. não foram observados, pelo fato da identificação ter sido feita, após as plântulas terem sido submetidas ao tratamento descrito por POPP (1958), que ocasiona uma limpeza na epiderme das plântulas.

U. scitaminea ocorreu, colonizando plântulas, juntamente com outros patógenos. Isto permite supor que muitas plântulas, que poderiam mostrar tolerância ou hipersensibilidade a *U. scitaminea*, não podem ser detectadas, pela técnica de inoculação de cariopses, devido à interferência de outros fungos e morte prematura de plantas hipersensíveis.

A diferença entre a porcentagem de fungos, que colonizaram internamente as plântulas, não foi grande, quando comparada com a porcentagem de fungos encontrados em plântulas mortas, oriundas de cariopses sem casca

(170%) e plântulas mortas, oriundas de cariopses com casca (158%). Ressalta-se que, normalmente, ocorre mais de um contaminante por plântulas.

Os agentes patogênicos, presentes nas cariopses, iniciam o ataque no campo e interferem na porcentagem de plântulas colonizadas por *U. scitamínea*, causando a morte das mesmas. Observada a dificuldade de controle dos patógenos, em condições de laboratório, é provável que haja a necessidade do controle de fungos contaminantes de cariopses, durante o período em que a cultura se encontra pré-disposta à infecção.

O uso de Lysoform bruto, na diluição de 1:20 v/v, correspondente à empregada por *SANGUINIO (1976)*, quando usou o formol 40% de volume, no controle de fungos patogênicos; não teve efeito na sobrevivência e no desenvolvimento de plântulas de cana-de-açúcar (Tabela 6). O uso do lyzoform bruto, na diluição de 1:10 v/v, que corresponde, aproximadamente, à diluição de 1:20 v/v do formol 40%, prejudicou sensivelmente a germinação das cariopses, provavelmente, pela ação de substâncias estranhas na formulação comercial, já que *SANQUINIO (1976)* não relatou nenhum dano sofrido pelas cariopses, quando utilizou o Formol 40%, na diluição acima.

6.3. Efeito do vácuo na germinação de clamidósporos de *U. scitamínea* e de cariopses de cana-de-açúcar.

A Tabela 8 mostra que o vácuo, de 250 a 550 mm/Hg, não afeta a germinação de clamidósporos de *U. scitamínea*. Estes dados confirmam a conclusão de *MATA e TOKESHI (1976)*, de que, à 760 mm/Hg de vácuo, durante o período de 2 minutos, os clamidósporos não sofreram nenhum efeito no seu podere de germinação.

Cariopses de cana-de-açúcar, submetidas aos mesmos níveis de vácuo anteriores, sofreram diminuição na germinação média, quando comparadas àqueles que não foram submetidos ao vácuo (Tabela 9). Estatisticamente, não houve variações significativas, na porcentagem média, entre diferentes níveis de vácuo utilizados. A queda de porcentagem de geminação, pelo uso do vácuo à partir de 250 mm/Hg, deve-se, provavelmente, aos danos mecânicos, ocasionados nos embriões mais fracos. Resultados semelhantes foram encontrados por *TOKESHI e SANGUINIO (1976)*, que demonstraram que o vácuo é prejudicial às gemas de cana-de-açúcar.

6.4. Efeito do vácuo, do formol e do descascamento, aplicados às cariopses, na colonização de plântulas de cana-de-açúcar por *U. scitaminea*.

Os resultados das Tabelas 10 e 11 mostram o efeito do vácuo no aumento das porcentagens de plântulas, colonizadas por *U. scitaminea*. As cariopses, inoculadas à vácuo, apresentaram um aumento na porcentagem de plântulas colonizadas de 63% (Tabela 10) e acima de 42% (Tabela 11).

Provavelmente, o vácuo aumenta a porcentagem de plântulas colonizadas por *U. scitaminea*, ao colocar os esporos em íntimo contato com o embrião das cariopses de cana-de-açúcar.

Os resultados da Tabela 11 mostram que o método de inoculação de cariopses com vácuo e com casca, resulta em um aumento de infecção, comparando-se este método, em eficiência, ao preconizado por *DUARTE e TOKESHI (1977)*, com descascamento das cariopses e desinfecção com hipoclorito de

sódio.

O tratamento sem casca e sem vácuo difere, estatisticamente, do tratamento com casca e sem vácuo, mostrando que a casca, realmente, interfere na eficiência de inoculação (Tabela 11). Estes resultados confirmam aqueles encontrados em outras gramíneas, como trigo e aveia, relatados por *TISDALE e TAPKE (1924)* e *BAYLES e COFFMAN (1929)*. A hipótese levantada por *DUARTE e TOKESHI (1977)* de que havia interferência da casca, na colonização de plântulas de cana-de-açúcar por *U. scitaminea*, também é confirmada.

A sensibilidade do método de inoculação de *U. scitaminea*, com vácuo, em cariopses de cana-de-açúcar, é confirmada pela inoculação de 3 cultivares, conforme mostram os dados da Tabela 12. Estatisticamente, as porcentagens médias de plântulas colonizadas dos 3 cultivares diferem, entre si, pelo teste tukey ao nível de 5%. O cultivar mais susceptível foi o RB 68121 com 66,10% de plântulas colonizadas; a medianamente susceptível foi o CD 419 com 44,44% e o cultivar CD 62-175 com 36,10%, de plântulas colonizadas, apresentou-se medianamente resistente.

O formol não teve qualquer influência na colonização de plântulas de cana-de-açúcar por *U. scitaminea*, de acordo com os resultados da Tabela 10. Isto mostra que, este produto, na dosagem e formulação empregada, não teve efeito residual.

Os resultados das Tabelas 10, 11 e 12 confirmam os resultados favoráveis, obtidos pelos autores *MORRE (1936)*, *SHANDS e CHALLER (1946)*, *ROWEL e DEVAY (1952)* e *KAVANAGH (1959 e 1961)*, no uso de vácuo para inoculação de várias espécies de gramíneas com *Ustilago* sp.

7. CONCLUSÕES

Após a apresentação dos resultados e discussão dos ensaios pode-se concluir que:

a. O número de cariopses viáveis por grama aumenta com a força de ventilação até $9,8 \text{ mg/cm}^2$.

b. A ventilação favorece a limpeza das cariopses, aumentando-lhes a pureza física.

c. O aumento da pureza física das cariopses eleva a porcentagem de germinação e o índice de vigor.

d. O método de inoculação à vácuo, de 250 mm/Hg, elimina a necessidade de descascamento das cariopses, para se obter alta eficiência de inoculação de *U. scitaminea*.

e. O vácuo de 250 mm/Hg prejudica a germinação das cariopses, mas não interfere na mortalidade de plântulas de cana-de-açúcar, após a germinação.

f. O vácuo de até 250 mm/Hg não interfere na germinação de clamidósporos de *U. scitaminea*.

g. O formol foi ineficiente, quando usado na forma de Lysoform bruto, no controle dos fungos localizados internamente nas cariopses, mas não interferiu na colonização de plântulas por *U. scitaminea*.

h. Nas amostras analisadas, os contaminantes mais comuns, que ocorrem nos tecidos de plântulas de cana-de-açúcar mortas foram: *Phoma* sp., *Curvularia* sp. e *Helminthosporium* sp.

i. O descascamento das cariopses aumenta a mortalidade de plântulas de cana-de-açúcar, após a germinação.

8. SUMMARY

Caryopses of 5 cultivars of sugarcane were treated to remove the fuzz and then purified by ventilation to remove physical impurities. At 9,6 mg/cm² ventilation pressure, around 56% of the above impurities were eliminated thus reducing the initial weight of the caryopses lot by more than 63%.

Germination percentage and the vigor index of ventilated caryopses in ideal conditions were higher than in those that were not treated similarly.

Before being inoculated with *Ustilago scitaminea*, the sugarcane caryopses were disinfected with formol. Seedlings from this treatment did not present a statistically significant difference in their survival from those of the untreated caryopses. The same was true in the colonisation of seedlings by *U. scitaminea*.

Spp. of *Phoma*, *Curvularia* and *Helminthosporium* were

encountered on dead seedlings in the course of this work.

Caryopses with and without husks were inoculated by spores of *U. scitaminea* at a concentration of $6 \cdot 10^6$ spores/ml. Seedlings from caryopses with out husks suffered an infection rats of 43% higher than those that with husks. On the hand husking the caryopses increased the mortality rate of seedlings by more than 58%.

When both sugarcane caryopses and chlamyospores of *U. scitaminea* were subjected to vacuum pressures of 250-550 mm/Hg, it was found that the chlamyospores were not affected in their germination rate, while the caryopses suffered a reduced germination rate of 14%.

Caryopses of varios cultivars of sugarcane were inoculated with *U. scitaminea* utilising the vaccum method. When the vacuum method was used in the place of husking the caryopses, no change was detected in the mortality rate of seedlings. This same method significantly increased the percentage of colonisation (42,8% in cultivar CO 62-175) when compared to the seedlings obtained from caryopses which were not subjected to the vacuum treatment.

9. LITERATURA CITADA

ANTOINE, E. 1961. Smut: in Sugar-cane diseases of the World. Elsevier Publishing Company. New York. p. 327-354.

ARRUDE, S.C. e W.B. TOFFANO. 1951. O carvão da cana no Estado de São Paulo. *O Biológico* 17: 155-165.

BARNETT, H.L. e B.B. HUNTER. 1972. Illustrated genera of imperfect fungi. Burgen Publishing Company. 3a. ed. New York. 241 p.

BLEASDALE, J.K.A. 1977. Fisiologia Vegetal. Editora Pedagógica e Universitária Ltda. São Paulo. 176 p.

BRIEGER, F.O. 1965. Carvão da cana-de-açúcar: mal epidêmico. *Brasil açucareiro* 65: 78-80.

BAYLES, B.B. e F.A. COFFMAN. 1929. Effects of dehulling seed and of seeding on germination and smut infection in oats. *Journal of the American Society of Agronomy, Washington* 21: 41-51.

BYTHER, R.S. e G.W. STEINER. 1972. Inoculation techniques in smut disease testing. Exp. Station, Hawaiian Sugarcane Planter's Assoc., Honolulu. Annual Report p. 46-47.

BYTHER, R.S. e G.W. STEINER. 1973a. Smut inoculation techniques. Exp. Station, Hawaiian Sugarcane Planter's Assoc., Honolulu Annual Report p. 30-32.

BYTER, R.S. e C.W. STEINER. 1973b. Comparison of inoculation techniques for smut disease testing in Hawaii. Proc. International Society of Sugarcane Technologist. 9 p. (IN PRESS).

CARVALHO, R.S. 1949. Carvão da cana. Anais da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Piracicaba, 6: 1-12.

CICERO, S.M. 1976. Influência do peso da semente de arroz (*Oryza sativa* L.) sobre a germinação, vigor e produção de grãos. Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Piracicaba, 75 p. (Dissertação de Mestrado).

DUARTE, M.L.R. 1976. Padronização metodológica da inoculação de plântulas de cana-de-açúcar para seleção de resistência a *Ustilago scitaminea*. Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz". Piracicaba. 76 p. (Dissertação de Mestrado).

DUARTE, M.L.R. e H.L.R. e H. TOKESHI. 1977. Inoculation of sugarcane seedlings for selection of resistance to *Ustilago scitaminea*. Proc. International Society of Sugarcane Technologists. 16 p. (IN PRESS).

- GALLI, F.; H. TOKÉSHI; P.C.T. CARVALHO; E. BALMER; H. KIMATI; C.O.N. CARDOSO e C.L. SALGADO. 1968. Manual de Fitopatologia, Doenças das Plantas e seu Controle. Ed. Ceres, São Paulo, 640 p.
- GOMES, F.P. 1973. Curso de Estatística Experimental. Nobel S.A. 5ª ed. Piracicaba. 430 p.
- KAVANAGH, T. 1959. A technique for seedling inoculation with chlamydospores of *Ustilago nuda* and *U. tritici*. Phyttopathology 49: 542-543.
- KAVANAGH, T. 1961. Inoculating barley seedlings with *Ustilago nuda* and wheat seedlings with *U. tritici*. Phyttopathology 51: 175-177.
- KLINE, O.M. e C.W. ROANE. 1972. Fungicides for the control of *Helminthosporium stripe* of barley. Plant Disease Reporter 56: 183-185.
- HIRSCHHORN, E. 1949. Un nuevo método de infección artificial con el carbon de la caña-de-azúcar. Revista de investigaciones agricola, Buenos Aires 3(4): 335-344.
- LADD, S.L. e C.W. STEINER. 1971. Smut resistance testing. Exp. Station, Hawaiian Sugarcane Planter's Assoc., Honolulu. Annual Report p. 40.
- LOVELESS, A.R. e C.E.M. SMITH. 1956. Seedlings blight of sugar-cane: A new disease caused by *Helminthosporium saccharii*, Buthler. Ann. Appl. Biol. 44(3): 419-424.
- MATA, J.F. 1975. Preservação e determinação de viabilidade de clamidósporos de *Ustilago scitaminea*. Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Piracicaba. 66 p. (Dissertação de Mestrado).

- MATA, J.F. da, e HASIME TOKESHI. 1976. Comparações entre três métodos de preservação de *U. scitaminea*. Summa Phytopathológica 2: 187-193.
- MARCOS FILHO, J.; M. CICERO e F.F. de TOLEDO. 1977. Manual de análises de sementes. Dep. de Agricultura e Horticultura, Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Piracicaba, 99 p. (apostila mimeografada).
- MORRE, M.B. 1936. A method for inoculating wheat and barley with loose smuts. Pthytopathology 26: 397-400.
- MUSIL, A.F. 1961. Testing seed for purity and origin. In: Yearbook of Agriculture. USDA. Washington p. 417-457.
- MUTHSAMY, S. 1974. Varietal suceptibility to smut (*Ustilago scitaminea* Sidow) in relation to bud characters. Proc. International Society of Sugar-cane Technologists. 3 p. (IMPRESS).
- POPP, W. 1958. An improved method for detecting loose smut mycelium in whole embryos of wheat and barley. Pthytopathology, 48: 641-643.
- ROSS, J.G.; W.M. SEMENIEUK; D.K. TAYLOR e B.C. JENKINS. 1948. Factors affecting the degree of infection of barley by loose smut (*Ustilago nuda*) (Jeans). Rost. Scientific Agriculture, Ottawa. 28(11): 481-492.
- ROWEL, J.B. e J.E. DEVAY. 1952. Factors and results in partial vacuum inoculation of corns seedling with *Ustilago zae*. Pthytopathology 43: 654-658.

- SANGUINIO, A.* 1976. Patologia e controle dos fungos de sementes de cana-de-açúcar e resistência de progênies a *Helminthosporium sacchari*. Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Piracicaba, 77 p. (Dissertação de Mestrado).
- SHANDS, H.L. e C.W. SCHALLER.* 1946. Response of spring barley varieties to floral loose smut inoculation. *Phytopathology* 36: 534-548.
- SILVA, W.M.* 1974. Produção de "seedlings" de cana-de-açúcar pelo beneficiamento do "FUZZ" e transplante precoce. Universidade Federal de Viçosa, Viçosa - MG. 34 p. (Dissertação de Mestrado).
- TALBALLA, H.A.* 1969. Smut true seedlings of sugar-cane. *Plant Disease Reporter*, Washington 53(12): 992-993.
- TISDALE, W.H. e V.F. TAPKE.* 1924. Infection of barley *Ustilago nuda* through seed inoculation. *Journal of Agriculture Research*, Washington 29(6): 263-284.
- TOFFANO, W.B.* 1965. Resistência de variedade ao "carvão" da cana-de-açúcar ao inóculo de CB 45 3. *O Biológico* 31: 65-66.
- TOKESHI, H. e A. SANGUINIO.* 1976. Vácuo e *Ustilago scitaminea* alterando a brotação de cana-de-açúcar. *Brasil açucareiro* 6: 30-35.

APÉNDICE

Apêndice 1. Efeito da ventilação na germinação de cariopses de cana-de-açúcar.

Cultivar	Força de Ventilação mg/cm ²	porcentagem de germinação nas repetições				Média Original	Média Transformada*
		1	2	3	4		
CO 62-175	0,0	35	30	36	45	36,50	37,12
	8,7	70	72	58	60	65,00	53,80
	9,5	64	62	71	68	66,25	54,51
	9,6	71	75	71	71	72,00	58,06
	9,8	72	70	70	64	69,00	56,19
	9,9	72	83	74	86	78,75	62,76
F - 154	0,0	23	21	19	20	20,75	27,08
	8,7	19	31	31	32	28,25	31,98
	9,5	32	35	22	37	31,50	34,04
	9,6	43	40	37	35	38,75	38,48
	9,8	50	48	38	53	47,25	43,40
	9,9	43	45	45	38	43,50	41,25
NCO 339	0,0	1	2	3	1	1,75	7,39
	8,7	13	12	10	13	12,00	20,24
	9,5	9	11	10	17	11,75	19,90
	9,6	20	22	31	21	23,50	28,91
	9,8	24	18	24	32	24,50	29,55
	9,9	13	8	14	23	14,50	22,04
PR 1117	0,0	30	30	35	33	32,00	34,43
	8,7	34	34	39	33	35,00	36,36
	9,5	38	35	46	45	41,00	39,79
	9,6	45	45	41	43	43,50	41,26
	9,8	34	45	42	37	39,50	38,91
	9,9	44	41	42	39	41,50	40,10
RB 68121	0,0	22	27	17	21	21,75	27,72
	8,7	61	70	63	83	69,25	56,57
	9,5	80	86	72	80	79,50	63,24
	9,6	80	75	78	81	78,50	62,40
	9,8	88	89	80	80	84,25	66,81
	9,9	81	74	78	81	78,50	62,42

* Transformação em arc sen $\sqrt{\text{porcentagem}}$

Apêndice 2. Análise de variância do apêndice 1. Efeito da ventilação na germinação de cariopses de cana-de-açúcar.

Cultivar	Causas de variação	GL	SQ	QM	F
CO 62-175	Tratamentos	5	1532,10	306,42	27,38**
	Resíduo	18	201,59	11,19	
	Total	23	1733,69		
	C.V. = 16,15	DMS 5% = 7,52		** significativo a 1%	
F 154	Tratamentos	5	752,42	150,48	15,26**
	Resíduo	18	177,62	9,86	
	Total	23	930,04		
	C.V. = 17,64	DMS 5% = 7,06		** significativo a 1%	
NCD 339	Tratamentos	5	1291,63	258,32	23,37**
	Resíduo	18	198,99	11,05	
	Total	23	1490,62		
	C.V. = 37,72	DMS 5% = 7,47		** significativo a 1%	
PR 1117	Tratamentos	5	134,27	26,85	6,27**
	Resíduo	18	77,19	4,28	
	Total	23	211,46		
	C.V. = 7,88	DMS 5% = 4,65		** significativo a 1%	
RB 68-121	Tratamentos	5	4198,22	839,64	55,53**
	Resíduo	18	272,23	15,12	
	Total	23	4470,45		
	C.V. = 24,66	DMS 5% = 8,74		** significativo a 1%	

Apêndice 3. Efeito da ventilação no vigor de cariopses de cana-de-açúcar.

	Força de ventilação mg/cm ²	Índice de vigor nas repetições				Média Original	Média Trans-formada*
		1	2	3	4		
CO 62-175	0,0	11,74	10,66	12,28	14,96	12,41	20,60
	8,7	22,51	23,09	19,81	20,41	21,45	27,56
	9,5	20,40	18,87	21,98	21,59	20,71	27,07
	9,6	25,66	26,16	25,46	26,33	25,90	30,60
	9,8	24,29	23,74	23,29	21,06	23,08	28,70
	9,9	24,50	26,24	25,75	29,25	26,43	30,90
F - 154	0,0	6,40	7,00	5,46	5,96	6,20	14,40
	8,7	5,56	8,94	9,22	10,36	8,52	16,88
	9,5	9,75	10,16	6,86	10,95	9,43	17,79
	9,6	11,76	11,98	11,50	10,46	11,42	19,77
	9,8	14,41	14,66	12,26	15,18	14,12	22,04
	9,9	13,39	13,36	13,53	11,56	12,96	21,10
NCO 339	0,0	0,33	0,45	0,53	0,36	0,41	3,68
	8,7	3,83	3,11	2,49	3,21	3,16	10,15
	9,5	2,39	2,81	2,44	2,54	2,54	9,13
	9,6	5,37	5,99	7,48	5,59	6,10	14,30
	9,8	6,54	4,16	5,76	6,99	5,86	13,97
	9,9	2,58	2,14	3,45	5,68	3,46	10,55
PR 1117	0,0	9,03	8,11	9,65	9,18	8,99	17,42
	8,7	9,31	9,69	10,70	10,03	9,95	18,38
	9,5	11,53	10,13	13,41	13,39	12,11	20,32
	9,6	13,48	13,08	11,56	11,41	12,38	20,58
	9,8	9,31	12,96	12,30	11,16	11,43	19,74
	9,9	13,09	11,21	11,41	10,48	11,54	19,83
RB 68121	0,0	8,08	9,53	6,66	8,16	8,10	16,50
	8,7	24,37	28,08	23,88	33,35	27,42	31,51
	9,5	31,58	35,35	29,66	33,00	32,39	34,69
	9,6	32,11	31,91	33,25	33,45	32,68	34,77
	9,8	36,09	35,11	34,41	35,08	35,17	36,37
	9,9	35,16	31,32	33,56	34,81	33,71	35,49

* Transformação em arc sen $\sqrt{\text{índice de vigor}}$.

Apêndice 4. Análise de variância do apêndice 3. Efeito da ventilação no vigor dos cariopses de cana-de-açúcar.

Cultivar	Causas de variação	GL	SQ	QM	F
CO 62-175	Tratamentos	5	281,75	56,35	46,18**
	Resíduo	18	22,05	1,22	
	Total	23	303,80		
	C.V. = 13,16	DMS 5% =	2,48	** significativo a 1%	
F - 154	Tratamentos	5	162,73	32,54	18,28**
	Resíduo	18	32,12	1,78	
	Total	23	194,85		
	C.V. = 15,59	DMS 5% =	2,95	** significativo a 1%	
NCD 339	Tratamentos	5	298,50	59,70	34,50**
	Resíduo	18	31,16	1,73	
	Total	23	329,66		
	C.V. = 36,69	DMS 5% =	2,95	** significativo a 1%	
PR 1117	Tratamentos	5	29,88	5,97	5,37**
	Resíduo	18	20,00	1,11	
	Total	23	49,88		
	C.V. = 7,58	DMS 5% =	2,37	** significativo a 1%	
RB 68121	Tratamentos	5	1141,97	288,39	106,22**
	Resíduo	18	38,80	2,15	
	Total	23	1180,77		
	C.V. = 22,70	DMS 5% =	3,30	** significativo a 1%	

Apêndice 5. Efeito do vácuo, descascamento e inoculação com *U. scitaminea* na mortalidade de plântulas de cana-de-açúcar. Cultivar CO 62-175.

ANÁLISE DE VARIÂNCIA

Causas de variação	GL	SQ	QM	F
Tratamentos	2	8053,40	4026,70	77,87**
Resíduo	33	1706,49	51,71	
Total	35	9759,89		

C.V. = 45,86 DMS 5% = 7,21

** significativo à 1%

Apêndice 6. Influência do formol na porcentagem de sobrevivência de plântulas de cana-de-açúcar. Cultivar RB-121.

ANÁLISE DE VARIÂNCIA

Causas de Variação	GL	SQ	QM	F
Tratamentos	1	1,07	1,07	0,0162
Resíduo	14	921,65	65,83	
Total	15	922,72		

C.V. = 30,20 DMS 5% = 8,69

Apêndice 7. Efeito do vácuo na porcentagem de germinação de clamidósporos de *U. scitaminea*.

ANÁLISE DE VARIÂNCIA

Causas de variação	GL	SQ	QM	F
Tratamentos	4	6,00	1,50	1,20
Resíduo	10	12,51	1,25	
Total	14	18,51		

C.V. = 1,89

DMS (q = 5%) = 3,00

Apêndice 8. Efeito do vácuo na porcentagem de germinação de cariopses de cana-de-açúcar. Cultivar RB 68-121

ANÁLISE DE VARIÂNCIA

Causas de variação	G.L.	SQ	QM	F
Tratamentos	4	376,46	94,11	12,19**
Resíduo	15	115,81	7,72	
Total	19	492,27		

C.V. = 9,12

DMS 5% = 7,72

** significativo à 1%

Apêndice 9. Efeito do vacuo e do formol aplicados às cariopses na colonização de plântulas de cana-de-açúcar por *U. scitaminea* Cultivar CO 62-175.

ANÁLISE DE VARIÂNCIA

Causas de variação	GL	SQ	QM	F
Tratamentos	2	1326,80	663,40	57,83**
Resíduo	15	172,17	11,47	
Total	17	1498,97		

C.V. = 26,28

DMS 5% = 5,07

** significativo à 1%.

Apêndice 10. Efeito do vácuo e do descascamento aplicado as cariopses na colonização de plântulas de cana-de-açúcar por *U. scitaminea* Cultivar CO 62-175.

ANÁLISE DE VARIÂNCIA

Causas de variação	GL	SQ	QM	F
Tratamentos	2	828,78	414,39	19,01**
Resíduo	33	719,18	21,79	
Total	35	1547,96		

C.V. = 19,67

DMS 5% = 4,68

** significativo à 1%.

Apêndice 11. Efeito do vácuo aplicado às cariopses, na colonização de plântulas por *U. scitaminea*.

ANÁLISE DE VARIÂNCIA

Causas de variação	GL	SQ	QM	F
Tratamentos	2	987,87	489,43	69,42**
Resíduo	15	105,80	7,05	
Total	17	1084,67		

C.V. = 17,99

DMS 5% = 3,98

** significativo à 1%.