**CARACTERIZAÇÃO DA RESISTÊNCIA DE VARIEDADES
DE CANA-DE-AÇÚCAR PARA *Ustilago scitaminea* ATRAVÉS DO
INÓCULO DAS MUDAS E DA EVOLUÇÃO DA DOENÇA EM CANA-SOCA.**

ÉDER ANTÔNIO GIGLIOTI
Engenheiro Agrônomo

Orientador: Prof. Dr. HASIME TOKESHI

Dissertação apresentada à Escola Superior de
Agricultura "Luiz de Queiroz", da
Universidade de São Paulo, para obtenção do
título de Mestre em Agronomia, Área de
Concentração: Fitopatologia.

P I R A C I C A B A

Estado de São Paulo - Brasil

Dezembro - 1993

CATALOGAÇÃO NA PUBLICAÇÃO
DIVISÃO DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CAMPUS "LUIZ DE QUEIROZ"/USP

Gigliotti, Eder Antônio

Caracterização da resistência de variedades de cana-de-açúcar para
Ustilago scitaminea através do inóculo das mudas e da evolução da doença
em cana-soca. Piracicaba, 1993.

116p. ilus.

Diss.(Mestre) - ESALQ

Bibliografia.

1. Cana-de-açúcar - Muda - Inoculação 2. Cana-de-açúcar - Variedade
resistente 3. Carvão da cana-de-açúcar - Controle I. Escola Superior de
Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba

CDD 633.61

~~632.47~~

**CARACTERIZAÇÃO DA RESISTÊNCIA DE VARIEDADES
DE CANA-DE-AÇÚCAR PARA *Ustilago scitaminea* ATRAVÉS DO
INOCULO DAS MUDAS E DA EVOLUÇÃO DA DOENÇA EM CANA-SOCA.**

ÉDER ANTÔNIO GIGLIOTI

Aprovada em: 11.02.1994

Comissão julgadora:

Prof. Dr. Hasime Tokeshi	ESALQ/USP
Prof. Dra. Lilian Amorim	ESALQ/USP
Prof. Dr. Sisuo Matsuoka	CCA/UFSCar

Prof. Dr. HASIME TOKESHI

ORIENTADOR

À memória de minha mãe;
ao meu pai e irmãos

Dedico.

AGRADECIMENTOS

À todos aqueles que colaboraram na realização deste trabalho e em especial:

- Ao Prof. Dr. Hasime Tokeshi, pela orientação, estímulo e sobretudo amizade.
- Aos professores do Departamento de Fitopatologia da ESALQ/USP, pelos ensinamentos.
- À Usina Santa Helena S/A Açúcar e Alcool, pelo suporte financeiro neste trabalho.
- À Cooperativa dos Plantadores de Cana de Piracicaba pelo fornecimento de mudas da NA56-79.
- Ao Prof. Dr. Sizuo Matsuoka do Centro de Ciências Agrárias da UFSCar, Araras, SP, pelo fornecimento de mudas de algumas variedades e de esporos do fungo.
- Ao Engenheiro Agrônomo Nilton Degáspari e ao Biólogo Sebastião Moreira Nunes, que tornaram possível a realização deste trabalho.

- Aos colegas e funcionários do Departamento de Fitopatologia da ESALQ/USP.

- À Prof. Dra. Lilian Amorim por suas sugestões e auxílio no decorrer deste trabalho.

- À FAPESP pela concessão da bolsa de estudos.

Índice

Página

LISTA DE FIGURAS.....	vii
LISTA DE TABELAS.....	ix
RESUMO	x
SUMMARY	xiii
1. INTRODUÇÃO.....	01
2. REVISÃO DE LITERATURA	03
2.1. Aspectos gerais da doença.....	03
2.1.1. Agente causal e sintomatologia.....	03
2.1.2. Modo de disseminação e infecção.....	04
2.1.3. Ciclos de infecção	06
2.1.4. Controle.....	08
2.1.4.1. Produção de mudas sadias.....	08
2.1.4.2. Erradicação de campos infectados	10
2.1.4.3. "Roguing" de touceiras infectadas	11
2.1.4.4. Rotação de culturas.....	12
2.1.4.5. Plantio de variedades resistentes	13
2.2. Mecanismos de resistência.....	13
2.2.1. Resistência das gemas e bainhas	14
2.2.2. Resistência dos tecidos internos.....	15
2.3. Obtenção de variedades resistentes.....	16
2.3.1. Técnicas de inoculação.....	16
2.3.1.1. Inoculação natural	17
2.3.1.2. Inoculação por imersão	18

2.3.1.3. Inoculação por punctura da gema.....	19
2.3.1.4. Inoculação de cana em pé.....	20
2.3.2. Parâmetros utilizados para diferenciar variedades quanto ao nível de resistência ao carvão	21
2.3.2.1. Número de chicotes por hectare	21
2.3.2.2. Porcentagem de colmos infectados	22
2.3.2.3. Elementos da curva de progresso da doença.....	24
3. MATERIAL E MÉTODOS	26
3.1. Local e variedades.....	26
3.2. Delineamento experimental	27
3.3. Preparo da área e plantio.....	28
3.4. Método de inoculação	28
3.5. Avaliação da resistência varietal através do inóculo inicial das mudas (Xo das mudas).....	30
3.5.1. Inóculo inicial das mudas (Xo das mudas)	30
3.5.2. Análise da época de emissão de chicotes pelos brotos laterais	31
3.5.3. Posição da gema e sua contribuição para a quantidade total de doença.....	31
3.6. Avaliação da resistência de variedades através da evolução da doença em cana-soca.....	32
3.6.1. Análise epidemiológica das curvas de progresso do carvão em cana-soca.....	33
3.6.2. Avaliação da resistência das variedades	34

4. RESULTADOS	37
4.1. Método de inoculação	37
4.2. Avaliação da resistência varietal através do inóculo inicial das mudas (Xo das mudas).....	38
4.2.1. Inóculo inicial das mudas (Xo das mudas)	38
4.2.2. Análise da época de emissão de chicotes pelos brotos laterais	45
4.2.3. Posição da gema e sua contribuição para a quantidade total de doença.....	46
4.3. Avaliação da resistência de variedades através da evolução da doença em cana-soca	52
4.3.1. Análise epidemiológica das curvas de progresso do carvão em cana-soca	52
4.3.1.1. Padrão de crescimento da doença.....	52
4.3.1.2. Pico de emissão de chicotes e touceiras doentes	67
4.3.2. Avaliação da resistência das variedades	68
4.3.2.1. Intensidade de doença em cana-soca aos seis meses de idade (IDS-6)	68
4.3.2.2. Assíntota máxima de doença (B(1)).....	68
4.3.2.3. Resistência à sistemicidade	76
5. DISCUSSÃO	79
5.1. Método de inoculação	79

5.2. Avaliação da resistência varietal através do inóculo inicial das mudas (Xo das mudas).....	80
5.2.1. Inóculo inicial das mudas (Xo das mudas)	80
5.2.2. Análise da época de emissão de chicotes pelos brotos laterais.....	83
5.2.3. Posição da gema e sua contribuição para a quantidade total de doença.....	84
5.3. Avaliação da resistência através da evolução da doença em cana-soca.....	86
5.3.1. Análise epidemiológica das curvas de progresso do carvão em cana-soca.....	86
5.3.1.1. Padrão de crescimento da doença.....	86
5.3.1.2. Pico de emissão de chicotes e touceiras doentes	89
5.3.2. Avaliação da resistência das variedades	91
5.3.2.1. Intensidade de doença em cana-soca aos seis meses de idade (IDS-6)	91
5.3.2.2. Assíntota máxima de doença (B(1)).....	93
5.3.2.3. Resistência à sistemicidade	95
6. DISCUSSÃO GERAL	97
7. CONCLUSÕES.....	100
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	102
APÊNDICE.....	112

LISTA DE FIGURAS

FIGURA Nº. Página

1.	Evolução do carvão da cana-de-açúcar (dados estimados —, dados observados no campo ■) na variedade NA56-79 "fonte de inóculo", em cana-soca.....	40
2.	Contribuição do Xo das mudas para o inóculo inicial em cana-planta para as variedades dos blocos 1 e 2.....	43
3.	Contribuição do Xo das mudas para o inóculo inicial em cana-planta para as variedades consideradas resistentes nos blocos 1 e 2.....	44
4.	Curva de emissão de chicotes (valores não acumulados) pelos brotos laterais das variedades do bloco 1 ("resistentes" = SP70-1143 + SP79-1011 + RB765418 + RB855554 + RB805246.....	48
5.	Curva de emissão de chicotes (valores não acumulados) pelos brotos laterais das variedades do bloco 1 ("resistentes" = SP70-1143 + SP70-1284 + SP71-6163 + SP72-4928 + B72454 + RB785148 + RB806043.....	49
6.	Influência da posição das gemas na quantidade total de doença observada nos blocos 1 e 2 (dados absolutos e acumulados).....	51
7.	Evolução do carvão da cana-de-açúcar (dados estimados —, dados observados no campo ■) na variedade RB785343, em cana-soca.....	54
8.	Evolução do carvão da cana-de-açúcar (dados estimados —, dados observados no campo ■) na variedade RB785554, em cana-soca.....	55
9.	Evolução do carvão da cana-de-açúcar (dados estimados —, dados observados no campo ■) na variedade RB785148, em cana-soca.....	56
10.	Evolução do carvão da cana-de-açúcar (dados estimados —, dados observados no campo ■) na variedade RB72454, em cana-soca.....	57
11.	Evolução do carvão da cana-de-açúcar (dados estimados —, dados observados no campo ■) na variedade NA56-79 do bloco 1, em cana-soca.....	58
12.	Evolução do carvão da cana-de-açúcar (dados estimados —, dados observados no campo ■) na variedade NA56-79 do bloco 2, em cana-soca.....	59

13.	Evolução do carvão da cana-de-açúcar (dados estimados —, dados observados no campo ■) na variedade IAC66/6 do bloco 1, em cana-soca.....	60
14.	Evolução do carvão da cana-de-açúcar (dados estimados —, dados observados no campo ■) na variedade IAC66/6 do bloco 2, em cana-soca.....	61
15.	Evolução do carvão da cana-de-açúcar (dados estimados —, dados observados no campo ■) na variedade RB806043, em cana-soca.....	62
16.	Evolução do carvão da cana-de-açúcar (dados estimados —, dados observados no campo ■) na variedade RB855176, em cana-soca.....	63
17.	Evolução do carvão da cana-de-açúcar (dados estimados —, dados observados no campo ■) na variedade SP71-6163, em cana-soca.....	64
18.	Intensidade de doença em cana-soca aos seis meses de idade (IDS-6) expressa em chicotes por hectare e os respectivos limites de confiança (limite inferior ■ , limite superior □).....	71
19.	Intensidade de doença em cana-soca aos seis meses de idade (IDS-6) expressa em touceiras doentes por hectare e os respectivos limites de confiança (limite inferior ■ , limite superior □).....	72
20.	Assintota máxima de doença (B(1)) expressa em chicotes por hectare e os respectivos limites de confiança (limite inferior ■ , limite superior □).....	74
21.	Assintota máxima de doença (B(1)) expressa em touceiras doentes por hectare e os respectivos limites de confiança (limite inferior ■ , limite superior □).....	75
22.	Resistência à sistemicidade (R = resistente, I = intermediária, S = suscetível) caracterizada pelo número de chicotes por touceira doente (CHIC/TD) para as variedades estudadas.....	78

LISTA DE TABELAS

TABELA Nº.	Página
1. Escala descritiva para determinar o nível de resistência varietal à sistemicidade.....	36
2. Inóculo produzido pela NA56-79 "fonte de inóculo" em cana-planta.....	39
3. Taxa de infecção das gemas (TIM), inóculo inicial das mudas (Xo) e níveis de resistência das variedades do bloco 1.....	41
4. Taxa de infecção das gemas (TIM), inóculo inicial das mudas (Xo) e níveis de resistência das variedades do bloco 2.....	42
5. Número de chicotes emitidos pelos brotos laterais em função da época de avaliação.....	47
6. Número de chicotes emitidos pelos brotos laterais e a respectiva percentagem em relação ao total observado em função da posição das gemas.....	50
7. Comparação entre os valores de IDS-6 e B(1) estimados pelo modelo de Gompertz generalizado e os observados no campo, considerando a incidência de cavão expressa em chicotes por hectare (CHIC/ha).....	65
8. Comparação entre os valores de IDS-6 e B(1) estimados pelo modelo de Gompertz generalizado e os observados no campo, considerando a incidência de cavão expressa em touceiras doentes por hectare (TD/ha).....	66
9. Intensidade de doença em cana-soca aos seis meses (IDS-6) estimada pelo modelo de Gompertz generalizado e nível de resistência das variedades estudadas.....	70
10. Assintot máxima de doença (B(1)) estimada pelo modelo de Gompertz generalizado e nível de resistência das variedades estudadas.....	73
11. Intensidade de doença em cana-soca aos seis meses (IDS-6), assintota máxima de doença (B(1)) e os respectivos níveis de resistência (NR) das variedades estudadas, sendo doença expressa em chicotes por touceira doente (CHIC/TD)	77

CARACTERIZAÇÃO DA RESISTÊNCIA DE VARIEDADES DE CANA-DE-AÇÚCAR PARA *Ustilago scitaminea* ATRAVÉS DO INÓCULO DAS MUDAS E DA EVOLUÇÃO DA DOENÇA EM CANA-SOCA.

Autor: Éder Antônio Giglioti

Orientador: Prof. Dr. Hasime Tokeshi

RESUMO

Por serem o uso de mudas sadias e o plantio de variedades resistentes os meios mais eficazes no controle do carvão da cana-de-açúcar, parâmetros apropriados para medir tanto o nível de sanidade como a resistência varietal têm sido preocupação de pesquisadores e de produtores. Levando-se em conta tal questão, este trabalho se propôs a desenvolver uma metodologia aplicável a avaliações de resistência de variedades através do inóculo inicial das mudas (X_0) e da evolução da doença em cana-soca, sob condições de inoculação natural.

O inóculo inicial das mudas e a evolução do carvão em cana-soca foram quantificados em 15 clones, alguns já variedades comerciais e outros com potencialidade para tal fim. O experimento foi instalado com delineamento inteiramente casualizado, sendo a "fonte de inóculo" plantada adjacente às variedades-teste.

Após o desenvolvimento da cana-planta, quando esta atingiu nove meses de idade, o palmito de cada cana em pé foi decepado, possibilitando o início da brotação das gemas laterais. O número de chicotes produzidos por estes brotos foram anotados quinzenalmente, até três meses após a decepta. Com os dados obtidos, determinou-se a taxa de infecção das mudas (TIM) e, a partir desta, estimou-se a contribuição das mudas para o inóculo inicial em cana-planta (X_0 das mudas). Este método permitiu avaliar a resistência de variedades em condições de inoculação natural, constituindo-se no primeiro teste baseado no inóculo inicial das mudas.

A emissão de chicotes em cana-soca foi quantificada a cada 14 dias, durante 10 meses. O progresso da doença em função do tempo foi avaliado por meio de curvas anuais obtidas com os valores cumulativos de chicotes e touceiras doentes produzidos por hectare. Estas curvas foram analisadas por uma generalização do modelo de Gompertz, através da qual foram estimados os parâmetros IDS-6 (intensidade de doença na soca aos seis meses) e $B(1)$ (assíntota máxima de doença) e o pico de emissão de chicotes.

A curva anual de progresso do carvão não apresentou o mesmo padrão de crescimento para todos os genótipos. Para a maioria deles foram identificados pelo menos dois ciclos de infecção do fungo. Neste grupo, aqueles com padrão sigmóide simples caracterizado por um aumento de doença contínuo, sem a presença de patamares, se situaram entre os mais suscetíveis. Por outro lado, os genótipos com padrão duplo-sigmóide, caracterizado por uma diminuição ou paralização temporária no aumento da doença entre os diferentes ciclos do patógeno apresentaram-se mais resistentes.

A classificação das variedades quanto ao nível de resistência à sistemicidade do fungo baseada no número de chicotes por touceira doente indicou os possíveis pontos críticos para o desenvolvimento da doença sobre cada genótipo. Nos resistentes, a doença aumentou às custas de infecções secundárias, enquanto que, nos suscetíveis, a maioria dos chicotes observados foi fruto da colonização sistêmica do fungo.

**CARACTERIZATION OF THE RESISTANCE OF SUGAR CANE VARIETIES TO
Ustilago scitaminea THROUGH THE INOCULUM OF THE SETTS AND
THOUGH THE DISEASE EVOLUTION IN RATOON**

Author: Éder Antônio Giglioti

Adviser: Prof. Dr. Hasime Tokeshi

SUMMARY

Since the use of healthy seeds and the planting of resistant varieties are the most efficient ways of controlling sugar cane smut, proper parameters to measure both the level of seed infection and the resistance of varieties has been concerns of researchers and producers. Considering this fact, this study had the purpose of developing a dependable method for measuring the resistance of varieties through the determination of inicial inoculum in the seeds (Xo) and the subsequent disease evolution in first ratoons, under conditions of natural infection.

The quantification of the inicial inoculum in the seeds and the smut evolution in ratoon were done in 15 clones, some of them of comercial use and others with potential for it in the near future. The experiment followed a completely randommized design with a "source of inoculum" being planted adjacent to the test-varieties.

Nine months after planting the apex of each stalk was cut off, which practice stimulated the lateral buds to sprout. The number of whips produced by those lateral shoots were recorded fortnightly up to three months after the cut off. The proportion of whips to total number of buds of the stalk was considered to be the setts infection rate, which value

estimated the initial inoculum of the setts. This method, allowing the evaluation of varietal resistance to natural infection, was the first test based on rate of initial inoculum in the setts.

The production of whips in ratoon was recorded every 14 days for 10 months. Then, the cumulative values of diseased stools and whips produced per hectare were used to establish the annual disease progress curves. These curves were analyzed through the generalization of the Gompertz model, through which the parameters IDS-6 (intensity of the disease in six month old ratoon), $B(1)$ (disease maximum asymptotic) and the peak of whips emission were estimated.

The annual smut progress curve did not present the same increase pattern for all the genotypes and for most of them at least two cycles of fungus infection were identified. In such group, those with simple sigmoid pattern, that is, a continuous increase of disease without levelling off, were considered the most susceptible clones, whereas the genotypes with a double sigmoid pattern, which are characterized by a decrease or by a temporary stabilization in whip production between the two cycles, were considered the most resistant.

The capacity of the smut fungus to establish systemically in the plant, as measured by the number of whips per stool, indicated one of the critical points for disease development in each genotype. In the resistant ones the disease increased due to secondary infections whereas in the susceptible clones most of the observed whips come from systemical colonization of the fungus.

1. INTRODUÇÃO

O carvão da cana-de-açúcar (*Ustilago scitaminea* Sydow) está distribuído por quase todos os países produtores do mundo. A doença foi primeiramente constatada em Natal, África do Sul, em 1877 (FERREIRA & COMSTOCK, 1989). A partir de 1930, o carvão estava causando severos problemas na Índia e outros países da Ásia. No final de 1983, apenas a Austrália e países vizinhos permaneciam livres do carvão (ISSCT, 1989).

No Brasil, a doença foi observada pela primeira vez em 1946, no município de Assis, no estado de São Paulo. A partir daquela constatação, a doença tem recebido grande atenção por parte da agroindústria canavieira, em vista dos prejuízos proporcionados pela presença da doença em São Paulo. Estes prejuízos são essencialmente indiretos devido a gastos na erradicação de canaviais infestados, restrição para o plantio de variedades suscetíveis, manutenção de serviços de vigilância, produção de mudas sadias e gastos nos programas de melhoramento para obtenção de variedades resistentes.

Atualmente, a doença encontra-se distribuída em todo o território nacional, inclusive nas regiões do Nordeste (SANTOS *et alii*, 1986; BERGAMIN FILHO *et alii*, 1987) e Centro-Oeste (BERGAMIN FILHO *et alii*, 1987). Sendo assim, é necessário o emprego de medidas de controle a nível nacional, visando minimizar os efeitos do patógeno sobre a cultura. Estas medidas se resumem basicamente na produção de mudas sadias e no plantio de variedades resistentes.

O serviço de produção de mudas contribui para a diminuição do inóculo inicial (X₀) na cultura, no estágio de cana-planta. Em termos epidemiológicos, uma redução no X₀ pode retardar o início de uma epidemia ou ainda impedir que a mesma

ocorra, dependendo da evolução da doença a partir desse X_0 (ZADOKS & SCHEIN, 1979).

A evolução de uma doença no tempo é retratada pela curva de progresso da doença, também chamada de "gráfico da epidemia" (KRANZ, 1974a). O gráfico da curva de progresso da doença reflete a dinâmica de crescimento de epidemias e reúne, numa única imagem, a interação existente entre patógeno, hospedeiro e ambiente (VANDERPLANK, 1963; KRANZ, 1974a).

Diante da importância do inóculo inicial das mudas (X_0) e da posterior evolução da epidemia a partir desse X_0 , o presente estudo teve como objetivo desenvolver uma metodologia aplicável a testes de inoculação indireta pelo método de infecção natural e avaliação da resistência de variedades de cana-de-açúcar para *Ustilago scitaminea* com base na capacidade das mesmas restringirem o X_0 das mudas e a evolução da produção de chicotes e touceiras doentes em cana-soca.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Aspectos gerais da doença

2.1.1. Agente causal e sintomatologia

O patógeno do carvão da cana-de-açúcar foi primeiramente descrito e identificado em 1870 (MUNDKUR; 1939) como *Ustilago sacchari* Rabenth, nome que foi originalmente atribuído a um fungo atacando as flores de *Erianthus ravennae* Beauv. no Irã. SYDOW (1924) foi o primeiro a concluir que o agente causal do carvão da cana é completamente distinto de *U. sacchari* Rabenth., chamando-o de *U. scitaminea* Sydow, este pertencendo à classe *Basidiomycetes*, subclasse *Teliomycetidae*, ordem *Ustilaginales*, família *Ustilaginaceae* (ANTOINE, 1961; ALEXOPOULOS & MIMS, 1979).

U. scitaminea, como todas as espécies do gênero *Ustilago*, é parasita de tecidos meristemáticos, penetrando no hospedeiro através dos tecidos não diferenciados da parte basal das gemas ou pela base das primeiras folhas emergentes. Os teliosporos são unicelulares e diplóides, ocorrendo meiose na germinação. A pró-basídia, produzida na germinação, produz basidiosporos ou hifas infectivas, dependendo da riqueza do substrato, da germinação e da temperatura. Em meios pobres como o solo ou ágar-água, a plasmogamia das hifas primárias pode-se dar diretamente durante a germinação e as hifas infectivas penetram no hospedeiro em 8 horas (TOKESHI, 1980).

No hospedeiro, o crescimento do micélio é intercelular havendo apenas emissão de haustórios para o interior das células (ANTOINE, 1961). As hifas apresentam-se retorcidas, com grande número de grampos de conexão, que garantem a

condição de dicariose. As estruturas de reprodução (teliosporos) são formadas apenas após a diferenciação do meristema apical do hospedeiro. Quando a gema infectada de cana-de-açúcar germina, o fungo induz modificações morfológicas severas no hospedeiro, formando um apêndice escuro no ápice do perfilho, conhecido como "chicote". Esta estrutura de comprimento variando de alguns centímetros a mais de um metro e taxa de crescimento de 2,5 a 4,0 cm/dia (AMORIM & RICCI Jr., 1987), é recoberta por teliosporos e constitui o sintoma típico do carvão. Usualmente, o chicote começa a surgir nos canaviais 2 a 3 meses após o plantio, liberando até 100 bilhões de esporos em 3 meses (WALLER, 1969). Porém, outros sintomas menos comuns são galhas nas folhas e no colmo, proliferação das gemas, "serpentine-shaped sori" e inflorescência e estames modificados (FERREIRA & COMSTOCK, 1989). Antecedendo ao aparecimento do chicote, a infecção muda o hábito de crescimento do hospedeiro: os perfilhos adquirem forma estiolada e ereta, com internódios curtos e finos, que conferem a algumas touceiras infectadas um aspecto de capim.

2.1.2. Modo de disseminação e infecção

A disseminação de *Ustilago scitaminea* pode ocorrer através de:

- Plantio de mudas infectadas (WIEHE, 1949);
- Vento (WALLER, 1969; SREERAMULU & VITTAL, 1972);
- Solo contaminado (LUTHRA *et alii*, 1938; JAMES, 1969b; WALLER, 1969);
- Insetos vetores (ANTOINE, 1961; BOWLER *et alii*, 1975).

Contudo, segundo a revisão de FERREIRA & COMSTOCK (1989), o carvão da cana é particularmente adaptado à disseminação pelo vento. Chicotes apicais

ou laterais (infecção em gemas basais) funcionam como fonte de inóculo dentro de um mesmo canavial, liberando esporos para possíveis infecções de perfilhos ainda jovens em crescimento e gemas laterais da cana em pé.

Segundo WHITTLE & WALKER (1982), existem duas fases de infecção de cana-de-açúcar por *Ustilago scitaminea*: a infecção primária e a infecção secundária que correspondem, respectivamente, ao primeiro e segundo ciclo do patógeno.

A infecção primária é definida como as infecções nodais de colmos da cana em pé. Para tanto, um número relativamente alto de esporos é requerido na superfície das gemas para a infecção ocorrer. Sob condições de campo, onde chicotes apicais ou laterais (infecção em gemas basais) funcionam como fonte de inóculo dentro de um mesmo canavial, uma carga de esporos é sempre presente. Estes esporos são facilmente disseminados pelo vento em períodos secos, sendo depositados nas folhas e bainhas. Com as chuvas, eles são arrastados em direção às gemas laterais, onde se alojam. Após a infecção, a maioria destas gemas permanece dormente, salvo se houver algum estímulo à brotação pelo carvão ou por fatores ambientais ou se a dominância apical for perdida. Neste último caso, as gemas basais e da coroa infectadas brotam e produzem chicotes para completar o primeiro ciclo do patógeno em cana-soca. Em cana-planta, as gemas infectadas recém plantadas produzem brotos que emitem chicotes originados de infecções na cana em pé (infecções nas mudas). Além disso, em cana-planta as infecções primárias incluem também aquelas proporcionadas pelo contato das gemas de toletes recém plantados com os teliosporos do solo (LUTHRA *et alii*, 1938; JAMES, 1969b; WALLER, 1969).

Infecção secundária pode ser definida como a infecção de perfilhos derivada da infecção primária, caracterizando uma segunda geração do patógeno. Isto ocorre quando os perfilhos ficam infectados pelo inóculo caído na superfície do solo ou

de gemas jovens, sendo este inóculo liberado de chicotes resultantes de infecções primárias.

Em cana-planta, a fonte de inóculo para a ocorrência de infecções secundárias é proporcionada por esporos liberados de chicotes que tiveram sua origem na muda ou no inóculo do solo. Por outro lado, em cana-soca, a fonte de inóculo é aquela proporcionada por infecções nas gemas basais e da coroa que ocorreram ainda em cana-planta (ano agrícola anterior).

A partir de inoculação controlada é possível diferenciar infecções primárias e secundárias. Porém, a infecção secundária muitas vezes engloba também a colonização sistêmica do fungo. A colonização sistêmica é proporcionada por uma baixa resistência dos tecidos internos do colmo. Quando isso ocorre, o patógeno se distribui intensamente pelo tecido do hospedeiro, todos os primórdios de perfilhos da gema ficam infectados e a touceira produz um número elevado de chicotes (WALLER, 1970). Portanto, chicotes frutos da colonização sistêmica só podem ser diferenciados daqueles de infecções secundárias quando se avalia, além do número total de chicotes produzidos por hectare, o número de chicotes produzidos por touceira doente. Segundo WHITTLE & WALKER (1982), a ocorrência desse tipo de colonização não é generalizada, sendo uma característica varietal determinada pela resistência dos tecidos internos à sistemicidade do fungo.

2.1.3. Ciclos de infecção

O fungo *Ustilago scitaminea* produz um ou dois ciclos de infecção durante cada ciclo anual de cana-de-açúcar (ANTOINE, 1961; MOMOL, 1986). Dois ciclos são particularmente evidentes em variedades suscetíveis, na forma de duas ondas

(fases) distintas de produção de chicotes, e um ciclo em variedades mais resistentes. Baseado neste fato, de acordo com a conceituação de VANDERPLANK (1963), que define uma doença de juro simples como aquela onde o patógeno completa um único ciclo infeccioso durante todo o ciclo da cultura e uma doença de juro compostos como aquela onde vários ciclos de infecção se sobrepõem na cultura, MOMOL (1986) classifica o carvão, do ponto de vista epidemiológico, como intermediária entre o grupo das doenças de juro simples e o grupo das doenças de juro compostos. No entanto, AMORIM (1989) incluiu o carvão no grupo das doenças de juro compostos, ao julgar que a classificação de MOMOL (1986) não segue os conceitos de VANDERPLANK (1963).

Segundo AMORIM & BERGAMIN FILHO (1991a) a primeira onda (ciclo) é resultado da infecção primária que ocorre nas gemas, antes do início da brotação das touceiras. No estágio de cana-planta, esta infecção é decorrente tanto do inóculo das mudas, como do inóculo presente no solo. Nas socas subsequentes, esta chamada "infecção primária" pode acumular as colonizações sistêmicas das gemas basais e da coroa e as infecções provenientes do solo, que ocorrem no momento da brotação de cada perfilho (WHITTLE & WALKER, 1982).

A emissão de chicotes que caracterizam a primeira onda (ciclo) de infecção tem início na brotação das touceiras, se estendendo até 150 dias após a colheita, aproximadamente. O aparecimento de chicotes novos a partir dos 200 dias, revela o início do segundo ciclo do patógeno, provavelmente fruto de infecções secundárias.

2.1.4. Controle

Segundo FERREIRA & COMSTOCK (1989), diversas medidas são usadas no controle do carvão da cana-de-açúcar: plantio de mudas sadias, erradicação de soqueiras em campos muito afetados, "roguing" de touceiras doentes, rotação de cultura e cultivo de variedades resistentes.

2.1.4.1. Produção de mudas sadias

A metodologia de produção de mudas garante a sanidade do material utilizado para o plantio de canaviais comerciais e contribui para a diminuição do inóculo inicial na cultura, no estágio de cana-planta. Em termos epidemiológicos, uma redução no inóculo inicial pode retardar o início da epidemia, contribuindo para o controle da doença (VANDERPLANK, 1963; 1984).

Esta medida para controlar o carvão tem sido utilizada com sucesso em países onde a incidência da doença não é tão grande ou onde variedades moderadamente resistentes são plantadas (ANTOINE, 1961; LEE-LOVICK, 1978). Para obter mudas sadias, é essencial que elas sejam cortadas apenas de viveiros inspecionados, nos quais o carvão não tenha sido encontrado. Alternativamente, as plantas podem ser cortadas de campos regularmente rogados, eliminando-se plantas infectadas. Contudo, ao menos algumas destas canas aparentemente sadias terão infecções e poderão produzir brotos doentes.

Atualmente, a produção de mudas sadias tem sido praticada com o uso de dois processos: método convencional com unidades de tratamento térmico (GHELLER, 1986) e método de cultura de meristemas (LEE, 1988).

Com relação ao método convencional, segundo SANGUINO (1986), a produção de mudas de cana-de-açúcar agrupa diferentes técnicas cuturais que contribuem para a obtenção e propagação de material sadio no campo. O tratamento realizado em água aquecida a 52^o C por 30 minutos ou a 50,5^o C por duas horas, controla com sucesso infecções sistêmicas de carvão (JOSHI, 1954; THOMSON, 1970; JAMES, 1971), garantindo a sanidade do material vegetal, que segue para o canteiro de mudas. Ali, em substrato esterilizado, as gemas germinam, produzindo mudas que serão transplantadas ao campo, nos chamados viveiros. Estes, devem ser isolados do plantio comercial, de maneira a evitar, ao máximo, a infecção externa. As mudas que, no viveiro, vierem a ser infectadas, são removidas cuidadosamente, logo no início do aparecimento dos sintomas, prevenindo a disseminação dos esporos. Contudo, BAILEY (1977b) & JAMES (1976b) sugerem que o tratamento térmico a 50,5^o C por 2 horas predispõe a cana-de-açúcar à infecção de *U. scitaminea*. Eles mostram que a variedade NCo376 manteve níveis de carvão mais altos em soqueiras oriundas de mudas tratadas. Porém, devido a uma possível relação entre infecção por raquitismo da soqueira e baixa incidência de carvão, esta observação pode não ser verdadeira para todas as variedades (FERREIRA & COMSTOCK, 1989).

Após o tratamento térmico, as gemas são colocadas em um banho de imersão em fungicida, durante 10 a 15 minutos. O fungicida recomendado à base de Quintozene, Triclorometil e Etridiazole é usado numa proporção de 150 ml por litro de água (COPERSUCAR, 1982). Além desse produto, BAILEY (1977b; 1983) encontrou que toletes tratados com 500 ppm i.a. de Triadimefon tiveram uma diminuição significativa na taxa de infecção em cana-planta. No Brasil, segundo ABRAMO FILHO & SORDI (1987), os fungicidas Triadimenol, Propiconazole, San-619 líquido e Fuzilazole, mostraram ser ligeiramente superiores ao Triadimefon.

Por outro lado, as mudas sadias de cana-de-açúcar podem ser obtidas através de culturas de meristemas feitas em biofábricas de mudas de cana (HENDRE *et alii*, 1983; LEE, 1984). Neste processo, mini-toletes são inicialmente submetidos ao tratamento térmico convencional de água quente a 50,5° C por duas horas ou 52° C por 30 minutos. As plantas então recebem a termoterapia a 37° C por 15 dias e, das plantas em desenvolvimento, são extraídos os meristemas apicais com cerca de 2mm, sendo estes cultivados em um meio líquido. Dentro de 30 dias, os meristemas desenvolvem-se em brotos sem raízes, podendo então ser multiplicados rapidamente. O controle do carvão é conseguido pois o fungo *Ustilago scitaminea* desenvolve-se com facilidade no meio de cultura de tecidos e qualquer meristema que tenha sido contaminado, embora sem apresentar sintomas, poderá ser detectado durante o desenvolvimento. Dependendo do grau de infecção, os meristemas morrerão imediatamente, ou ainda conseguirão se desenvolver até tornarem-se plântulas completas com formação de chicotes (LEE, 1988). O método tem recebido grande atenção, sendo utilizado por várias empresas instaladas no estado de São Paulo (LEE, 1992).

Contudo, apesar da boa eficiência do método, a grande atenção durante a formação do viveiro não deve ser esquecida para uma efetiva redução de inóculo inicial das mudas que formarão os canaviais comerciais.

2.1.4.2. Erradicação de campos infectados

Podendo ser efetivo para algumas situações especiais, o controle do carvão da cana-de-açúcar através da erradicação de campos infectados pode possibilitar ao produtor a manutenção da variedade suscetível ou moderadamente suscetível até

completar o plantio com uma variedade mais resistente. No Havai, essa medida foi empregada com relativo sucesso (FERREIRA & COMSTOCK, 1989). No estado de São Paulo, CARVALHO (1963) atribuiu às medidas de erradicação e ao uso de variedades resistentes o controle quase completo da doença e, recentemente, foi recomendada a erradicação de canaviais da variedade NA56-79 com mais de 2% de infecção (CCCCA, 1985).

2.1.4.3. "Roguing" de touceiras infectadas

O "roguing" de touceiras infectadas tem sido largamente recomendado como uma maneira usual e efetiva de controlar o carvão no campo (ANTOINE, 1961; LEE-LOVICK, 1978). O "roguing" de toda a touceira é laborioso, intensivo e geralmente não prático, onde altas incidências ocorrem envolvendo grandes áreas (BAILEY, 1977a). Consequentemente, o "roguing" de chicotes tem sido recomendado por ser similar à remoção de toda a touceira no controle do carvão e mostrar-se menos laborioso. Ele tem a desvantagem, contudo, da possibilidade de produção de novos chicotes pela mesma touceira.

JAMES (1974) mostrou que o "roguing" de chicotes ou touceiras não faz diminuir a incidência de carvão, pelo contrário, pode aumentá-la nas variedades NCo310 e NCo376. Ele atribuiu este fato à emissão de novos chicotes por perfilhos resultantes do efeito da compensação das plantas eliminadas pelo "roguing". Interessantemente, sob algumas condições, como baixa fertilidade do solo e umidade abaixo da capacidade de campo, o "roguing" proporcionou bons resultados em condições de baixa incidência de carvão. Estes estudos sugerem que o "roguing" em campos comerciais, particularmente diante de infecções pesadas de carvão, não traria benefício ao produtor.

No estado de São Paulo, a Comissão de Controle do Carvão da Cana-de-açúcar (CCCCA), manteve fiscais que percorriam todas as áreas canavieiras paulistas, inspecionando canaviais, detectando focos de carvão e intimando os agricultores a eliminá-los. Porém, com a inobservância por parte dos agricultores das mínimas recomendações fitossanitárias, ocorreu o aumento da incidência de carvão na variedade NA56-79. Diante de tal fato, a SAA 11 de 04/03/85, determinou, entre outras medidas, a prática do "roguing" para eliminar soqueiras doentes em canaviais com incidência da doença inferior a 2% (CCCCA,1985). Em consequência disso, no estado de São Paulo, o "roguing" foi praticado em grandes áreas, como notificado por BERGAMIN FILHO *et alii* (1986) e CCCCCA (1976; 1978; 1981; 1984; 1986).

Apesar do limitado valor em campos comerciais, o "roguing" pode ser efetivo em viveiros, onde a incidência de carvão é geralmente baixa. Se o produtor decidir pelo "roguing", ele pode escolher entre o químico e o mecânico, sendo o primeiro bem mais rápido.

2.1.4.4. Rotação de culturas

O uso da rotação com uma cultura não hospedeira para diminuir o inóculo do solo foi recomendado por ANTOINE (1961), sendo sugeridas as culturas de alfafa e milho. Contudo, para grandes produtores ou situações onde o plantio contínuo de cana-de-açúcar seja necessário, é duvidoso que esta medida seja efetiva.

2.1.4.5. Plantio de variedades resistentes

A maneira mais eficiente e econômica de se controlar o carvão da cana-de-açúcar é através do uso de variedades resistentes (ANTOINE, 1961; TOKESHI, 1980; IRVINE, 1982; BERGAMIN FILHO *et alii*, 1987; FERREIRA & COMSTOCK, 1989).

A variabilidade genética para resistência ao carvão ocorre em todas as espécies de *Saccharum* e, por essa razão, variedades resistentes têm sido desenvolvidas e usadas na Argentina, Maurício, Zimbábue, Cuba, Índia, África do Sul, Brasil, Barbados e Havaí (CHONA, 1957; ANTOINE, 1961; BAILEY, 1977a; LEE-LOVICK, 1978; COMSTOCK *et alii*, 1983; MATSUOKA *et alii*, 1986; MACHADO *et alii*, 1987; FERREIRA & COMSTOCK, 1989). Portanto, a maioria dos países produtores de cana-de-açúcar procuram explorar os mecanismos de defesa da planta para controlar a doença.

2.2. Mecanismos de resistência

Embora a interação cana x *Ustilago scitaminea* seja bastante complexa, é certo que o patógeno precisa alcançar os tecidos meristemáticos das gemas do hospedeiro para o sucesso do processo de infecção (WALLER, 1970). Este trajeto pode então ser dificultado e até impedido pela resistência das gemas proporcionada por barreiras físicas e/ou bioquímicas das escamas (WALLER, 1970; LLOYD & PILLAY, 1980; DEAN, 1982; LLOYD & NAIDOO, 1981) e/ou bainhas (GIGLIOTI & TOKESHI, 1991). Uma vez atingidas as regiões meristemáticas, o esporo do fungo pode ou não infectar a planta, o que depende do grau de resistência dos tecidos internos (DEAN, 1982; ELSTON & SIMMONDS, 1988).

2.2.1. Resistência das gemas e bainhas

A resistência das gemas é hoje considerada mais como um mecanismo de resistência mecânica que bioquímica à infecção. Ela depende de vários fatores, principalmente do isolamento proporcionado pelas escamas protetivas (WALLER, 1970). Na prática, esta resistência é raramente absoluta (conferindo imunidade), dependendo da idade das gemas, concentração de esporos e genótipo do hospedeiro; este último determinando o grau de isolamento proporcionado pelas escamas das gemas e bainhas protetivas.

A idade das gemas, proporcionando diferenciação dos tecidos, à medida que o tempo passa, determina maior resistência às gemas mais velhas (BOCK, 1964; BYTHER & STEINER, 1974). Por sorte os meristemas apicais e gemas muito jovens são geralmente protegidas pelo cartucho e folhas verdes que permanecem aderidas ao colmo.

Uma certa concentração de esporos é requerida na superfície das gemas para que a infecção ocorra. Sob condições de campo, a proteção das escamas das gemas e bainhas pode determinar a quantidade de inóculo que atinge os tecidos internos. O papel exercido pelas bainhas e folhas parece ser mais importante do que vem sendo considerado, como demonstrado por GIGLIOTI & TOKESHI (1991). Estes autores, removendo as bainhas das variedades NA56-79 e RB72454, encontraram uma maior taxa de infecção nas gemas basais e da coroa. Consequentemente a evolução do carvão da cana-planta para a soca foi também maior nas parcelas de onde as bainhas foram retiradas.

Várias características morfológicas e de crescimento das gemas estão correlacionadas com a resistência ao carvão, por atuarem como barreira física ou

fisiológica à penetração pelo fungo. Essa resistência pode ser devida ao formato das gemas (WALLER, 1970; MUTHUSAMY, 1974), proteção maior ou menor oferecida pelas escamas (WALLER, 1970), presença ou ausência de lesões nas gemas (WALLER, 1970) e estágio de germinação das gemas (BOCK, 1964; WALLER, 1970). Por outro lado, existem também evidências que suportam o envolvimento de fatores fisiológicos das gemas na resistência. RAMPERSAD & BRATHWAITE (1985) encontraram menor germinação de esporos e crescimento de hifas em exsudatos de gemas da variedade resistente B41-227 que na suscetível H37-41 e na moderadamente resistente BT64134.

Com relação à morfologia das gemas, a presença de uma borda na escama ou de um canal na gema e a localização do poro germinativo pode afetar diretamente a entrada de esporos por baixo das escamas. Já a taxa de germinação e crescimento pode afetar o acesso da hifa infectiva às regiões meristemáticas da base das escamas das gemas em crescimento. O papel do tamanho das gemas, o qual está altamente correlacionado com resistência, é mais obscuro (WALLER, 1970).

2.2.2. Resistência dos tecidos internos

Através da resistência dos tecidos internos, a planta pode dificultar ou até impedir o crescimento da hifa de *Ustilago scitaminea* no interior do colmo de cana-de-açúcar, determinando o número de primórdios de perfilhos infectados em uma planta. De acordo com WHITTLE & WALKER (1982), quanto maior a resistência dos tecidos internos menor o grau de sistemicidade da colonização do fungo (chicotes/touceiras). Por este motivo, a resistência à sistemicidade pode limitar a incidência de doença sobre determinada variedade o que sugere a necessidade de sua quantificação.

Diante do exposto, observa-se que, quando se procura solucionar o problema de resistência ao carvão, deparamos com uma certa dificuldade, pois o número de variáveis interferindo na avaliação da resistência é bastante grande. Além disso, deve-se dirigir especial atenção na escolha de metodologias para obtenção de variedades resistentes, de maneira a proporcionar condições nas quais o maior número possível de mecanismos de defesa da planta possa expressar seus efeitos, o que possibilitaria uma boa correlação entre a reação varietal nos testes e nos campos comerciais.

2.3. Obtenção de variedades resistentes

A obtenção de variedades resistentes é uma preocupação comum da maioria dos países produtores de cana-de-açúcar (COMSTOCK *et alii*, 1983). Para tanto, considerando o carvão, a seleção ativa é a estratégia mais adequada na seleção de progenitores, sempre que possível, e de progênes por inoculação artificial ou natural. Neste particular, a seleção precoce tem contribuído de maneira significativa para aumentar os percentuais de clones resistentes selecionados em testes finais para a liberação de variedades resistentes (SILVA, 1978; MATSUOKA, 1979).

Diante do exposto, fica evidente a necessidade de metodologias adequadas para determinar a resistência apresentada por clones de cana-de-açúcar a *Ustilago scitaminea*.

2.3.1. Técnicas de inoculação

As técnicas de inoculação de *U. scitaminea* variam extensivamente. Algumas das técnicas mais comumente reportadas incluem a aplicação de teliosporos no

palmito, polvilhamento das gemas com esporos, plantio em solos misturados com esporos, utilização de vácuo ou ferimentos para introduzir os esporos nas gemas, inoculação em sementes e inoculação de "seedlings" cultivados "in vitro" (SANGUINO & TOKESHI, 1976; SILVA, 1978; MATSUOKA, 1979; FEREOL, 1984; FERREIRA & COMSTOCK, 1989). Como esperado, o uso e sucesso dessas técnicas são altamente variáveis.

De todos os métodos de inoculação relatados, os processos de inoculação por imersão, puncturas das gemas e via natural são mais comumente utilizados e o de inoculação em cana em pé mostra-se bastante interessante.

2.3.1.1. Inoculação natural

Este processo de inoculação indireta é usado em Zimbabwe, Havai e Maurício (FERREIRA & COMSTOCK, 1989). Em Zimbabwe, o teste de inoculação natural é usado rotineiramente. No Havai, ele é usado para reavaliar variedades com reações intermediárias ou suscetíveis.

A técnica é conduzida pela exposição de variedades-teste a altos níveis de inóculo de carvão. Geralmente, as variedades-teste são plantas adjacentes à uma variedade suscetível inoculada ou infectada sistemicamente a qual serve como fonte de inóculo (COMSTOCK *et alii*, 1983).

Para infecções de campo, largas áreas são necessárias, um alto nível natural de inóculo precisa ser obtido e um tempo relativamente longo é requerido (BYTHER & STEINER, 1974). Isto é explicado pelo baixo desenvolvimento de chicotes em cana-planta, daí requerendo duas ou mais soqueiras (JAMES, 1969a; LADD *et alii*, 1975).

2.3.1.2. Inoculação por imersão

A inoculação pelo processo de imersão em suspensão de esporos é usada rotineiramente no Brasil, EUA (Flórida e Havai), Guiana, Índia, Jamaica e Filipinas, tendo considerável variação entre países (COMSTOCK *et alii*, 1983; FERREIRA & COMSTOCK, 1989).

No estado de São Paulo, todos os novos clones das instituições de melhoramento eram, no final, submetidos a testes de inoculação por imersão pela Comissão de Controle do Carvão da Cana-de-açúcar, para liberação oficial (CCCCA, 1985).

A técnica consistia na imersão de toletes de uma a três gemas em suspensão aquosa de esporos. O tempo de imersão varia de 10 minutos a 12 horas e a concentração de inóculo de aproximadamente $2,5 \times 10^6$ a 5×10^8 teliosporos/ml. Algumas vezes, mudas inoculadas são submetidas a um tratamento de incubação, antes do plantio, para aumentar a eficiência da inoculação. Descrições detalhadas do processo de inoculação por imersão, usado em diferentes países, são encontradas em citações bibliográficas agrupadas por FERREIRA & COMSTOCK (1989).

A preferência ao método é justificada por este ser o que proporciona resultados que mais se aproximam da situação observada em plantios comerciais, tendo coeficiente de correlação com inoculação natural acima de 0,7 (FERREIRA *et alii*, 1980).

Devido à alta variabilidade do método de imersão, WALLER (1970), estudando o problema, estabeleceu que o número mínimo para se obter resultado de confiabilidade seria inocular 1000 gemas/variedade. Considerando, contudo a inviabilidade prática deste número, estabeleceu ele a necessidade de, no mínimo, 200

gemas. Mesmo assim, ainda é difícil a adoção dessa técnica com tal número porque há necessidade de plantio em campo e condução das plantas durante 12 a 18 meses, em cana-planta e cana-soca, pelo menos. Na prática, utiliza-se comumente de 20 a 50 gemas. Assim, o teste de imersão realizado com esse número reduzido de gemas, não é de alta confiabilidade (MATSUOKA, 1979).

2.3.1.3. Inoculação por punctura da gema

O processo de inoculação através de punctura das gemas é usado em Taiwan e no Brasil. Neste segundo, sua utilização é conjugada com outros métodos (FERREIRA & COMSTOCK, 1989).

O princípio metodológico envolve o uso de ferimentos na gema para possibilitar ao patógeno o acesso ao hospedeiro. A maneira como é feito o ferimento é variável, ora fazendo de duas a seis punções em gemas pré-pinceladas com uma densa pasta de esporos, ora utilizando um pincel com duas agulhas soldadas, distanciadas 3 mm entre si, contaminado com uma pasta de esporos fazendo-se uma punção na base da gema (LEU *et alii*, 1970; MATSUOKA, 1979).

Esta técnica, quando utilizada com a finalidade de realizar pré-testagens e eliminar apenas os clones altamente suscetíveis, possibilita o descarte de 60 a 70% daqueles realmente suscetíveis e também tem sido empregada na avaliação da resistência ou suscetibilidade de variedades progenitoras. Além disso, possibilita testar um número grande de clones e, em inoculações feitas com sucesso, o resultado pode ser obtido em apenas 6 meses sem a necessidade de plantio em campo, o que torna o método viável em programas de melhoramento de cana-de-açúcar que envolvem grande volume de material (MATSUOKA, 1979; MATSUOKA *et alii*, 1986).

Sua preferência é justificada por mostrar menor variabilidade de resultados, quando comparados ao método de imersão (LEU *et alii*, 1970). Contudo, a punctura das gemas é um dos métodos de inoculação mais artificiais e severos, podendo eliminar a resistência oferecida pela gema da cana-de-açúcar, seja ela de natureza morfológica ou bioquímica. Além disso, alguns trabalhos apontam a existência de uma baixa correlação entre a reação de plantas submetidas à inoculação com ferimentos e a reação de plantas submetidas à inoculação natural, provendo, por vezes, a eliminação de clones que em condições normais de cultivos se comportariam como resistentes (BYTHER & STEINER, 1974; NASR, 1977; LEE-LOVICK, 1978; DEAN, 1982; BENDA, 1987). Contudo, MATSUOKA *et alii* (1986), comparando resultados obtidos através do teste de punctura com os obtidos em testes de imersão, demonstraram que o teste de punctura elimina apenas clones altamente suscetíveis, quando aplicado para a separação preliminar das variedades em três grandes grupos: resistentes, intermediárias e suscetíveis. Tal separação é bastante útil nos programas de melhoramento pois se manuseia milhares de clones, e outros testes seriam inviáveis ou pouco práticos.

2.3.1.4. Inoculação de cana em pé

Sob condições naturais, gemas laterais em cana em pé podem ficar infectadas. Tais infecções são comuns em campos sujeitos a intenso bombadeamento por esporos de carvão, a partir tanto de fontes internas como de fontes externas ao próprio campo. (FERREIRA & COMSTOCK, 1989).

O processo de inoculação de cana em pé consiste na remoção das folhas de colmos com seis meses de idade e inoculação das gemas. Decorridos 70 dias da inoculação, com o estímulo de desenvolvimento das gemas e eventuais chicotes visíveis,

os colmos são cortados, plantados e a avaliação da porcentagem de infecção é determinada após cinco meses.

LUTHRA *et alii* (1938) inoculou, com sucesso, gemas de cana em pé com uma suspensão de esporos e BYTHER & STEINER (1974) mostraram haver correlação direta entre a reação de colmos à inoculação da cana em pé por várias metodologias e a reação em condições de campo. Além disso, segundo LEE-LOVICK (1978), esta técnica requer menor área que as outras, mais repetições podem ser feitas e mais resultados são obtidos por unidade de área.

2.3.2. Parâmetros para diferenciar variedades quanto ao nível de resistência ao carvão

A avaliação da reação varietal ao carvão é, geralmente, similar entre os países produtores de cana-de-açúcar. Com exceção de Zimbabwe, que utiliza o número de chicotes por hectare, todos os países confiam na porcentagem de colmos infectados (FERREIRA & COMSTOCK, 1989). Contudo, estudos recentes têm sugerido análises das curvas de progresso da doença para caracterização de variedades quanto ao nível de resistência (MOMOL, 1986; SUZUKI, 1990; AMORIM & BERGAMIN FILHO, 1991a, 1991b; AMORIM *et alii*, 1993).

2.3.2.1 Número de chicotes por hectare

Utilizada em Zimbabwe, esta técnica consiste em estimar a infecção através da extrapolação do número de chicotes obtido em pequenas parcelas para um

campo base. Assim, a determinação da reação à doença é feita com base no número de chicotes por hectare.

A baixa utilização dessa metodologia é justificada pela não consideração do número de plantas sadias, uma vez que a incidência é, neste caso, melhor expressa em porcentagem de plantas infectadas (FERREIRA & COMSTOCK, 1989).

2.3.2.2. Porcentagem de colmos infectados

Na maior parte dos países, a reação varietal ao carvão é avaliada através da escala de zero a nove proposta por HUTCHINSON (1970). O grau zero corresponde a uma reação altamente resistente e, o grau nove, altamente suscetível. Há, contudo, uma falta de uniformidade na transformação do percentual de infecção para o grau da escala. O limite de infecção, abaixo do qual a variedade é considerada resistente, varia de zero a 15%, com a maioria dos patologistas adotando 10%. Variação também ocorre na indicação de reações intermediárias e suscetíveis. Para suscetibilidade, o limite varia de 16 a 40%, com média de 25% (FERREIRA & COMSTOCK, 1989).

No Brasil, as variedades eram classificadas pela Comissão de Controle do Carvão da Cana-de-açúcar no estado de São Paulo através de uma escala baseada no índice de infecção. A avaliação era feita através de inoculações artificiais por imersão, considerando-se a porcentagem de perfilhos com carvão, após seis meses do corte da cana-planta (FIGUEIREDO *et alii*, 1980).

A classificação de variedades através de escalas pré-estabelecidas está, contudo, sujeita à variações de um ano para outro, por não considerar as condições climáticas do período, fator que pode aumentar ou diminuir o índice de infecção.

Por outro lado, quando se utiliza inoculação por imersão, a porcentagem de colmos infectados é um parâmetro pouco sensível, proporcionando um número elevado de variedades a serem retestadas, o que é observado em FIGUEIREDO *et alii* (1980; 1982; 1983; 1985).

Embora a porcentagem de colmos infectados seja o parâmetro mais utilizado para se avaliar o carvão da cana-de-açúcar, outras considerações podem ser importantes na avaliação da resistência. Em ensaios para entender a base fisiológica da resistência, LLOYD & PILLAY (1980) mostraram que a infecção da gema foi inversamente proporcional à concentração de substâncias de baixo peso molecular, as quais inibiram a germinação de teliosporos. Esta relação não é absoluta, segundo LLOYD & NAIDOO (1981), pois existem outros fatores diferentes e independentes que governam a infecção das gemas. Eles mostraram que tais formas de resistência variam diretamente com a taxa de colonização do tecido e subsequente desenvolvimento haustorial. Esta observação poderia considerar o período de incubação para o desenvolvimento do chicote (PRASADARAO *et alii*, 1979) e a redução da severidade ao carvão em soqueiras sucessivas de algumas variedades (JAMES, 1969a; WHITTLE, 1978; FERREIRA *et alii*, 1980).

Além disso, estudos de curvas anuais e poliéticas de progresso da doença, em parcelas inoculadas, mostraram que os valores do inóculo inicial e da assíntota máxima refletem a resistência de variedades, apresentando-se como parâmetros mais consistentes que a taxa aparente de infecção na diferenciação de variedades (AMORIM, 1989). Tais estudos sugerem que a resistência deveria ser avaliada considerando-se o inóculo inicial e o desenvolvimento da doença após a infecção, em adição à avaliação da porcentagem de colmos infectados.

2.3.2.3. Elementos da curva de progresso da doença

A comparação de genótipos quanto ao nível de resistência a um certo patógeno pode, epidemiologicamente, ser feita através dos elementos da curva de progresso da doença (KRANZ, 1974a; CAMPBELL & MADDEN, 1990), usualmente construída com valores acumulativos de incidência ou severidade da doença em função do tempo (VANDERPLANK, 1963). Estes elementos, estimados por diferentes modelos matemáticos, incluem, entre outros, a quantidade de inóculo inicial (Y_0), a taxa aparente de infecção (r) e a quantidade máxima de doença (Y máxima). O modelo monomolecular, que se ajusta bem às doenças de juro simples (VANDERPLANK, 1963) e os modelos logístico (VANDERPLANK, 1963) e de Gompertz (KRANZ, 1974b) conhecidos por mostrarem melhor ajustes às doenças de juro compostos são utilizados com frequência para compreender epidemias de doenças de plantas.

Embora os processos envolvidos na evolução de epidemias já tenham sido muito estudados em outros patossistemas (VANDERPLANK, 1963; AUST & KRANZ, 1988), a utilização de curvas de progresso da doença para melhor compreender a complexa interação *Ustilago scitaminea* X cana-de-açúcar é bastante recente (BERGAMIN FILHO *et alii*, 1986; MOMOL, 1986; BERGAMIN FILHO *et alii*, 1987; CARDOSO *et alii*, 1988; SUZUKI, 1990; AMORIM & BERGAMIN FILHO, 1991a, 1991b; AMORIM *et alii*, 1993).

Pelo fato do fungo *U. scitaminea* produzir, na maioria dos casos estudados, pelo menos dois ciclos de infecção, durante cada ciclo anual da cultura, a curva de progresso do carvão apresenta um padrão duplo-sigmóide caracterizado por duas ondas distintas de produção de chicotes, dificultando sua análise pelos modelos tradicionais. Por este motivo, AMORIM & BERGAMIN FILHO (1991a) subdividiram as

curvas de progresso do carvão em duas partes, as quais foram analisadas separadamente. A maioria das curvas estudadas por estes autores teve a primeira fase, ou primeira onda, ajustada pelo modelo monomolecular. A segunda onda, no entanto, foi melhor descrita pelo modelo logístico. Posteriormente, o desenvolvimento de funções matemáticas que, a partir de generalizações dos modelos tradicionais simples monomolecular, logístico e Gompertz, possibilitou a descrição de toda a curva anual de progresso do carvão, sem a necessidade de subdivisões (AMORIM *et alii*, 1993). Isto é possível, pois estas generalizações consideram a curva de progresso da doença como um único processo com taxa de infecção variável expressa por uma função parabólica de tempo (HAU *et alii*, 1993).

A análise da curva de progresso do carvão através dos modelos generalizados permite, além de ajustes com alta precisão, a estimativa de vários parâmetros de importância epidemiológica tais como a taxa de infecção média, a duração do período latente, a assíntota máxima de doença e o tempo de transição da primeira para a segunda fase (AMORIM *et alii*, 1993). Por esse motivo, o desenvolvimento dessas equações representam um grande avanço para melhor interpretar as curvas de progresso do carvão.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Local e variedades

O experimento foi conduzido em um solo podzólico vermelho-amarelo eutrófico da Usina Santa Helena S/A Açúcar e Alcool (SP), onde estudou-se o nível de resistência de 15 variedades de cana-de-açúcar a *Ustilago scitaminea* através do inóculo inicial das mudas (Xo das mudas) e da evolução da doença em cana-soca.

A escolha dos padrões (resistente = SP70-1143, intermediário = NA56-79 e suscetível = IAC66/6) baseou-se em trabalhos feitos pela Comissão de Controle do Carvão da Cana-de-açúcar do Estado de São Paulo (FIGUEIREDO *et alii*, 1980, 1985). As outras 12 variedades-teste foram escolhidas em comum acordo com o corpo técnico da Usina. A reação ao carvão apresentada pela maioria destas variedades-teste já havia sido determinada anteriormente, sob condições de inoculações artificiais, sendo os níveis de resistência apresentados a seguir:

RB72454 = SUSCETÍVEL (CCCCA¹)

RB765418 = RESISTENTE (IAA/PLANALSUCAR, 1988b)

RB785148 = INTERMEDIÁRIO (IAA/PLANALSUCAR, 1988b)

SP70-1284 = MODERADAMENTE RESISTENTE

(COPERSUCAR, 1989)

SP71-6163 = MODERADAMENTE RESISTENTE

(CCCCA, 1985)

¹ Citado por IAA/PLANALSUCAR. RB72454: Resultados experimentais no centro-sul e norte-nordeste do Brasil. *Brasil Açucareiro*, Rio de Janeiro, 106(1):11-39, 1988a.

SP72-4928 = MODERADAMENTE RESISTENTE

(CCCCA,1985)

SP79-1011 = SUSCETÍVEL (COPERSUCar, 1991)

RB785343 = INTERMEDIÁRIO (CCA/UFSCar²)

RB785554 = INTERMEDIÁRIO (CCA/UFSCar²)

RB805246 = RESISTENTE (CCA/UFSCar²)

RB806043 = INTERMEDIÁRIO (CCA/UFSCar²)

RB855176 = SUSCETÍVEL (CCA/UFSCar²)

3.2. Delineamento experimental

Como pode ser visto nos Apêndices 1 e 2, instalou-se dois blocos na Usina Santa Helena S/A Açúcar & Alcool. O bloco 1 foi composto por variedades de maturação precoce e média e o outro (bloco 2) por variedades tardias. Desta forma, o bloco 1 (variedades precoces e médias) poderia ser avaliado mais cedo que o bloco 2 (variedades tardias) para proporcionar maior tempo de crescimento para as tardias ou para dividir a necessidade de mão-de-obra, caso necessário. Para tanto, os padrões tiveram que ser incluídos nos dois blocos.

Os tratamentos foram representados por três variedades padrões: SP70-1143 (resistente); NA56-79 (intermediária); e IAC66/6 (suscetível) e 12 variedades-teste (referidas anteriormente). Adjacente às variedades-teste, a variedade NA56-79 foi incluída para servir como "fonte de inóculo".

Com exceção da SP70-1143 e NA56-79 que possuíam 11 parcelas, os tratamentos foram repetidos 10 vezes, sendo cada parcela constituída por um sulco de 10

² MATSUOKA, S. (comunicação pessoal).

metros de comprimento. Portanto, o experimento foi construído com 92 parcelas distribuídas inteiramente ao acaso, em cada bloco.

3.3. Preparo da área e plantio

Escolhida a área a ser instalado o experimento, o solo foi preparado de acordo com o usual da unidade produtora. Posteriormente, foram abertos sulcos para a realização do plantio, num espaçamento de 1,35 metros e profundidade de 25 centímetros.

O plantio das variedades-teste, em abril de 1991, foi feito com mudas originadas de viveiros da Usina Santa Helena S/A Açúcar & Alcool, da Cooperativa dos Plantadores de Cana de Piracicaba e do Centro de Ciências Agrárias/UFSCAR (CCA/UFSCAR). Utilizou-se uma densidade de plantio de 15 gemas por metro de sulco e colmos inteiros.

As parcelas da NA56-79 "fonte de inóculo" foram plantadas com mudas contaminadas e submetidas à inoculação artificial. Esta tarefa determinou o plantio da "fonte de inóculo" com "toletes de gemas" distribuídos à uma densidade de 15 gemas por metro de sulco.

3.4. Método de inoculação

No presente estudo, utilizou-se o método de inoculação indireta conhecido como infecção natural, plantando-se as variedades-teste adjacentes à variedade NA56-79 "fonte de inóculo". Esta variedade liberou esporos a partir de chicotes que

constituíram o potencial de inóculo para prover infecções nas gemas basais da coroa, nos perfilhos em desenvolvimento e nas gemas laterais da cana em pé.

A produção de chicotes pela "fonte de inóculo" foi conseguida com plantio de mudas contaminadas e inoculadas artificialmente. Para tanto, as mudas foram colhidas em um canavial comercial infestado pelo carvão, despalhadas, cortadas em toletes de três gemas e inoculadas através do pincelamento das gemas com pasta de esporos (teliosporos mais solução açucarada a 2% p/v). Posteriormente, o material inoculado foi acondicionado em saco plástico em pacotes de 50 toletes, que foram mantidos, durante três dias, cobertos com palha de cana úmida. Este método de inoculação é uma adaptação feita ao método de pincel com câmara úmida de palha de cana utilizado por HIRSCHHORN (1949) com boa eficiência.

Os esporos utilizados nas inoculações artificiais foram fornecidos pelo CCA/UFSCAR. Antes das inoculações, foram submetidos ao teste de germinação descrito por MATA & TOKESHI (1976) e constatou-se uma germinação de 91,64%.

Para se ter uma idéia do inóculo proporcionado, o número de chicotes produzidos pela cana-planta da NA56-79 "fonte de inóculo" foi quantificado. Para tanto, foram feitas avaliações em julho/91, setembro/91, outubro/91 e janeiro/92, contando-se o número de chicotes. Estes dados permitiram estimar o nível de inóculo em chicotes por hectare (CHIC/ha).

Após o corte da cana-planta (09/maio/1992), durante o ciclo da cana-soca, as variedades-teste estiveram sujeitas a uma pressão de inóculo proporcionada pelos esporos liberados a partir de chicotes emitidos pela soqueira da NA56-79 "fonte de inóculo". Para se ter idéia do nível de inóculo produzido, estes chicotes foram quantificados e os dados submetidos à análises epidemiológicas, de acordo com a metodologia descrita no item 3.6.1.

3.5. Avaliação da resistência varietal através do inóculo inicial das mudas (Xo das mudas)

3.5.1. Inóculo inicial das mudas (Xo das mudas)

Após o experimento ter sido conduzido com adubações e controle de plantas daninhas de acordo com o usual da empresa, as parcelas foram preparadas para a determinação do Xo das mudas. Para tanto, utilizando a metodologia de determinação da porcentagem de infecção nas mudas, foram necessárias as seguintes tarefas:

- **Limpeza e decepta das canas:** realizada em janeiro de 1992, quando as mudas encontravam-se com nove meses de idade. A limpeza das canas foi feita retirando-se todas as bainhas e folhas que permaneciam envolvendo os colmos, visando facilitar a visualização por ocasião das avaliações. Logo em seguida, procedeu-se a decepta, descartando-se o palmito de cada cana em pé, sem danificar os colmos e as gemas. Com isso, a dominância apical foi quebrada e o brotamento das gemas laterais iniciado.

- **Contagem do número de chicotes produzidos pelos brotos laterais:** A emissão de chicotes foi quantificada, quinzenalmente, até três meses da decepta das canas (tempo de avaliação). Nas avaliações, contou-se o número de chicotes os quais eram eliminados e a posição das gemas marcadas com fitas plásticas coloridas.

- **Contagem do número total de colmos, total de gemas e brotos laterais:** Cada parcela (10m de sulco) foi submetida a uma amostragem de quatro metros de sulco (40%) que continha, em média, 40 colmos com 12 gemas. Nesta amostra, as contagens foram realizadas e o valor obtido extrapolado para 10m (parcela).

- **Cálculo da taxa de infecção das mudas (TIM):** através dos dados de número de chicotes produzidos nos três meses de avaliação e de total de gemas avaliadas,

foi calculada a porcentagem de gemas infectadas (TIM = frequência de infecções nas gemas laterais das mudas).

- **Cálculo do X_o das mudas:** para tanto, considerou-se que um hectare comercial de cana-planta possui, em média, 7400 metros lineares de sulco (espaçamento de 1,35 metros entre sulcos) e 88.800 gemas (12 gemas por metro linear de sulco). Assim, o X_o das mudas foi obtido pela fórmula (X_o das mudas = $TIM \times 888$).

- **Comparação de variedades:** a reação varietal ao carvão da cana-de-açúcar foi determinada submetendo-se os dados a análises estatísticas não-paramétricas pelo método de WILCOXON para duas amostras independentes (NOETHER, 1967; CAMPOS, 1983), tendo como referência o X_o apresentado pelos padrões de resistência.

3.5.2. Análise da época de emissão de chicotes pelos brotos laterais

Para verificar a validade em se utilizar apenas três meses como tempo de avaliação do X_o das mudas, a emissão de chicotes pelos brotos laterais foi avaliada quinzenalmente. Com estes dados, estudou-se a época de emissão de chicotes pelos brotos laterais, plotando-se o número de chicotes produzidos em função do tempo. Nestes gráficos foram identificados os picos de emissão de chicotes das variedades estudadas.

3.5.3. Posição da gema e sua contribuição para a quantidade total de doença

Como foi visto anteriormente, a posição das gemas que haviam produzido chicotes era marcada. Assim, determinou-se a proporção de doença observada em cada

gema, em relação à quantidade total observada no colmo (Xo), considerando todas as variedades como um único conjunto de dados.

As gemas foram enumeradas de maneira que a primeira visível acima do nível do solo correspondia à gema número 1, a segunda número 2 e assim sucessivamente até a número 12.

3.6. Avaliação da resistência de variedades através da evolução da doença em cana-soca

Em nove de maio de 1992, a cana-planta foi cortada e, a partir desta data, as avaliações do número de chicotes emitidos na soca foram realizadas, em intervalos de 14 dias, até a cultura atingir 10 meses de idade (março de 1993). Os chicotes observados foram marcados com fita plástica permitindo que, a cada avaliação, chicotes novos fossem diferenciados dos demais.

Com os dados obtidos nas avaliações foram elaboradas curvas anuais de progresso da doença em cana-soca. Estas curvas descrevem o crescimento do carvão no tempo, dentro de um ano de cultivo (cana-soca), sendo representadas com os valores cumulativos de incidência de carvão expressa em chicotes (CHIC) e touceiras doentes (TD) por hectare.

3.6.1. Análise epidemiológica das curvas de progresso do carvão em cana-soca

A análise do progresso do carvão na NA56-79 "fonte de inóculo" foi feita utilizando-se apenas a incidência em CHIC/ha pois este parâmetro, comparado ao número de TD/ha, representa melhor o inóculo presente na área.

O modelo de Gompertz generalizado (HAU *et alii*, 1993), capaz de descrever curvas de crescimento em padrão duplo-sigmóide foi utilizado para as análises epidemiológicas do progresso do carvão em cana-soca. A escolha desse modelo é justificada pois, segundo AMORIM *et alii* (1993), se adapta muito bem ao patossistema *Ustilago scitaminea* X cana-de-açúcar, devido à sua maior flexibilidade, resultando em bom ajuste.

A equação do modelo de Gompertz generalizado constitui-se numa função simples com taxa de infecção variável com o tempo e pode ser escrita como:

$$Y(t) = B(1) * \text{EXP}(-\text{EXP}(-(B(2) + B(3)t + B(4)t^2 + B(5)t^3))), \text{ onde}$$

$B(1)$ é a quantidade máxima de doença (assíntota máxima) e $B(2)$ está relacionado com a quantidade inicial de doença ($B(2) = -\ln(-\ln(Y_0/B(1)))$). $B(3)$, $B(4)$ e $B(5)$ descrevem a taxa de infecção como uma função de tempo ($r(t) = B(3) + 2B(4)t + 3B(5)t^2$).

A taxa de infecção média pode ser obtida pela integral da função $r(t)$ da primeira (t_p) à última (t_u) observação de campo medida em dias. Então, a taxa de infecção média pode ser obtida pela fórmula:

$$r = (B(3)(t_u - t_p) + B(4)(t_u^2 - t_p^2) + B(5)(t_u^3 - t_p^3)) / (t_u - t_p).$$

Quando observou-se um crescimento contínuo, sem a presença de patamares, caracterizando um padrão de crescimento sigmóide simples, atribuiu-se o

valor zero para os parâmetros B(4) e B(5), possibilitando o traçado da curva de progresso da doença. Neste caso, a taxa de infecção é constante e igual a B(3).

Os parâmetros B(1), B(2), B(3), B(4) e B(5) foram quantificados através de regressões não-lineares sobre os dados obtidos na avaliação da doença. Estas análises foram conduzidas pelo método "Marquardt's Compromise" (DRAPER & SMITH, 1981) utilizados pelos programas "PlotIT" (EISENSMITH, 1985) e "BMDP" (DIXON, 1985), em um microcomputador da linha IBM-PC. A análise de variância de cada regressão indicou os valores dos coeficientes de determinação (R^2), indicando a precisão do ajuste, e os valores dos desvios-padrão da média, mostrando o intervalo de confiança de cada tratamento.

Através da derivada das curvas de progresso do carvão dadas pela função de Gompertz generalizada foram elaboradas as curvas de emissão de chicotes e touceiras doentes. Estas curvas representam o número de CHIC/ha e TD/ha produzido a cada dia. Desta forma, foi possível identificar os picos de emissão de CHIC e TD para cada variedade estudada.

3.6.2. Avaliação da resistência das variedades

A aplicação da função de Gompertz generalizada no patossistema carvão-cana-de-açúcar permite a determinação de vários parâmetros de importância epidemiológica. Dentre estes, a intensidade de doença aos seis meses de idade (IDS-6) e a assintota máxima (B(1)) expressas em chicotes (CHIC) e touceiras doentes (TD) por hectare foram utilizadas para caracterizar os níveis de resistência das variedades. Para tanto, baseou-se na reação apresentada pelos padrões de resistência e em análises

estatísticas não-paramétricas pelo método de WILCOXON para duas amostras independentes (NOETHER, 1967; CAMPOS, 1983).

A utilização da IDS-6 é justificada pois, no Havá (COMSTOCK *et alii*, 1983) e no Brasil (FIGUEIREDO *et alii*, 1980), a IDS-6 em cana-soca é o parâmetro tomado como base em estudos de resistência varietal nas fases finais dos programas de melhoramento. Quanto à assíntota máxima (B(1)), segundo AMORIM *et alii* (1993), este parâmetro mostra claras diferenças entre variedades constituindo-se no meio mais eficaz para se determinar a reação de uma variedade a *Ustilago scitaminea*.

A resistência à sistemicidade do fungo foi estimada pelo número de chicotes por touceira doente (CHIC/TD). Desta forma, considerou-se que quanto menor o número de CHIC/TD maior a resistência interna do tecido do colmo à colonização sistêmica de primórdios de perfilho da gema em brotação.

O número de CHIC/TD foi avaliado aos seis e 10 meses de idade, em cana-soca. Para tanto, dividiu-se a IDS-6 e B(1) expressas em CHIC/ha pela IDS-6 e B(1) expressas em TD/ha, respectivamente.

Os níveis de resistência à sistemicidade foram obtidos de acordo com a escala descritiva apresentada na Tabela 1.

Tabela 1. Escala descritiva para determinar o nível de resistência varietal à sistemicidade do fungo.

ESCALA DESCRITIVA	

CHIC/TD	NÍVEL DE RESISTÊNCIA

< 2,0	RESISTENTE
2,0 A 2,5	INTERMEDIÁRIO
> 2,5	SUSCETÍVEL

4. RESULTADOS

4.1. Método de inoculação

O inóculo produzido pela cana-planta da NA56-79 "fonte de inóculo" e expresso em chicotes/ha está representado na Tabela 2, onde nota-se também a porcentagem de chicotes emitidos em cada época em relação ao total observado.

Os níveis de inóculo foram iguais a 7.893,3 e 4.309 chicotes/ha nos blocos 1 e 2, respectivamente. A maioria dos chicotes, cerca de 72% do total, foi observada a partir de outubro (seis meses após o plantio).

Nota-se que o nível de inóculo produzido no bloco 2 foi menor que no bloco 1. Como o único fator de variação observado entre os blocos foi o encharcamento de várias parcelas do bloco 2, o menor potencial de inóculo pode ser atribuído a esse ou algum outro fator adverso não controlado. Contudo, o nível de inóculo observado no bloco 2 também foi relativamente alto.

O inóculo observado na soca da NA56-79 "fonte de inóculo" foi analisado através do modelo de Gompertz generalizado. Na Figura 1 estão representadas as curvas de progresso do carvão (estimada pelo modelo e observada no campo), os respectivos coeficientes de determinação (R^2) dos ajustes, as intensidades de doença aos seis meses (IDS-6) e as assintotas máximas de doença ($B(1)$).

De acordo com os resultados obtidos, a evolução do carvão na "fonte de inóculo" apresentou um padrão de crescimento sigmóide simples, sendo os parâmetros B_4 e B_5 iguais a zero. Assim, a emissão de chicotes foi contínua, sem a presença de patamares entre os diferentes ciclos do patógeno.

O pico de emissão de chicotes ocorreu aos 184 e 183 dias nos blocos 1 e 2, respectivamente. Com relação à assíntota máxima de doença ($B(1)$), a NA56-79 como "fonte de inóculo" proporcionou um inóculo relativamente alto ($B(1) = 22.520,85$ e $17.351,00$ chicotes/ha nos blocos 1 e 2, respectivamente).

4.2. Avaliação da resistência varietal através do inóculo inicial das mudas (Xo das mudas)

4.2.1. Inóculo inicial das mudas (Xo das mudas)

A reação varietal ao carvão da cana-de-açúcar foi determinada submetendo-se os dados obtidos (Apêndices 3, 4 e 5) a análises estatísticas não-paramétricas pelo método de WILCOXON para duas amostras independentes (NOETHER, 1967; CAMPOS, 1983), tendo como referência o Xo apresentado pelos padrões de resistência. O resumo dos resultados estão representados nas Tabelas 3 e 4 os quais encontram-se ilustrados nas Figuras 2 e 3.

Como pode ser visto nas Tabelas 3 (bloco 1) e 4 (bloco 2), o novo método para testes de resistência varietal baseado no Xo permitiu perfeitamente separar os níveis de resistência pré-estabelecidos para os padrões (SP70-1143 = resistente, NA56-79 = intermediária e IAC66/6 = suscetível). Com relação às variedades-teste do bloco 1 (Tabela 3), foram classificadas quatro como resistentes (SP70-1143, SP70-1011, RB785554 e RB805246), uma intermediária (RB785343) e uma suscetível (RB855176). No bloco 2 (Tabela 4), todas as variedades-teste comportaram-se como resistentes (RB785148, RB72454, RB806043, SP70-1284, SP72-4928 e SP71-6163).

Tabela 2. Inóculo produzido pela NA56-79 "fonte de inóculo" em cana-planta.

DATA DE AVALIAÇÃO	BLOCO 1		BLOCO 2	
	CHIC/ha*	% TOTAL	CHIC/ha*	% TOTAL
17/07/91	7,7	0,10	7,7	0,18
05/09/91	23,1	0,29	7,7	0,18
28/10/91	2173,7	27,54	1156,3	26,83
14/ 01/92	5688,7	72,07	3137,3	72,81
TOTAL	7893,3	100,00	4309,0	100,00

* Chicotes por hectare (média de 96 parcelas de 10 metros de sulco, considerando que 1 ha = 7400 m).

DADOS ACUMULADOS

DADOS ABSOLUTOS

FIGURA 1. Evolução do carvão da cana-de-açúcar (dados estimados — , dados observados no campo ■) na variedade NA56-79 "fonte de inóculo", em cana-soca.

Analisando-se a classe de variedades mais resistentes (Figura 3), nota-se que a quantidade de doença (X_o das mudas) foi também variável, indicando a presença de mecanismos de defesa parcial que caracterizam a resistência horizontal (VANDERPLANK, 1963). Estes resultados estão em acordo com a afirmação de TOKESHI (1983) de que a resistência horizontal é predominante em cana-de-açúcar. Desta forma, dependendo do interesse, este nível poderia ser subdividido para melhor orientar o manejo das variedades resistentes.

Tabela 3. Taxa de infecção das mudas (TIM), inóculo inicial das mudas (X_o) e níveis de resistência das variedades do bloco 1.

	TIM ¹	X_o ^{2,3}	NÍVEL DE RESISTÊNCIA
RB765418	0,0990	8,79 A	RESISTENTE
RB805246	0,3779	33,56 A	RESISTENTE
RB785554	0,1830	16,25 A	RESISTENTE
SP79-1011	0,2351	20,88 A	RESISTENTE
RB785343	1,3640	121,16 B	INTERMEDIÁRIO
RB855176	20,4539	1816,31 C	SUSCETÍVEL
SP70-1143*	0,0000	0,00 A	RESISTENTE
NA56-79*	2,4756	219,80 B	INTERMEDIÁRIO
IAC66/6*	23,9866	2130,01 C	SUSCETÍVEL

*Variedades padrões de resistência.

¹ TIM = Taxa de infecção das mudas (%x10).

² Letras diferentes indicam tratamentos com diferença estatística comprovada ao nível de 5% de probabilidade.

³ X_o = Inóculo inicial das mudas (CHIC/ha).

Tabela 4. Taxa de infecção das mudas (TIM), inóculo inicial das mudas (Xo) e níveis de resistência das variedades do bloco 2.

VARIEDADE	TIM ¹	Xo ^{2,3}	NÍVEL DE RESISTÊNCIA
RB785148	0,0000	0,00 A	RESISTENTE
RB72454	0,2404	21,35 A	RESISTENTE
RB806043	0,0000	0,00 A	RESISTENTE
SP70-1284	0,0000	0,00 A	RESISTENTE
SP72-4928	0,0000	0,00 A	RESISTENTE
SP71-6163	0,4813	42,74 A	RESISTENTE
SP70-1143*	0,0000	0,00 A	RESISTENTE
NA56-79*	2,3776	211,13 B	INTERMEDIÁRIO
IAC66/6*	15,1540	1345,68 C	SUSCETÍVEL

*Variedades padrões de resistência.

¹ TIM = Taxa de infecção das mudas (%x10).

² Letras diferentes indicam tratamentos com diferença estatística comprovada ao nível de 5% de probabilidade.

³ Xo = Inóculo inicial das mudas (CHIC/ha).

FIGURA 2. Contribuição do Xo das mudas para o inóculo inicial em cana-planta das variedades dos blocos 1 e 2.

FIGURA 3. Contribuição do X₀ das mudas para o inóculo inicial em cana-planta das variedades consideradas resistentes nos blocos 1 e 2.

4.2.2. Análise da época de emissão de chicotes pelos brotos laterais

A partir dos dados originais (Tabela 5) foram construídos os gráficos das Figuras 4 (bloco 1) e 5 (bloco 2), plotando-se a quantidade de doença em função do tempo. Devido à baixa quantidade de doença observada nas variedades resistentes (bloco 1 = RB765418, RB805246, RB785554, SP79-1011, SP70-1143; bloco 2 = RB785148, RB72454, RB806043, SP70-1284, SP72-4928, SP71-6163 e SP70-1143), a evolução da doença sobre elas foi analisada conjuntamente em um grupo denominado "resistentes".

Consultando as Figuras 4 e 5, observa-se que o pico de emissão de chicotes foi identificado com três meses de avaliação em todos os tratamentos, exceção feita à variedade NA56-79 cujo pico não pôde ser identificado. No bloco 1, os picos ocorreram entre 1,5 a 2,0; 2,0 a 2,5; 2,5 e 2,5 para IAC66/6, RB785343, RB855176 e "resistentes", respectivamente, enquanto no bloco 2 os picos foram observados por volta de 1,5 e 2,0 a 2,5 para IAC66/6 e "resistentes", respectivamente.

No caso da variedade NA56-79, o pico de emissão de chicotes não pôde ser identificado com a mesma precisão dos outros tratamentos. Isto porque não se observou nenhum aumento seguido de declínio no número de chicotes produzidos ao longo do tempo. Contudo, devido ao grande aumento na quantidade de doença verificado no terceiro mês de avaliação, o número de chicotes que seriam emitidos a partir desta data seria provavelmente baixo, indicando que o pico estaria provavelmente em torno dos três meses.

4.2.3. Posição da gema e sua contribuição para a quantidade total de doença.

A contribuição de cada uma das gemas da cana em pé para a quantidade total de doença (Xo das mudas) está representada na Tabela 6. Esta tabela mostra o número de chicotes e a porcentagem de doença observada nas gemas número 1 a 12. A quantidade de doença em relação ao total, incluindo os dados absolutos e acumulados (somatória da quantidade de doença observada até a gema em questão), está ilustrada na Figura 6.

De acordo com os resultados absolutos, observa-se que a terceira e quarta gema foram as mais predispostas à infecção no bloco 1, enquanto que, no bloco 2, a segunda e a terceira mostraram a maior quantidade de doença. Além disso, nota-se que as primeiras quatro gemas acumularam 61,36% e 80% da quantidade total de doença nos blocos 1 e 2, respectivamente. Até a sétima gema, acima de 95% do Xo total foi acumulado, indicando uma baixa frequência de ocorrência de infecções nas gemas mais jovens próximas ao cartucho foliar (gemas 8, 9, 10, 11 e 12).

Tabela 5. Número de chicotes emitidos pelos brotos laterais em função da época de avaliação.

CLONE OU VARIEDADE	NÚMERO DE CHICOTES EMITIDOS					
	15*	30	45	60	75	90
BLOCO 1						
“RESISTENTES”	0	0	1	1	6	1
NA56-79	1	0	0	5	2	18
RB785343	0	0	2	3	3	2
IAC66/6	0	0	69	61	20	18
RB855176	0	0	3	36	94	36
TOTAL	1	0	75	106	125	75
BLOCO 2						
“RESISTENTES”	0	0	0	5	5	3
NA56-79	0	1	1	3	7	19
IAC66/6	0	0	35	60	20	6
TOTAL	0	1	36	68	32	28

* Dias após a decepa dos colmos.

¹ "Resistentes" = SP70-1143 + SP79-1011 + RB765418 + RB785554 + RB805246.

² "Resistentes" = SP70-1143 + SP70-1284 + SP71-6163 + SP72-4928 + RB72454 + RB785148 + RB806043.

EPOCA DE EMISSAO DE CHICOTES PELOS BROTOS LATERAIS

FIGURA 4. Curva de emissão de chicotes (valores não acumulativos) pelos brotos laterais das variedades do bloco 1 ("resistentes" = SP70-1143 + SP79-1011 + RB765418 + RB785554 + RB805246).

EPOCA DE EMISSAO DE CHICOTES PELOS BROTONS LATERAIS

FIGURA 5. Curva de emissão de chicotes (valores não acumulativos) pelos brotos laterais das variedades do bloco 2 ("resistentes" = SP70-1143 + SP70-1284 + SP71-6163 + SP72-4928 + RB72454 + RB785148 + RB806043).

Tabela 6. Número de chicotes emitidos pelos brotos laterais e a respectiva percentagem em relação ao total observado em função da posição das gemas.

GEMA ¹	NÚMERO DE CHICOTES EMITIDOS ²			
	BLOCO 1		BLOCO 2	
	CHICOTES	% TOTAL	CHICOTES	% TOTAL
1	26	6,79	28	16,97
2	51	13,32	36	21,82
3	81	21,15	38	23,03
4	77	20,10	30	18,18
5	66	17,23	17	10,30
6	46	12,01	8	4,85
7	18	4,70	5	3,03
8	9	2,35	3	1,82
9	6	1,57	0	0,00
10	2	0,52	0	0,00
11	0	0,00	0	0,00
12	1	0,26	0	0,00
TOTAL	383	100,00	165	100,00

¹ Posição da gema (1 ... 12 = primeira...décima segunda gema visível acima do nível do solo).

² Chicotes observados em todas as parcelas das variedades teste (92 parcelas de 10 metros de sulco por bloco).

FIGURA 6. Influência da posição das gemas na quantidade total de doença observada nos blocos 1 e 2 (dados absolutos e acumulados).

4.3. Avaliação da resistência varietal através da evolução da doença em cana-soca

4.3.1. Análise epidemiológica das curvas de progresso do carvão em cana-soca

As curvas de progresso do carvão em cana-soca, os respectivos coeficientes de determinação (R^2) dos ajustes, as intensidades de doença aos seis meses (IDS-6) e as assíntotas máximas (B1) estão apresentadas nas Figuras 7 a 17, respectivamente, para as variedades RB785343, RB785554, RB785148, RB72454, NA56-79 (bloco 1), NA56-79 (bloco 2), IAC66/6 (bloco 1), IAC66/6 (bloco 2), RB806043, RB855176 e SP71-6163. Os gráficos ilustram a evolução da doença (dados acumulados) e a curva de emissão de chicotes (dados absolutos), considerando a incidência de chicotes por hectare (CHIC/ha) e touceiras doentes por hectare (TD/ha).

As variedades SP70-1143, RB765418, RB805246, SP70-1284, SP72-4928 não foram submetidas à análise pelo modelo, pois a intensidade de doença sobre as mesmas foi igual a zero. A SP79-1011 também não foi analisada devido à baixa quantidade de doença observada sobre ela.

4.3.1.1. Padrão de crescimento da doença

De acordo com os altos valores de R^2 (Figuras 7 a 17), indicando bons ajustes para as curvas de todas as variedades, o modelo de Gompertz generalizado foi bastante adequado para descrever o crescimento do carvão em cana-soca, independentemente do parâmetro utilizado para expressar a incidência da doença (TD/ha

ou CHIC/ha). Além disso, o modelo foi capaz de estimar com boa precisão a IDS-6 e a B(1), como mostram as Tabelas 7 e 8, as quais comparam estes parâmetros observados no campo com aqueles estimados pelo modelo.

Através dos resultados, observa-se que a evolução da doença em cana-soca não apresenta o mesmo padrão de crescimento para todas as variedades estudadas. Alguns destes genótipos suportam um crescimento duplo-sigmóide (RB785343, RB785554, RB785148 e RB72454) e outros um sigmóide simples (NA56-79, IAC66/6, RB806043, RB855176 e SP71-6163), independentemente se B1 foi expressa em CHIC/ha ou TD/ha.

Para o primeiro caso (duplo-sigmóide), as curvas cumulativas de carvão apresentam duas fases distintas. A primeira é caracterizada por um leve e gradativo aumento no número de chicotes, a partir dos primeiros levantamentos, até 100 a 140 dias. A partir daí, após uma ligeira estabilização, elas voltam a crescer dando origem à segunda fase.

O segundo caso (sigmóide simples), analisado com valores de B4 e B5 iguais a zero, caracteriza-se por mostrar um aumento contínuo no número de CHIC/ha ou TD/ha produzidos, sem a presença de patamares entre as diferentes fases da curva. Porém, de acordo com as curvas de emissão de chicotes das Figuras 16 e 17, a emissão de chicotes pelas variedades RB855176 e SP71-6163 teve início somente após 140 dias, evidenciando que o modelo identificou apenas a segunda fase da curva para estas variedades. Contudo, o modelo desconsiderou alguns poucos chicotes emitidos pela SP71-6163 antes dos 140 dias e, portanto, considerando os resultados observados no campo, a SP71-6163 apresenta também a primeira fase mas numa intensidade muito pequena.

DADOS ACUMULADOS

DADOS ABSOLUTOS

FIGURA 7. Evolução do carvão da cana-de-açúcar (dados estimados — , dados observados no campo ■) na variedade RB785343, em cana-soca.

DADOS ACUMULADOS

DADOS ABSOLUTOS

FIGURA 8. Evolução do carvão da cana-de-açúcar (dados estimados — , dados observados no campo ■) na variedade RB785554, em cana-soca.

DADOS ACUMULADOS

DADOS ABSOLUTOS

FIGURA 9. Evolução do carvão da cana-de-açúcar (dados estimados — , dados observados no campo ■) na variedade RB785148, em cana-soca.

DADOS ACUMULADOS

DADOS ABSOLUTOS

FIGURA 10. Evolução do carvão da cana-de-açúcar (dados estimados — , dados observados no campo ■) na variedade RB72454, em cana-soca.

DADOS ACUMULADOS

DADOS ABSOLUTOS

FIGURA 11. Evolução do carvão da cana-de-açúcar (dados estimados — , dados observados no campo ■) na variedade NA56-79 do bloco 1, em cana-soca.

DADOS ACUMULADOS

DADOS ABSOLUTOS

Figura 12. Evolução do carvão da cana-de-açúcar (dados estimados — , dados observados no campo ■) na variedade NA56-79 do bloco 2, em cana-soca.

DADOS ACUMULADOS

DADOS ABSOLUTOS

Figura 13. Evolução do carvão da cana-de-açúcar (dados estimados — , dados observados no campo ■) na variedade IAC66/6 do bloco 1, em cana-soca.

DADOS ACUMULADOS

DADOS ABSOLUTOS

FIGURA 14. Evolução do carvão da cana-de-açúcar (dados estimados — , dados observados no campo ■) na variedade IAC66/6 do bloco 2, em cana-soca.

DADOS ACUMULADOS

DADOS ABSOLUTOS

FIGURA 15. Evolução do carvão da cana-de-açúcar (dados estimados — , dados observados no campo ■) na variedade RB806043, em cana-soca.

DADOS ACUMULADOS

DADOS ABSOLUTOS

FIGURA 16. Evolução do carvão da cana-de-açúcar (dados estimados — , dados observados no campo ■) na variedade RB855176, em cana-soca.

DADOS ACUMULADOS

DADOS ABSOLUTOS

FIGURA 17. Evolução do carvão da cana-de-açúcar (dados estimados — , dados observados no campo ■) na variedade SP71-6163, em cana-soca.

Tabela 7. Comparação entre os valores de IDS-6 e B(1) estimados pelo modelo de Gompertz generalizado e os observados no campo, considerando a incidência de carvão expressa em chicotes por hectare (CHIC/ha), em cana-soca.

CLONE OU VARIEDADE	IDS-6 (CHIC/ha)		B(1) (CHIC/ha)	
	ESTIMADA	OBSERVADA	ESTIMADA	OBSERVADA
BLOCO 1				
SP70-1143*	-	0	-	0
RB765418	-	0	-	0
RB805246	-	0	-	0
SP79-1011	-	0	-	74
RB855176	117,871	74	1662,305	1702
RB785554	635,164	518	1662,507	1702
RB785343	1121,398	1184	2713,682	2738
NA56-79*+	1681,880	1776	5944,597	5402
IAC66/6*+	2245,853	2072	4042,407	4070
BLOCO 2				
SP70-1143*	-	0	-	0
SP70-1284	-	0	-	0
SP72-4928	-	0	-	0
RB72454	232,399	222	745,927	740
SP71-6163+	236,189	222	948,796	962
RB785148	351,240	296	1615,220	1628
RB806043+	872,496	962	2904,854	2738
NA56-79*+	544,787	518	4090,362	3478
IAC66/6*+	2666,882	2664	3872,866	3700

*Variedades padrões de resistência.

+Valores estimados quando B(4) e B(5) foram iguais a zero.

-Valores não estimados.

Tabela 8. Comparação entre os valores de IDS-6 e B(1) estimados pelo modelo de Gompertz generalizado e os observados no campo, considerando a incidência de carvão expressa em touceiras doentes por hectare (TD/ha), em cana-soca.

CLONE OU VARIEDADE	IDS-6 (TD/ha)		B(1) (TD/ha)	
	ESTIMADA	OBSERVADA	ESTIMADA	OBSERVADA
BLOCO 1				
SP70-1143*	-	0	-	0
RB765418	-	0	-	0
RB805246	-	0	-	0
SP79-1011	-	0	-	74
RB855176	67,271	74	440,646	444
RB785554	616,670	518	1407,321	1406
RB785343	674,229	666	1115,476	1110
NA56-79*+	1220,621	1258	3189,973	3182
IAC66/6*+	1368,929	1258	2081,807	1998
BLOCO 2				
SP70-1143*	-	0	-	0
SP70-1284	-	0	-	0
SP72-4928	-	0	-	0
RB72454	161,993	148	444,257	444
SP71-6163+	67,839	74	447,419	444
RB785148	312,904	296	594,471	592
RB806043+	712,732	740	1866,097	1776
NA56-79*+	479,698	444	2743,492	2072
IAC66/6*+	1156,827	1110	1845,782	1702

*Variedades padrões de resistência.

+Valores estimados quando B(4) e B(5) foram iguais a zero.

-Valores não estimados.

4.3.1.2. Pico de emissão de chicotes e touceiras doentes

Os picos de emissão de chicotes (CHIC) e touceiras doentes (TD) podem ser identificados nos gráficos construídos a partir de derivadas das curvas de progresso da doença (dados absolutos) expressas tanto em CHIC/ha como em TD/ha, os quais estão ilustrados nas Figuras 7 a 17. Nestas figuras, "P1" e "P2" representam o primeiro e o segundo pico das variedades sobre as quais a doença cresce em padrão duplo-sigmóide e "P" o único pico observado em variedades com padrão sigmóide simples.

De acordo com os resultados, observa-se que o pico de emissão varia de acordo com o padrão de crescimento e com a variedade. Aquelas de crescimento duplo-sigmóide apresentam dois picos. O primeiro ocorre por volta de 80 a 115 dias e é menos expressivo que o segundo. Este, por sua vez, ocorre de 185 a 225 dias e numa intensidade muito maior que o primeiro.

Por outro lado, com relação às variedades com padrão de crescimento sigmóide simples, a presença de um único pico de emissão de CHIC e TD, impossibilita a distinção das diferentes fases da curva de progresso da doença. Além disso, neste caso, a época de ocorrência do pico é mais variada, ocorrendo dos 125 aos 150 dias para a IAC66/6, 180 aos 200 para RB806043, 180 aos 225 para NA65-79 e por volta dos 200 para RB855176 e SP71-6163.

Através dos resultados observa-se também que o pico de emissão de chicotes mais expressivo para as variedades com padrão de crescimento duplo-sigmóide e o único pico das com padrão sigmóide simples, exceção feita à IAC66/6, só ocorrem após 180 dias, ou seja, após seis meses de idade da cana-soca.

4.3.2. Avaliação da resistência das variedades

4.3.2.1. Intensidade de doença em cana-soca aos seis meses de idade (IDS-6)

A intensidade de doença em cana-soca aos seis meses de idade (IDS-6) expressa em chicotes (CHIC) e touceiras doentes (TD) por hectare foi utilizada para avaliar a resistência de variedades de cana-de-açúcar ao carvão. Os resultados estão representados na Tabela 8 e ilustrados nas Figuras 18 (CHIC/ha) e 19 (TD/ha) que indicam os limites de confiança para a IDS-6 estimada pelo modelo de Gompertz generalizado.

Como pode ser visto na Tabela 9, no bloco 2, a IDS-6 expressa em CHIC/ha permitiu perfeitamente separar os níveis de resistência pré-estabelecidos para os padrões (SP70-1143 = resistente, NA56-79 = intermediária e IAC66/6 = suscetível). Porém, no bloco 1 a NA56-79 foi considerada como suscetível.

Com relação às variedades-teste, no bloco 1, foram classificadas três como resistentes (RB765418, RB805246 e SP79-1011), uma moderadamente resistente (RB855176) e duas intermediárias (RB785554 e RB785343). No bloco 2, três variedades mostraram-se moderadamente resistentes (RB72454, SP71-6163, RB785148) e uma intermediária (RB806043).

Considerando a IDS-6 expressa em TD/ha, todas as variedades estudadas apresentaram os mesmos níveis de resistência obtidos quando a doença foi expressa em CHIC/ha, não havendo diferença na utilização de um ou outro parâmetro.

4.3.2.2. Assíntota máxima de doença (B1)

A assíntota máxima de doença (B1), utilizada para classificar as variedades quanto ao nível de resistência ao carvão, foi expressa tanto em touceiras doentes (TD) como em chicotes (CHIC) por hectare, sendo determinada pelo modelo de Gompertz generalizado. A Tabela 10 apresenta um resumo dos resultados os quais estão ilustrados nas figuras 20 e 21. Estas Figuras indicam também os limites de confiança para B(1) estimado pelo modelo de Gompertz generalizado para cada variedade estudada.

De acordo com B(1) expressa em CHIC/ha, dentre as variedades do bloco 1 (Tabela 10), foram classificadas três como resistentes (SP70-1143, RB765418, RB805246), uma moderadamente resistente (SP79-1011), três intermediárias (RB855176, RB785343 e RB785554) e duas suscetíveis (IAC66/6 e NA56-79). No bloco 2, três mostraram-se resistentes (SP70-1143, SP70-1284 e SP724928), duas moderadamente resistentes (RB72454 e SP71-6163), duas intermediárias (RB785148 e RB806043) e duas suscetíveis (IAC66/6 e NA56-79).

Por outro lado, considerando-se B(1) expressa em TD/ha, observa-se que o nível de resistência de algumas variedades foi alterado. No bloco 1, as variedades RB855176 e RB785343 passaram de intermediárias (CHIC/ha) para moderadamente resistentes (TD/ha) e a IAC66/6 de suscetível (CHIC/ha) para intermediária (TD/ha). No bloco 2, a RB785148 passou de intermediária (CHIC/ha) para moderadamente resistente (TD/ha) e a IAC66/6 de suscetível (CHIC/ha) para intermediária (TD/ha). Isto sugere que certas variedades apresentam um elevado número de chicotes por touceira doente (CHIC/TD), enquanto outras limitam este parâmetro, indicando a necessidade de quantificação do mesmo.

Tabela 9. Intensidade de doença em cana-soca aos seis meses (IDS-6) estimado pelo modelo de Gompertz generalizado e nível de resistência (NR) das variedades estudadas.

CLONE OU VARIEDADE	(CHIC/ha)		(TD/ha)	
	IDS-6 ¹	NR ²	IDS-6 ¹	NR ²
BLOCO 1				
SP70-1143*	0,000 A	R	0,000 A	R
RB765418	0,000 A	R	0,000 A	R
RB805246	0,000 A	R	0,000 A	R
SP79-1011	0,000 A	R	0,000 A	R
RB855176	117,871 A	MR	67,217 A	MR
RB785554	635,164 AB	I	616,670 AB	I
RB785343	1121,398 AB	I	674,229 AB	I
NA56-79*	1681,880 B	S	1220,621 B	S
IAC66/6*	2245,853 B	S	1368,929 B	S
BLOCO 2				
SP70-1143*	0,000 A	R	0,000 A	R
SP70-1284	0,000 A	R	0,000 A	R
SP72-4928	0,000 A	R	0,000 A	R
RB72454	232,399 A	MR	161,993 A	MR
SP71-6163	236,189 A	MR	67,839 A	MR
RB785148	351,240 AB	MR	312,904 AB	MR
NA56-79*	544,787 ABC	I	479,698 AB	I
RB806043	872,496 BC	I	712,732 BC	I
IAC66/6*	2666,882 C	S	1156,827 C	S

*Variedades padrões de resistência.

¹ Letras diferentes indicam tratamentos com diferença estatística comprovada ao nível de 5% de probabilidade.

² NR = Nível de resistência (R = resistente, MR = moderadamente resistente, I = intermediária, S=suscetível).

FIGURA 18. Intensidade de doença em cana-soca aos seis meses de idade (IDS-6) expressa em chicotes por hectare e os respectivos limites de confiança (limite inferior ■ , limite superior □).

FIGURA 19. Intensidade de doença em cana-soca aos seis meses de idade (IDS-6) expressa em toneladas de cana doentes por hectare e os respectivos limites de confiança (limite inferior ■, limite superior □).

Tabela 10. Assíntota máxima de doença (B(1)) estimada pelo modelo de Gompertz generalizado e nível de resistência (NR) das variedades estudadas.

CLONE OU VARIEDADE	(CHIC/ha)		(TD/ha)	
	B(1) ¹	NR ²	B(1) ¹	NR ²
BLOCO 1				
SP70-1143*	0,000 A	R	0,000 A	R
RB765418	0,000 A	R	0,000 A	R
RB805246	0,000 A	R	0,000 A	R
SP79-1011	74,000 ⁺ A	MR	74,000 ⁺ A	MR
RB855176	1662,263 AB	I	440,646 AB	MR
RB785554	1662,507 B	I	1407,321 BCD	I
RB785343	2713,682 BC	I	1115,476 BC	MR
NA56-79*	5944,522 D	S	3189,973 D	S
IAC66/6*	4838,831 CD	S	2081,807 CD	I
BLOCO 2				
SP70-1143*	0,000 A	R	0,000 A	R
SP70-1284	0,000 A	R	0,000 A	R
SP72-4928	0,000 A	R	0,000 A	R
RB72454	745,927 AB	MR	444,257 AB	MR
SP71-6163	948,796 BC	MR	447,419 AB	MR
RB785148	1615,220 BCD	I	594,471 BC	MR
RB806043	2904,854 CD	I	1866,097 CD	I
NA56-79*	4090,362 D	S	2743,492 D	S
IAC66/6*	3872,866 D	S	1845,782 CD	I

*Variedades padrões de resistência.

⁺Valor real observado no campo.

¹ Letras diferentes indicam tratamentos com diferença estatística comprovada ao nível de 5% de probabilidade.

² NR = Nível de resistência (R = resistente, MR = moderadamente resistente, I = intermediária, S=suscetível).

FIGURA 20. Assintota máxima de doença (B(1)) expressa em chicotes por hectare e os respectivos limites de confiança (limite inferior ■, limite superior □).

FIGURA 21. Assintota máxima de doença (B(1)) expressa em toneladas doentes por hectare e os respectivos limites de confiança (limite inferior ■, limite superior □).

4.3.2.3. Resistência à sistemicidade

A resistência à sistemicidade do fungo foi caracterizada pelo número de chicotes por touceira doente (CHIC/TD). Para tanto, considerou-se que quanto menor o número de CHIC/TD maior a resistência interna do tecido do colmo à infecção de primórdios de perfilhos da gema em brotação. Na Tabela 11 estão representados os resultados e estes encontram-se ilustrados na Figura 22.

De acordo com os resultados obtidos, observa-se que aos seis meses a sistemicidade praticamente não ocorre, ou seja, com exceção da IAC66/6 do bloco 2 e da SP71-6163, todas as variedades mostraram-se resistentes. Contudo, nesta data, a SP71-6163 apresentava uma quantidade de doença (CHIC/ha e TD/ha) muito pequena, podendo sua suscetibilidade não representar condições onde uma maior intensidade de doença for verificada.

Porém, aos 10 meses, a B(1) indica que diferentes graus de sistemicidade foram observados. No bloco 1, as variedades RB785554 e NA56-79 foram classificadas como resistentes, a IAC66/6 e RB785343 como intermediárias e a RB855176 como suscetível. No bloco 2, a NA56-79, RB806043 e RB72454 mostraram-se resistentes, a IAC66/6 e SP71-6163 intermediárias e a RB785148 suscetível.

Tabela 11. Intensidade de doença em cana-soca aos seis meses (IDS-6), assíntota máxima de doença (B(1)) e os respectivos níveis de resistência (NR) das variedades estudadas, sendo a doença expressa em chicotes por touceira doente (CHIC/TD).

VARIETADE	IDS-6 (CHIC/TD)	NR ¹	B(1) (CHIC/TD)	NR ¹
BLOCO 1				
SP70-1143*	0,00	R	0,00	R
RB765418	0,00	R	0,00	R
RB805246	0,00	R	0,00	R
SP79-1011	0,00	R	0,00	R
RB785554	1,03	R	1,18	R
NA56-79*	1,38	R	1,86	R
RB785343	1,66	R	2,43	I
IAC66/6*	1,64	R	2,32	I
RB855176	1,75	R	3,77	S
BLOCO 2				
SP70-1143*	0,00	R	0,00	R
SP70-1284	0,00	R	0,00	R
SP72-4928	0,00	R	0,00	R
NA56-79*	1,13	R	1,49	R
RB806043	1,22	R	1,56	R
RB72454	1,43	R	1,68	R
IAC66/6*	2,30	S	2,12	I
RB785148	1,12	R	2,72	S

*Variedades padrões de resistência.

¹ NR = Nível de resistência (R = resistente, MR = moderadamente resistente, I = intermediária, S = suscetível)

FIGURA 22. Resistência à sistemicidade (R = resistente, I = intermediária, S = suscetível) caracterizada pelo número de chicotes por touceira doente (CHIC/TD) para as variedades estudadas, em cana-soca.

5. DISCUSSÃO

5.1. Método de inoculação

Os níveis de inóculo produzidos pela cana-planta da NA56-79 "fonte de inóculo" nos blocos 1 e 2 (7.893,3 e 4.309 CHIC/ha, respectivamente) permitiram perfeitamente avaliar a resistência de variedades de cana-de-açúcar ao carvão com base no Xo das mudas.

A maioria dos chicotes produzidos, cerca de 72% do total, foi emitida após seis meses do plantio. Neste particular, estudos sobre a época de emissão de chicotes por touceiras de variedades suscetíveis (BOCK, 1964), em condições controladas, indicaram que o início da produção de chicotes se dá aos três meses, o pico entre 4 a 4,5 e o declínio é visível a partir de cinco meses, tendendo a zero em torno de sete a oito meses após o plantio. Portanto, nas condições do presente estudo, pode-se dizer que houve um atraso na emissão de chicotes, o que pode ser atribuído ao desenvolvimento inicial lento de perfilhos proporcionado pelo plantio realizado em abril. Por outro lado, não se deve descartar a hipótese de que o período latente de *Ustilago scitaminea* sobre a NA56-79 pode ter sido maior que nas variedades estudadas por BOCK (1964).

O atraso na época de emissão de chicotes deve ser encarado como um fator positivo, pois a maioria deles apareceu após o início da elongação dos colmos das variedades-teste, quando as gemas das mudas são expostas ao ambiente. Desta forma, houve uma maior sincronização entre a liberação de esporos e a presença de gemas nos colmos, contribuindo, possivelmente, para aumentar a eficiência do método de inoculação adotado.

A cana-soca da "fonte de inóculo", por suportar um padrão de crescimento sigmóide simples, emitiu chicotes durante todo seu desenvolvimento, proporcionando uma pressão de inóculo contínua sobre as variedades-teste. Assim, com a constante presença de esporos no ar, possivelmente todos os pontos vulneráveis à infecção estiveram passíveis de serem infectados pelo fungo, permitindo uma melhor avaliação do comportamento de cada variedade frente a *Ustilago scitaminea*.

5.2. Avaliação da resistência varietal através do inóculo inicial das mudas (Xo das mudas)

5.2.1. Inóculo inicial das mudas (Xo das mudas)

A resistência de variedades de cana-de-açúcar pode perfeitamente ser determinada através do Xo das mudas. Os resultados obtidos indicam que existem variedades consideradas resistentes que restringem a ocorrência de infecções nas gemas da cana em pé, enquanto que outras ditas suscetíveis não possuem esta habilidade.

As infecções nas gemas da cana em pé, segundo ANTOINE (1961), podem ser provenientes de uma distribuição sistêmica do fungo no colmo da cana-de-açúcar, após o patógeno ter acessado o meristema apical, ou ser proveniente do inóculo disseminado pelo ar, independente das infecções ocorridas nas gemas da coroa. No primeiro caso, os chicotes laterais são produzidos em colmos que, normalmente, apresentam um chicote apical. No segundo, são colmos sadios que passam a apresentar sintomas em suas gemas laterais. De acordo com as observações do presente ensaio, por vezes ocorreram infecções em todas as gemas de um único colmo que havia emitido chicote apical. Isto pode ser um forte indicativo de que, quando as infecções são

sistêmicas, praticamente todas as gemas do colmo ficam infectadas. No entanto, na maioria dos casos, observou-se infecções em uma ou poucas gemas em cada colmo, evidenciando que os esporos do fungo chegam às gemas por via aérea. Porém, como a separação destas duas vias de infecção não foi objetivo deste estudo, através da metodologia empregada é impossível dizer qual via de infecção, ar ou sistemicidade, foi mais efetiva.

O Xo das mudas indica a capacidade que cada variedade possui de limitar a ocorrência de infecções primárias nas gemas laterais da cana em pé e, em termos epidemiológicos, representa a contribuição das mudas para o inóculo inicial em cana-planta. Isto não indica, contudo, o número total de chicotes obtidos em cana-planta, pois este depende também do inóculo presente no solo (JAMES, 1969b; LUTHRA *et alii*, 1938; WALLER, 1969) e da velocidade de aumento da doença (eficiência de infecções secundárias e sistêmicas), além de fatores ambientais.

A determinação do Xo das mudas é muito interessante porque, apesar dos bilhões de esporos que podem ser produzidos num campo cultivado, nem todos atingirão as gemas laterais da cana em pé no momento certo para produzir infecção. A efetividade desses esporos em causarem infecções depende, além de fatores ambientais e da densidade e competência dos esporos, de características intrínsecas de cada genótipo tais como o tipo de mecanismo de defesa presente (resistência dos tecidos internos, resistência conferida pela morfologia das gemas, resistência conferida pelas bainhas e folhas, etc.) e do estágio de desenvolvimento da cultura (resistência aparente ou "escape"). Portanto, a frequência de infecções nas gemas laterais da cana em pé, representada pelo Xo das mudas, pode ser retringida pela resistência varietal, como foi demonstrado pelo presente estudo. Desta forma, certos mecanismos de resistência varietal podem ser responsáveis por uma diminuição no Xo das mudas e,

consequentemente, promover um atraso na epidemia ou ainda impedir que a mesma ocorra.

O sucesso apresentado pela metodologia de avaliação da resistência com base no Xo das mudas pode ser atribuído, em grande parte, à quantidade de gemas avaliadas por variedade. Em média, o método trabalhou com 10.000 gemas/variedade, ou seja, 50 vezes maior que o valor mínimo de 200 gemas/variedade estabelecido por WALLER (1970). Contudo, mesmo este número de 200 gemas/variedade é difícil de ser adotado nos testes de inoculação por imersão, onde as gemas são plantadas em campo e as plantas são conduzidas durante 12 a 18 meses, em cana-planta e soca, pelo menos. Portanto, o problema da grande variabilidade de resultados apresentados pelos testes de imersão pode ser contornado pelo uso do método do Xo das mudas sob inoculação natural. Este, por sua vez, apresenta uma confiabilidade de resultados muito maior devido a seu grande trunfo que é a possibilidade de avaliar um grande número de gemas/variedade.

Diante dos resultados obtidos, nota-se que a metodologia desenvolvida, ao detectar baixas taxas de infecção, permite avaliar a resistência de variedades, constituindo-se no primeiro teste baseado no inóculo inicial das mudas (Xo) de cana-de-açúcar. Como característica, possui a grande vantagem de utilizar o método de inoculação natural e, consequentemente, comparado a outros testes com inoculação artificial, é provável que se aproxime mais das condições naturais de cultivo. Além disso, por classificar as variedades através de análises estatísticas e reações de padrões, elimina qualquer efeito subjetivo. Devido a estas características, o método desenvolvido constitui-se numa valiosa ferramenta à disposição de melhoristas e fitopatologistas para o conhecimento do comportamento varietal com relação ao Xo das mudas, ou seja, para

medir a frequência de infecções nas gemas laterais da cana em pé (muda) de cada genótipo.

5.2.2. Análise da época de emissão de chicotes pelos brotos laterais

A época de emissão de chicotes pelos brotos laterais foi avaliada, durante três meses de crescimento, para verificar a eficácia em se utilizar este tempo de avaliação para classificar variedades quanto ao nível de resistência através do Xo das mudas.

De acordo com os resultados obtidos, o pico de emissão de chicotes de todas as variedades, com exceção da NA56-79, foram detectados pela avaliação feita aos três meses após a decepa dos colmos.

Embora o pico de emissão de chicotes da NA56-79 não tenha sido identificado, observou-se um grande aumento na quantidade de chicotes, no terceiro mês de avaliação. Sendo assim, provavelmente, o pico de emissão desta variedade não está tão distante desta data, não comprometendo os resultados obtidos. Estas considerações são fortalecidas por estudos preliminares de GIGLIOTI & TOKESHI sobre a época de emissão de chicotes pelos brotos laterais da variedade NA56-79. Estes estudos identificaram o pico entre 3,25 a 3,75 meses após a decepa, sendo que neste período a quantidade de doença já tinha atingido 78,7% do valor total observado em 5,5 meses de avaliação. Outro ponto a considerar é o fato da NA56-79 ter apresentado um crescimento bastante vigoroso, com colmos de tamanho superior às demais variedades, atrasando o desenvolvimento dos brotos laterais basais. Desta forma, a emissão de chicotes também pode ter sido atrasada.

Frente aos resultados obtidos, a avaliação da emissão de chicotes pelos brotos laterais pode ser feita aos três meses, após a decepa dos colmos. Este intervalo de avaliação mostrou-se suficiente, proporcionando resultados que permitem a classificação de variedades de cana-de-açúcar quanto ao nível de resistência a *Ustilago scitaminea* através do Xo das mudas. Portanto, comparado à metodologia de avaliação de infecção em cana em pé proposta por BYTHER & STEINER (1974), a qual determina a necessidade de seis meses para que os chicotes sejam observados em cana-planta, o método desenvolvido pelo presente estudo proporciona uma grande economia de tempo por obter resultados com três meses de teste.

5.2.3. Posição da gema e sua contribuição para a quantidade total de doença.

Anotando-se a posição das gemas que emitiram chicotes, foi possível determinar a contribuição de cada uma delas (em porcentagem) para a quantidade total de doença.

Os resultados indicam que, no bloco 1, a terceira e a quarta gema acima do nível do solo foram as mais infectadas pelo fungo, ou seja, mostraram-se mais predispostas à infecção. Porém, no bloco 2, uma maior vulnerabilidade à infecção foi observada na segunda e terceira. Considerando que as variedades precoces apresentam, na maioria dos casos, um crescimento mais rápido, esta diferença pode ser atribuída ao fato de que, no momento de maior sincronização de produção de esporos e da existência de tecido suscetível do hospedeiro exposto à infecção, havia uma diferença no número de gemas dos colmos das variedades do bloco 1 (precoces) e do bloco 2 (médias e tardias). Assim, os colmos das variedades precoces tinham tamanho adiantado, possuindo mais

gemas acima do nível do solo, permitindo uma maior frequência de infecções na terceira e quarta gema.

Seguindo essa linha de raciocínio, a menor quantidade de doença obtida na primeira gema, quando comparada à segunda, terceira e quarta, pode ser atribuída a uma maior resistência conferida pela idade ou a um possível "escape". Neste último caso, as gemas não seriam infectadas devido à menor quantidade de esporos no ar, no início do desenvolvimento da cana-planta, quando a primeira gema era ainda jovem e considerada suscetível. Com relação àquelas acima da sétima gema, evidenciou-se mais uma vez que as gemas mais jovens próximas ao cartucho (maior proteção pelas bainhas e folhas) apresentam uma baixa taxa de infecção, embora sejam mais suscetíveis que as mais velhas (BYTHER & STEINER, 1974).

Diante dos resultados obtidos, a decepa poderia ser padronizada, considerando apenas sete gemas por colmo, diminuindo o volume de material manuseado e trabalho demandado. Além disso, o desenvolvimento dos brotos laterais basais seria favorecido pela decepa mais baixa e, conseqüentemente, a emissão de chicotes seria, possivelmente, antecipada, permitindo que eventuais chicotes tardios fossem detectados.

Por outro lado, no que diz respeito a medidas de controle do carvão, através dos dados acumulados, pode-se dizer que o descarte das quatro primeiras gemas acima do nível do solo seria suficiente para reduzir o Xo das mudas com eficiência de controle igual a 61,36% (bloco 1) e 80% (bloco 2). Portanto, a adoção dessa medida contribuiria para reduzir a necessidade de "roguing" em viveiros de mudas e, talvez, seja interessante, uma vez que o descarte (quatro primeiras gemas) poderia ser industrializado, ou seja, teria um fim remunerado.

5.3. Avaliação da resistência através da evolução da doença em cana-soca

5.3.1. Análise epidemiológica das curvas de progresso do carvão em cana-soca

5.3.1.1. Padrão de crescimento da doença

A curva anual de progresso do carvão da cana-de-açúcar, construída com o número total de chicotes (CHIC) e touceiras doentes (TD) por hectare, não apresenta a mesma forma para todos os genótipos. Alguns apresentam um padrão duplo-sigmóide e outros um sigmóide simples.

As duas fases que caracterizam as curvas de padrão duplo-sigmóide correspondem, biologicamente, a diferentes ciclos do patógeno. A fase inicial representa o primeiro ciclo infeccioso, enquanto, a segunda, uma nova geração do fungo a partir do inóculo produzido no primeiro ciclo. Em cana-soca, as infecções primárias ocorrem nas gemas basais e da coroa antes da brotação das touceiras. No estágio de cana-plantas, esta infecção é decorrente tanto do inóculo das mudas como do inóculo presente no solo. Em soqueiras subsequentes, a chamada "infecção primária" pode acumular a colonização sistêmica e a nova infecção que ocorre no momento em que cada broto germina (WHITTLE & WALKER, 1982). A distinção dessas duas fases, que normalmente encontram-se sobrepostas em outras doenças de juro compostos (ZADOKS & SCHEIN, 1979), se deve ao longo período de latência do fungo *Ustilago scitaminea* (AMORIM, 1989).

As curvas em padrão sigmóide simples se caracterizam por um crescimento contínuo, sem a distinção dos diferentes ciclos do patógeno. Desta forma,

não há paralização ou diminuição do crescimento da epidemia entre as diferentes gerações do fungo, o que pode ser atribuído, entre outros fatores, a um possível período latente mais curto sobre as variedades que suportam este tipo de padrão de crescimento. Portanto, o comportamento do carvão sobre estas variedades aproxima-se mais daquele apresentado pelas doenças típicas de juro compostos, onde a sobreposição de ciclos pode determinar um crescimento mais acelerado à epidemia, contribuindo para uma maior suscetibilidade (VANDERPLANK, 1963). Nesta situação, encontram-se as variedades RB806043, NA56-79 e IAC66/6 que, em acordo com as considerações anteriores, se apresentam como as mais suscetíveis de todo o ensaio. Contudo, nada se pode afirmar com relação ao número de ciclos sobrepostos nestas variedades.

Com relação à RB855176, embora também tenha apresentado um crescimento sigmóide simples, seu comportamento deve ser analisado separadamente, pois a produção de touceiras doentes ou chicotes por esta variedade teve início somente a partir dos 180 dias. Sendo assim, não descartando a difícil possibilidade de ocorrência de um período latente extremamente longo, torna-se irresistível considerar que a RB855176 apresentou apenas a segunda fase da onda da curva de progresso do carvão (segundo ciclo), proporcionada pelo segundo ciclo do patógeno. Sendo assim, o acúmulo de infecções secundárias e sistêmicas originadas a partir de infecções primárias (primeira onda) das outras variedades-teste ou da "fonte de inóculo" (interferência entre parcelas e alta pressão de inóculo) teria sido responsável pela quantidade de doença observada sobre a RB855176. Porém, em condições normais de cultivo de cana-de-açúcar, os esporos liberados por chicotes do primeiro ciclo caem nas proximidades da touceira que o originou (HOY *et alii*, 1991). Assim, a eficiência de ocorrência de novas gerações do patógeno em canaviais de uma variedade com gemas basais e da coroa resistentes (sem infecções primárias) a partir de esporos liberados à distância por um genótipo mais

suscetível (com infecções primárias) parece, pelo menos à primeira vista, pequena. Porém, não devemos esquecer que a RB855176 foi classificada com suscetível pelo Xô das mudas e, por isso, caso venha a ser cultivada comercialmente devido à sua alta precocidade, deve ser submetida a um sistema de produção de mudas sadias bastante eficiente.

Quanto à SP71-6163, observa-se que seu comportamento foi bastante semelhante àquele apresentado pela RB855176. A diferença é que alguns poucos chicotes, frutos de prováveis infecções primárias, foram nela observados mas não detectados pelo modelo de Gompertz generalizado. Neste caso, não se pode afirmar que a SP71-6163 apresenta somente a segunda fase da onda mas que esta foi a principal contribuinte para a quantidade total de doença.

As curvas de padrão duplo-sigmóide obtidas neste estudo estão em acordo com as observações de Chona³ (citado por ANTOINE, 1961) que, já em 1943, atribuía o crescimento da doença à somatória de dois fluxos distintos de produção de chicotes, supondo ser o primeiro deles fruto de infecção primária, e o segundo, mais tardio, fruto de infecções secundárias. Já as curvas de padrão sigmóide simples podem ser identificadas nos estudos de AMORIM *et alii* (1993), onde o progresso do carvão sobre a variedade SP71-799 apresentou um padrão de crescimento sigmóide simples em primeira e segunda soca.

A interferência dos diferentes ciclos na resistência de cana-de-açúcar ao carvão já foi comentada por MOMOL (1986). Segundo este autor, as variedades mais resistentes são aquelas que apresentam apenas um ciclo infeccioso e suscetíveis aquelas que apresentam pelo menos dois. Seguindo esta linha de raciocínio, pode-se dizer que a

³ CHONA, B.L. Sugar-cane smut and its control. *Indian Fmg.*, 4:401-404, 1943.

ausência de ocorrência de um dos ciclos de infecção (primário ou secundário) poderia determinar uma maior resistência ou menor suscetibilidade de uma variedade. Estas considerações podem ser confirmadas ao analisar-se os dados da RB855176 cujo grau de suscetibilidade foi diminuído pela ocorrência apenas de infecções secundárias.

Por outro lado, considerando apenas o grupo de variedades com pelo menos dois ciclos de infecção, pode-se dizer que a interrupção ou diminuição no desenvolvimento da doença, evidenciada pela ocorrência de um patamar entre os dois ciclos, contribui para uma maior resistência ou menor suscetibilidade. Sendo assim, variedades que suportam um padrão de crescimento contínuo, não sendo possível a separação dos ciclos do patógeno, são mais suscetíveis que as com padrão duplo-sigmóide. Esta hipótese é fortalecida pois, dentre as variedades que apresentaram pelo menos dois ciclos, aquelas com padrão de crescimento sigmóide simples (NA56-79, RB806043 e IAC66/6) se situaram entre as mais suscetíveis.

5.3.1.2. Pico de emissão de chicotes e touceiras doentes

No presente estudo foi demonstrado que ocorrem dois picos de emissão de chicotes ou touceiras doentes para variedades com curva de progresso da doença em padrão duplo-sigmóide. O primeiro (P1), correspondente a prováveis infecções primárias e representando a primeira geração do patógeno, ocorre por volta de 80 a 115 dias após o corte da cana-planta. O segundo (P2), possivelmente fruto de infecções secundárias e sistêmicas, ocorre numa intensidade maior em torno de 185 a 225 dias.

O único pico observado em genótipos que suportam um crescimento sigmóide simples indica a sobreposição de infecções primárias e secundárias e sistêmicas, impossibilitando a distinção dos diferentes ciclos de *Ustilago scitaminea*. Com exceção

da IAC66/6 ($P = 124$ a 160 dias), este pico ocorre acima dos 182 dias, ou seja, após a avaliação da doença pela IDS-6.

Com relação à RB855176, o único pico de emissão ocorreu por volta de 195 a 206 dias e foi coincidente com o $P2$ das variedades com padrão duplo-sigmóide. Desta forma, fica evidenciada a ocorrência somente de infecções secundárias e sistêmicas sobre esta variedade, ou seja, só foi observada a segunda fase da curva de progresso da doença.

Estes resultados diferem bastante dos obtidos por BOCK (1964). Este autor, analisando a época de emissão de chicotes por variedades suscetíveis, em condições controladas, encontrou o pico de emissão de chicotes entre 120 e 145 dias. Assim, apenas a variedade suscetível IAC66/6 corroborou com as observações daquele autor, o que pode ser atribuído à grande variação de graus de resistência trabalhada no presente ensaio.

Diante destes resultados, pode-se dizer que a determinação da resistência de variedades de cana-de-açúcar a *U. scitaminea* com base na intensidade de doença aos seis meses de idade (FIGUEIREDO *et alii*, 1980) nem sempre coincide com o pico de emissão de chicotes. Como exemplo, o presente estudo indica que a IDS-6 pode ser um bom parâmetro para a IAC66/6 mas desconsidera a maioria dos chicotes produzidos pela NA56-79 do bloco 2, RB855176 e SP71-6163.

Outro ponto bastante interessante é que, admitindo-se que o pico de emissão de chicotes originados a partir de infecções primárias é observado entre 80 a 115 dias, a IDS-6 é fruto, em grande parte, de infecções primárias nas gemas basais e da corôa, enquanto a B(1) acumula, além de infecções primárias, as infecções secundárias e sistêmicas. Esta afirmação é suportada pelos resultados de AMORIM & BERGAMIN FILHO (1991a): segundo eles, a emissão de chicotes frutos de infecções primárias

ocorre até 150 dias, enquanto aqueles originados a partir de infecções secundárias a partir dos 200 dias.

5.3.2. Avaliação da resistência das variedades

5.3.2.1. Intensidade de doença em cana-soca aos seis meses de idade (IDS-6)

O modelo de Gompertz generalizado foi bastante eficaz para determinar a intensidade de doença aos seis meses em cana-soca (IDS-6) e, através deste parâmetro, classificar as variedades quanto ao nível de resistência a *Ustilago scitaminea*.

De acordo com os resultados obtidos, os níveis de resistência encontrados quando a IDS-6 foi expressa em CHIC/ha e TD/ha foram idênticos, indicando que o número de CHIC/TD não exerce grande influência na reação varietal aos seis meses.

As reações ao carvão apresentadas pelas variedades estudadas neste ensaio foram relativamente similares àquelas relatadas em literatura. Quanto aos padrões de resistência, apenas a NA56-79 do bloco 1 se comportou de maneira diferente e, dentre as 15 variedades-teste, apenas cinco (33,33%) mostraram níveis de resistência discordantes.

A NA56-79, considerada pela literatura como padrão de resistência intermediária ao carvão, foi classificada como suscetível no bloco 1 e intermediária no bloco 2. Considerando que o pico de emissão de chicotes ocorreu aos 193 e 223 dias no bloco 1 e 2, respectivamente, esta discordância pode ser atribuída à rápida produção de chicotes no bloco 1 proporcionada por algum fator de variação não controlado.

As variedades SP79-1011, RB72454 e RB855176, anteriormente classificadas como suscetíveis por métodos de inoculação artificial, se mostraram resistente, moderadamente resistente e moderadamente resistente, respectivamente, no presente estudo com inoculação indireta pelo método de inoculação natural. Isto sugere que estas variedades apresentam mecanismos de resistência de campo não respeitados pela inoculação artificial mas considerados pela metodologia de inoculação indireta utilizada neste estudo.

A possibilidade de as variedades expressarem seus mecanismos de resistência de campo torna-se uma grande virtude do método de inoculação natural, principalmente se o objetivo dos estudos for avaliar o comportamento varietal em relação ao carvão nas fases finais de programas de melhoramento. Assim, o risco de condenar erroneamente uma variedade pela sua suposta suscetibilidade poderia ser diminuído.

Um exemplo recente e conhecido é o fato ocorrido com as variedades RB72454 e SP79-1011 pois, se a resistência de campo referida acima tivesse sido demonstrada há mais tempo, certamente, elas estariam hoje ocupando uma área bem maior de cultivo, devido aos altos potenciais produtivos das mesmas, contribuindo ainda mais para o manejo varietal nas unidades produtoras de açúcar e álcool do estado de São Paulo. De maneira menos significativa e comprometedora, as mesmas considerações podem ser feitas para a SP72-4928 e RB785148 que passaram de moderadamente resistente e intermediária (inoculação artificial) para resistente e moderadamente resistente (inoculação indireta do presente ensaio), respectivamente.

A utilização da IDS-6, sob inoculação indireta por inoculação natural e, portanto, semelhantemente à metodologia utilizada no Havai e outros países (COMSTOCK *et alii*, 1983), permitiu avaliar a resistência de variedades com base na capacidade das mesmas restringirem a infecção das gemas basais ou da coroa. Isto é

válido pois, segundo FERREIRA & COMSTOCK (1989), a intensidade de doença na soca é resultante de chicotes produzidos a partir de brotações de soqueiras infectadas antes da colheita. Isto acontece quando as gemas basais ou da coroa são infectadas e, após a colheita, produzem chicotes e esporos na nova vegetação. Contudo, não se deve esquecer dos chicotes originados de infecções nas gemas basais ou da coroa que ocorrem no início do desenvolvimento da soca a partir de esporos recém caídos ao solo.

Considerando que a emissão de chicotes originados de infecções primárias (gemas basais e da coroa) ocorre até aproximadamente 150 dias após a colheita da cana-planta, quando após uma ligeira estabilização aparecem chicotes frutos de infecções secundárias e sistêmicas, a IDS-6 não detecta chicotes produzidos a partir dos seis meses, não refletindo a condição real de campo. Por este motivo, torna-se necessário avaliar a soca até 10 meses para obter a assintota máxima de doença ($B(1)$), cujo parâmetro inclui infecções primárias, secundárias e sistêmicas.

5.3.2.2. Assintota máxima de doença

Os resultados obtidos, por mostrarem claras diferenças entre genótipos, indicam que a assintota máxima ($B(1)$) obtida pelo modelo de Gompertz generalizado constitui-se num parâmetro bastante eficaz para classificar variedades de cana-de-açúcar quanto à resistência a *U. scitaminea*, mesmo em condições de inoculação indireta pelo método de infecção natural.

Considerando $B(1)$ expressa em CHIC/ha, dentre as 15 variedades estudadas, apenas cinco (33,33%) mostraram níveis de resistência discordantes com a literatura.

Com relação à SP79-1011, RB72454, RB855176 e SP72-4928, as mesmas considerações feitas no ítem anterior (IDS-6) são válidas. Por outro lado, um fato inverso foi verificado sobre a NA56-79. Esta variedade foi classificada como suscetível com base no parâmetro B(1) estimado pelo presente ensaio mas foi considerada como intermediária com base na IDS-6 do bloco 2 (ítem 5.3.2.1) e pelos estudos da Comissão de Controle do Carvão da Cana de Açúcar do Estado de São Paulo (CCCCA, 1985).

Segundo Figueiredo *et alii* (1980), a metodologia utilizada pela CCCCCA, a exemplo da IDS-6, utiliza como parâmetro a incidência da doença em cana-soca aos seis meses e os chicotes emitidos a partir dessa idade não são mais avaliados. Como o parâmetro B(1) considera os chicotes observados até 10 meses (infecções primárias, secundárias e sistêmicas) e foi demonstrado no ítem 5.2.2.1 que a IDS-6 (infecções primárias) nem sempre inclui o pico de emissão de chicotes, pode-se dizer que a NA56-79 produz um grande número de chicotes a partir dos seis meses, surgindo como hipótese sua maior suscetibilidade a infecções a partir desta data. Suportando esta hipótese existe o fato de que, no bloco 2, o pico de emissão de chicotes pela NA56-79 ocorreu aos 223 dias e, segundo SUZUKI (1990), esta variedade produz um número significativo de chicotes tardios.

As mesmas considerações acima podem ser feitas para a variedade RB785148 que foi classificada como moderadamente resistente e intermediária pelos parâmetros IDS-6 e B(1) expressos em CHIC/ha, respectivamente. A diferença é que os chicotes emitidos a partir dos seis meses pela NA56-79 são, em sua grande maioria, advindos de infecções secundárias e, pela RB785148, da colonização sistêmica do fungo. Isto é considerado pois, no presente estudo, a NA56-79 e a RB785148 foram classificadas como resistente e suscetível à sistemicidade, respectivamente.

Diante do exposto, a assíntota máxima expressa em chicotes por hectare permite avaliar a resistência de variedades de cana-de-açúcar a *Ustilago scitaminea* com base na capacidade das mesmas restringirem infecções das gemas basais ou da coroa (primárias), de gemas jovens em brotação ou perfilhos em crescimento (secundárias) e dos primórdios de perfilhos das gemas (sistêmica). Porém, quando B(1) é expressa em TD/ha, resultados diferentes são obtidos, pois este parâmetro desconsidera o número de chicotes por touceira (CHIC/TD) e, portanto, o fenômeno da sistemicidade.

5.3.2.3. Resistência à sistemicidade

A escala descritiva utilizada para classificar as variedades quanto ao nível de resistência à infecções de primórdios de perfilhos por *Ustilago scitaminea* mostrou-se bastante adequada, permitindo avaliar variedades resistentes, intermediárias e suscetíveis.

De acordo com os resultados obtidos, aos seis meses, uma pequena quantidade de chicotes decorrentes da colonização sistêmica foram observados. Com exceção das variedades IAC66/6 do bloco 2 (intermediária) e SP71-6163 (suscetível), todas as variedades foram classificadas como resistentes pelo parâmetro IDS-6 expresso em CHIC/TD. Porém, aos 10 meses de idade, houve uma variação bastante grande no número de CHIC/TD, indicando que a maioria dos chicotes frutos de colonização sistêmica são emitidos após a soca ter atingido seis meses de idade.

Outro ponto interessante a ser comentado é que, aos 10 meses, as discordâncias entre os níveis de resistência baseados em B(1) expressa em CHIC/ha e TD/ha só foram observadas nas variedades mais predispostas à colonização sistêmica (RB855176 = 3,77 CHIC/TD; RB785148 = 2,70 CHIC/TD; RB785343 = 2,43 CHIC/TD; ICA66/6 = 1,94 CHIC/TD (bloco 1) e 1,99 CHIC/TD (bloco 2)).

Considerando que o aumento da doença é proporcionado pela somatória de infecções secundárias e sistêmicas (WHITTLE & WALKER, 1982), a maior suscetibilidade de algumas variedades (RB855176, RB785148, RB785343 e IAC66/6) verificada aos 10 meses pode ser advinda de um grande número de chicotes decorrente de colonização sistêmica do fungo (suscetibilidade à sistemicidade). Por outro lado, variedades que apresentam poucos CHIC/TD (resistentes à sistemicidade) e um certo grau de suscetibilidade (NA56-79 e RB806043) apresentam como ponto crítico para o aumento da doença infecções secundárias (suscetíveis às infecções secundárias).

Frente às considerações acima, o conhecimento do nível de resistência à sistemicidade permite estabelecer qual o provável ponto crítico para o desenvolvimento da epidemia para cada variedade (sistemicidade ou infecção secundária). Assim, os resultados do presente trabalho indicam a necessidade de avaliar este fenômeno para um melhor entendimento da complexa interação variedade de cana-*Ustilago scitaminea*. Contudo, não deve-se esquecer que o parâmetro CHIC/TD talvez possa ser aumentado devido à existência de uma alta suscetibilidade da touceira à autoinfecção (esodemia), o que invalidaria as considerações anteriores. Mesmo ciente desta limitação, a utilização do parâmetro CHIC/TD para indicar a importância da sistemicidade para cada variedade é, no mínimo, tentadora.

6. DISCUSSÃO GERAL

O desenvolvimento do método de avaliação da resistência de variedades com base no X_0 das mudas pelo presente estudo representa uma grande contribuição para um melhor entendimento da complexa interação carvão-cana-de-açúcar. Este método, aliado à análise da evolução da doença em cana-soca pelo modelo de Gompertz generalizado (AMORIM *et alii*, 1993; HAU *et alii*, 1993), permite a identificação dos principais pontos vulneráveis à ocorrência de infecções sobre cada variedade.

A identificação do ponto crítico à suscetibilidade apresentado por certa variedade pode trazer grandes benefícios para melhor orientar as estratégias de controle do carvão sobre a mesma. O propósito deste controle é prevenir que o dano originado pela doença ultrapasse o nível onde o lucro ou produção requerida é suficientemente diminuída. A epidemiologia nos diz que as medidas de controle podem fazer isto de apenas duas maneiras: reduzindo ou anulando a doença no início do cultivo (X_0), ou diminuindo a velocidade de crescimento da doença (r) durante o período de desenvolvimento da cultura.

Diante do exposto, variedades que apresentam uma alta frequência de infecções nas gemas laterais da cana em pé (X_0 das mudas) necessitam de uma atenção redobrada no momento da produção das mudas sadias, visando reduzir o X_0 e, conseqüentemente, retardar o início da epidemia ou, até mesmo, impedir que a mesma ocorra. Neste particular, o advento da produção de mudas sadias através de cultura de meristema pode ser uma boa alternativa para garantir mudas livres do carvão, no momento de formação dos viveiros pré-primários. Logicamente, esta medida não dispensa o serviço de "roguing" o qual deve ser realizado com maior frequência nas

variedades intermediárias (NA56-79 e RB785343) e suscetíveis (RB855176) à infecção nas mudas.

Por outro lado, variedades sobre as quais o crescimento da epidemia assume uma dinâmica acentuada (NA56-79, RB785343, RB785554 e RB806043) não podem ser cultivadas em extensas áreas adjacentes a outras variedades intermediárias ou suscetíveis, por não possuírem a habilidade de restringirem a evolução da epidemia. Neste particular, a análise das curvas anuais do progresso do carvão em cana-soca pelo modelo de Gompertz generalizado indica com boa precisão qual o ponto crítico para o desenvolvimento da doença (infecções primárias, secundárias ou colonização sistêmica).

A IDS-6 caracteriza a resistência de variedades com base na capacidade das mesmas restringirem a infecção das gemas basais ou da coroa (infecções primárias). Portanto, considerando que infecções nestes locais são, em grande parte, responsáveis pela evolução da doença de um ano para outro, é possível que a IDS-6 estabeleça uma correlação positiva com a taxa de crescimento poliético da epidemia. Porém, nada sabe-se a este respeito, sugerindo a necessidade de novos estudos para comprovação de tal fato.

Com relação à assíntota máxima de doença ($B(1)$), este parâmetro representa uma resistência mais abrangente englobando, além das infecções nas gemas basais ou da coroa, aquelas que ocorrem nas gemas jovens em brotação ou perfilhos em crescimento (infecções secundárias) e nos primórdios de perfilhos das gemas (colonização sistêmica). Desta forma, sabendo-se que os esporos liberados pelos chicotes frutos de infecções secundárias e sistêmicas funcionam como fonte de inóculo para possíveis infecções nas gemas basais e da coroa (IDS-6) e nas gemas laterais da cana em pé (Xo das mudas), a $B(1)$ considera mais dois importantes componentes que podem determinar o sucesso da evolução da epidemia de carvão.

Frente as estas considerações, a utilização da metodologia proposta neste estudo mostra-se bastante oportuna na fase de pré-lançamento de variedades comerciais. Ela proporcionaria informações imprescindíveis para definir a melhor estratégia de controle do carvão para cada variedade de cana-de-açúcar. Considerando a grande importância desta cultura para o estado de São Paulo, isto seria perfeitamente justificável devido ao baixo custo que esta atividade representaria à comunidade canavieira.

7. CONCLUSÕES

Respeitando-se as condições sob as quais este experimento foi conduzido, foram obtidas as seguintes conclusões:

- Ocorrem na cana-de-açúcar vários mecanismos de resistência a *Ustilago scitaminea* e, por isso, são necessários vários parâmetros para caracterizar a resistência varietal em uma população de variedades.

- Para as avaliações de resistência varietal de populações de variedades de cana-de-açúcar os testes de campo com infecções naturais são necessários para captar os vários mecanismos de resistência das plantas.

- O presente trabalho comprovou a resistência de campo das variedades RB72454 e SP79-1011.

- A diminuição do inóculo inicial das mudas é um dos mecanismos de resistência de variedades de cana-de-açúcar ao carvão.

- A dificuldade de se avaliar 1000 gemas para caracterizar a resistência de variedades de cana-de-açúcar a *Ustilago scitaminea* foi superada pelo método proposto neste trabalho.

- Comparada à avaliação do inóculo inicial (X_0) do colmo todo, a avaliação do X_0 nas sete gemas basais é suficiente para determinar 95 a 97% das gemas contaminadas, reduzindo o volume de material a ser avaliado.

- O modelo de Gompertz generalizado descreveu com excelente precisão as curvas de progresso do carvão em cana-soca, mostrando ser uma excelente ferramenta para o melhor entendimento da complexa interação *U. scitaminea* X cana-de-açúcar em condições de insoculação indireta por inoculação natural.

- As curvas anuais de progresso do carvão apresentam dois padrões de crescimento distintos: sigmóide simples e duplo sigmóide. Variedades que apresentam um crescimento sigmóide simples tendem a ser mais suscetíveis.

- O método de avaliação de resistência varietal a *Ustilago scitaminea* aos seis meses de crescimento da soca foi incapaz de detectar a plena suscetibilidade de variedades de cana-de-açúcar.

- Confirmou-se que a medida da assíntota máxima de doença ($B(1)$) é um excelente parâmetro para avaliar a resistência varietal a *Ustilago scitaminea*.

- A reação da planta à sistemicidade do fungo precisa ser avaliada para melhor caracterizar a resistência de variedades de cana-de-açúcar a *Ustilago scitaminea*.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABRAMO F^o, J. & SORDI, R.A. Teste de novos fungicidas para controle do carvão da cana-de-açúcar (*Ustilago scitaminea*). In: Resumo dos Trabalhos Apresentados ao 20^o Congresso Brasileiro de Fitopatologia, Londrina, **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, 12 (2): 129, 1987.
- ALEXOPOULOS, C.J. & MIMS, C.W. **Introductory mycology**. 3.ed. New York, John Wiley & Sons, 1979. 632p.
- AMORIM, L. Epidemiologia do carvão (*Ustilago scitaminea*, Syd.) da cana-de-açúcar: curvas anuais e poliéticas de progresso da doença. Piracicaba, ESA/LQ/USP, 134p. (Tese de Doutorado), 1989.
- AMORIM, L. & BERGAMIN FILHO, B. Sugarcane smut development model: I. Annual curves of disease progress. **Z. Pflanzenkrankh. Pflanzenschutz**, **98**:605-612, 1991a.
- AMORIM, L. & BERGAMIN FILHO, B. Sugarcane smut development model: II. Polietical curves of disease progress. **Z. Pflanzenkrankh. Pflanzenschutz**, **98**:613-618, 1991b.
- AMORIM, L.; BERGAMIN FILHO, A & HAU, B. Analysis of progress curves of sugarcane smut on different cultivar using functions of double sigmoide pattern. **Phytopathology**, **83**(9):933-936, 1993.
- AMORIM, L. & RICCI Jr., A. Potencial infeccioso - um parâmetro epidemiológico da resistência ao Carvão (*Ustilago scitaminea* Sydow). **BOLETIM TÉCNICO COPERSUCAR**, São Paulo, **36**: 50-3, nov. 1987.
- ANTOINE, R. Smut. In: MARTIN, J.P.; ABBOTT, E.V.; HUGHES, C.G., ED. **Sugarcane diseases of the world**. Amsterdam, Elsevier, 1961. v.1, p.326-53.
- AUST, H.J. & KRANZ. Experiments and procedures in epidemiological field studies. **Experimental Techniques in plant Disease Epidemiology** (J. KRANZ & J. ROTEM, eds.). Springer-Verlag, Berlin, 1988. pp. 7-17.

- BAILEY, R.A. Sugarcane smut in South Africa: Current control recommendations. **Proc. S. Afr. Sugar Technol. Assoc. Annu. Congr.**, 51: 47-50, 1977a.
- BAILEY, R.A. The effect of hot water treatment, ratoon stunting disease and moisture stress on the incidence of smut in sugarcane. **Proc. Int. Soc. Sugar Cane Technol.**, 16: 327-35, 1977b.
- BAILEY, R.A. The effect of soil and sugarcane applications of triadimefon on the incidence of sugarcane smut (*Ustilago scitaminea*). **Proc. S. Afr. Sugar Technol. Assoc. Annu. Congr.**, 57: 99-104, 1983.
- BENDA, G.T.A. Breeding for disease resistance. In: COPERSUCAR INTERNATIONAL BREEDING SUGARCANE WORKSHOP. Piracicaba, 1987. **Anais.** São Paulo, Copersucar, 1987. p.161-79.
- BERGAMIN FILHO, A. ; AMORIM, L.; CARDOSO, C.O.N.; IRVINE, J. & SILVA, W.M. Carvão da cana-de-açúcar e sua epidemiologia. **BOLETIM TÉCNICO COPERSUCAR**, São Paulo, (ed. especial):1-23, nov. 1987.
- BERGAMIN FILHO, A.; SILVA, W.M.; SANGUINO, A.; AMORIM, L.; NELLI, E.J.; BATTISTELLA, J.R.; COLETTI, J.T. & VALENTIM, R. Análises da evolução do carvão da cana-de-açúcar em duas usinas do Estado de São Paulo no período de 1981-1985. In: SEMINÁRIO DE TECNOLOGIA AGRONÔMICA, 3., Piracicaba, 1986. **Anais.** São Paulo, Copersucar, 1986. p.214-7.
- BOCK, K.R. Studies on sugar-cane smut (*Ustilago scitaminea*) in Kenya. **Trans. Brit. Mycol. Soc.**, 47 (3): 403-17, 1964.
- BOWLER, P.A.; TRUJILLO, E.E. & BEARDSLEY Jr., J.W. Insect feeding on sugarcane smut in Hawaii. **Proc. Hawaii Entomol. Soc.**, 22: 451-6, 1975.
- BYTHER, R.S. & STEINER, G.W. Comparison of inoculation techniques for smut disease testing in Hawaii. **Proc. Int. Soc. Sugar Cane Technol.**, 15: 280-8, 1974.
- CAMPBELL, C.L. & MADDEN, L. V. **Introduction to plant disease epidemiology.** John Wiley & Sons, New York. 532pp, 1990.

CAMPOS, H. **Estatística experimental não-paramétrica**. 4ª ed., Piracicaba-SP, 349p., 1983.

CARVALHO, P.C.T. Carvão da cana-de-açúcar. In: **Pragas e doenças da cana-de-açúcar**. Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Piracicaba, p.67-74, 1963. (Apostila do Curso de Pós-Graduação).

CARDOSO, C.O.N.; BERGAMIN FILHO, A.; SANGUINO, A.; AMORIM, L. & SILVA, W.M. Análise da evolução do carvão da cana-de-açúcar no período 1981-1987, na usina Barra Grande - SP. In: **SEMINÁRIO DE TECNOLOGIA AGRONÔMICA**, 4., Piracicaba, 1988. **Anais**. São Paulo, Copersucar, 1988.

CHONA, B.L. Sources of resistance to diseases in breeding varieties of sugarcane. **Indian J. Genet. Plant Breed.**, 17: 257-68, 1957.

COMISSÃO DE CONTROLE DO CARVÃO DA CANA-DE-AÇÚCAR NO ESTADO DE SÃO PAULO. Relatório do Exercício. 1976, São Paulo, 1976.

COMISSÃO DE CONTROLE DO CARVÃO DA CANA-DE-AÇÚCAR NO ESTADO DE SÃO PAULO. Relatório do Exercício. 1978, São Paulo, 1978.

COMISSÃO DE CONTROLE DO CARVÃO DA CANA-DE-AÇÚCAR NO ESTADO DE SÃO PAULO. Relatório do Exercício. 1981, São Paulo, 1981.

COMISSÃO DE CONTROLE DO CARVÃO DA CANA-DE-AÇÚCAR NO ESTADO DE SÃO PAULO. Relatório do Exercício. 1986, São Paulo, 1986.

COMISSÃO DE CONTROLE DO CARVÃO DA CANA-DE-AÇÚCAR NO ESTADO DE SÃO PAULO. **Campanha Integrada de Controle do Carvão da Cana-de-açúcar**. São Paulo, 1985. 40p.

COMSTOCK, J.C.; FERREIRA, S.A. & TEW, T.L. Hawaii approach to control of sugarcane smut. **Plant Dis.**, St. Paul, 67: 452-7, 1983.

COPERSUCAR. Formação de viveiros de cana-de-açúcar a partir do tratamento térmico de gemas isoladas. In: **I SEMINÁRIO DE TECNOLOGIA AGRONÔMICA**. Piracicaba, 1982. p.67-79.

- COPERSUCAR. Segunda geração de variedades de cana Copersucar. **BOLETIM TÉCNICO COPERSUCAR**, (ed. especial), 23p. 1989.
- COPERSUCAR. Terceira geração de variedades de cana Copersucar. **BOLETIM TÉCNICO COPERSUCAR**, (ed. especial), 27p. 1991.
- DEAN, J.L. The effect of wounding and high pressure spray inoculation on the reactions of sugarcane clones. **Phytopathology**, St. Paul, 72 (8): 1023-5, 1982.
- DIXON, W.J. BMDP Statistical Software. University of California Press, Berkeley. 1985.
- DRAPER, N.R. & SMITH, H. **Applied Regression Analysis**. 2nd. ed. John Wiley & Sons, New York. 1981.
- EISENSMITH, S.P. PlotIT Graphics and Statistics. ICS, Frankfurt. 1985.
- ELSTON, D.A. & SIMMONDS, N.W. Model of sugarcane smut disease and their implications for testing variety resistance. **Journal of Applied Ecology**, Oxford, 25: 319-29, 1988.
- FEREOL, L. Inoculation of "in vitro" cultivated sugarcane with smut (*Ustilago scitaminea*). **Can. J. Bot.** 62 (10): 2043-6, 1984.
- FERREIRA, S.A. & COMSTOCK, J.C. Smut. In: RICAUD, C.; EGAN, B.T.; GILLASPIE Jr., A.G. & HUGHES, C.G., ed. **Diseases of Sugarcane. Major Diseases**. Amsterdam, Elsevier, 1989. p. 211-29.
- FERREIRA, S.A.; COMSTOCK, J.C. & WU, K.K. Evaluating sugarcane smut resistance. **Proc. Int. Soc. Sugar Cane Technol.**, 17: 1463-76, 1980.
- FIGUEIREDO, P.; MATSUOKA, S.; SILVA, W.M.; TOKESHI, H.; FIGUEIREDO Jr., E.R.; SILVEIRA, A.P.; MELLO, S.S. & PARADELA FILHO, O. Testes de resistência de variedades de cana-de-açúcar a *Ustilago scitaminea* Syd. em condições de campo. **Biológico**, São Paulo, 46(10): 225-33, 1980.

- FIGUEIREDO, P.; FIGUEIREDO Jr., E.R.; SILVA, W.M.; MELLO, S.S.; TOKESHI, H.; MATSUOKA, S.; SILVEIRA, A.P. & PARADELA FILHO, O. Resistência de variedades a *Ustilago scitaminea* Syd. II - Teste em condições de campo. **Biológico**, São Paulo, 48(3): 61-73, 1982.
- FIGUEIREDO, P.; MATSUOKA, S.; FIGUEIREDO Jr., E.R.; PARADELA FILHO, O.; MELLO, S.S.; SILVEIRA, A.P.; SANGUINO, A.; SUZUKI, S.; SILVA, W.M. & TOKESHI, H. Resistência de variedades de cana-de-açúcar a *Ustilago scitaminea* Syd. III - Teste em condições de campo. **Biológico**, São Paulo, 49(7): 175-86, 1983.
- FIGUEIREDO, P.; MATSUOKA, S.; SANGUINO, A.; SILVEIRA, A.P.; TOKESHI, H.; PARADELA FILHO, O.; FIGUEIREDO Jr., E.R.; SILVA, W.M. & MELLO, S.S. Resistência de variedades de cana-de-açúcar a *Ustilago scitaminea* Syd. V - Teste em condições de campo. **Biológico**, São Paulo, 51(3): 67-76, 1985.
- GHELLER, A.C.A. Avaliação da eficiência de dois sistemas de tratamento térmico para inativação da bactéria causadora do raquitismo da soqueira em cana-de-açúcar. Piracicaba, ESAL/USP, 99p. 1986. (Dissertação de Mestrado).
- GIGLIOTI, E.A. & TOKESHI, H. Influência das bainhas e folhas na incidência de carvão (*Ustilago scitaminea*) em cana-de-açúcar. In: Resumo dos trabalhos apresentados no XIV CONGRESSO PAULISTA DE FITOPATOLOGIA, Botucatu, *Summa Phytopathologica*, Jaguariuna, 17(1): p.17, 1991.
- HAU, B.; AMORIM, L. & BERGAMIN FILHO, B. Mathematical functions to describe disease progress curves of double sigmoide pattern. **Phytopathology**, 83(9):928-932, 1993.
- HENDRE, R.R.; KOTWAL, M.; KHUSPE, S.S.; MASCARENHAS, A.F. Rapid multiplication of sugarcane by tissue culture. **Sugar Cane**. (1):5-8, May-June, 1983.
- HIRSCHHORN, E. Un nuevo metodo de infeccion artificial con el carbón de la caña de azucar. **Rev. Invest. Agric.**, 3:335-344. 1949.
- HOY, J.W.; GRISHAM, M.P. & CHAO, C.P. Production of sori and dispersal of teliospores of *Ustilago scitaminea* in Louisiana. **Phytopathology**, 81:574-579, 1991.

- HUTCHINSON, P.B. A standardized rating system for recording varietal resistance to varietal sugarcane disease. *Sug. Pathol. Newsl.*, Beltsville, 5: 7, 1970.
- IAA/PLANALSUCAR. RB72454: Resultados experimentais no centro-sul e norte-nordeste do Brasil. *Brasil açucareiro*, Rio de Janeiro, **106**(1):11-39, 1988a.
- IAA/PLANALSUCAR. Novas variedades RB para a região centro-sul do Brasil, ed. especial, 31p. 1988b.
- IRVINE, J.E. Strategies for smut control. *Sug. Pathol. Newsl.*, Beltsville, 28: 1-2, 1982.
- ISSCT. Sugarcane diseases and their world distribution. *In*: RICAUD, C.; EGAN, B.T.; GILLASPIE Jr, A.G. & HUGHES, C.G., ed. **Diseases of Sugarcane. Major Diseases**. Amsterdam, Elsevier, 1989. p. 341-76.
- JAMES, G.L. Smut susceptibility of sugarcane varieties in Rhodesia. *Proc. S. Afr. Sugar Technol. Assoc. Annu. Congr.*, 43: 85-91, 1969a.
- JAMES, G.L. Viability of sugarcane smut spores in soil. *Sugarcane Pathol. Newsl.*, 3:10-12, 1969b.
- JAMES, G.L. Hot water treatment and smut. *Sugar Pathol. Newsl.*, Beltsville, 6: 11-2, 1971.
- JAMES, G.L. Sugarcane smut infection in Guyana and Martinique. *Sugar J.*, **38**(May): 17, 1976a.
- JAMES, G.L. The effects of ratoon stunting disease on the expression of smut symptoms. *Proc. S. Afr. Sugar Technol. Assoc. Annu. Congr.*, 50: 69-72, 1976b.
- JAMES, G.L. Culmicolous smut of sugarcane, and the effects of its control on yield. *Proc. Int. Soc. Sugar Cane Technol.*, 15: 292-9, 1974.
- JOSHI, L.K. Effect of hot water treatment of setts for the control of red rot and smut disease of sugar cane. *Indian Sugar*, 4: 23-8, 1954.

- KRANZ, J. Comparison of epidemics. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, 12: 355-374, 1974a.
- KRANZ, J. The role and scope of mathematical analysis and modeling in epidemiology. In: KRANZ, J., ed. **Epidemics of plant diseases; mathematical analysis and modeling**. Heidelberg, Springer-Verlag, 1974b. p.7-54.
- LADD, S.L.; HEINZ, D.J.; STEINER, G.W.; BYTHER, R.S.; COMSTOCK, J.C. & MEYER, H.K. Natural infection reaction to smut disease. **Sug. Pathol. Newsl.**, Beltsville, 13: 9-10, 1975.
- LEE, T.S.G. Micropropagação da cana-de-açúcar através de meristema apical. **Saccharum APC**, 7:36-9, 1984.
- LEE, T.S.G. Produção de mudas sadias de cana-de-açúcar através da técnica de cultura de tecidos. **Álcool & Açúcar**, 45:20-29, 1988.
- LEE, T.S.G. Biofábrica de cana-de-açúcar. **Álcool & Açúcar**, 63:26-32, 1992.
- LEE-LOVICK, G. Smut of Sugarcane. **Review of Plant Pathology**, Oxon, 57: 181-7, 1978.
- LEU, L.S.; WISMER, C.A.; DANIELS, J. & HUTCHINSON, P.B. Cooperative programs for screening sugarcane varieties for resistance to diseases. (1) Taiwan Program. **Sug. Path. Newsl.**, Beltsville, 4: 36-7, 1970.
- LLOYD, H.L. & NAIDOO, G. A quantitative semi-automatic technique for assessment of smut colonization of sugarcane stalk tissue prior to whip formation. **Sug. Pathol. Newsl.**, Beltsville, 26: 48-51, 1981.
- LLOYD, H.L. & PILLAY, M. The development of an improved method for evaluating sugarcane resistance to smut. **Proc. S. Afr. Sugar Technol. Assoc. Annu. Congr.**, 54: 168-172, 1980.
- LUTHRA, J.C.; SATLAR, A. & SANDHU, S.S. Life history and modes of perpetration of smut of sugarcane, *Ustilago scitaminea* Syd. **Indian J. Agric. Sci.**, 8: 849-61, 1938.

- MACHADO Jr, G.R.; SILVA, W.M. & IRVINE, J.E. Sugarcane breeding in Brazil: the Copersucar program. *In: COPERSUCAR INTERNATIONAL SUGARCANE WORKSHOP*, Piracicaba, 1987. Anais. São Paulo, Copersucar, 1987. p.217-32.
- MATA, J.F. & TOKESHI, H. Comparação em três métodos de preservação de *Ustilago scitaminea*. *Summa Phytopathologica*, 2: 187-93, 1976.
- MATSUOKA, S. Método para pré-teste de clones de cana-de-açúcar ao carvão e ao mosaico conjuntamente. **I CONGRESSO NACIONAL DA STAB**, Maceió-AL, 22 a 27/Jan/1979, Anais, p. 231-233, 1979.
- MATSUOKA, S.; SORDI, R.A.; MASUDA, Y. & ARIZONA, H. Reliability and feasibility of the needle-bud puncture method for rapid identification of smut susceptible sugarcane clones. *Proc. Int. Soc. Sugar Cane Technol.*, 19: 375-85, 1986.
- MOMOL, M. T. Epidemiological studies of sugarcane smut. Florida, 1986. 72p. (Mestrado - University of Florida).
- MUNDKUR, B.B. Taxonomy of the sugarcane smuts. *Kew Bull.*, 10: 525-33, 1939.
- MUTHUSAMY, S. Varietal susceptibility to smut (*Ustilago scitaminea* Sydow) in relation to bud characters. *Proc. Int. Soc. Sugar Cane Technol.*, 15: 289-91, 1974.
- NASR, I.A. Standardization of inoculation techniques for sugarcane smut disease. *Sug. Pathol. Newsl.*, Beltsville, 18: 2-5, 1977.
- NOETHER, G.E. **Introdução à estatística. Uma abordagem não-paramétrica.** Trad. de F.W. Rodrigues e L.K. Cordani, 2ª ed., Editora Guanabara Dois S/A, Rio de Janeiro, 258p., 1967.
- PRASADARAO, K.K.; SARMA, M.N.; SATYANARAVANA, Y. & RAO, M.A. Assessment of sugarcane varietal reaction to smut. A new approach. *Sug. Pathol. Newsl.*, Beltsville, 23: 1-7, 1979.

- RAMPERSAD, E.M. & BRATHWAITE, C.W.D. Evidence to support the involvement of physiological factor in the smut resistance of nine varieties of sugarcane grown in Trinidad and Tobago. **Proceedings of the 1985 meeting of West Indies Sugar Technologists**, Trinidad and Tobago. 2:762-775. 1985.
- SANGUINO, A. Como formar viveiros de mudas. In: Seminário de Tecnologia Agronômica, 3., Piracicaba, 1986. **Anais**, São Paulo, Copersucar, 1986. p.229-42.
- SANGUINO, A. & TOKESHI, H. Vácuo e *Ustilago scitaminea* alterando a brotação de cana-de-açúcar. **Brasil açucareiro**, Rio de Janeiro, 6:510-515. 1976.
- SANTOS, A.A.; TEIXEIRA, L.M.S.; ARAÚJO, F.E. & FREIRE, J.M. Ocorrência do carvão (*Ustilago scitaminea*) da cana-de-açúcar no estado do Ceará. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, 11: 749-51, 1986.
- SILVA, W.M. Pré-seleção de "seedlings" de cana-de-açúcar resistente a *Ustilago scitaminea*, pela inoculação das "Sementes". Piracicaba, ESALQ/USP, 65p. (Tese de Doutorado), 1978.
- SREERAMULU, T. & VITTAL, B.P.R. Spore dispersal of the sugarcane smut (*Ustilago scitaminea*). **Trans. Br. Mycol. Soc.**, Great Britain, 58: 301-12, 1972.
- SUZUKI, S. Epidemiologia do carvão-da-cana-de-açúcar (*Ustilago scitaminea* Sydow) em Campos-RJ, Vinconde do Rio Branco-MG e Viçosa-MG. Dissertação de Mestre em Fitopatologia. Viçosa-MG, 80p. 1990.
- SYDOW, H. Notizen uber Ustilagigeen. **Ann. Mycology**, 22: 277-91, 1924.
- THOMSON, G.M. Smut disease and hot water treatment. **Sug. Pathol. Newsl.**, Beltsville, 5: 48, 1970.
- TOKESHI, H. Doenças da cana-de-açúcar. In: GALLI, F., coord. **Manual de Fitopatologia**. São Paulo, Agronômica Ceres, 1980. v.2, p.141-206.
- VANDERPLANK, J.E. **Plant Diseases: Epidemics and Control**. New York, Academic Press, 1963. 349p.

- VANDERPLANK, J.E. **Disease resistance in plants**. 2 ed. Orlando, Academic Press, 1984, 194p.
- VILLALON, B. Sugarcane smut in lower Rio Grande Valley of South Texas. **Plant Dis.**, St. Paul, 66: 605-6, 1982.
- WALLER, J.M. Sugarcane smut (*Ustilago scitaminea*) in Kenya, I. Epidemiology. **Trans. Br. Mycol. Soc.**, Great Britan, 52: 139-51, 1969.
- WALLER, J.M. Sugarcane smut (*Ustilago scitaminea*) in Kenya, II. Infection and Resistance. **Trans. Br. Mycol. Soc.**, Great Britan, 54: 405-14, 1970.
- WHITTLE, A.M. Thoughts on smut resistance testing. **Sug. Pathol. Newsl.**, Beltsville, 20: 43-6, 1978.
- WHITTLE, A. M. & WALKER, D.I.T. Interpretation of sugarcane smut suscetibility trials. **Tropical pest management**, Hampshire, **28**(3):228-237, 1982.
- WIEHE, P.O. Results of some experiments on smut of sugarcane in Mauritius. **Rev. Agric.**, Maurice, 28: 7-11, 1949.
- ZADOKS, J.C. & SCHEIN, R.D. **Epidemiology and plant disease management**. Oxford, Oxford University Press, 1979.

APÊNDICE 1. Croqui de campo mostrando a divisão dos blocos.

APÊNDICE 2. Croqui de campo do bloco 1 para exemplificar o delineamento experimental.

----- FONTE DE INÓCULO

_____ VARIEDADE TESTE

APÊNDICE 3. Taxa de infecção das mudas (TIM = % x 10) nas parcelas dos padrões de resistência.

BLOCO 1

PARCELA	SP70-1143	NA56-79	IAC66/6
1	0	0,6757	33,5196
2	0	0,8772	35,1563
3	0	1,3477	46,2428
4	0	2,6619	17,4419
5	0	1,0905	25,0855
6	0	6,2500	11,7647
7	0	3,2189	12,1766
8	0	4,5455	24,5283
9	0	0,8569	19,9052
10	0	3,6711	14,0449
11	0	2,0367	-
MEDIA	0	2,4756	23,9866

BLOCO 2

PARCELA	SP70-1143	NA56-79	IAC66/6
1	0	1,7361	15,7576
2	0	5,0847	14,3266
3	0	1,5444	12,2951
4	0	1,9608	25,2525
5	0	0,0000	14,0845
6	0	2,3401	12,1951
7	0	3,4632	17,1731
8	0	2,3401	8,7500
9	0	3,1746	11,6129
10	0	2,6667	20,0927
11	0	1,8433	-
MEDIA	0	2,3776	15,1540

APÊNDICE 4. Taxa de infecção das mudas (TIM = % x 10) nas parcelas das variedades estudadas no bloco 1.

PARCELA	RB765418	RB805246	RB785554
1	0,9901	0,9132	0,9901
2	0	2,8653	0,8403
3	0		0
4	0	0	0
5	0	0	0
6	0	0	0
7	0	0	0
8	0	0	0
9	0	0	0
10	0	0	0
MEDIA	0,0990	0,3779	0,1830

PARCELA	SP79-1011	RB785343	RB855176
1	1,2579	1,5038	13,6830
2	1,0929	4,9180	26,5152
3	0	1,0811	46,4516
4	0	1,2626	13,0152
5	0	1,8349	13,1965
6	0	3,0395	20,9974
7	0	0	13,2450
8	0	0	20,3459
9	0	0	20,3349
10	0	0	16,7539
MEDIA	0,2351	1,3640	20,4539

APÊNDICE 5. Taxa de infecção das mudas ($TIM = \% \times 10$) nas parcelas das variedades estudadas no bloco 2.

PARCELA	RB785148	RB72454	RB806043
1	0	2,4038	0
2	0	0	0
3	0	0	0
4	0	0	0
5	0	0	0
6	0	0	0
7	0	0	0
8	0	0	0
9	0	0	0
10	0	0	0
MEDIA	0	0,2404	0

PARCELA	SP70-1284	SP71-6163	SP72-4928
1	0	2,4155	0
2	0	2,3975	0
3	0	0	0
4	0	0	0
5	0	0	0
6	0	0	0
7	0	0	0
8	0	0	0
9	0	0	0
10	0	0	0
MEDIA	0	0,4813	0