PRÉ-SELEÇÃO DE "SEEDLINGS" DE CANA-DE-AÇÚCAR RESISTENTES
A *Ustilago scitaminea*, PELA INOCULAÇÃO DAS "SEMENTES"

WILSON MARCELO DA SILVA

Eng.º Agr.º M. Sc.

Orientador: PROF. DR. HASIME TOKESHI

Tese apresentada à Escola Superior de Agricultura
"Luiz de Queiroz" da Universidade de São Paulo,
para obtenção do título de Doutor em Fitopatologia,

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

À minha esposa Maria da Conceição,

Aos meus filhos Francisca Eugênia e Wilson Marcelo,

Aos nossos pais.

À memória do Prof. Dr. Sylvio Starling Brandão,
Mestre dos Mestres, que nos iniciou na pesquisa.

MINHA HOMENAGEM.

A G R A D E C I M E N T O S

Externamos nossos agradecimentos a todos aqueles que, direta ou indiretamente, contribuíram para a realização desse trabalho, em suas diversas fases, principalmente às seguintes pessoas e entidades:

- Ao Dr. Jorge Wolney Attala, pelo pioneirismo no desenvolvimento da experimentação, pesquisa e assistência técnica no setor privado da agroindústria açucareira - alcooleira do Brasil.

- Ao Prof. Dr. Hasime Tokeshi, pela orientação.

- Aos Engs. Agrs. MS Álvaro Sanguino e Flávio Franco Corte Brilho, pelo auxílio prestado na condução dos experimentos.

- Ao Engº Agrº Cláudio Dalpícolo, ao Técnico Agrícola Ataliba Franceschi Piedade e ao Sr. Benedito Ferraz de Oliveira, pelo auxílio na montagem dos experimentos.

- Ao Prof. Dr. Hiroshi Kimati, pelas sugestões e revisão do original.

- Ao Prof. Dr. Roberto Simionato de Moraes, pela orientação e análises estatísticas.

- À Cooperativa Central dos Produtores de Açúcar e Alcool do Estado de São Paulo, nosso profundo reconhecimento, pois sem a sua ajuda não nos seria possível a realização desse trabalho.

Í N D I C E

	<u>Página</u>
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DE LITERATURA	3
3. MATERIAIS E MÉTODOS	8
3.1. Determinação qualitativa e quantitativa dos fungos contaminantes das "sementes" se- xuais da cana-de-açúcar	8
3.2. Determinação qualitativa de fungos associa- dos aos esporos de <i>U. scitaminea</i>	9
3.3. Efeito de substrato de germinação e da con- centração de esporos de <i>U. scitaminea</i> so- bre a germinação de "sementes" sexuais, mortalidade de "seedlings" e manifesta- ção de carvão em progênies de duas culti- vares de cana-de-açúcar	10
a) Inoculação em substrato agar-água (AA) sob condições de câmara úmida	11
b) Inoculação em substrato solo	12
c) Delineamento estatístico	12
d) Avaliação dos efeitos dos métodos uti- lizados na inoculação das "sementes" se- xuais por <i>U. scitaminea</i>	12
3.3.1. Efeito sobre a germinação das "semen- tes" sexuais	12
3.3.2. Efeito sobre a mortalidade dos "seed- lings" após o transplante	13
3.3.3. Efeito sobre a manifestação do chico- te	13
3.4. Avaliação da eficiência do método de pré-se- leção de "seedlings" resistentes a <i>U.</i> <i>scitaminea</i>	14
3.5. Correlação entre a suscetibilidade da plan-	

ta a <i>U. scítamínea</i> na fase de "seedling"	
e clone	15
3.5.1. "Sementes" sexuais utilizadas	15
3.5.2. Obtenção dos clones e quimioterapia	
usada para cura da doença	15
3.5.3. Métodos de inoculação e termotera-	
pia usados	16
3.6. Influência materna na reação das progênes	
a <i>U. scítamínea</i>	18
3.6.1. Avaliação da resistência dos proge-	
nitores a <i>U. scítamínea</i>	18
3.6.2. Teste de resistência de cruzamentos	
e progênes em relação a <i>U. scítamínea</i>	19
4. RESULTADOS	21
4.1. Fungos contaminantes associados às "semen-	
tes" sexuais da cana-de-açúcar	21
4.2. Fungos contaminantes associados aos espo-	
ros de <i>U. scítamínea</i>	21
4.3. Efeito de substrato de germinação e da con-	
centração de esporos de <i>U. scítamínea</i>	
sobre a germinação de "sementes" sexuais,	
mortalidade de "seedlings" e manifesta-	
ção de carvão em progênes de duas cul-	
tivares de cana-de-açúcar	23
4.3.1. Efeito sobre a germinação das "se-	
mentes" sexuais	23
4.3.2. Efeito sobre a mortalidade dos "seed-	
lings" após o transplante	25
4.3.3. Efeito sobre a manifestação do chi-	
cote	25
4.4. Avaliação da eficiência do método de pré-	

seleção de "seedlings" resistentes a <i>U. scitaminea</i>	28
4.5. Correlação entre a suscetibilidade da planta a <i>U. scitaminea</i> na fase de "seedling" e clone	28
4.6. Influência materna na reação das progê- nies a <i>U. scitaminea</i>	32
5. DISCUSSÃO	35
5.1. Fungos contaminantes associados às "se- mentes" sexuais da cana-de-açúcar	35
5.2. Fungos contaminantes associados aos es- poros de <i>U. scitaminea</i>	36
5.3. Efeito de substrato de germinação e da concentração de esporos de <i>U. scita- minea</i> sobre a germinação de "semen- tes" sexuais, mortalidade de "seed- lings" e manifestação de carvão em progênes de duas cultivares de cana de-açúcar	37
5.3.1. Efeito sobre a germinação das "sementes" sexuais	37
5.3.2. Efeito sobre a mortalidade dos "seedlings" após o trans- plante	39
5.3.3. Efeito sobre a manifestação do chicote	41
5.4. Avaliação da eficiência do método de pré- seleção de "seedlings" resistentes a <i>U. scitaminea</i>	42
5.5. Correlação entre a suscetibilidade da planta a <i>U. scitaminea</i> na fase de "seedling" e clone	43

5.6. Influência materna na reação das progê-	
nies a <i>U. scitãmínea</i>	44
6. RESUMO E CONCLUSÕES	45
7. SUMMARY	48
8. LITERATURA CITADA	50
9. APÊNDICES	55

ÍNDICE DAS TABELAS

Página

TABELA

1. Fungos contaminantes das "sementes" sexuais da cana-de-açúcar, oriundos dos progenitores CB 41-76 e PR 980. Seis amostras, cada uma de 50 "sementes", num total de 300 "sementes" sexuais 22
2. Fungos contaminantes encontrados em 6 alíquotas de 0,5ml de suspensão de *U. scitaminea* 22
3. Influência de concentração de esporos de *U. scitaminea* na germinação de "sementes" sexuais originadas de dois progenitores de cana-de-açúcar, em dois substratos 24
4. Influência da concentração de esporos de *U. scitaminea* e dos substratos de germinação das "sementes" sexuais originadas de dois progenitores de cana-de-açúcar na mortalidade dos "seedlings" após o transplante 26
5. Influência de concentração de esporos de *U. scitaminea* dos substratos de germinação e das "sementes" sexuais provenientes de dois progenitores de cana-de-açúcar na manifestação do chicote em "seedlings" 27
6. Avaliação da eficiência da pré-seleção de "seedlings" resistentes a *U. scitaminea* provenientes do progenitor CB 41-76 29

TABELA

7. Avaliação da eficiência da pré-seleção de "seedlings" resistentes a <i>U. scitaminea</i> provenientes do progenitor PR 980	30
8. Suscetibilidade de clones pré-selecionados na fase juvenil como suscetível a <i>U. scitaminea</i> , sob diferentes condições de inoculação das gemas	31
9. Reação dos progenitores utilizados em cruzamentos biparentais e de policruzamento a <i>U. scitaminea</i> inoculados pelo método de imersão das gemas	33
10. Efeito da resistência dos progenitores a <i>U. scitaminea</i> na frequência de resistência nas progênies em cruzamentos biparentais e de policruzamentos	34

1. INTRODUÇÃO

A Cooperativa Central dos Produtores de Açúcar e Alcool do Estado de São Paulo (COPERSUCAR), composta por 73 usinas distribuídas pelos estados de São Paulo, Paraná, Minas Gerais, Goiás, Rio de Janeiro e Mato Grosso, produziu na safra 1976/77, um total de 51.766.680 sacos de açúcar (cristal e demerara) correspondentes a praticamente 70% da produção da região Centro-Sul e quase a metade da produção brasileira. O volume de produção de álcool, pelas usinas cooperadas, foi de 372.859.626 litros, na safra, correspondendo a praticamente 70% da produção da região Centro-Sul e quase dois terços da produção total brasileira. Na mesma safra, a Copersucar, através da destilaria de Brotas (SP), produziu 19.000.000 de litros de álcool de tipo superior, com matéria prima oriunda das usinas cooperadas.

Em 1969, antevendo a grandeza dos números acima apresentados, a Copersucar iniciou um vasto programa de melhoramento genético da cana-de-açúcar, através de sua Divisão Agrônoma, com a finalidade de suprir as usinas cooperadas com variedades ecléticas e regionais que produzissem cada vez mais, maiores quantidades de açúcar e/ou álcool por unidade de área. Uma das medidas para alcançar esse objetivo é a criação de variedades resistentes às principais doenças prevalentes na região do cultivo. Dentre essas doenças, o carvão da cana-de-

açúcar, que tem como agente causal, o fungo *Ustilago scitaminea*, assumiu grande importância em diferentes épocas e em certos países produtores de cana. No Brasil, a doença é endêmica nas principais regiões produtoras de açúcar: São Paulo, Paraná, Rio de Janeiro e Minas Gerais. No Estado de São Paulo, existe Legislação Fitossanitária própria para o controle dessa doença, proibindo o plantio de variedades suscetíveis.

As técnicas utilizadas para produção de clones resistentes ao carvão variam de país para país. Entretanto, um ponto comum existe entre eles: o número de indivíduos a serem testados de cada vez é limitado. Consequentemente, apenas aqueles em fase final de seleção para características agrônômicas e tecnológicas são testados, sendo portanto, material de altíssimo custo.

O presente trabalho propõe uma nova técnica denominada PRÉ-SELEÇÃO DE "SEEDLINGS" DE CANA-DE-AÇÚCAR RESISTENTES A *Ustilago scitaminea*, PELA INOCULAÇÃO DAS "SEMENTES"

que difere fundamentalmente daquelas em prática nos centros de melhoramento genético da cana-de-açúcar.

Tem por objetivo principal, a produção de milhares de clones resistentes ao carvão, a curto prazo e baixo custo, tanto operacional como do material a ser descartado, pela suscetibilidade a doença.

2. REVISÃO DE LITERATURA

ANTOINE (1961) preconiza diversas medidas no controle do carvão da cana-de-açúcar: "roguing" de touceiras doentes, plantio de material selecionado, livre da doença, desinfecção do tolete antes do plantio, destruição da soqueira em campos muito afetados, rotação de cultura e cultivo de variedades resistentes.

O uso de variedades resistentes tem sido a medida de maior eficiência no controle da doença, uma vez que, adotando essa prática, sempre se consegue manter uma baixa concentração de inóculo. Em São Paulo, CARVALHO (1963) atribue às medidas de erradicação e ao uso de variedades resistentes o controle quase completo da doença. Segundo SILVEIRA^(*), o Instituto Biológico de São Paulo, utiliza para testes de variedades o método de inoculação a vácuo, onde toletes de uma gema são colocados em um recipiente, junto com uma suspensão de esporos. Faz-se vácuo de 1/2 atmosfera, por 20 minutos, sendo, em seguida, aberta a válvula de entrada de ar. Os toletes são imediatamente plantados em vasos e colocados em casa de vegetação. O critério de avaliação de resistência ao carvão é aquele que, em 20 gemas inoculadas, o aparecimento de um chicote é sufi-

(*) SILVEIRA, A.P., 1973. Comunicação Pessoal.

ciente para tornar proibitivo o plantio da variedade. Entretanto, de acordo com WALLER (1967), não há correlação entre testes conduzidos em casas de vegetação e no campo. Também WHITENEAAD (1967), na África do Sul, estudou a reação de 80 variedades a *U. scitaminea*, em campo e laboratório, não encontrando correlação satisfatória.

LADD et alii (1974) relatam que, após a descoberta do carvão da cana-de-açúcar, na Ilha de Oahu, Hawaii, em 1971, um vasto programa foi iniciado para testes de resistência ao carvão de todos os clones e variedades comerciais. Três métodos de inoculação artificial foram inicialmente usados. O da pasta de esporos sobre a gema sem fermento e o da pasta de esporos sobre a gema anteriormente ferida, foram abandonados por sua severidade. O da imersão de toletes em uma suspensão de esporos, de 5 milhões em um mililitro d'água, foi adotado. 60% dos 3.000 clones Havaianos, inclusive os de terceiro estágio de seleção, mostraram-se suscetíveis e foram eliminados, enquanto 36% de aproximadamente 1.000 novos clones têm sido eliminados no primeiro teste de seleção. Relatam ainda que o programa de seleção para caracteres agrônômicos e tecnológicos têm sido alterado para incorporar em todas as fases de seleção testes de resistência ao carvão.

RIVERA (1969) relata que, desde 1958, a Phillippine Sugar Institute realiza testes de resistência ao carvão em todas as variedades comerciais e clones mais promissoras, na 4a. ou 5a. etapas de seleção, em parcelas de uma rua, repetidas 4 vezes. Cada parcela é constituída por 5 toletes previamente mergulhados, durante 30 minutos, em uma suspensão de 20g de esporos por galão d'água. O mesmo autor relata que, em um dos testes realizados com 32 variedades testadas, 9 mantiveram-se altamente resistentes; 1 muito resistente; 6 moderadamente resistentes; 1 medianamente resistente; 7 moderadamente suscetíveis; 4 altamente suscetíveis e 4 extremamente suscetíveis. As avaliações da resistência foram feitas na

cana planta e soca, adotando-se o critério de número de chicotes por parcela, transformados em porcentagem.

SHATRUCHA (1970) relata que em Coimbatore, Índia, para testes de resistência ao carvão, toletes de 3 gemas de variedades ou clones promissores são mergulhados em uma suspensão de esporos por 30 minutos e plantados imediatamente. Para o preparo da suspensão, usam-se 250g de esporos, com mais de 95% de viabilidade, em 38 litros d'água.

JAMES (1972), na Rhodesia, relata apenas que os testes são feitos a vácuo e que o critério de avaliação da resistência é dado pelo número de chicotes por hectare.

FAWCETT (1946) concluiu que a imunidade ao carvão era devida às propriedades físicas das gemas, que impedem a penetração das hifas de infecção, não havendo, portanto, resistência protoplasmática.

ARRUDA e TOFFANO (1950), inoculando plântulas originadas de gemas de 40cm de altura, com agulha hipodérmica, e usando uma suspensão de esporos, encontraram uma alta discrepância nos resultados das mesmas variedades, quando sujeitas a infecção natural de campo. Os autores interpretaram essa discrepância como sendo resultado do uso de um método por demais artificial, que vencida a barreira mecânica da gema à penetração do patógeno.

SINGH (1963), estudando 40 clones promissores, de sigla Co, em relação ao carvão, determinou que, quando as escamas da gema eram removidas, observava-se uma alta incidência da doença, concluindo daí que as escamas da gema eram uma barreira para a infecção. Segundo CHONA (1952), gemas mais jovens são mais vulneráveis à infecção. MUTHUSAMY (1974) encontrou uma grande correlação entre tamanho e forma da gema (gemas triangulares são mais suscetíveis) bem como da posição e o ataque da broca do colmo (*Chilo indicus*) e a suscetibilidade a

U. scitaminea.

De acordo com HIRSCHHORN (1950), em condições favoráveis, os esporos de *U. scitaminea* germinam entre 3 e 4 horas, em temperatura de 25-30°C. SAXENA et alii (1964), estudando o efeito da temperatura e umidade relativa sobre a germinação de esporos de *U. scitaminea*, concluíram que a germinação em agar-água é melhor em 100% de U.R., a 25-30°C, e que não ocorre germinação a 90% de U.R., qualquer que seja a temperatura. No solo, de acordo com LAMBAT et alii (1966), a melhor temperatura para germinação dos esporos é de 25°C. ANTOINE (1961), citando McMARTIN, relata que, em experimentos realizados na Índia, 70% dos esporos, em solo seco, germinam após 210 dias, enquanto que, em solo úmido, todos germinam em 48 horas. Há, também, possibilidade de a germinação dos esporos ser influenciada por fungos contaminantes como os que ocorrem em esporos de carvão em geral (FISHER e HOLTON, 1957).

Quando inoculados sobre a gema, os esporos, segundo HIRSCHHORN (1950), germinam em 48 horas, porém, a penetração das hifas de infecção verifica-se apenas 8 a 10 dias após, o que deve estar relacionado com a atividade da gema.

Segundo ARTSCHWAGER et alii (1929), a inflorescência de cana-de-açúcar é uma panícula aberta, onde as espiguetas nascem aos pares, sendo uma séssil e outra pedunculada. Cada uma apresenta, na base, um anel de pêlos compridos, que dão à inflorescência uma aparência de prata. A espiguetta é constituída, de fora para dentro, de uma gluma externa e outra interna, seguida da lema estéril (3a. gluma), pálea fértil e uma flor. O androceu é constituído de três estames e o gineceu, de um pistilo, formado de um estilete ramificado e dois estigmas plumosos. O ovário contém um único óvulo, anátropo, que produz o embrião. Este é fundido com o pericarpo, formando um fruto ou cariopse. BARNES (1953) define "fuzz" como sendo flores com glumas e barbas. Neste "fuzz", segundo SAN-

GUINO (1976), há um grande número de fungos patógenos, que causam morte de "seedlings" logo após a germinação bem como logo após o transplante. Estes fungos coletados em 45 amostras de policruzamentos e biparentais mostram que os gêneros *Helminthosporium*, *Curvularia*, *Phoma* e *Fusarium* foram os mais frequentes.

De acordo com MANGELSDORF (1963), a sementeira do "fuzz" se faz em solo esterilizado, em caixas de madeira ou metal, em temperatura de 25-30°C. No 3º e 4º dias, nessas condições, inicia-se a emissão da radícula e do epicótilo. Até o transplante dos "seedlings", da caixa de sementeira para as caixas de repicagem, irrigações periódicas são necessárias.

TALBALLA (1969) examinando sob o microscópio anteras de flores de cana-de-açúcar, para estudo da viabilidade dos grãos de pólen, notou, aderido nos pêlos, na base das espiguetas, numerosos esporos de *U. scitaminea*. O "fuzz" contaminado foi semeado em solo esterilizado e mantido em completo isolamento. Após 10-15 semanas, um grande número de "seedlings" deformados foram observados. Muitos desses "seedlings" morreram. Alguns sobreviventes mostraram o sinal típico da doença. Esse foi o primeiro e único relato de infecção de *U. scitaminea* em "sementes" sexuais de cana-de-açúcar. Posteriormente, HEINZ (1973)^(*), no Hawaii, CORNELIUS (1973)^(*), em Kenya, e KASEMBE (1973)^(*), na Tanzânia, tentaram o método de infecção das "sementes" sexuais com *U. scitaminea*, visando uma pré-seleção de "seedlings", suscetíveis à doença, sem entretanto, obterem êxito.

(*) HEINZ, J.D., 1973. Comunicação Pessoal.

(*) CORNELIUS, R.B., 1973. Comunicação Pessoal.

(*) KASEMBE, J.N.R., 1973. Comunicação Pessoal.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

Os estudos relativos ao presente trabalho foram iniciados em 1972 e se prolongaram até 1977. No transcorrer desse período, em julho de 1975, todos os experimentos desse trabalho, que estavam sob condições de campo, foram totalmente perdidos pela ocorrência de violenta geada. Os trabalhos foram conduzidos parte no laboratório e casa de vegetação do Departamento de Fitopatologia da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" da Universidade de São Paulo e a maioria nos laboratórios, campos e casa de vegetação da Estação Experimental de Cana Copersucar Piracicaba (SP) e Itamogí (PR). Os primeiros "seedlings" exibindo o chicote, originados pela inoculação das "sementes" sexuais da cana-de-açúcar, por *U. scitaminea* conseguidos no Brasil, foram obtidos em 1972, pelo autor do presente trabalho, na Estação Experimental de Cana Copersucar, Palheta, hoje Itamogí (PR).

3.1. Determinação qualitativa e quantitativa dos fungos contaminantes das "sementes" sexuais da cana-de-açúcar

O "fuzz" utilizado neste experimento originou-se de dois policruzamentos, cujos progenitores femininos foram, respectivamente, os cultivares CB 41-76 e

PR 980. O "fuzz" foi obtido durante a jornada de hibridação de 1973, pelos melhoristas da Divisão Agronômica da Copersucar, na Estação Experimental de Cana Copersucar Camamú (BA). A escolha desse "fuzz" deveu-se ao fato de que, na época, era o que fornecia "sementes" sexuais com alto poder germinativo e em quantidade suficiente para a condução dos trabalhos propostos.

Após o beneficiamento, foram as "sementes" sexuais armazenadas em dessecador contendo sílica gel e em temperatura de 8°C, segundo VERRET (1928).

De cada policruzamento tomou-se uma amostra de 300 "sementes" sexuais. Foram semeadas 50 "sementes" por repetição sobre 25ml de substrato AA contido em caixa de Petri, compondo-se 6 repetições. Após a semeadura foi incubado por 6 dias a 28°C com regime alternado de 12 horas de regime de luz e escuro em incubadora.

Os fungos presentes nas "sementes" sexuais foram examinados com auxílio de microscópio composto e identificados segundo a chave de classificação de BARNETT e HUNTER (1972). Aqueles potencialmente conhecidos como patogênicos (SANGUINO, 1976), e os mais frequentes, foram classificados até espécies e os demais somente até gênero.

3.2. Determinação qualitativa de fungos associados aos esporos de *U. scitaminea*.

Foram utilizados isolamentos de *U. scitaminea*, coletados sobre a variedade CP 52-1. Para cada isolamento, empregou-se como técnica de coleta dos esporos, o revestimento com saco de papel impermeável, da brotação terminal, que iria originar o chicote. Após a emissão, cada um foi colhido, cortando-se a parte basal da brotação. Usou-se essa técnica na tentativa de se obterem esporos livres, o máximo possível, de fungos

associados ao *U. scitaminea*. Nenhuma técnica de eliminação dos fungos associados aos esporos de *U. scitaminea* foi utilizada, uma vez que se propõe, com esse trabalho, o desenvolvimento de técnicas que permitam, em condições de campo, a seleção anualmente de um milhão de "seedlings", tornando destarte inviável qualquer tentativa na eliminação de fungos associados ao *U. scitaminea*, pela grande quantidade de inóculo usado. Após a colheita, os chicotes foram colocados a secar à sombra. Em seguida, fez-se o beneficiamento pela raspagem dos esporos aderidos ao chicote. Peneirados em malhas de 200 "mesh" e acondicionados em pequenas porções, em sacos de papel permeável, os esporos foram armazenados em dessecador contendo sílica gel, em temperatura de 0 a 10°C, conforme KHAN e SAVENA (1964). Após uma semana de armazenamento, testes de germinação em meio AA indicaram 96% de viabilidade nas diversas amostras examinadas.

Em 500g de esporos de *U. scitaminea*, tomou-se ao acaso, uma amostra de 1,0g. Essa foi diluída em 1 litro d'água de onde se retiraram 6 alíquotas, cada uma de 0,5ml. Cada alíquota foi semeada sobre substrato AA contido em caixa de Petri. A incubação, identificação e classificação dos fungos associados a *U. scitaminea*, foram feitas conforme descrito em 3.1.

3.3. Efeito de substrato de germinação e da concentração de esporos de *U. scitaminea* sobre a germinação de "sementes" sexuais, mortalidade de "seedlings" e manifestação de carvão em progênie de duas cultivares de cana-de-açúcar

O "fuzz" utilizado no presente trabalho é o mesmo descrito em 3.1. Igualmente, o inóculo usado foi preparado conforme descrito em 3.2.

Para empregar a técnica de inoculação das "sementes" sexuais por *U. scitaminea* em substrato AA sob condições

de câmara úmida, é imprescindível o beneficiamento do "fuzz" e transplante precoce, segundo processo desenvolvido por SILVA (1974).

a) Inoculação em substrato agar-água (AA) sob condições de câmara úmida

Cada câmara úmida era composta por 2 taboleiros, de plástico incolor, com transparência de 85%, medindo cada um 34 x 5 x 25cm. Um superposto ao outro e fixado nas junções em toda a periferia, por uma fita adesiva. O substrato agar-água (AA) utilizado era constituído de agar, na proporção de 22,0g por litro d'água. O agar depois de fundido foi vertido no taboleiro inferior, em camada de 0,5cm.

As "sementes" sexuais foram inoculadas, usando-se as diferentes concentrações de esporos: P_0 = testemunha, $P_1 = 12 \times 10^5$, $P_2 = 12 \times 10^6$, $P_3 = 12 \times 10^7$, $P_4 = 12 \times 10^8$ e $P_5 = 12 \times 10^9$ esporos por ml.

Fez-se a inoculação colocando-se as "sementes" sexuais com o inóculo dentro de frasco, que foi agitado durante 10 minutos. Em seguida, foram semeadas sobre a superfície do substrato. Imediatamente, as câmaras úmidas foram colocadas em sala, cuja temperatura variava de 25 a 30°C (dotada com um conjunto de 40 lâmpadas luz do dia, cada uma de 40 watts). Aí permaneceram até à época do transplante precoce. Então, foram transplantadas, individualmente, para substrato solo contido em sacos de polietileno de 16cm de comprimento por 10 de diâmetro e daí foram para abrigos cobertos por filme de plástico, permanecendo até alcançarem a altura de 20cm quando foram colocadas a pleno sol.

b) Inoculação em substrato solo

O substrato, dito solo, foi constituído por uma mistura de 3 partes de torta Oliver para uma de solo, segundo MANGELSDORF (1963). Corrigiu-se o pH desses substratos para 7,0 e, em seguida, sem que o mesmo fosse esterilizado, colocou-se-os em caixas de amianto, com as dimensões de 50 x 10 x 35cm. Fez-se a inoculação das "sementes" sexuais como e com as concentrações de esporos descritos em 3.3. Em seguida, as caixas de amianto foram colocadas em casa de vegetação, com temperatura entre 25 a 30°C. As irrigações foram feitas pelo processo de nebulização automática. A época, o transplante, o abrigo e a retirada do abrigo, foram como descrito em 3.3.

c) Delineamento estatístico

Usou-se um delineamento inteiramente casualizado com tratamentos em esquema fatorial 2 x 2 x 6 (2 substratos x 2 progêneses x 6 concentrações de esporos). Usou-se 6 diferentes concentrações de esporos, assim constituídos: P_0 = testemunha, $P_1 = 12 \times 10^5$, $P_2 = 12 \times 10^6$, $P_3 = 12 \times 10^7$, $P_4 = 12 \times 10^8$ e $P_5 = 12 \times 10^9$ esporos por ml, com 80% de germinação. O experimento foi constituído por 6 repetições e 144 parcelas, cada uma composta por duas mil "sementes" sexuais.

d) Avaliação dos efeitos dos métodos utilizados na infecção das "sementes" sexuais por *U. scitaminea*

3.3.1. Efeito sobre a germinação das "sementes" sexuais

A primeira contagem de germinação foi feita no 4º dia e assim, sucessivamente, até o 10º dia, segundo DILLEWIJN (1952). Para análise estatística, a porcentagem de germinação

foi transformada em $\text{arc. sen} \sqrt{\%}$.

3.3.2. Efeito sobre a mortalidade dos "seedlings" após o transplante

De cada parcela composta por 2 mil "sementes" sexuais do experimento descrito em 3.3, tomou-se uma amostra de 56 "seedlings" para cada uma das 144 parcelas. Após o transplante e até 30 dias, fez-se, diariamente, a contagem de "seedlings" mortos. Para análise estatística, os dados foram transformados em $\text{arc. sen} \sqrt{\%}$.

3.3.3. Efeito sobre a manifestação do chicote

Dos "seedlings" sobreviventes e originados do experimento descrito em 3.3.2, para quantificar o número de "seedlings" que mostrassem o chicote, instalou-se um experimento com 48 "seedlings" por parcela, 288 por tratamento, num total de 6.912 que compunham os 6 tratamentos constituídos pelas diferentes concentrações de esporos, dois substratos de germinação e "sementes" sexuais originadas de policruzamentos (CB 41-76 x ? e PR 980 x ?).

A contagem dos "seedlings" exibindo o chicote iniciou-se no 30º dia após a sementeação, época em que os primeiros "seedlings" mostraram o chicote. Daí em diante, continuou-se a contagem. Quando alcançaram 45 dias de idade foram transplantados, individualmente, para o campo em delineamento experimental inteiramente casualizado.

Nessa fase de campo, continuou-se a fazer, semanalmente, a assinalação e "roguing" daqueles que iam exibindo o chicote. Essas observações e práticas se estenderam até o 12º mês de sementeação. Após esse período, foram cortados, segundo

técnica tradicional de corte da cana-de-açúcar. A partir do 60º dia após o corte, iniciou-se novamente a contagem e "roguing" daqueles que exibiam o chicote. Essas observações e práticas se estenderam até o 6º mês, sendo que nessa segunda fase, o material foi considerado como soca.

O número de "seedlings" exibindo o chicote originado das "sementes" sexuais de cada policruzamento, de cada substrato, assim como de cada concentração de esporo, para efeito de análise estatística, foi feita, somando-se o número de "seedlings" com chicote da cana planta e soca e esses números foram transformados em $\sqrt{\%}$, segundo FEDER (1955).

3.4. Avaliação da eficiência do método de pré-seleção de "seedlings" resistentes a *U. scitaminea*

Clones com 18 meses de idade, originados das "sementes" sexuais oriundas dos progenitores CB 41-76 e PR 980 e inoculadas com *U. scitaminea*, em substrato AA sob condições de câmara úmida, que não mostraram o chicote, eram resistentes ou suscetíveis "escapes". Para separar uns dos outros, de cada parcela do material originado do substrato AA do experimento descrito em 3.3.3, retirou-se uma amostra, ao acaso, de 5 clones de cada progênie estudada, bem como originado de cada concentração de esporo empregado e, em 6 repetições, perfazendo-se um total de 360 clones. Cada clone foi representado por 20 gemas. Essas gemas foram inoculadas pelo método de imersão durante 20 minutos em uma suspensão de esporos de 5×10^5 por ml, segundo LADD et alii (1974). Os esporos eram oriundos de isolamentos de variedades CP 52-1, com 81% de viabilidade.

Após a inoculação, o material foi imediatamente colocado no campo, em delineamento inteiramente casualizado.

Quarenta e oito dias após a instalação do experi

mento, os primeiros clones começaram a exibir o chicote. Nesta época, iniciou-se uma contagem semanal, arrancando-se as plantas doentes. Quando completaram 6 meses de idade foram cortadas segundo técnica tradicional. 30 dias após, iniciaram-se novamente a contagem e "roguing" daquelas doentes. Essas práticas prosseguiram até o 6º mês após o corte. Nesta segunda etapa, o material foi considerado como cana-soca. Novamente no 6º mês foram cortadas. 30 dias após, iniciaram-se a contagem e "roguing" daqueles que mostravam o chicote; nessa 3ª etapa foram considerados como ressoça. Posteriormente, foram somados àqueles que apresentaram o chicote na cana planta, soca e ressoça e procedeu-se à análise estatística pelo teste de χ^2 , comparando-se o P_0 (testemunha) com cada concentração de esporos/ml utilizada, P_1 (12×10^5), P_2 (12×10^6), P_3 (12×10^7), P_4 (12×10^8) e P_5 (12×10^9).

3.5. Correlação entre a suscetibilidade da planta a *U. scitaminea* na fase de "seedlings" e clone

3.5.1. "Sementes" sexuais utilizadas

Para condução do trabalho proposto, foram usadas "sementes" sexuais beneficiadas segundo SILVA (1974), originadas de cruzamentos biparentais, assim arrançados: Bo 14 x CB 53-76, CB 41-76 x Cok 30, CP 43-64 x CB 49-260, CP 43-64 x CP 52-13, CP 53-18 x CB 49-260, CP 55-30 x CB 49-260, CP 59-73 x Co. 775, CP 61-37 x CB 49-260 e Mex 52-17 x CB 49-260.

3.5.2. Obtenção dos clones e quimioterapia usada para cura da doença

As "sementes" sexuais de cada cruzamento foram

separadamente inoculadas com esporos de *U. scitaminea*, de origem descrita em 3.2 e técnica utilizada em 3.3.

Os "seedlings" obtidos de cada cruzamento biparental foram transplantados pelo processo de transplante precoce, segundo SILVA (1974), individualmente, para sacos de polietileno de 300ml de volume, contendo substrato constituído de uma mistura de 3 partes de torta de filtro Oliver para uma de solo (MANGELSDORF, 1963).

Aqueles que exibiam o chicote, até 50 dias após a sementeação, foram os eleitos para a determinação da correlação da doença entre a fase juvenil e adulta dos clones. Conseguiu-se diversos representantes exibindo o sintoma da doença para cada cruzamento biparental utilizado. Esse material doente, após o corte do apêndice carbonoso, sofreu um tratamento químico terapêutico semanal de 300ppm de Benomil por planta, até o desaparecimento completo do sinal da doença. Em seguida, foram transplantados para o campo. Alguns, após determinado tempo, voltaram a exibir o sinal da doença e foram definitivamente descartados. Após 12 meses em condições de campo, cada colmo do respectivo clone foi individualizado em estacas de 3 gemas e novamente plantado. Após 3 meses, dois dos clones voltaram a exibir o sintoma, sendo portanto eliminados. Os restantes, quando alcançaram a idade de 6 meses, foram novamente multiplicados, e, após 14 meses em observação, nenhum voltou a exibir os sintomas da doença, razão pela qual foram considerados totalmente recuperados da doença.

3.5.3. Métodos de inoculação e termoterapia usados

Do material obtido, conforme descrito em 3.5.2, foi escolhido um clone representando cada cruzamento biparental, descrito em 3.5.1, que apresentou sintoma da doença na fase juvenil. Montou-se um experimento constituído de seis tratamen-

tos e oito repetições, cada repetição composta por oito touceiras, que foram testados num ensaio inteiramente casualizado. Os tratamentos foram assim constituídos:

TV = Tratamento térmico curto e inoculação a vácuo;

TI = Tratamento térmico curto e inoculação por imersão;

NV = Sem tratamento térmico e inoculação a vácuo;

NI = Sem tratamento térmico e inoculação por imersão;

TT = Tratamento térmico curto e sem inoculação;

NT = Sem tratamento térmico curto e sem inoculação.

Em três tratamentos (TV, TI e TT), utilizou-se o tratamento térmico curto por 20 minutos a 52°C (JOSHI, 1956), com o objetivo de avaliar o efeito do TT curto sobre a vulnerabilidade da gema e infecção por *U. scitaminea*. Usaram-se dois processos de inoculação: por imersão dos toletes em uma suspensão de esporos por 20 minutos, com a concentração de esporos de 5×10^5 esporos por ml, conforme LADD et alii (1974); e inoculação a vácuo com prévio ferimento da gema. Esse processo foi utilizado para determinar se realmente ocorre, e em que proporção, a resistência mecânica da gema à penetração das hifas de infecção de *U. scitaminea* (FAWCETT, 1946, ARRUDA e TOFFANO, 1950, SINGH, 1963 e MUTHUSANY, 1974). O processo de inoculação a vácuo foi aquele descrito por HIRSCHHORN (1949) e a concentração de esporos, aquela utilizada para a inoculação por imersão.

As avaliações foram aos seis, doze e dezoito meses de idade, respectivamente, na cana-planta, soca e ressoca. Foi considerado que o aparecimento apenas de um chicote era suficiente para classificar o clone como suscetível. Os dados obtidos, ou seja, o número de touceiras que apresentavam a doença, foram transformados em $\sqrt{x + 0,5}$, de acordo com FEDER

(1955), para análise estatística.

3.6. Influência materna na reação das progênes
a *U. scitaminea*

3.6.1. Avaliação da resistência dos progenitores
a *U. scitaminea*

Para testar a reação dos progenitores a *U. scitaminea*, foi cada um deles representado por quarenta gemas, as quais foram inoculadas pelo método de imersão, como descrito em 3.4. A primeira avaliação da doença foi feita aos seis meses de idade da planta, assinalando o número de chicote por touceira. Após a avaliação, o material foi cortado e, novamente, após seis meses, procedeu-se nova avaliação. Para efeito de avaliação, a presença ou ausência do chicote determinava, respectivamente, se resistente ou suscetível.

Os progenitores utilizados no presente trabalho foram: Akabar, Azul, Bo 14, CB 40-13, CB 40-19, CB 40-35, CB 40-69, CB 40-77, CB 41-76, CB 45-155, CB 49-15, CB 49-260, CB 55-65, CB 56-155, Co 419, Co 470, Co 775, Co 1007, Co 1148, Cok 30, CP 34-79, CP 36-105, CP 43-6, CP 48-103, CP 49-34, CP 50-28, CP 52-43, CP 52-48, CP 52-107, CP 53-18, CP 57-542, CP 57-603, CP 59-22, CP 59-50, CP 61-37, CP 61-39, CP 63-588, Eros, F. 134, F.141, H.39-36-33, IAC 53-405, L.61-43, L.65-69, M.147/44, M.202/46, Mex 52-29, Mex 53-142, N.50-211, NA 56-79, Nco 310, POJ 2878, POJ 3067, PR 980, Q.73, Q.76, Salangor, Trojan, US 59-16-1.

3.6.2. Teste de resistência de cruzamentos e progênies em relação a *U. scitaminea*

Os progenitores assinalados em 3.6.1 foram cruzados na Estação Experimental de Cana Copersucar Camamú, BA, por dois processos de hibridação: biparentais e policruzamentos. Os progenitores para os cruzamentos biparentais foram assim arranjados: Akabar x CB 49-260, Azul x NA 56-79, CB 40-77 x CoK 30, CB 40-77 x CoK 30, CB 40-77 x Eros, Co 419 x Eros, Co 419 x Mex 53-142, Co 419 x NA 56-79, Co 419 x POJ 2878, CP 50-28 x CB 49-260, CP 50-28 x CP 48-103, CP 61-39 x CB 49-260, CP 61-39 x Co 775, CP 61-39 x Co 775, CP 61-39 x F.141, CP 61-39 x F.141, CP 63-588 x POJ 2878, F.134 x CP 57-603, M.202/46 x CoK 30, Mex 52-29 x CP 57-603. Enquanto que para os policruzamentos, os arranjos obedeceram à seguinte ordem: Azul x ? , Azul x ? , Bo 14 x ? , CB 40-13 x ? , CB 40-13 x ? , CB 40-13 x ? , CB 40-19 x ? , CB 40-35 x ? , CB 40-69 x ? , CB 40-69 x ? , CB 40-69 x ? , CB 40-77 x ? , CB 40-77 x ? , CB 40-77 x ? , CB 40-77 x ? , CB 41-76 x ? , CB 41-76 x ? , CB 41-76 x ? , CB 45-155 x ? , CB 49-15 x ? , CB 55-65 x ? , CB 55-65 x ? , CB 56-155 x ? , Co 419 x ? , Co 419 x ? , Co 419 x ? , Co 419 x ? , Co 740 x ? , Co 775 x ? , Co 775 x ? , Co 775 x ? , Co 1007 x ? , Co 1148 x ? , CoK 30 x ? , CP 34-79 x ? , CP 34-79 x ? , CP 34-79 x ? , CP 36-105 x ? , CP 43-6 x ? , CP 48-103 x ? , CP 49-34 x ? , CP 49-34 x ? , CP 50-28 x ? , CP 52-43 x ? , CP 52-48 x ? , CP 52-48 x ? , CP 52-107 x ? , CP 52-107 x ? , CP 53-18 x ? , CP 57-542 x ? , CP 57-542 x ? , CP 57-542 x ? , CP 57-542 x ? , CP 57-603 x ? , CP 57-603 x ? , CP 59-22 x ? , CP 59-50 x ? , CP 61-37 x ? , CP 63-588 x ? , Eros x ? , F.134 x ? , F.134 x ? , H 39-36-33 x ? , IAC 53-405 x ? , L.61-43 x ? , L.65-69 x ? , M.147/44 x ? , Mex 52-29 x ? , N.50-211 x ? , Na 56-79 x ? , NCO 310 x ? , POJ 2878 x ? , POJ 3067 x ? , PR 980 x ? , Q.73 x ? , Q.73 x ? , Q.76 x ? , Salangor x ? , Trojan x ? , Trojan x ? , US 59-16-1 x ? .

Após a colheita que se deu no 24º dia após o início das hibridações, o "fuzz" foi beneficiado de acordo com SILVA (1974) e armazenado segundo VERRET (1928).

Os esporos de *U. scitaminea* empregados na infecção das "sementes" sexuais foram coletados na variedade CP 52-1. Após sua secagem à sombra foram passadas em peneira de 200 "mesh" e, em seguida, foi feito o teste de germinação, constando uma viabilidade de 85%. A concentração de esporos utilizada foi o P_3 (12×10^7 esporos por ml). A técnica e o substrato utilizados na germinação das "sementes" sexuais e a técnica do transplante dos "seedlings" foram aquelas descritas em 3.3. Na população de "seedlings" obtida, conforme descrito, assinalaram-se aqueles suscetíveis e resistentes a *U. scitaminea*, procedendo-se à análise dos dados pelo teste de χ^2 .

4. RESULTADOS

4.1. Fungos contaminantes associados às "sementes" sexuais da cana-de-açúcar

A Tabela 1 apresenta o resultado em %, de fungos contaminantes, associados às "sementes" sexuais dos progenitores CB 41-76 e PR 980. Observa-se que a população de fungos contaminantes é bem diferente de um progenitor para outro.

4.2. Fungos contaminantes associados aos esporos de *U. scitaminea*

A Tabela 2 mostra os resultados da presença (+) ou ausência (-) dos fungos associados e contaminantes em 6 alíquotas, cada uma de 0,5ml, tomadas de uma suspensão de 1g de esporos de *U. scitaminea*, por 1,0 litro d'água.

Tabela 1. Fungos contaminantes das "sementes" sexuais da cana-de-açúcar, oriundos dos progenitores CB 41-76 e PR 980. 6 amostras, cada uma de 50 "sementes", num total de 300 "sementes" sexuais.

Fungos contaminantes	% de contaminação de "sementes" sexuais dos progenitores	
	CB 41-76	PR 980
<i>Helminthosporium</i> spp	17	3
<i>Curvularia</i> spp	20	0
<i>Fusarium moniliiforme</i>	10	0
<i>Helminthosporium sacchari</i>	10	0
<i>Curvularia lunata</i>	12	0
<i>Phoma</i>	1	0
<i>Pestalotia</i>	2	0
<i>Fusarium</i> spp	5	10
<i>Neurospora</i>	0	60
<i>Stemphylium</i>	0	2
T o t a l	77	75

Tabela 2. Fungos contaminantes encontrados em 6 alíquotas de 0,5ml de suspensão de *U. scitaminea*

Fungos contaminantes	Fungos contaminantes nas alíquotas analisadas					
	1	2	3	4	5	6
<i>F. moniliiforme</i>	+	+	+	+	+	+
<i>Fusarium</i> sp	+	+	+	+	+	+
<i>Cladosporium</i> sp	-	+	-	-	-	+
<i>Trichoderma</i> sp	+	-	+	+	-	+
<i>Aspergillus</i> sp	+	+	+	+	-	-

(+) Presença da colônia

(-) Ausência da colônia

4.3. Efeito de substrato de germinação e da concentração de esporos de *U. scitaminea* sobre a germinação de "sementes" sexuais, mortalidade de "seedlings" e manifestação de carvão em progênies de duas cultivares de cana-de-açúcar

4.3.1. Efeito sobre a germinação das "sementes" sexuais

A germinação de "sementes" sexuais da cana-de-açúcar inoculadas com *U. scitaminea* dependeu de todos os fatores testados: progenitores, substratos e concentrações de esporos (Tabela 3). O efeito desses fatores foi significativo ao nível de 1% de probabilidade (Apêndice 1).

As "sementes" sexuais do progenitor PR 980 germinaram melhor do que as do progenitor CB 41-76, nos dois substratos e em todas as concentrações de esporos.

O efeito de substrato (germinação maior no substrato solo do que em AA) dependeu do progenitor (para a CB 41-76 a germinação em AA foi maior do que em substrato solo, enquanto que, para PR 980 a germinação em AA foi menor do que em solo) e da concentração de esporos.

O efeito da concentração de esporos sobre as "sementes" sexuais originadas do progenitor CB 41-76 foi de inibir a germinação com o aumento de inóculo ao passo que nas "sementes" sexuais originadas do progenitor PR 980 foi de estimulá-la até a concentração de esporos P_4 (12×10^8), decrescendo em P_5 (12×10^9). O efeito da concentração de esporos no substrato AA foi de estimular e no substrato solo de inibir a germinação das "sementes" sexuais.

Tabela 3. Influência de concentração de esporos de *U. scitaminea* na germinação de "sementes" sexuais originadas de dois progenitores de cana-de-açúcar, em dois substratos.

Concentração de esporos/ml	Germinação (em %) das "sementes" sexuais nos substratos (1)				M é d i a s (2)			
	Agar-água		S o l o		Progenitores		Substratos	
	Progenitores CB 41-76	PR 980	Progenitores CB 41-76	PR 980	Concen- trações de esporos	CB 41-76	PR 980	Agar-água Solo
P ₀ (testemunha)	7,70	10,70	12,20	21,00	12,90a	9,95a	15,85c	9,20c 16,60a
P ₁ (12 x 10 ⁵)	9,20	14,20	9,50	21,80	13,67a	9,35a	18,00b	11,70bc 15,60ab
P ₂ (12 x 10 ⁶)	8,70	18,80	6,50	22,00	14,00a	7,60b	20,40a	13,70ab 14,20bc
P ₃ (12 x 10 ⁷)	9,00	19,20	5,80	22,20	14,05a	7,40b	20,70a	14,10a 14,00c
P ₄ (12 x 10 ⁸)	8,50	15,30	5,80	20,50	12,52a	7,50b	17,90bc	11,90bc 13,10c
P ₅ (12 x 10 ⁹)	7,70	15,20	4,00	18,50	11,35b	5,85c	16,85c	11,40c 11,20c
Médias	8,46	15,56	7,30	21,00		7,88	18,28	12,00 14,11

(1) Média de 6 repetições com 144 parcelas, cada repetição constando de 2.000 "sementes" sexuais.

(2) Médias, dentro de cada coluna, seguidas por letras diferentes, diferem significativamente ao nível de 1% (Tukey).

C.V. = 6,91%

4.3.2. Efeito sobre a mortalidade dos "seedlings" após o transplante

Dos três fatores analisados, ou sejam, concentração de esporos, "sementes" sexuais dos progenitores CB 41-76 e PR 980 e substratos de germinação, apenas o último apresentou efeito significativo ao nível de 1% de probabilidade (Tabela 4 e Apêndice 2), mostrando que o substrato AA propiciou maior mortalidade de "seedlings" após o transplante do que no substrato solo. O efeito de substrato se fez sentir tanto nos "seedlings" provenientes das "sementes" sexuais do progenitor CB 41-76 como na PR 980. Porém, no substrato AA os "seedlings" provenientes das "sementes" sexuais do progenitor CB 41-76 apresentaram maior mortalidade do que os da PR 980 e a situação se inverteu no substrato solo. Isso equivale dizer que os "seedlings" originados das "sementes" sexuais dos progenitores só mostraram diferença na mortalidade quando se compararam os diferentes substratos em que foram germinados.

É importante observar que não houve efeito de concentração de esporos, isto é, tanto a ausência como a presença de esporos não trouxe nenhum reflexo na mortalidade dos "seedlings".

4.3.3. Efeito sobre a manifestação do chicote

A infecção de *U. scitaminea* em "sementes" sexuais propiciou o aparecimento do chicote em "seedlings" originados das "sementes" sexuais dos dois progenitores (CB 41-76 e PR 980), obtidos nos dois tipos de substrato (AA e solo). Não houve diferença entre os progenitores, porém o efeito de maior índice de doença no substrato AA, assim como o da concentração de esporos, foi altamente significativo (Tabela 5, Apêndice 3).

Tabela 4. Influência da concentração de esporos de *U. scitaminea* e dos substratos de germinação das "sementes" sexuais originadas de dois progenitores de cana-de-açúcar na mortalidade dos "seedlings" após o transplante.

Concentração de esporos/ml	Mortalidade (em %) dos "seedlings" (1)				M é d i a s (2)			
	Agar-água		Solo		Progenitores		Substratos	
	Progenitores		Progenitores		Concen- trações de			
	CB 41-76	PR 980	CB 41-76	PR 980	esporos	CB 41-76	PR 980	Agar-água Solo
P ₀ (testemunha)	51,61	33,35	12,73	15,65	28,33	32,17	24,50	42,48 14,19
P ₁ (12 x 10 ⁵)	39,70	28,80	10,35	18,70	24,38	25,02	23,75	34,25 14,52
P ₂ (12 x 10 ⁶)	38,65	28,93	11,08	19,86	24,63	24,86	24,39	33,79 15,47
P ₃ (12 x 10 ⁷)	36,38	24,15	11,03	17,75	22,32	23,70	30,95	30,26 14,39
P ₄ (12 x 10 ⁸)	37,08	41,98	16,28	16,16	27,87	26,68	29,07	39,53 16,22
P ₅ (12 x 10 ⁹)	37,20	29,45	14,03	13,11	23,44	25,61	21,28	33,32 13,57
M é d i a s	40,10	31,11	12,58	16,87		26,34	23,99	35,60b 14,72a

(1) Médias de 6 repetições e 144 parcelas, cada repetição composta por 56 "seedlings".

(2) Médias de substratos diferem significativamente ao nível de 1% (Tukey).

C.V. = 20,20%

Tabela 5. Influência de concentração de esporos de *U. scitaminea* dos substratos de germinação e das "sementes" sexuais provenientes de dois progenitores de cana-de-açúcar na manifestação do chicote em "seedlings".

Concentração de esporos/ml	Índice de doença (1) em "seedlings" oriundos dos substratos				M é d i a s (2)			
	Agar-água		Solo		Progenitores		Substratos	
	Progenitores		Progenitores		Concen- tração de esporos			
	CB 41-76	PR 980	CB 41-76	PR 980			Agar-água	Solo
P ₀ (testemunha)	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00d	0,00	0,00d	0,00b
P ₁ (12 x 10 ⁵)	2,00	2,16	1,00	1,16	1,58c	1,50	2,08c	1,08a
P ₂ (12 x 10 ⁶)	2,33	2,16	1,00	1,00	1,63c	1,66	2,24c	1,00a
P ₃ (12 x 10 ⁷)	3,33	3,50	1,50	1,33	2,41b	2,41	3,41b	1,41a
P ₄ (12 x 10 ⁸)	4,83	5,50	1,66	1,83	3,45a	3,24	5,16a	1,74a
P ₅ (12 x 10 ⁹)	3,16	3,00	1,00	1,50	2,16bc	2,08	3,08bc	1,25a
Médias (3)	2,61	2,72	1,02	1,13		1,81	2,66	1,76

(1) Número médio de "seedlings" com sinais de carvão. Média de 6 repetições, cada repetição com 48 "seedlings".

(2) Médias, não seguidas pela mesma letra, diferem significativamente ao nível de 5% (Tukey).

(3) Médias de substrato diferem ao nível de 1% (Tukey). Médias de progenitores não diferem ao nível de 1% (Tukey).

C.V. = 17,13%

4.4. Avaliação da eficiência do método de pré-seleção de "seedlings" resistentes a *U. scitaminea*

O número de plantas suscetíveis "escapes", originárias das "sementes" sexuais do progenitor CB 41-76, foi sempre maior na testemunha. No entanto, o efeito da inoculação das "sementes" sexuais por *U. scitaminea*, pelo processo da câmara úmida em substrato AA foi significativo, ao nível de 5% de probabilidade, somente para concentração de esporos P_3 (12×10^7 esporos por ml), quando comparado com o P_0 e P_1 , os demais não diferenciaram entre si (Tabela 6).

Com relação às plantas originadas das "sementes" sexuais do progenitor PR 980, observou-se a mesma tendência, com significância estatística ao nível de 1 ou 5% de probabilidade para todas as concentrações de esporos, quando comparadas com o P_0 , exceto o P_4 (12×10^8 esporos por ml) (Tabela 7).

4.5. Correlação entre a suscetibilidade da planta a *U. scitaminea* na fase de "seedlings" e clone

Plantas que se mostraram suscetíveis na infecção de "sementes" sexuais, exibindo sinais da doença, na fase de "seedlings", foram suscetíveis, também, na fase de clone, variando apenas no gradiente de suscetibilidade.

Houve um efeito significativo entre as diferentes plantas originadas dos diferentes cruzamentos, através de manifestação dos diferentes gradientes de suscetibilidade, que variaram de um extremo de suscetibilidade do clone originado do cruzamento CP 59-73 x Co 775 para o clone originado do cruzamento CP 53-18 x CB 49-260, de menor gradiente de suscetibilidade (Tabela 8, Apêndice 4).

O efeito favorável do tratamento térmico à mani-

festação da doença dependeu do gradiente de suscetibilidade do clone, mas nunca foi desfavorável em relação ao correspondente tratamento sem calor; em 5 clones dos 10 utilizados, o efeito do tratamento foi estatisticamente favorável (Tabela 8, Apêndice 4).

A inoculação a vácuo foi favorável à manifestação da doença, independentemente do tratamento térmico.

Tabela 6. Avaliação da eficiência da pré-seleção de "seedlings" resistentes a *U. scitaminea* provenientes do progenitor CB 41-76.

Concentração de esporos/ml na pré-seleção	Frequência de plantas resistentes e suscetíveis ⁽¹⁾ encontradas no teste de clones pré-selecionados na fase juvenil		% de plantas "escapadas" na pré-seleção	Avaliação da eficiência de seleção em % ⁽²⁾ de plantas suscetíveis eliminadas
	Resistentes	Suscetíveis		
P ₀ = (testemunha)	15,00	15,00	50,00	00,00
P ₁ = (12 x 10 ⁵)	18,00	12,00	40,00	20,00
P ₂ = (12 x 10 ⁶)	19,00	11,00	36,66	26,68
P ₃ = (12 x 10 ⁷)	25,00	5,00	16,66	66,68a
P ₄ = (12 x 10 ⁸)	22,00	8,00	26,66	46,68
P ₅ = (12 x 10 ⁹)	19,00	11,00	36,66	26,68
Médias de P ₁ a P ₅	20,60	9,40	31,32	37,34

(1) De um total de 30 clones, cada clone representado por 20 gemas, tomando como critério de suscetibilidade o aparecimento de pelo menos uma planta com chicote.

(2)^a Porcentagem significativamente diferente de P₀ e P₁ (teste χ^2).

Tabela 7. Avaliação da eficiência da pré-seleção de "seedlings" resistentes a *U. scitaminea* provenientes do progenitor PR 980.

Concentração de esporos/ml na pré-seleção	Frequência de plantas resistentes e suscetíveis ⁽¹⁾ encontradas no teste de clones pré-selecionados na fase juvenil		% de plantas "escapes" na pré-seleção	Avaliação da eficiência de seleção em % ⁽²⁾ de plantas suscetíveis eliminadas
	Resistentes	Suscetíveis		
P ₀ = (testemunha)	12,00	18,00	60,00	00,00
P ₁ = (12 x 10 ⁵)	22,00	8,00	26,66	55,50a
P ₂ = (12 x 10 ⁶)	22,00	8,00	26,66	55,50a
P ₃ = (12 x 10 ⁷)	23,00	7,00	23,33	61,11a
P ₄ = (12 x 10 ⁸)	19,00	11,00	36,66	38,90
P ₅ = (12 x 10 ⁹)	20,00	10,00	33,33	45,45a
Médias de P ₁ a P ₅	19,20	8,80	29,33	51,10

(1) De um total de 30 clones, cada clone representado por 20 gemas, tomando como critério de suscetibilidade o aparecimento de pelo menos uma planta com chicote.

(2) ^a Porcentagens significativamente diferentes de P₀ (teste χ^2).

Tabela 8. Suscetibilidade de clones pré-selecionados na fase juvenil como suscetível a *U. scitaminea*, sob diferentes condições de inoculação das genas.

Cruzamentos	Número de touceiras com sinal de carvão nos tratamentos (1)				Médias (2)			
	Com tratamento térmico		Sem tratamento térmico		Tratamento térmico		Inoculação	
	Inoculação a vácuo p/ imersão		Inoculação a vácuo p/ imersão		Com		Vácuo	
					Sem		Imersão	
CP 43-64 x CP 52-43	4,00	0,50	2,50	1,00	2,25a	1,75a	3,25a	0,75b
Q. 76 x CB 49-260	2,60	2,50	1,50	1,00	2,75a	1,25b	2,25a	1,75a
CP 59-73 x Co 775	2,50	3,50	2,00	1,50	3,00a	1,75b	2,25a	2,50a
CP 61-37 x CB 49-260	2,00	3,00	2,50	0,12	2,50a	1,31b	2,25a	1,56b
Bo. 14 x CP 53-76	2,50	1,00	1,50	1,50	1,75a	1,50a	2,00a	1,25a
Mex 52-17 x CB 49-260	1,50	2,00	1,00	0,50	1,75a	0,75b	1,25a	1,25a
CP 55-30 x CB 49-260	2,50	1,00	2,50	2,00	1,75a	2,25a	2,50a	1,50b
CP 52-68 x CB 49-260	3,50	1,00	1,50	1,50	2,25a	1,50b	2,50a	1,25b
CB 41-76 x Cok 30	0,50	1,50	1,00	1,00	1,00a	1,00a	0,75a	1,25b
CP 53-18 x CB 49-260	1,50	0,50	0,25	1,50	1,00a	0,87a	0,87a	1,00a
Médias	2,31	1,65	1,62	1,16	2,00	1,39	1,98	1,40

(1) Média de 8 repetições, cada uma constituída por 8 touceiras.

(2) As comparações de médias de tratamento térmico e de inoculação dentro do clone que tiveram letras diferentes são estatisticamente diferentes.

C.V. = 19,91%

4.6. Influência materna na reação das progênes
a *U. scítamínea*.

A frequência de progenitores resistentes, tomando como critério de resistência a ausência do sinal da doença em todos os perfilhos, no total de quarenta gemas inoculadas, foi relativamente grande (Tabela 9). Tais progenitores, em confronto com suscetíveis, quando utilizados como mãe, tanto em cruzamentos biparentais como em policruzamento, tiveram influência significativa ao nível de 1% de probabilidade no número de descendentes resistentes (Tabela 10).

Tabela 9. Reação dos progenitores utilizados em cruzamentos biparentais e de policruzamentos a *U. scitaminea* inoculados pelo método de imersão das gemas.

Progenitores resistentes ^a	Progenitores suscetíveis ^a
Azul	Bo 14
Akabar	CB 45-155
CB 40-13	CB 49-15
CB 40-19	CB 49-260
CB 40-35	Co 419
CB 40-69	Co 740
CB 40-77	Co 1007
CB 41-76	CoK 30
CB 55-65	CP 36-105
CB 56-155	CP 43-6
Co 775	CP 49-34
Co 1148	CP 50-28
CP 34-79	CP 52-43
CP 48-103	CP 52-48
CP 57-542	CP 52-107
CP 59-22	CP 53-18
CP 59-50	CP 57-603
CP 61-37	CP 63-588
CP 61-39	Eros
F 134	F 141
M 202-46	H 39-36-33
Mex 52-29	IAC 53-405
POJ 28-78	L 61-43
POJ 3067	L 65-69
PR 980	M 147/44
Q 73	Mex 52-142
US 59-16-1	N 50/211
	NA 56-79
	NCO 310
	Q 76
	Salangor
	Trojan

^a Progenitores resistentes ou suscetíveis foram avaliados usando o critério de aparecimento ou não do sinal da doença em pelo menos um perfilho do total de 40 gemas inoculadas pelo método de imersão, durante 20 minutos, numa suspensão de esporos de 5×10^5 por ml.

Tabela 10. Efeito da resistência dos progenitores a *U. scitaminae* na frequência de resistência nas progênes em cruzamentos biparentais e de policruzamentos.

Tipo de Cruzamento	Resistência dos progenitores ao <i>U. scitaminea</i>			Número de "seedlings"			χ^2
	Mãe	Pai	Obtidos	Suscetíveis	Resistentes		
Biparentais	R	R ou S	1.011	65	946	18,94	a
	S	R ou S	1.375	161	1.214		
	R ou S	R	376	38	338	0,294	
	R ou S	S	1.728	159	1.569		
Policruzamentos	R	?	15.637	2.759	12.878	29,27	a
	S	?	14.912	2.288	12.624		

^a Valores de χ^2 significativo ao nível de 1%.

5. DISCUSSÃO

5.1. Fungos contaminantes associados às "sementes" sexuais da cana-de-açúcar.

"Sementes" sexuais analisadas apresentaram alto grau de contaminação pois, 300 "sementes" originadas de cada progenitor (CB 41-76 e PR 980) apresentaram 77 e 75% respectivamente de fungos contaminantes (Tabela 1). Destes 74% identificados de "sementes" sexuais do progenitor CB 41-76 são potencialmente patogênicos às "sementes" e "seedlings", a saber: *Helminthosporium* spp (17%), *Curvularia* spp (20%), *Fusarium* spp (5%), *Fusarium moniliiforme* (10%), *Curvularia lunata* (12%) e *Helminthosporium sacchari* (10%) (SANGUINO, 1976). Por outro lado as "sementes" sexuais originadas do progenitor PR 980 mostraram que 13% dos fungos detectados, podem ser patogênicos.

Pelo exposto fica evidente que ocorrem flutuações tanto qualitativas quanto quantitativas dos fungos associados a "sementes" sexuais da cana-de-açúcar. Essas flutuações devem ocorrer diferentemente e anualmente em cada lote de "sementes" sexuais dependendo das condições, principalmente da umidade em que as "sementes" sexuais forem armazenadas, bem como das condições climáticas (também flutuantes) reinantes du-

rante as jornadas de produção das "sementes". Em face dessas considerações, as medidas para contornar o problema de contaminantes em "sementes" sexuais de cana-de-açúcar seriam o estudo de métodos de secagem e armazenamento das "sementes" sexuais, bem como o estudo da viabilidade do emprego de fungicidas na inflorescência durante os períodos de produção das "sementes".

SANGUINO (1976) recomenda o emprego de fungicidas por via úmida para controle de fungos associados a "sementes" sexuais da cana-de-açúcar. Porém, torna-se necessário o estudo de possíveis interferências desses fungicidas nos esporos de *U. scitaminea* quando na infecção das "sementes" sexuais por esse patógeno no emprego da metodologia proposta no presente trabalho. DUARTE (1976) recomenda a retirada da lema e pálea que envolve o cariopse da cana-de-açúcar, bem como do pedúnculo, para evitar a interferência de fungos contaminantes que colonizam esses tecidos. Entretanto, na prática, e em alta escala, esse processo é inviável, uma vez que não se conhece, até a presente data, técnica eficiente que retire a lema e pálea do cariopse sem ocasionar injúrias no seu tegumento, bem como no embrião.

5.2. Fungos contaminantes associados a esporos de *U. scitaminea*

Fica evidente, pelas alíquotas analisadas (Tabela 2) contendo a suspensão de esporos de *U. scitaminea*, que em todas elas havia uma alta frequência dos fungos contaminantes *Fusarium moniliiforme* e *Fusarium* spp, considerados patogênicos a "sementes" sexuais e "seedlings" (SANGUINO, 1976). Em menor frequência, encontrou-se o fungo *Cladosporium* spp, de baixa patogenicidade, assim como os fungos *Trichoderma* spp e *Aspergillus* spp que, segundo SANGUINO (1976), são apatogênicos às "sementes" e "seedlings" da cana-de-açúcar.

Como se observa, nos esporos de *U. scitaminea* encontram-se, também, fungos potencialmente patogênicos a "sementes" sexuais e "seedlings" da cana-de-açúcar (DUARTE, 1976) devendo também existir flutuações quantitativas e qualitativas interrelacionadas com a época da colheita dos esporos de *U. scitaminea*, bem como no processo de secagem e armazenamento das mesmas. DUARTE (1976) estudou os fungicidas sulfato de cobre e metil-tiofanato, especialmente, na desinfecção de esporos de *U. scitaminea*, porém concluiu que essas duas substâncias agiam como fungicida para *U. scitaminea*, nas dosagens estudadas. Torna-se necessário a procura de novas drogas, capazes de eliminar contaminantes de grandes quantidades de esporos de *U. scitaminea*.

5.3. Efeito de substrato de germinação e da concentração de esporos de *U. scitaminea* sobre a germinação de "sementes" sexuais, mortalidade de "seedlings" e manifestação de carvão em progênies de duas cultivares de cana-de-açúcar

5.3.1. Efeito sobre a germinação das "sementes" sexuais

A germinação das "sementes" sexuais originadas dos progenitores CB 41-76 e PR 980 dependem de todos os fatores analisados, ou seja: efeitos de progenitores, substratos de germinação e concentrações de esporos (Tabela 3).

As "sementes" sexuais originadas do progenitor PR 980 mostraram uma porcentagem de germinação superior àquelas originadas do progenitor CB 41-76 em ambos os substratos de germinação testados, assim como, em todas as concentrações de inóculo utilizadas. Tal fato pode ser explicado, de um lado,

por uma melhor antogenia das "sementes" sexuais originadas do progenitor PR 980; por outro lado as "sementes" sexuais originadas do progenitor PR 980 apresentavam baixa quantidade de fungos potencialmente patogênicos às "sementes" e "seedlings" quando comparadas com as "sementes" sexuais originadas do progenitor CB 41-76 (Tabela 1).

O efeito de substrato sobre a germinação dependeu das "sementes" sexuais originadas de ambos os progenitores, bem como de todas as concentrações de inóculo utilizadas. As "sementes" sexuais originadas do progenitor CB 41-76 mostrou uma porcentagem de germinação significativamente maior em substrato AA do que em substrato solo (Tabela 3, Apêndice 1). Esse evento pode ser explicado pelo fato de os fungos patogênicos associados a "sementes" sexuais (Tabela 1) não afetarem diretamente a germinação, multiplicando-se nos "seedlings" emergentes (KREITLOW et alii, 1961). Essa explicação pode ser evidenciada examinando-se a Tabela 4, pela mortalidade dos "seedlings", após o transplante, originados das "sementes" sexuais do progenitor CB 41-76, que se mostrou superior a dos "seedlings" originados das "sementes" sexuais do progenitor PR 980 (Tabela 4).

Quanto às "sementes" sexuais do progenitor PR 980, a porcentagem de germinação foi significativamente maior quando se usou substrato solo (Tabela 3). Esse fato pode estar relacionado com o efeito fungistático (BUCKMAN e BRADY, 1968) exercido pelo substrato solo o que não ocorreu no substrato AA onde os fungos encontram condições ideais para o crescimento e infecção das "sementes" e "seedlings".

O efeito da concentração de esporos sobre a germinação das "sementes" sexuais originadas do progenitor CB 41-76 foi de inibir a germinação com o aumento da concentração de inóculo, ao passo que, houve um estímulo de germinação para "sementes" sexuais originadas do progenitor PR 980 (Tabe-

la 3), a medida que se aumentou a concentração de inóculo. Esse fato pode estar relacionado com a natureza intrínseca das progênes, e com o efeito aditivo dos fungos patogênicos associados a "sementes" sexuais originadas do progenitor CB 41-76, e dos fungos patogênicos associados aos esporos do carvão, contribuindo destarte para uma menor germinação; ao passo que nas "sementes" sexuais originadas do progenitor PR 980 onde a quantidade de fungos patogênicos associados a "sementes" era bem menor (Tabela 1). O inóculo de *U. scitaminea* provavelmente conferiu ao complexo patógeno das "sementes" versus patógenos do inóculo, um efeito antagônico, fazendo com isso que a porcentagem de germinação fosse maior de acordo com o aumento da concentração de inóculo.

Também o fenômeno da ativação e inibição da germinação das "sementes" sexuais, originadas do progenitor CB 41-76 e PR 980, pode ser explicado pela resistência tipo hipersensibilidade. As "sementes" originadas do progenitor CB 41-76 seriam hipersensíveis, ou seja, poucas células infectadas na fase embrionária seriam suficientes para impedir uma melhor germinação, ao passo que as "sementes" originadas do progenitor PR 980, não ocorre o fenômeno de hipersensibilidade, conferindo um efeito protetor de *U. scitaminea* sobre a germinação.

5.3.2. Efeitos sobre a mortalidade dos "seedlings" após o transplante

Dos três fatores analisados, somente os substratos de germinação apresentaram efeito significativo ao nível de 1% de probabilidade (Tabela 4, Apêndice 2), mostrando que o substrato AA proporcionou uma maior mortalidade de "seedlings" após o transplante do que quando se utilizou o substrato solo. Deduz-se que a concentração de inóculo não traz nenhum reflexo na mortalidade dos "seedlings" após o transplante, fato esse

explicável devido à própria natureza do *Ustilago scitaminea* (parasita obrigatório). Também, ambas as "sementes" originadas dos dois progenitores CB 41-76 e PR 980 não mostraram diferença significativa quanto à mortalidade após o transplante (Tabela 4, Apêndice 2).

Quanto aos substratos utilizados, o AA mostrou uma maior mortalidade de "seedlings" após o transplante do que quando se usou substrato solo. Esse fato está associado às condições favoráveis em que o substrato AA fornece para multiplicação e infecção das "sementes" sexuais dos fungos patogênicos associados. Em relação ao substrato solo, presume-se que o efeito fungistático do solo atuou, evitando uma mortalidade maior. Quantificando-se o número de "seedlings" mortos originados das diferentes "sementes" sexuais dos progenitores CB 41-76 e PR 980, observa-se que "seedlings" provenientes das "sementes" sexuais do progenitor CB 41-76 apresentou maior mortalidade do que as do progenitor PR 980 e essa situação se inverteu no substrato solo. Esse fato pode estar relacionado com uma maior quantidade de fungos patogênicos associados às "sementes" sexuais do progenitor CB 41-76 (Tabela 1), que quando no substrato AA encontra condições favoráveis para multiplicação e infecção dos "seedlings" (SANGUINO, 1976).

No substrato solo a situação se inverteu, ou seja, os "seedlings" provenientes das "sementes" sexuais do progenitor PR 980 apresentaram uma mortalidade maior do que aqueles originados do progenitor CB 41-76. Esse fato pode estar relacionado por uma pré-seleção ocorrida nos "seedlings", originado das "sementes" sexuais do progenitor CB 41-76, de maneira que os mesmos apresentaram maior tolerância aos fungos patogênicos associados, após o transplante, o que não ocorreu com os "seedlings", originados das "sementes" sexuais do progenitor PR 980, por possuírem baixa incidência de fungos patogênicos (Tabela 1).

5.3.3. Efeitos sobre a manifestação do chicote

A inoculação de *U. scitaminea* em "sementes" sexuais propiciou o aparecimento do chicote em "seedlings" originados das "sementes" sexuais dos dois progenitores (CB 41-76 e PR 980) obtidos nos dois tipos de substratos (AA e solo). No substrato solo confirmaram os resultados obtidos por TALLBALLA (1969) enquanto que no substrato AA, sob condições de câmara úmida, confirmou-se o esperado pelo autor desse trabalho. Não houve diferença significativa na manifestação do sinal da doença entre "sementes" sexuais provenientes dos dois progenitores, mostrando que a eficiência da inoculação comportou-se de maneira idêntica, em ambos os progenitores estudados, sugerindo que os progenitores transmitam a mesma herança quanto à resistência à doença.

O fato de ter-se conseguido um maior índice de doença no substrato AA (Tabela 5, Apêndice 3) pode ser explicado por um contacto mais íntimo entre as "sementes" sexuais e os esporos de *U. scitaminea*, condições de umidade e temperatura mais favoráveis, como também a eliminação da necessidade de irrigações que consideramos de relevante importância. O menor índice de doença conseguido de "seedlings" originados do substrato solo se deve ao fato deste substrato não possuir as características e condições citadas para o substrato AA e também porque, no substrato solo, frequentes irrigações são necessárias, ocorrendo conseqüentemente uma lavagem dos esporos de *U. scitaminea* que ficam aderidos nas "sementes" e epicótilos de "seedlings" recém-germinados.

O efeito das concentrações de esporos (Tabela 5, Apêndice 3), comprova e reforça o que foi discutido acima quando se analisam os resultados obtidos em índices de doença nos diferentes substratos, pois o efeito significativo das diferentes concentrações de esporos somente manifestou-se no substrato AA mostrando a importância do contato íntimo esporos + semente.

tes sexuais e o efeito prejudicial das irrigações necessárias no substrato solo, ou também, pela eliminação do efeito fungistático exercido pelo substrato solo.

5.4. Avaliação da eficiência do método de pré-seleção de "seedlings" resistentes a *U. scitaminea*

O presente estudo mostrou que para a seleção das progênies oriundas dos progenitores CB 41-76 e PR 980, quando se usa o método de substrato AA sob condições de câmara úmida, a melhor concentração de esporos foi o P_3 (12×10^7 esporos por ml) (Tabelas 6 e 7).

Nessa concentração de esporos (P_3) para as "sementes" sexuais, oriundas do progenitor PR 980 e CB 41-76, conseguiu-se eliminar 61,11 e 66,68% respectivamente, de "seedlings" suscetíveis ao carvão permanecendo na população 23,33 e 16,66% respectivamente, de suscetíveis "escapes". Esses valores, quando aplicados no programa de pré-seleção de "seedlings" ao *U. scitaminea*, posta em prática há 4 anos, pelo autor do presente trabalho na Estação Experimental de Cana Copersucar Itamogí (PR), proporciona um descarte, anualmente, de 600.000 "seedlings" de 45 a 90 dias de idade, suscetíveis ao *U. scitaminea*, com economia de tempo e dinheiro.

Nota-se também (Tabelas 6 e 7) que a partir de P_3 , houve um decréscimo de "seedlings" infectados, conforme se aumentava a concentração de esporos, tanto para progênies oriundas do progenitor CB 41-76, como também, para as progênies do progenitor PR 980. Esse fato pode ser explicado pelo fenômeno de autoinibição (COCHRANE, 1958) e/ou pelo déficit de oxigênio (FISCHER e HOLTON, 1957).

5.5. Correlação entre a suscetibilidade da planta a *U. scitaminea* na fase de "seedling" e clone

Plantas que se mostraram suscetíveis na inoculação de "sementes" sexuais, exibindo o chicote na fase de "seedling", foram-no também na fase de clone, variando apenas no gradiente de suscetibilidade (Tabela 8). Esse fato é de primordial importância no emprego da técnica de pré-seleção ao carvão, uma vez que se assegura a eliminação precoce (fase "seedling") somente daqueles que se mostrariam suscetíveis na fase adulta, apenas com o inconveniente de não se detectar o gradiente de suscetibilidade do material descartado. Porém, esse fato deixa de ser relevante no caso específico da Copersucar. Pelas ótimas condições de florescimento e antogenia das "sementes" sexuais que ocorrem na Estação Experimental de Cana Copersucar Camamú (BA), a quantidade de "sementes" sexuais produzidas anualmente é enorme (40kg de "sementes" beneficiadas), o que permite o descarte de material de resistência intermediária a *U. scitaminea* sem que sejam reduzidas as possibilidades de se detectarem clones de altíssima resistência, com características agronômicas e tecnológicas altamente desejáveis.

Houve um efeito significativo entre as diferentes plantas originadas dos diferentes cruzamentos (Tabela 8, Apêndice 4). Essas diferenças foram manifestadas através de diferentes gradientes de suscetibilidade, que variou de um extremo de maior suscetibilidade (clone originado do cruzamento CP 59-73 x Co 775) para um de menor suscetibilidade (clone originado do cruzamento CP 53-18 x CB 49-260).

O efeito favorável do tratamento térmico na manifestação do sinal da doença (Tabela 8, Apêndice 4) está de conformidade com os resultados obtidos por BAILEY (1977) e dependeu do clone, mas nunca foi desfavorável em relação ao tratamento sem termoterapia.

A inoculação a vácuo, embora seja prejudicial ao desenvolvimento das gemas (SANGUINO e TOKESHI, 1976), foi favorável à manifestação da doença independentemente do clone ser ou não tratado termicamente. Esse fato evidencia uma possível resistência mecânica das gemas à penetração das hifas de infecção de *U. scitaminea*.

5.6. Influência materna da reação das progênes a *U. scitaminea*

Analizando-se os cruzamentos biparentais nos casos em que o progenitor feminino era resistente e o progenitor masculino poderia ser resistente ou suscetível, observa-se que há uma grande influência no caráter inerente à planta mãe, à reação de resistência a *U. scitaminea* dos "seedlings" de sua respectiva progênie (Tabela 10). Esse fato está de acordo com os resultados obtidos por WU et alii (1976). Esses autores nos citam as possíveis causas desse evento. Entretanto, baseando-se nos princípios genéticos, podem-se sugerir como possíveis causas os seguintes fatos: existência de alta taxa de autofecundação na cana-de-açúcar, a possibilidade da resistência a *U. scitaminea* ser governada por um fator citoplasmático, portanto sempre ligado ao progenitor feminino, ou então à existência de apomixia (STEVENSON, 1965) quando da antogenia das "sementes" sexuais da cana-de-açúcar.

A análise dos testes de χ^2 relativos aos polí-cruzamentos evidenciam resultados opostos àqueles encontrados para os cruzamentos biparentais, indicando que o progenitor feminino não exerce grande influência na resistência a *U. scitaminea*. Esses resultados contraditórios nos parecem ser mais um produto de imperfeição da metodologia utilizada, em virtude de ter sido impossível, na época, efetuar os cruzamentos recíprocos que dariam análises mais precisas da herdabilidade da resistência.

6. RESUMO E CONCLUSÕES

O presente trabalho propõe um novo sistema de obtenção de clones de cana-de-açúcar resistentes ao fungo *U. scitaminea*, denominado PRÉ-SELEÇÃO DE "SEEDLINGS" DE CANA-DE-AÇÚCAR RESISTENTES A *Ustilago scitaminea*, PELA INOCULAÇÃO DAS "SEMENTES".

Difere fundamentalmente daqueles postos em prática em todos os centros de melhoramentos genéticos da cana-de-açúcar. Tem por objetivo principal a produção, anualmente, de milhares de clones resistentes ao *U. scitaminea*, a curto prazo e baixo custo, tanto operacional como do material a ser descartado pela suscetibilidade à doença. Foi determinado qual a melhor técnica e substratos para inoculação das "sementes" sexuais por *U. scitaminea*, assim como, a técnica da inoculação das "sementes" em condições de câmara úmida.

Avaliaram-se os efeitos das diferentes concentrações de esporos e de suas interações com diferentes substratos e progênies em relação à porcentagem de germinação das "sementes" sexuais, mortalidade dos "seedlings" após o transplante, bem como do índice de doença.

Foram determinados por processo de inoculação das gemas a eficiência do processo proposto.

Avaliou-se, também, a correlação entre a resistência a *U. scitaminea* nas fases juvenil e adulta, utilizando quimioterapia e termoterapia na recuperação dos "seedlings" doentes na fase juvenil. Na determinação da correlação, utilizaram-se diversas técnicas de inoculação das gemas, assim como o efeito da termoterapia sobre a vulnerabilidade da gema em relação a *U. scitaminea*.

Procurou-se ter idéia da herdabilidade de resistência a *U. scitaminea* através de testes dos progenitores e progênes.

Os estudos foram realizados, de 1972 a 1977, e foram conduzidos, parte no laboratório e casa de vegetação do Departamento de Fitopatologia da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" da Universidade de São Paulo, e a maioria nos laboratórios, campos e casa de vegetação das Estações Experimentais de Cana Copersucar Piracicaba (SP) e Itamogi (PR). Os primeiros "seedlings" exibindo o chicote, originados pela infecção das "sementes" sexuais da cana-de-açúcar conseguidos no Brasil, foram obtidos em 1972 pelo autor do presente trabalho.

Após a apresentação e discussão dos resultados, e nas condições do presente trabalho, podem ser tiradas as seguintes conclusões:

1. Nas análises de "sementes" sexuais e esporos de *U. scitaminea* encontraram-se fungos potencialmente patogênicos às "sementes" e "seedlings" da cana-de-açúcar.
2. No substrato agar-água a porcentagem de germinação das "sementes" sexuais cresceu com o aumento da concentração de esporos de *U. scitaminea* enquanto que no substrato solo o efeito foi oposto.
3. A mortalidade dos "seedlings" originados do substrato agar-água, sob condições de câmara úmida, após o transplante,

foi significativamente maior do que a daqueles originados do substrato solo.

4. O substrato agar-água é superior ao substrato solo para seleção de "seedlings" resistentes a *U. scitaminea* no método de pré-seleção proposto.
5. Não houve efeito das diferentes concentrações de esporos na mortalidade dos "seedlings" após o transplante.
6. No substrato agar-água a eficiência máxima de seleção foi obtida na concentração P_3 (12×10^7 esporos por ml) para ambas as progênes testadas, com eficiência de 61,11 e 66,68% para CB 41-76 e PR 980 respectivamente.
7. É válida a seleção de plantas resistentes a *U. scitaminea* na fase de "seedling" pois há correlação entre a reação a doença na fase juvenil e adulta.
8. O tratamento térmico estimulou, para alguns cruzamentos, a manifestação da doença.
9. A inoculação a vácuo das gemas por *U. scitaminea* para alguns cruzamentos foi favorável à manifestação da doença, independentemente do tratamento térmico.
10. Há indicações de que o progenitor feminino tem influência na reação da progênie a *U. scitaminea*.

7. SUMMARY

This paper suggests a new method for obtaining sugar cane clones which are resistance to *U. scitaminea* fungus. The method is called pre-selection of *U. scitaminea*-resistant sugar cane seedlings by inoculation of true seeds.

This method is basically different from those currently being used in all of the centers for the genetic improvement of sugar cane. It aims at achieving yearly yields of thousands of *U. scitaminea*-resistant clones, in the shortest time and at the lowest cost, both in operational terms and in what regards the cost of the diseases seeds to be discarded. The best technique and substrata for inoculation of true seeds by *U. scitaminea* were determined in this study, as well as the technique for inoculation of seeds in humid camera conditions.

An evaluation was made of different spore concentrations and their interactions with different substrata and progenies as related to the percentage of true seed germinations, the mortality rate of seedlings after transplantation, and the incidence of disease.

The efficacy of the proposed method was tested by inoculation of gemmae.

The correlation between the resistance rate to *U. scitaminea* for young and adult phases was estimated by the use of chemotherapy and thermotherapy in the recuperation of diseased seedlings during the young phase. Various techniques of gemmae inoculation were used for the estimation of that correlation as well as the effect of thermotherapy on the vulnerability of gemmae to *U. scitaminea*.

An attempt was made to estimate the hereditability of resistance to *U. scitaminea* by testing progenitors and progenies.

This study was conducted between 1972 and 1977, in part at the laboratory and greenhouse of the Luiz de Queiroz School of Agriculture of the University of São Paulo. Most of the work was done at the laboratory facilities and in the fields and greenhouses of Copersucar Experimental Stations at Piracicaba (State of São Paulo) and Itamogi (State of Paraná). The first whip-bearing seedlings which originated through the contamination of sugar cane true seeds were obtained in Brazil by this author in 1972.

8. LITERATURA CITADA

- ANTOINE, R., 1961. Smut. In: Martin, J.P., E.V. Abbot e C.G.Hughes. Ed. Sugar Cane Diseases of the World. Amsterdam, Elsevier Publishing Company, Vol. 1:327-354.
- ARRUDA, S.C. e W.B.TOFFANO, 1950. Reação Sexual e Patogênica entre Isolamentos Monoesporídicos de *Ustilago scitaminea* Syd. In: V Congresso Internacional de Microbiologia. Rio de Janeiro, p. 162-163.
- ARTSCHAWAGER, E., E.W.BRANDES, R.C.STARRET, 1962. Development of Flower and seed of some Varieties of Sugar Cane. Jour. Agr. Res., Washington 39:1-30.
- BAILEY, R.A., 1977. The Effect of Hot Water Treatment and of Ratoon Stunting Disease on the Incidence of Smut in Sugar Cane. XVI Congress International Society Sugar Cane Technologists. São Paulo, 327-335.
- BARNES, A.C., 1953. Agriculture of the Sugar Cane. Londres, Leonard Nill. 329 p.
- BUCKMAN, H.O. e N.C.BRADY, 1968. Natureza e Propriedades dos

- Solos. Rio de Janeiro. Livraria Freitas Bastos, 2a. ed. 594 p.
- BYRD, H.W., 1957. Seed Technology Handbook. Jacarézinho, PR. Sementes Agroceres. 45 p. (mimeografado).
- CARVALHO, P.C.T., 1963. Carvão da Cana-de-Açúcar. In: Pragas e Doenças da Cana-de-Açúcar. Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Piracicaba, p. 67-74. (Apostila curso de pós-graduação).
- COCHRANE, V.W., 1958. Physiology of fungi. Japan. Toppan Printing Company Ltd. 524 p.
- DILLEWIJN, C. Van, 1952. Botany of Sugar Cane. New York, Chronica Botanica Publications.
- DUARTE, M.L.R., 1976. Padronização Metodológica de Inoculação de Plantas de Cana-de-Açúcar para Seleção de Resistência a *Ustilago scitaminea*. Piracicaba, ESALQ/USP. 76 p. (Dissertação de mestrado).
- FAWCHETT, G.L., 1946. Departamento de Botânica y Fitopatología. Ex. Memoria An Del Ano 1945. Rev. Ind. Agric. Tucuman 36:165-166.
- FISCHER, G.M. e C.S.HOLTON, 1957. Biologi and Control of the Smut Fungi. The Ronald Press Company. New York. 622 p.
- HIRSCHHORN, R., 1950. Caracteres del Ciclo del Carbon de la Caña de Azucar. Rev. Invest Agr 9(4):317-323.
- JAMES, G.L., 1972. A Summary of Varietal Resistance Roting to Smut in Rhodesia. Sugar Cane Pathologists' News Letter 8 May:14-15.

- JOSHI, N.C., 1954. Effect of Hot Water Treatment of Setts for Control of Red Rot and Smut Disease of Sugar Cane. Indian Sugar 23(28):82-86
- KHAM, A.M. e S.K.SAVENA, 1964. Effect of Temperature and Relative Humidity on the Viability of Clamydospores of *Ustilago scitaminea* Sidow. Indian Sugar Cane Jour. 9 (1): 55-56.
- KREITLOW, K.W., C.L.LEFEBVRE, J.T.PRESLEY e W.J.ZAUMEYER, 1963. Enfermedades que Pueden Propagarse em las Semillas. In: Semillas. México, Compañia Editorial Continental S.A., p. 484-497.
- LADD, S.L., D.J.HEINZ e H.K.MEYEAR, 1974. Control of Sugar Cane (*saccharum* sp) Smut Disease (*Ustilago scitaminea*) Through Breeding and Selection of Resistance Clones. Proc. XV Congress Int. Soc. Sugar Cane Tech. South African, 36-45.
- LAMBAT, A.K., U.U.SHENULU e B.L.CHONA, 1966. Influence of Soil Temperature on Infection of Sugar Cane by the Smut Fungus, *Ustilago scitaminea*. Indian Phytopathology 19(2): 237-238.
- MANGELSDORF, A.J., 1963. Um Programa de Melhoramento de Cana-de-Açúcar para a Agroindústria Açucareira do Brasil. Rio de Janeiro, Instituto do Açúcar e Alcool. 63 p.
- MUTHUSAMY, S., 1974. Varietal Sucetibility to Smut (*Ustilago scitaminea* Sidow) In Relation to Bud Characters, South Africa. Proc. XV Congress International Sugar Cane Technologists 289-91.

- RIVERA, J.R., 1969. Testing Sugar Cane Varieties and Promising Hibrids for Resistance to Smut Disease in the Philippines. Philippines Sugar Inst. (6):17-23.
- SANGUINO, A., 1976. Patologia e Controle dos Fungos de Sementes de Cana-de-Açúcar e Resistência de Progenies à *Helminthosporium sacchari*. Piracicaba, ESALQ/USP. 77 p. (Dissertação de mestrado).
- SANGUINO, A. e H.TOKESHI, 1976. Vácuo e *U. scitaminea* alterando a brotação da cana-de-açúcar. Brasil Açucareiro. Junho, 30-35.
- SAXEMA, S.K. e A.M.DHAN, 1964. Studies on Sugar Cane Smut Caused by *Ustilago scitaminea* Sidow. Effect of Relative Humidity on Spore Germination. Indian Bot. Soc., 43(1):61-68.
- SHATRUGNA, S., 1970. Reactions of Some Puerto Rican and Hawaiian Parental Varieties of Sugar Cane to Smut in India. Sugar Cane Breeding Institute Coimbatore. Indian (2):673-674.
- SILVA, W.M., 1974. Produção de "seedlings" de Cana-de-Açúcar pelo Beneficiamento do "Fuzz e Transplante Precoce. Viçosa. Universidade Federal de Viçosa, MG. 35 p. (Tese de M.Sc.).
- SINGH, K., 1963. Smut, Ann. Rev. Indian Inst. Sugar Cane: 9 (2):67-69.
- STEVENSON, C.G., 1965. Genetics and Breeding of Sugar Cane. Londres Longmans, Green and Co. Ltd. 284 p. (Tropical Science Series).

TALBALLA, A.H., 1969. Smut on True Seedlings of Sugar Cane.
Plant Disease Reporter, 53(12):992-993.

VERRET, J.A., 1928. Sugar Cane Seedlings. Assoc. Hawaii
Sugar Technology Rept. 7:15-23.

WALLER, J.M., 1967. Varietal Resistance to Sugar Cane Smut
Kenya. E. Afr. Agric. J., 32(4):339-403.

WHITENEAAD, C., 1967. Variety Sduties. Rep. Exp. Station
Afr. Sug. Ass. 24-30.

WU, K.K., H.K.MEYER e D.J.HEINZ, 1976. Annual Report.
Experiment Station Hawaiian Supar Planters' Association,
4-6.

9. A P Ê N D I C E S

A P Ê N D I C E 1

Dados transformados em $\text{arc. sen } \sqrt{\%}$, correspondente aos resultados apresentados na tabela 3 e sua análise estatística.

Concentração de Inóculo esporos/ml	Germinação ⁽¹⁾ das "sementes" nos Substratos			
	Agar-água		Solo	
	Progenitores		Progenitores	
	CB 41-76	PR 980	CB 41-76	PR 980
P ₀ (testemunha)	16,03	19,03	20,41	27,26
P ₁ (12 x 10 ⁵)	17,60	22,10	17,95	27,83
P ₂ (12 x 10 ⁶)	17,08	25,72	14,75	28,00
P ₃ (12 x 10 ⁷)	17,42	25,95	13,95	28,07
P ₄ (12 x 10 ⁸)	16,92	23,07	13,95	26,90
P ₅ (12 x 10 ⁹)	16,06	22,90	11,40	25,39
Médias	16,85	23,10	15,40	27,24

(1) $\text{arc. sen } \sqrt{\%}$

Análise de variância com os dados transformados em $\text{arc. sen} \sqrt{\%}$

Causa de variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F.
Potencial do inócuo (P)	5	114,028	22,806	11,19**
Substrato (S)	1	65,359	65,359	32,06**
Progenie (PR)	1	2.940,372	2.940,372	1.442,45**
Interação P x S	5	238,840	47,768	23,43**
Interação P x PR	5	186,448	37,290	18,29**
Interação S x PR	1	280,748	280,748	137,73**
Interação P x S x PR	5	12,605	2,521	1,24
(Tratamentos)	23	3.838,394	166,887	
Resíduo	120	244,614	2,038	
TOTAL	143	4.083,008		

Desdobramento das Interações

a. Substrato dentro das Progenies.

Causa de variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F.
Substrato dentro da Progenie CB 41-76	1	37,596	37,596	18,44**
Substrato dentro da Progenie PR 980	1	308,512	308,512	151,35**
Resíduo	120	244,614	2,038	

b. Concentração de Inóculo dentro dos Substratos.

Causa de variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F.
Concentração dentro do sub_ trato A.A.	5	135,157	27,031	13,26 **
Concentração dentro do sub_ trato Solo	5	217,710	43,542	21,36 **
Resíduo	120	244,614	2,038	

c. Concentração de Inóculo dentro das Progenies.

Causa de variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F.
Conc. de Inóc. dentro da Pro_ gênie CB 41-76	5	161,867	32,373	15,88 **
Conc. de Inóc. dentro da Pro_ gênie PR 980	5	138,609	27,722	13,60 **
Resíduo	120	244,614	2,038	

A P Ê N D I C E 2

Dados transformados em arc. sen $\sqrt{\%}$, correspondente aos resultados apresentados na tabela 4, e sua análise estatística.

Concentração de Inóculo esporos/ml	Mortalidade dos "seedlings" após o transplante originário dos Substratos			M é d i a s				
	Agar-água		Solo	Concen- tração de Inóculo	Progenitor	Substrato		
	Progenitores		Progenitores					
	CB 41-76 PR 980	CB 41-76 PR 980	CB 41-76 PR 980					
P ₀ (testemunha)	45,93	35,19	19,52	23,05	30,92	29,12	40,56	21,29
P ₁ (12 x 10 ⁵)	38,97	32,20	18,36	25,12	28,66	28,66	35,58	21,74
P ₂ (12 x 10 ⁶)	38,33	32,39	18,38	26,27	28,84	28,36	25,36	22,33
P ₃ (12 x 10 ⁷)	36,84	28,73	18,95	24,77	27,32	27,90	32,79	21,86
P ₄ (12 x 10 ⁸)	37,37	40,25	23,42	23,61	31,16	30,39	38,81	23,52
P ₅ (12 x 10 ⁹)	37,47	32,29	21,16	21,10	28,01	29,32	34,88	21,13
Médias	39,15	33,51	19,97	23,99	29,15	29,56	36,33	21,98

Análise de variância com os dados transformados em $\text{arc. sen} \sqrt{\%}$

Causa de variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F.
Concentração de Inóculo (P)	5	292,03	58,41	1,68
Substratos (S)	1	7.414,07	7.414,07	213,64**
Progênes (PR)	1	23,56	23,56	0,68
Interação P x S	5	235,04	47,01	1,35
Interação P x PR	5	123,06	24,61	0,71
Interação S x PR	1	840,16	840,16	24,21**
Interação P x S x PR	5	367,04	73,41	2,12
Resíduo	120	4.164,45	34,70	
T o t a l	143	13.459,40		

Desdobramento das Interações

a. Substratos dentro das Progênes

Causa de variação	G.L.	Q.M.	Q.M.	F.
Substrato dentro da Progênie CB 41-76	1	6.621,70	6.621,70	190,83**
Substrato dentro da Progênie PR 980	1	1.631,35	1.631,35	47,01**
Resíduo	120	4.164,45	34,70	

Dados transformados em $\sqrt{x + 0,5}$, correspondente aos resultados apresentados na tabela 5, e sua análise estatística.

Concentração de Inóculo esporos/ml	Índice de doenças (1) (carvão) em "seedlings" oriundos dos Substratos				M é d i a s (2)			
	Água-Agar (AA)		Solo (S)		Progenitores		Substratos	
	Progenitores		Progenitores		Concen- tração de Inóculo		Progenitores	
	CB 41-76	PR 980	CB 41-76	PR 980	CB 41-76	PR 980	CB 41-76	PR 980
P ₀ (testemunha)	0,70	0,70	0,70	0,70	0,70 d	0,70	0,70 d	0,70 b
P ₁ (12 x 10 ⁵)	1,58	1,63	1,22	1,28	1,42 c	1,40	1,45	1,25 a
P ₂ (12 x 10 ⁶)	1,67	1,63	1,22	1,22	1,43 c	1,44	1,42	1,22 a
P ₃ (12 x 10 ⁷)	1,92	1,97	1,40	1,33	1,65 b	1,66	1,65	1,36 a
P ₄ (12 x 10 ⁸)	2,27	2,43	1,45	1,51	1,91 a	1,86	1,97	1,48 a
P ₅ (12 x 10 ⁹)	1,84	1,83	1,22	1,40	1,57 bc	1,53	1,61	1,31 a
Médias	1,66	1,69	1,20	1,24		1,43	1,47	1,22 b

(1) N^o médio de "seedlings" com sinais de carvão, média de 6 repetições, cada repetição com 48 "seedlings" - dados transformados.

(2) Médias não seguidas pela mesma letra diferem significativamente ao nível de 5% (Tukey)

C.V. = 17,13%

Análise de variância com os dados transformados em $\sqrt{x + 0,5}$

Causa de variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F.
Progenitores (PR)	1	0,0454	0,0454	0,732
Substratos (S)	1	7,5626	7,5626	121,779 **
Concentrações (P)	5	19,8780	3,9756	64,018 **
Interação PR x S	1	0,0001	0,0001	0,003
Interação PR x P	5	0,0869	0,0173	0,280
Interação S x P	5	2,4663	0,4932	7,943 **
Interação PR x S x P	5	0,0923	0,0184	0,297
Resíduo	120	7,4522	0,0621	
T o t a l	143	37,5840		

Desdobramento da Interação

a. Concentrações de Inóculos dentro dos Substratos

Causa de variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F.
Conc. de Inóc. dentro do Substrato Agar/Água	5	17,9913	3,5983	57,944 **
Conc. de Inóc. dentro do Substrato Solo	5	4,3548	0,8710	14,026 **
Resíduo	120	7,4522	0,0621	

Dados transformados em $\sqrt{x + 0,5}$, correspondente aos resultados apresentados na tabela 8, e sua análise estatística.

Cruzamentos biparentais	Com tratamento término		Sem tratamento término		M é d i a s			
	Inoculação		Inoculação		Trat. Término		Inoculação	
	Vácuo	Imersão	Vácuo	Imersão	Com	Sem	Vácuo	Imersão
1. CP 43-64 x CP 52-43	2,12	0,97	1,71	1,22	1,54	1,47	1,92	1,10
2. Q. 76 x CB 49-260	1,67	1,66	1,39	1,22	1,67	1,31	1,53	1,44
3. CP 59-73 x Co 775	1,69	1,99	1,55	1,37	1,84	1,46	1,62	1,68
4. CP 61-37 x CB 49-260	1,56	1,87	1,72	0,77	1,72	1,25	1,64	1,32
5. BO. 14 x CP 53-76	1,65	1,22	1,35	1,39	1,44	1,37	1,50	1,30
6. Mex 52-17 x CB 49-260	1,39	1,58	1,22	0,95	1,49	1,09	1,31	1,26
7. CP 55-30 x CB 49-260	1,73	1,22	1,73	1,58	1,48	1,65	1,73	1,40
8. CP 52-68 x CB 49-260	1,99	1,20	1,37	1,38	1,60	1,38	1,68	1,29
9. CB 41-76 x CoK 30	0,97	1,40	1,14	1,22	1,18	1,18	1,05	1,31
10. CP 53-18 x CB 49-260	1,39	0,95	0,84	1,39	1,17	1,12	1,12	1,17
M é d i a s	1,62	1,41	1,40	1,25	1,51	1,33	1,51	1,33

Análise de variância com os dados transformados em $\sqrt{x + 0,5}$

Causa de variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F.
Cruzamentos (C)	9	7,8951	0,8772	10,97**
Tratamento Térmico (T)	1	2,7395	2,7395	34,27**
Inoc. Vácuo x Imersão (V)	1	2,6044	2,6044	35,58**
C x T	9	3,2432	0,3603	04,51**
C x V	9	6,6632	0,7403	09,26**
T x V	1	0,0689	0,0689	00,86
C x T x V	9	9,1571	1,0174	12,73**
Resíduo	280	22,3841	0,0799	
Total	319	54,7558		

Desdobramento das Interações

a. Cruzamentos dentro de Tratamento Térmico

Causa de variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F.
Trat. Térmico dentro do Cruzamento 1	1	0,1755	0,1755	2,20
Trat. Térmico dentro do Cruzamento 2	1	0,7788	0,7788	9,75**
Trat. Térmico dentro do Cruzamento 3	1	1,1499	1,1499	14,39**
Trat. Térmico dentro do Cruzamento 4	1	1,7762	1,7762	22,23**
Trat. Térmico dentro do Cruzamento 5	1	0,0347	0,0347	0,43
Trat. Térmico dentro do Cruzamento 6	1	1,2968	1,2968	16,23**
Trat. Térmico dentro do Cruzamento 7	1	0,2541	0,2541	3,18
Trat. Térmico dentro do Cruzamento 8	1	0,3874	0,3874	4,85**
Trat. Térmico dentro do Cruzamento 9	1	0,0002	0,0002	0,002
Trat. Térmico dentro do Cruzamento 10	1	0,0239	0,0239	0,30
Resíduo	280	22,3841	0,0799	

b. Cruzamentos dentro da Inoculação a Vácuo

Causa de variação		G.L.	S.Q.	Q.M.	F.
Inocul. dentro do Cruzamento	1	1	4,4818	4,4818	56,09**
Inocul. dentro do Cruzamento	2	1	0,1398	0,1398	1,75
Inocul. dentro do Cruzamento	3	1	0,1173	0,1173	1,47
Inocul. dentro do Cruzamento	4	1	0,8266	0,8266	10,34**
Inocul. dentro do Cruzamento	5	1	0,3011	0,3011	3,77
Inocul. dentro do Cruzamento	6	1	0,0171	0,0171	0,21
Inocul. dentro do Cruzamento	7	1	0,8349	0,8349	10,45**
Inocul. dentro do Cruzamento	8	1	1,2163	1,2163	15,22**
Inocul. dentro do Cruzamento	9	1	0,5533	0,5533	6,92**
Inocul. dentro do Cruzamento	10	1	0,0239	0,0239	0,30
Resíduo		280	22,3841	0,0799	