AVALIAÇÃO DA RESISTÊNCIA AO RAQUITISMO DA SOQUEIRA PELO MÉTODO DA VAZÃO DE ÁGUA EM COLMOS DE CANA-DE-AÇÚCAR

PEDRO JOSÉ VALARINI
ENG^o AGR^o - EMBRAPA

Prof. Dr. HASIME TOKESHI
ORIENTADOR

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

PIRACICABA
Estado de São Paulo - Brasil
junho, 1978

Aos meus pais e minha avô
que muito contribuíram para a
minha formação,

MINHA HOMENAGEM

À minha esposa, Ivete
e aos meus irmãos,
que sempre me incentivaram,
Dedico.

AGRADECIMENTOS

O autor externa os seus mais sinceros agradecimentos a todos que direta ou indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho em especial àquelas relacionadas a seguir:

- À esposa Ivete R. Amstalden Valarini, pela paciência, dedicação e destacada participação durante o desenvolvimento do presente trabalho;

- Ao Prof. Dr. HASIME TOKESHI, pela valiosa orientação, amizade, entusiástico interesse e colaboração na minha formação científica;

- Ao Dr. FERDINAND GALLI, chefe do Departamento de Fitopatologia, pelas facilidades oferecidas durante o desenvolvimento do curso e execução do trabalho;

- À Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA) pela oportunidade concedida de aperfeiçoamento e apoio na realização do curso;

- Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela concessão de bolsas de estudo;

- Ao Prof. Dr. PAULO ROBERTO DE CASTRO pela colaboração na revisão dos originais, críticas e sugestões apresentadas;

- Ao PLANALSUCAR, e em especial do Dr. Sizuo Matsuoka, pela excelente colaboração no fornecimento de materiais de cana-de-açúcar durante o desenvolvimento do trabalho;

- À Estação Experimental da COPERSUCAR pela colaboração prestada no fornecimento de materiais de cana-de-açúcar;

- À Engenheiro Agrônomo Maria José Valarini, pela valiosa colaboração na revisão final dos originais e sugestões apresentadas;

- Ao Dr. Humberto de Campos e ao Engenheiro Agrônomo Norberto Antonio Lavoretti, pela colaboração na análise estatística dos dados;

- Ao Dr. Gileno Maciel pela valiosa participação na elaboração dos desenhos;

- Ao Dr. Eiichi Matsui pela idealização e construção do vacuômetro de mercúrio;

- Aos Colegas do Curso de Pós-Graduação do Departamento de Fitopatologia da ESALQ, pelas sugestões prestadas na elaboração do trabalho;

- À Maria Elizabeth Ferreira de Carvalho e Luiz Carlos Verissimo, funcionários da biblioteca da ESALQ, pela valiosa colaboração na citação de literatura;

- À Sra. Sônia Novaes Rasera, pelo serviço de datilografia;

- Ao Sr. Alcídeo Andrioli, funcionário do Departamento de Fitopatologia pela colaboração na coleta de material e nos trabalhos de laboratório.

ÍNDICE

	<u>página</u>
1. RESUMO	1
2. INTRODUÇÃO	3
3. REVISÃO DE LITERATURA	6
3.1. Agente causal e disseminação do patógeno	6
3.2. Sintomas diagnósticos e interferência de fatores na expres são	8
3.3. Diagnose através de testes biológicos, técnicas serológi- cas e microscópicas	11
3.4. Controle do Raquitismo da Soqueira (RS)	13
3.5. Métodos de avaliação de doenças baseados na anatomia vascu- lar	15
4. MATERIAL E MÉTODO	20
4.1. Método de avaliação do RS	20
4.2. Isolamentos	26
4.2.1. Isolamento de <i>Fusarium moniliforme</i>	26
4.2.2. Escaldadura das Folhas	27
4.3. Medidas dos diâmetros do lume dos vasos do xilema	27
5. RESULTADOS	29
5.1. Fatores que interferem na avaliação do RS	29

5.1.1. Pressão de vácuo	29
5.1.2. Sentido do colmo	30
5.1.3. Localização dos nós no colmo	32
5.1.4. Armazenamento dos colmos	34
5.1.5. Correlação positiva entre a vazão e o número de va- sos funcionais do xilema	35
5.1.6. Distribuição do RS dentro de touceira de cana-de-a- çúcar	36
5.2. Isolamentos de contaminantes dos vasos do xilema	40
5.3. Resultados de aplicação do método de vazão de água	41
5.3.1. Evolução da infestação de RS em cana-planta e cana soca	41
5.3.2. Avaliação da vazão de água em colmos de cana-de-açú- car tratados termicamente e inoculados com RS	42
5.4. Medidas dos diâmetros do lume dos vasos do xilema de col- mos de cana-de-açúcar	46
6. DISCUSSÃO	48
6.1. Fatores que interferem no método de avaliação do RS	48
6.2. Aplicação do método de vazão de água para avaliação do RS.	53
7. CONCLUSÕES	57
8. SUMMARY	59

9. LITERATURA CITADA	61
APÊNDICE	72

1. RESUMO

O controle do Raquitismo da Soqueira (RS) tem sido insatisfatório devido as dificuldades de identificação da doença e ausência de sintomas específicos não questionáveis. O "roguing" usado com sucesso no controle de outras doenças da cana-de-açúcar é impossível de ser aplicado sem um sintoma externo específico. O desenvolvimento das cultivares resistentes ao RS é difícil devido a ausência de método rápido e eficiente de seleção.

Objetivando resolver o problema desenvolveu-se o método de medida de vazão de água em colmos de cana-de-açúcar. A água foi passada através de colmos de cana-de-açúcar sadios e doentes. O efeito do RS na vazão foi avaliado nas cultivares comerciais e diferenciais para RS. Estudou-se o efeito de diversos fatores em vazão de colmos sadios e doentes sob vácuo constante.

Os resultados mostraram que, com exceção do diâmetro do colmo, os fatores armazenamento, pressão de vácuo, sentido do colmo, localização do nó no colmo, idade do colmo, distribuição da doença dentro da touceira

ra, colmos injuriados por *Diatraea saccharalis* e outras doenças vasculares interferem na avaliação da vazão do colmo.

As análises estatísticas dos dados de vazão indicaram que nas cultivares tolerantes ao RS a queda de vazão de água entre colmos sadios e doentes foi pequena, já nas cultivares suscetíveis observou-se o oposto.

Determinou-se também a existência de correlação entre queda de vazão, presença de sintomas de RS nos nós e menor número de feixes vasculares funcionais. Concluiu-se que a determinação de vazão de água em colmos sadios e doentes poderá constituir-se num método eficiente, seguro, rápido e econômico de seleção de plantas resistentes ao RS e de outras doenças vasculares em cana-de-açúcar.

2. INTRODUÇÃO

A cana-de-açúcar é considerada, mundialmente, uma das culturas mais bem dotadas, pela sua alta capacidade de difusão geográfica, pelo seu enorme valor econômico-social e pelas inúmeras indústrias que carrega consigo.

Atualmente, entre os países produtores de cana-de-açúcar, destaca-se o Brasil como o maior produtor, onde verifica-se, de ano para ano, um crescimento nesse setor, prevendo-se para a safra 77/78 uma produção de 135 milhões de sacas de açúcar e cerca de 1587 milhões de litros de álcool (IAA-1977). Por outro lado, no momento, em razão da grande expansão na produção de álcool para os próximos anos, há enorme interesse dos produtores em aumentar as áreas de plantio de cana-de-açúcar (Prognóstico 77/78 - Instituto de Pesquisas Econômicas da Secretaria da Agricultura do Estado de São Paulo).

Apesar de ser o maior produtor de açúcar de cana, a produtividade agrícola brasileira é inferior a de outros países competidores, pois

a sua produtividade por unidade de área, equivale a 70% da produtividade da África do Sul, Austrália e Estados Unidos Continental e 40% da produtividade do Havaí. Como pode-se verificar, essas cifras espelham que muitos fatores podem estar contribuindo para a baixa produtividade brasileira de cana-de-açúcar.

As possibilidades de melhoria da produção e da produtividade da cultura da cana-de-açúcar são muito grandes, se levarmos em consideração o aumento do potencial genético das cultivares, o uso racional das práticas agrícolas e, principalmente, o combate das doenças e pragas.

Dos numerosos problemas fitossanitários que atingem a cana-de-açúcar, trazendo considerável queda de produção, é de maior importância a doença Raquitismo da Soqueira (RS). Apesar da real importância da doença, desconhece-se o quanto de perda agrícola e industrial é devido ao RS. A literatura nacional consultada apresenta apenas alguns dados estimados que, muitas vezes, se baseiam em dados fornecidos pela literatura estrangeira. O maior entrave envolvido neste aspecto se relaciona a não disponibilidade de uma cultivar testemunha verdadeira, devido à ausência de métodos adequados de cura e do controle de reinfestação com RS na cultura.

Atualmente, a inativação do agente causal pelo calor é o método mais eficiente de controle do RS, mas tem sido apenas uma prática paliativa e de custo elevado. Por outro lado, os métodos de melhoramento empregados, só permitem a obtenção das cultivares tolerantes ou resistentes ao RS, por mero acaso, pois as seleções não são dirigidas diretamente para este objetivo.

Com os conhecimentos atuais, a identificação e controle do RS são considerados difíceis e problemáticos. Decorre daí a necessidade de se desenvolver uma nova metodologia de trabalho, que possibilite avaliar o efeito da moléstia na cana-de-açúcar.

Os objetivos principais do trabalho compreendem basicamente, determinar a ocorrência de correlação entre a vazão de água em colmos de cana-de-açúcar e o grau de suscetibilidade das cultivares ao RS e estudar alguns fatores que interferem nesta determinação. Procurou-se desenvolver um método simples, preciso, rápido e seguro de avaliar cultivares sensíveis ao RS, sem a necessidade de observar a queda de produção de canas soca e ressoca.

O presente trabalho foi desenvolvido no Departamento de Fitopatologia da ESALQ/USP e as cultivares de cana-de-açúcar foram fornecidas pelas Estações Experimentais da COPERSUCAR (Piracicaba - SP) e PLANALSUCAR-IAA (Araras-SP).

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1. Agente causal e disseminação do patógeno

O Raquitismo da Soqueira (RS) foi observado, pela primeira vez, em Queensland (Austrália), nos anos de 1944 - 1945, incidindo sobre a variedade Q28, a qual apresentava um crescimento sub-normal e irregular (HUGHES e STEINDL, 1955). Entretanto, no Brasil, somente foi constatado, inicialmente, por *VEIGA* (1956), em Campos (RJ) e por *DANTAS* (1956), em Pernambuco, estando, atualmente, disseminado por todas as regiões canavieiras de São Paulo e demais Estados do Brasil.

É bem provável que a ausência de qualquer sintoma externo específico tenha dificultado a identificação e os estudos iniciais da doença, no Brasil (*MATSUOKA*, 1971a).

Até 1971, os trabalhos sugeriram que um vírus estava, provavelmente, envolvido (*SCHEXNAYDER*, 1956; *FORBES e LING*, 1960; *STEINDL*, 1961; *CARVALHO*, 1963; *GILLASPIE et alii*, 1966; *GALLI et alii*, 1968; *GILLASPIE*, 1970/1971). A possível associação de um micoplasma com a moléstia (*STEIB e*

TANTERA, 1970) ou um micoplasma mais um vírus (KHURANA, 1972) também foi sugerida, sem apresentar provas concretas. Mais tarde, PLAUSIC-BANJAC e MARA MOROSCH (1972), TEAKLE *et alii* (1973) e TEAKLE (1974) relataram a presença de corpos pleomórficos, lembrando "bactérias muito pequenas ou corpos parecidos a micoplasma e Ricktsia", no xilema de colmos maduros e doentes, mas não em plantas sadias de cana-de-açúcar. CHEN *et alii* (1975), GILLASPIE *et alii* (1976a), RICAUD *et alii* (1976), DAMANN e DERRICK (1976) confirmaram que uma bactéria corêneforme estava associada com plantas de cana-de-açúcar infectadas com RS, mas não com plantas sadias.

Embora, até o presente momento, a maioria dos pesquisadores concorde que o agente é, provavelmente, uma bactéria, a natureza exata do organismo e seu tamanho permanecem controvertidos. Por exemplo, certos pesquisadores, sugeriram como possíveis agentes, as bactérias causadoras de escaudadura (*Xanthomonas albilineans*) e da gomose (*Xanthomonas vasculorum*). Mas, a maior discrepância é com relação ao tamanho do organismo. A maioria dos pesquisadores citaram valores entre $0,12-0,5 \times 0,6-0,3 \mu\text{m}$, embora relatos de Louisiana dimensionam valores entre $0,3-0,5 \times 5,0-10,0 \mu\text{m}$ (GILLASPIE *et alii*, 1976a).

RICAUD *et alii* (1976) relataram que, de várias bactérias encontradas nos exsudatos de cana, exibindo sintomas de RS, a mais predominante apresenta várias características daquelas citadas na literatura, embora nenhum septo tenha sido observado. Ela foi encontrada nos nós, nos internódios de colmos afetados, nos tecidos abaixo do ponto de crescimento e nas folhas, indicando que não é um contaminante passivo e restrito aos ferimentos e cicatrizes das folhas. Enquanto isso, a bactéria não foi encontrada em tecidos de plantas sadias. Os exsudatos de colmos infectados com as

doenças Estrias Cloróticas, Gomose e Escaldadura das Folhas que apresentaram sintomas de descolorações vasculares nodais, podendo serem confundidas com RS, revelaram porém, a presença de inúmeras bactérias diferentes daquela do RS em tamanho, morfologia e outras características. Portanto, sugestões de que *X. vasculorum* e *X. albilineans* estejam associadas com RS não poderiam ser substantiadas.

Recentemente, *GILLASPIE et alii* (1976a) citaram apenas uma evidência adicional de patogenicidade do provável agente causal do RS, mostrando que a maioria dos trabalhos tem apenas valor relativo, pela não comprovação do teste de patogenicidade, através do Postulado de Koch.

Com relação à disseminação do agente causal, *MATSUOKA* (1975) cita, em seu artigo, os meios através dos quais o RS é propagado; salientando a sua importância, uma vez que a moléstia não causa sintoma externo característico, o que de certo modo contribui para sua propagação.

3.2. Sintomas diagnósticos e interferência de fatores na sua expressão

Embora o RS possa causar na cultura da cana-de-açúcar um aspecto prejudicial, com colmos atrofiados, plantas subdesenvolvidas e variações na altura das plantas no campo, nenhum desses sintomas externos é específico da doença, sendo, em consequência, de pouco valor para a diagnose (*STEINDL*, 1961; *GILLASPIE et alii*, 1966; *MATSUOKA*, 1971a). Por isso, o RS foi por algum tempo considerado entre as doenças sem sintomas, até que foram descobertos os sintomas internos (*HUGHES e STEINDL*, 1955).

Na parte interna de colmos maduros e inoculados de algumas

variedades padrões para RS aparecem sintomas, constituindo-se em pontuações, vírgulas ou bastonetes rosados, amarelados ou avermelhados, correspondendo às alterações ocorridas nos feixes vasculares da região nodal (HUGHES e STEINDL, 1955; STEINDL, 1961; CARVALHO, 1963 e GILLASPIE et alii, 1966). Tal coloração é devida ao acúmulo de substâncias gomosas nos vasos condutores (ARTSCHWAGER, 1960).

Um outro tipo de sintoma é o de nós imaturos, situados logo abaixo do meristema apical. Esses nós apresentam, internamente, uma coloração levemente rósea, logo após o corte (HUGHES e STEINDL, 1955; SCHEXNAYDER, 1960; STEINDL, 1961; GILLASPIE et alii, 1966).

Em geral, os pesquisadores australianos preferem os sintomas de nós maduros, pois as descolorações em nós imaturos são consideradas menos seguras, por serem menos constantes, nem sempre visíveis e, frequentemente, desaparecem na cultura adiantada (HUGHES, 1956/1960).

As descolorações nodais dependem das variedades (HUGHES e STEINDL, 1955), mas, em geral, pontos castanho-avermelhados mais escuros devem ser menosprezados, pois são comuns às plantas sadias e doentes. HUGHES e STEINDL (1955), enfatizaram que sintomas devem ser encontrados, através de vários nós do colmo para a correta diagnose do RS. Segundo CARVALHO (1963), MATSUOKA (1971a), STEIB e CHILTON (1972), quando isso não ocorre, os sintomas podem ter outras causas, como, por exemplo, ataque de fungos.

A descoloração de feixes vasculares não é uma reação específica do RS e ocorre com outras doenças tais como, Fusarioses, Podridão Vermelha, Mancha Vermelha da Bainha Foliar, Gomose, Escaldadura das Folhas e

Estrias Cloróticas. As três primeiras, normalmente, causam uma descoloração mais escura do que RS e podem ser distinguidas, enquanto que as outras três doenças, embora da mesma cor, normalmente, apresentam sintomas mais pronunciados nos nós, estendendo-se aos internódios. A descoloração, devido a essas três últimas doenças, pode também ser encontrada nos nós mais imaturos do colmo, enquanto o RS, normalmente, é encontrado nos nós mais maduros da base do colmo (*HUGHES e STEINDL, 1955*). Essa descoloração vascular foi confirmada por *TOKESHI et alii (1974)*.

RICAUD (1974), mencionou que, além da presença de outras doenças, vários outros fatores podem afetar a expressão dos sintomas, tais como, as características varietais, condições climáticas e estado fisiológico da planta. Por essas razões, os sintomas diagnósticos são completamente inexatos sob certas condições.

HUGHES e STEINDL (1955), citaram que o sintoma de RS varia com a idade do colmo e condições climáticas nos diferentes locais de plantio, enquanto que *THOMPSON (1960)* observou que os sintomas foram claramente visíveis, sob condições de estufa, quando a água não foi fornecida para as plantas inoculadas com RS. Mais tarde, *STEINDL (1961)* e *ROSSLER (1974)* confirmaram a afirmação anterior, com variedades de cana submetidas aos efeitos do RS a diferentes níveis de irrigação.

Nos ensaios conduzidos com duas cultivares de capim-elefante (*Pennisetum purpureum* Schum) e um híbrido, *MATSUOKA (1971b/1972a)* mostrou que condições favoráveis à maturação precoce aumentaram a intensidade e a expressão de sintoma de descoloração vascular devido à infecção do RS em capim-elefante.

A expressão sintomatológica, em plantas novas afetadas por RS, foi acentuada, após a aplicação de fertilizantes nitrogenados e em plantas sombreadas. Observou, também, que não houve diferença entre plantas crescidas de toletes inoculados e àquelas naturalmente infectadas, com relação à expressão de sintomas (IRVINE, 1975).

RICAUD (1974) concluiu que o diagnóstico, sem conhecer a causa do RS, é muito difícil e só pode ser efetuado levando-se em consideração, todos os fatores que podem interferir na sua determinação.

Segundo TEAKLE (1974), a diagnose é frequentemente difícil, ou porque os sintomas não são claros, ou porque os sintomas resultantes do RS são parecidos aos de outras causas.

3.3. Diagnose através de testes biológicos, técnicas microscópicas e serológicas

Devido às dificuldades de diagnose correta relacionadas aos vários fatores mencionados anteriormente, alguns pesquisadores têm ensaiado o método tradicional de inoculação em plantas indicadoras, para a diagnose correta de RS. HUGHES e STEINDL (1956) não obtiveram êxito ao infectar tomate, *Nicotiana glutinosa* e beringela. Várias gramíneas foram também testadas (HUGHES e STEINDL, 1956; STEINDL, 1957) e a infecção foi sucesso sem expressão de sintomas em milho, sorgo e 10 ervas daninhas, como verificado por reinoculação na variedade de cana Q28.

Até recentemente, a melhor planta indicadora tem sido a própria cana-de-açúcar. Certas variedades são preferidas: Q28 (HUGHES e STE-

INDL, 1955; STEINDL e TEAKLE, 1975), CP44-101 (GILLASPIE *et alii*, 1966), CO 421 (SINGH, 1969) e Q28, CP36-105, CP44-101 e CO 421 (RICAUD, 1974).

MATSUOKA (1971b/1972a) encontrou que dois cultivares de capim-elefante e um híbrido, mostraram sintomas bem definidos em nós maduros quando infectados com RS.

TOKESHI *et alii* (1974) utilizaram em testes de patogenicidade de plantas indicadoras de sintomas de RS como: milho doce, capim-elefante e cana-de-açúcar.

Mais recentemente, alguns pesquisadores têm usado técnicas microscópicas como meio de diagnose da doença em laboratório.

Uma pequena bactéria associada com o RS pode ser detectada pela técnica de microscopia eletrônica constituindo-se num método rápido de identificação da doença (MARAMOROSCH *et alii*, 1973; TEAKLE *et alii*, 1973; WORLEY *et alii*, 1975; KAMIUNTEN e WAKIMOTO, 1976; BAILEY, 1976). Entretanto, essa técnica requer muitos equipamentos dispendiosos e especialmente operadores treinados (STEINDL, 1976b).

O RS pode ser diagnosticado pelo exame de exsudatos do xilema, através de microscopia de contraste de fase, pela presença de uma bactéria que está constantemente associada à doença (GILLASPIE *et alii*, 1973; TEAKLE *et alii*, 1975; STEINDL, 1976a; GILLASPIE *et alii*, 1976b). No entanto, essa técnica apresenta limitações quando aplicada para colmos imaturos, visto que as preparações dos tecidos tem poucas bactérias e dificulta a diagnose da doença (BAILEY, 1977).

Técnicas serológicas foram largamente usadas no passado, para seleção de material propagativo e as tentativas, para obtenção de um antisoro para o agente do RS com cana-de-açúcar, têm falhado (*STEINDL, 1961*).

Recentemente, através da serologia, antisoros foram desenvolvidos para a bactéria associada ao RS. A falta de reação serológica entre antisoro-RS e a bactéria associada ao RS, em suco de cana-de-açúcar não concentrado, limita o sucesso do teste de microaglutinação, para diagnose. O método poderia ser usado para teste de resistência, por centrifugação do suco de cana, porém, esta operação limitaria o número de amostras analisadas. A técnica, baseada na microscopia eletrônica, foi relatada como suficientemente sensível para a diagnose de suco de cana não concentrado (*DAMANN et alii, 1977*), mas esta técnica não é suficientemente econômica para a diagnose do RS. Métodos, tal como da floculação com bentonita (*BOZICEVICH et alii, 1963*), podem ser bastante sensíveis e úteis, na seleção de plantas resistentes. Visto que as variedades suscetíveis ao RS contêm alto número de bactérias associadas (*GILLASPIE et alii, 1976b*), um método serológico poderia detectar somente aquelas variedades com alto número de bactérias (*GILLASPIE, 1977*). Portanto, a serologia não constitui num método ideal para seleção de cultivares visando resistência ao RS.

3.4. Controle da doença

O emprego de cultivares resistentes ou imunes não é, ainda, um método empregado como técnica usual de controle da doença, pois, praticamente, todas as variedades comerciais do mundo são tolerantes ou suscetíveis. Apenas uma ou outra variedade apresenta uma tolerância satisfatória

(*ABBOTT et alii*, 1967) tendo-se relato de uma única variedade que parece apresentar imunidade (*WISMER e URATA*, 1967). Para as variedades cultivadas em nosso meio, existe carência de dados concretos sobre o comportamento diante do RS (*MATSUOKA*, 1971a).

A obtenção de material de plantio sadio, pela prática do "roguing" que consiste em erradicar as plantas doentes nos viveiros, não tem aplicação no caso de RS, devido a ausência de sintomas externos de fácil identificação (*HUGHES e STEINDL*, 1955). Portanto, o material vegetativo sadio precisa ser obtido de outra forma. A técnica adotada é o tratamento térmico com água quente ou com ar quente, embora o material assim obtido não seja totalmente sadio (*MATSUOKA*, 1971c/1972b).

Segundo *RICAUD* (1974), as seguintes doenças estão entre aquelas que podem ser eliminadas pelo tratamento térmico: Estrias Cloróticas, Gomose, Escaldadura das Folhas e Carvão. Em muitos casos, onde a excessiva redução de produção é atribuída à presença do RS, o efeito pode ser devido à combinação de RS com outras doenças, se essas são levadas em consideração. Portanto, o uso do tratamento térmico, para deter os efeitos da doença RS, necessita de estudos mais cuidadosos.

Recentemente, *STEIG e CIFUENTES* (1976) relataram que o tratamento térmico, através do vapor úmido, pode ser um método adicional para controlar o RS. Esse novo método permite tratar a semente de cana-de-açúcar, sem afetar a germinação, num período de tempo reduzido para 4 horas a 53°C.

O tratamento térmico de sementes de cana, através de água

quente ou vapor úmido, apesar de ser útil e necessário, não apresenta eficiência total na prática, principalmente, devido às reinfestações do RS, que se vêm observando logo no primeiro corte da cana, nas cultivares consideradas suscetíveis e ao elevado custo.

3.5. Métodos de avaliação de doenças baseados na anatomia vascular

Diante das dificuldades encontradas para diagnose e controle de doenças, alguns autores procuraram estudar a possível resistência do hospedeiro a determinadas doenças, baseados na anatomia dos feixes vasculares.

PELTIER e SCHROEDER (1932) estudaram a anatomia de plantas resistentes e suscetíveis à Murcha Bacteriana de alfafa (*Medicago sativa* L.), causada por *Corynebacterium insidiosum* (Mc Cull.) Jens. Concluíram que as características morfológicas de raízes de variedades resistentes inibiram o rápido desenvolvimento da bactéria e sua invasão nos tecidos vitais da planta. *JONES (1934)* não encontrou diferenças estruturais entre variedades resistentes e suscetíveis, mas observou que a bactéria, em variedades resistentes, limitou-se ao parênquima vascular, sugerindo ser o fator de resistência à doença.

Mais tarde, *CHO et alii (1973)*, trabalhando também com alfafa, observaram que as raízes e caule de plantas de alfafa de variedades resistentes à Murcha Bacteriana apresentaram menos feixes vasculares, elementos de vasos mais curtos e cortex mais espesso do que aqueles de plantas de variedades suscetíveis. Concluíram que tanto as barreiras morfológicas como as físico-químicas deveriam retardar e prevenir a multiplicação e a difusão da bactéria nas variedades resistentes.

SAALTINK e DIMOND (1964), estudaram em tomate, a doença Murcha de *Fusarium*, onde as plantas suscetíveis foram inoculadas com *Fusarium oxysporum* f. *lycopersici* (Sacc.) Snyder and Hans. Tais plantas mostraram sin tomas de murcha, regularmente, após 12 - 14 dias. Plantas, em estágios variados de doença, foram classificadas, de acordo com a sua severidade, em grau zero, para plantas sadias e grau 4, para as plantas mortas. Segmentos de caule de 1 cm de comprimento, dessas plantas, foram cortados desde o pri meiro internódio e a taxa de vazão de líquido, através desses segmentos, foi determinada pela ligação da extremidade superior do segmento a um tubo de vidro vertical, contendo uma coluna de água de 50 cm, através de uma luva de borracha. A taxa de vazão foi determinada, por medição do tempo exigido, para um dado volume de água ou solução de tinta (safranina O) passar através do segmento do caule. Os resultados mostraram que a vazão de água foi muito mais rápida em segmentos de plantas de tomate sadias do que através daquelas infectadas com *Fusarium*.

Segundo *LUDWIG (1952; WAGGONER e DIMOND (1954) e DIMOND (1955)*, a diferença na taxa de vazão entre plantas de tomate sadias e infectadas por *Fusarium* não tem sido explicada, pela quantidade de micélio, mas sim, pela presença de material granular obstruindo os vasos. *WAGGONER e DIMOND (1955)* explicam a redução de vazão, não só pela presença física do fungo, como também por produtos do fungo ou sua ação sobre os vasos. *SAALTINK e DIMOND (1964)* usaram solução de tinta nos experimentos e demonstraram que a redução na taxa de água estava correlacionada com o número de vasos em que o transporte é bloqueado.

ELGERSMA (1970) afirmou que a anatomia vascular, aparentemente

te, influenciou na resistência ao movimento de conídios de *Ceratocystis ulmi*, em olmo, por causa da presença de vasos estreitos e curtos das variedades resistentes à doença ("Duth elm disease").

Em testes conduzidos com tinta nanquim, para observar a conduta dos vasos contínuos, através dos nós de diferentes variedades de cana-de-açúcar testadas para resistência à Podridão Vermelha, causada por *Phytophthora tucumanensis*, ATKINSON (1938) e ABBOTT e HUGHES (1961) concluíram que a anatomia vascular, aparentemente, influenciou na resistência à doença: os conídios do patógeno não podem migrar desde a infecção inicial de internódios em clones resistentes como a CP29-116, que apresentam, principalmente, vasos descontínuos através dos nós.

A natureza da resistência da cana-de-açúcar no RS: não tem sido estudada em detalhe, mas relatos preliminares indicam que ocorre pelo menos três tipos de resistência. Baseado nisto, TEAKLE *et alii* (1975) investigaram a hipótese de que a anatomia vascular poderia estar envolvida na resistência ao RS. O método de movimento de água e tinta nanquim, através de toletes de colmos de cana-de-açúcar, foi testado em 10 diferentes clones. A base de cada colmo foi cortada e examinada para verificar se não havia sintomas de RS e outras doenças. Toletes de 6,0 cm, compreendendo um único nó e partes de internódios adjacentes, foram tomados da porção mediana de colmos e o diâmetro de cada tolete foi medido.

A vazão de água, através de cada tolete, foi determinada da seguinte maneira: uma extremidade do tolete foi ligada ao frasco de vácuo, através de uma ou mais luvas de borracha, enquanto que, na extremidade superior foi pipetada água destilada e estéril, ao mesmo tempo que uma pressão

de vácuo de aproximadamente 27 mm/Hg foi aplicada, através de uma bomba de vácuo. A taxa de vazão de água foi determinada em ml/minuto.

O movimento de tinta nanquim foi testado de maneira semelhante ao descrito acima, usando toletes com dois nós. Tinta nanquim foi pipetada sobre a extremidade superior do tolete introduzido no frasco de vácuo e a contagem do número de feixes vasculares descoloridos foi feita após 30 segundos, quando os internódios foram cortados tangencialmente, para mostrar mais claramente os feixes escurecidos.

Uma correlação positiva foi estabelecida entre resistência de cana ao RS e resistência ao movimento de água e tinta nanquim, sugerindo que a anatomia vascular estaria envolvida. O agente causal pode ter maior dificuldade em mover-se através dos nós de cana-de-açúcar, imune e tolerante do que a suscetível. Isto foi verificado pelo teste da tinta nanquim. O número médio de feixes vasculares carregando tinta nanquim, através dos toletes de duas variedades suscetíveis, foi maior do que para três variedades tolerantes e imunes. Os autores concluíram que a anatomia vascular, possivelmente, na forma de um pequeno número de vasos contínuos, passando através dos nós, pode ser um fator na resistência, imunidade e tolerância de clones ao RS (TEAKLE *et alii*, 1975).

Desse modo, a resistência baseada nas características morfológicas, tal como anatomia vascular, pode ser importante, por causa da sua estabilidade. CHO *et alii* (1973) relataram que variedades de alfafa com resistência morfológica à *C. insidiosum* têm crescido, extensivamente, sobre vastas áreas dos EEUU e Canadá, por 20 anos, sem perder a resistência. O

RS assemelha-se à Murcha Bacteriana da alfafa, em que o patógeno é restrito aos feixes vasculares e ao parênquima adjacente (*TEAKLE et alii, 1973*).

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Método de avaliação do RS

O método empregado por *TEAKLE et alii (1975)*, para medir a vazão de água e tinta nanquim, através de colmos de cana-de-açúcar, foi a base da metodologia empregada no trabalho.

Para a montagem do equipamento utilizado no método de vazão, inicialmente, foi construído o molde de aço, com o pino central em diâmetros variáveis, para a fabricação de luvas de borracha latex, conforme os Apêndices 1 e 2.

Toletes de colmos de 8 cm de comprimento, compreendendo um único nó e partes de internódios adjacentes, foram cortados próximos à base do colmo e o diâmetro de cada tolete do colmo foi medido em cm. Em seguida, foram reavivados com o instrumento de corte de cana e luvas de borracha inseridas em ambas as extremidades, sendo que a luva correspondente a uma extremidade do colmo foi encaixada diretamente no frasco de vácuo, através de

um intermediário metálico. Uma pressão de vácuo de 30 mm de Hg foi aplicada ao equipamento por meio de uma bomba de vácuo, ao mesmo tempo que colocou-se água destilada na luva da outra extremidade do colmo de cana-de-açúcar, de acordo com a Figura 1 e Apêndice 3.

A vazão de água, passando através dos colmos, foi determinada medindo-se o volume de água coletado nos tubos de cultura colocados dentro dos frascos de vácuo, durante o tempo de 15 minutos, como mostra a Figura 2 e os Apêndices 4, 5 e 6.

Concomitantemente às determinações, os mesmos colmos foram cortados longitudinalmente e examinados internamente na região nodal para verificar se aqueles, com sintomas típicos de RS e de outras doenças vasculares, estavam correlacionados com a variação da vazão de água nos colmos de cana-de-açúcar. Por outro lado, consideramos o isolamento de bactérias de colmos de cana-de-açúcar com sintomas de vasos descoloridos (RS), executado por SUDO (1976), como um outro meio de comprovar a citada correlação.

De maneira semelhante à descrita acima e, aproveitando os mesmos colmos, foram feitas determinações de vazão com tinta nanquim diluída na proporção 1:10, mas num período de tempo menor, ou seja, 2 a 3 minutos, interrompido quando ocorria o início do gotejamento de tinta no tubo de cultura.

A habilidade da tinta nanquim em mover-se através dos nós foi assegurada baseando-se no número de vasos funcionais do xilema enegrecidos. Para melhor visualização, o internódio correspondente à extremidade do colmo, encaixado no frasco de vácuo, foi cortado transversalmente, e feita

Figura 1. Conjunto extrator de água de colmos de cana-de-açúcar.

Figura 2. Medidor de vazão de água em colmos de cana-de-açúcar.

a contagem do número de vasos funcionais, em microscópio estereoscópio, com aumento de 130 vezes.

Essencialmente, foram introduzidas as seguintes modificações no método descrito por *TEAKLE et alii* (1975):

- a. testes em cultivares tratadas termicamente (sadias) e inculadas com caldo bruto (doentes);
- b. testes com 8 frascos de vácuo dispostos em série;
- c. uso de funil metálico como intermediário;
- d. toletes fixados ao 4º ou 5º nó da base do colmo;
- e. comprimento maior do tolete do colmo;
- f. pressão de vácuo constante.

A Figura 3 mostra o vacuômetro de mercúrio em U, de alta precisão e baixo custo, utilizado no trabalho de pesquisa. Consta de duas hastes de vidro, sendo uma delas mais longa e ligada à fonte de vácuo e, a outra mantida à pressão atmosférica. Desse modo, foi possível controlar a pressão de vácuo constante e desejada.

Determinou-se a variação de vazão, nas cultivares de cana-de-açúcar tratadas termicamente (*SILVA, 1976*), inoculadas com caldo bruto extraído de plantas infectadas pelo RS e inoculadas com cultura pura de *X. al*bi*lineans*, sendo as amostras tomadas ao acaso de 10 - 20 colmos/tratamento. Os colmos usados nos testes foram fornecidos pelas Estações Experimentais da COPERSUCAR, Piracicaba-SP e PLANALSUCAR, Araras-SP.

quais as variedades?

Durante as avaliações de vazão, estudaram-se os efeitos dos seguintes fatores:

Figura 3. Vacuômetro de mercúrio utilizado no método de vazão.

- a. pressão de vácuo de 30 a 70 mm de Hg;
- b. sentido do colmo - normal e invertido;
- c. localização do nó no colmo: basal, média e apical;
- d. diâmetro do colmo de 2,5 a 5,0 cm;
- e. armazenamento do colmo de 0 a 5 dias;
- f. outras doenças vasculares;
- g. colmos com broca (*Diatraea saccharalis*);
- h. idade do colmo;
- i. distribuição da doença dentro da touceira.

4.2. Isolamentos

Em seguida às determinações de vazão, conduziu-se o isolamento de agentes causais de doenças vasculares, frequentemente presentes nos colmos de cana-de-açúcar, e que poderiam interferir na avaliação do RS.

4.2.1. Isolamento de *Fusarium moniliforme* Sheldon no colmo

A partir do material utilizado na determinação da vazão de água, foi tomada amostra de 5 colmos/tratamento de cada cultivar de cana-de-açúcar, sem broca e sem rachaduras, para fins de isolamento de *Fusarium*.

No laboratório, tres (3) toletes de 2,0 cm de comprimento, compreendendo um único nó, foram cortados ao longo de cada colmo e mergulhados em hipoclorito de sódio com 5% de Cl ativo (Qboa), durante 15 minutos. A seguir, os toletes foram descascados e flambados em fogo direto, para desinfecção externa dos toletes. Posteriormente, retirou-se de cada tolete um disco de tecido de aproximadamente 2 mm de espessura, e plaqueou-se em meio

de cultura (RB-0) de Martin (TUIITE, 1969). As placas de Petri foram incubadas à temperatura de 28 a 30°C, durante 48 horas, e, finalmente, procedeu-se a identificação para a presença de *Fusarium*, através do exame, em lâmina, ao microscópio binocular (BARNETT e HUNTER, 1972).

4.2.2. Escaldadura das folhas (*Xanthomonas albilineans*) (ASHBY) DOWSON

A Escaldadura das Folhas é considerada uma doença que apresenta sintomas internos no colmo, muito semelhantes aos do RS, que, muitas vezes, chega a causar confusão. Diante disso, tornou-se importante testar materiais tratados termicamente e inoculados com LSD e avaliar a doença, através do método de vazão de água.

A bactéria *X. albilineans* foi isolada em meio de cultura de Wilbrink agar (TUIITE, 1969) e diagnosticada em reações serológicas, através do método do anel (CAMPBELL et alii, 1970), modificado por MASSUDA (não publicado), partindo-se de sintomas típicos de Escaldadura, na forma de vírgulas e bastonetes, observados na região nodal dos colmos de cana-de-açúcar.

4.3. Medidas de diâmetro do lume dos vasos do xilema

Sabendo-se que as cultivares de cana-de-açúcar apresentam comportamentos diferentes com relação ao RS, procurou-se medir os diâmetros do lume dos vasos do xilema de duas cultivares de cana: 'IAC 52/326' e 'NA56-79', com o objetivo de verificar se a anatomia vascular estava envolvida na resistência ao RS.

Dessa maneira, tomaram-se 6 colmos de cada cultivar, com diâmetros mais ou menos constantes e, a partir do internódio localizado entre o nó número 4 ou 5 foram feitos cortes de tecidos transversais ao colmo, de 10 a 15 μ de espessura, através do Micrótomo manual de Nachet. Em seguida, procedeu-se a medida do diâmetro de 100 vasos por colmo de cana-de-açúcar, ao microscópico binocular, com aumento de 125 x.

5. RESULTADOS

Os resultados do trabalho são apresentados na seguinte sequência: (a) resultados dos fatores que interferem na avaliação do RS; (b) resultados de isolamentos de agentes de doenças vasculares; (c) resultados de aplicação do método de vazão de água em colmos de cana-de-açúcar para avaliar o RS e, (d) resultados de medidas do diâmetro da luz dos vasos do xilema.

5.1. Fatores que interferem na avaliação do RS

5.1.1. Pressão de vácuo

A Tabela 1, mostra o efeito de diferentes pressões de vácuo, testadas na determinação da vazão média de água, em duas cultivares de cana, submetidas à-inoculação com RS e tratadas termicamente.

Tabela 1. Efeito da pressão de vácuo na vazão média de colmos de cana-de-açúcar, tratados termicamente e inoculados com caldo bruto (RS).

Pressão de vácuo (mm Hg)	Vazão média de 20 colmos/tratamento em ml/100'			
	Cultivares			
	'IAC52/326'		'CP45-184'	
	Caldo bruto	Tratado	Caldo bruto	Tratado
30	15,86	54,12	28,62	110,34
50	18,70	36,75		
70	244,50	293,50	152,50	256,69

Pelos resultados apresentados na Tabela 1, verifica-se que o aumento de pressão de vácuo determinou o aumento considerável na vazão média para ambos os tratamentos das duas cultivares, enquanto que a diferença de vazão entre os tratamentos foi menor para a cultivar 'IAC52/326'.

5.1.2. Sentido do colmo

Os resultados da Tabela 2, referem-se às determinações de vazão média dentro dos mesmos colmos e em colmos diferentes para os sentidos normal e inverso ao da subida de seiva bruta no colmo de cana-de-açúcar, na cultivar 'NA56-79'.

Tabela 2. Efeito do sentido do colmo na vazão média de água em colmos de cana-de-açúcar, tratados termicamente, cultivar 'NA56-79'.

Determinação de vazão	Vazão média de 12 colmos/tratamento em ml/100', à			
	Pressão de vácuo de 30 mm Hg			
	1º LOTE		2º LOTE	
	1º Sentido Normal	2º Sentido Inverso	1º Sentido Inverso	2º Sentido Normal
No mesmos colmos	155,83	124,16	153,34	130,00
	132,50	100,83	110,83	98,34
	144,16	92,50	135,94	124,14
	160,83	115,83	145,00	105,00
Média	148,33	108,33	136,27	114,37
Em colmos diferentes	224,00	174,00	150,00	200,00
	213,00	139,00	132,00	194,00
Média	218,50	156,50	141,00	197,00

Pela Tabela 2, verificam-se que os resultados de vazão média de água, correspondentes as determinações dentro dos mesmos colmos, foram praticamente iguais, isto é, o 2º sentido sempre apresentou queda de vazão em ambos os lotes. Porém, quando as determinações foram feitas em colmos diferentes, o sentido normal mostrou a vazão média maior que o sentido inverso, nos dois lotes. Por outro lado, a vazão média, dentro dos mesmos colmos, decresceu gradualmente com o tempo.

5.1.3. Localização dos nós no colmo

As Tabelas 3 e 4, mostram os resultados correspondentes às determinações de vazão média de água, em diferentes posições tomadas no colmo de três cultivares de cana tratadas termicamente, e inoculadas com caldo bruto (RS).

Tabela 3. Avaliação de vazão média em diferentes nós do mesmo colmo de cana-de-açúcar, da cultivar 'CP45-184', tratado termicamente e inoculado com RS.

Touceira nº	Vazão média de cada posição de touceiras com 6 a 10 colmos em ml/100', à pressão de vácuo de 30 mm Hg					
	Caldo bruto			Tratado		
	NÓ			NÓ		
	A	B	C	A	B	C
1	22,09	27,09	40,01	128,72	150,08	130,72
2	42,52	47,52	75,03	112,27	136,74	141,18
3	21,26	30,01	40,85	90,04	135,07	130,90
Média	28,62a	34,87a	51,96a	111,72b	140,63b	134,26b
C.V. (%)	62,50	50,90	49,95	38,82	33,34	41,73

Tabela 4. Avaliação de vazão média, em duas diferentes posições do mesmo colmo de cana-de-açúcar, tratado termicamente e inoculado com RS.

Tratamentos dos colmos	Vazão média de 16 colmos de cada posição em ml/100', à pressão de vácuo de 30 mm Hg.					
	Cultivares					
	"CP45-184'		"CB45-3'		'CP51-22'	
	NÓ		NÓ		NÓ	
	A	B	A	B	A	B
C. bruto	28,63a	34,88a	13,20a	22,10a	5,40a	5,53a
T. térmico	111,72b	141,74b	16,34a	42,67b	4,47a	7,37a
C.V. (%)	62,50	50,90	87,67	41,77	108,49	53,56
C. bruto	28,63a	34,88a	13,20a	22,10a	5,40a	5,53a
T. térmico	111,72b	141,74b	16,34a	42,67b	4,47a	7,37a
C.V. (%)	38,82	33,34	90,45	40,70	103,75	49,65

A = NÓ número 4 ou 5; B = NÓ número 8 ou 9.

Dentro de cultivar, as médias com letras iguais não diferem, estatisticamente.

Verifica-se pela Tabela 3, que fazendo-se comparações dentro de cada posição, a análise estatística pelo Teste "t", mostrou que o caldo bruto diferiu, significativamente, do tratamento térmico, ao nível de 1%, ao passo que as comparações, entre as posições dentro de tratamento, não mostraram diferenças significativas até mesmo pelo Teste de Tukey, embora exista uma ligeira tendência em aumentar a vazão de água da base do colmo para o seu ápice.

A análise de variância dos dados da Tabela 4 mostrou que a cultivar 'CP45-184' apresentou diferenças altamente significativas entre os tratamentos, dentro de posição, ao nível de 1% através do Teste "t", ao passo que, entre as posições dentro de tratamento, não houve diferenças significativas. Por outro lado, a cultivar 'CB45-3' mostrou diferenças significativas, ao nível de 1%, entre as posições dentro do tratamento térmico e entre os tratamentos dentro da posição B, enquanto que a cultivar 'CP51-22' não diferiu, estatisticamente, em nenhum dos casos, embora existisse tendência em aumentar a vazão da posição A para B e entre os tratamentos considerados.

5.1.4. Armazenamento dos colmos

Na Tabela 5, observam-se os dados de vazão média de água, referentes às determinações, logo após a colheita e 24 horas de armazenamento de duas cultivares de cana-de-açúcar, submetidas ao tratamento térmico e inoculadas com RS.

Pela Tabela 5, observou-se que houve uma queda brusca de vazão para ambas as cultivares, quando os colmos foram armazenados por 24 horas. Contudo, os tratamentos continuaram a diferir, estatisticamente, ao nível de 1%, pelo Teste "t", embora as diferenças não fossem tão evidentes como aquelas verificadas na determinação após colheita. A cultivar 'CP45-184' foi mais sensível ao armazenamento, pois mostrou uma vazão média menor que a cultivar 'IAC52/326', após 24 horas de armazenamento.

Tabela 5. Efeito do armazenamento na vazão média de colmos de cana-de-açúcar, tratados termicamente e inoculados com caldo bruto (RS).

Determinação de vazão	Vazão média de 20 colmos/tratamento em ml/100; à pressão de vácuo de 30 mm Hg			
	Cultivares			
	'IAC52/326'		'CP45-184'	
	Caldo bruto	Tratado	Caldo bruto	Tratado
Após colheita	15,97a	54,54b	28,62a	111,72b
C.V.(%)	63,83	55,56	62,50	38,82
24 horas após colheita	14,49a	26,52b	5,93a	13,52b
C.V. (%)	88,00	81,34	65,37	87,33

- Dentro de cultivar, as médias com letras iguais não diferem, estatisticamente.

5.1.5. Correlação positiva entre a vazão e o número de vasos funcionais do xilema

Nas Tabelas 6 e 7, são apresentados os resultados correspondentes às determinações de vazão de água, número de vasos funcionais do xilema e diâmetro do colmo para duas cultivares de cana, submetidas ao armazenamento, considerando duas posições do nó nos mesmos colmos, tratados termicamente e inoculados com RS.

Tabela 6. Efeitos da posição do nó do mesmo colmo e do armazenamento na vazão de água e o número de vasos funcionais do xilema, em canas tratadas termicamente e inoculadas com caldo bruto (RS), cultivar 'CB45-3'.

Determinação de vazão	Vazão média de 10 colmos/tratamento em ml/100', à pressão de vácuo de 30 mm Hg											
	Caldo Bruto (RS)						Tratamento térmico					
	A			B			A			B		
	D cm	Vazão	VF	D cm	Vazão	VF	D cm	Vazão	VF	D cm	Vazão	VF
Após colheita	2,1	6,67	8	2,0	13,34	30	2,2	46,67	59	2,5	43,34	49
	2,5	6,67	10	2,4	10,00	19	2,5	6,67	22	2,6	66,67	71
	2,6	10,00	12	2,5	19,90	21	2,6	30,00	60	2,6	40,00	105
	2,8	6,67	15	2,6	20,00	27	2,6	23,34	38	2,6	60,00	79
	2,8	26,67	25	2,7	10,00	89	2,8	3,34	29	2,6	20,00	49
	2,9	13,34	18	2,7	23,34	110	2,8	3,34	16	2,7	20,00	36
	2,9	2,00	15	2,7	23,34	35	2,8	3,34	50	2,9	30,00	62
	2,9	40,00	21	2,8	33,34	14	2,9	13,34	32	2,9	43,34	73
	2,8	8,67	20	2,8	33,34	105	3,0	26,67	59	3,0	36,67	73
	3,0	13,34	15	2,9	33,34	38	3,1	6,67	18	3,0	43,34	79
Média	2,7	13,20a	16	2,6	22,00a	49	2,7	16,34a	38	2,7	40,34b	68
120 horas após colheita	2,7	1,34	13	2,5	3,34	18	2,0	16,67	37	2,2	6,67	43
	2,7	26,67	12	2,5	3,34	23	2,5	10,00	20	2,4	6,67	25
	2,8	11,34	38	2,6	18,87	10	2,8	33,34	75	2,7	3,34	53
	2,8	2,00	3	2,7	10,00	15	2,6	13,34	65	2,8	36,67	85
	2,8	8,67	13	2,7	2,00	5	2,7	6,67	48	2,8	26,67	60
	2,9	6,00	19	2,8	6,67	5	2,9	10,00	64	2,8	33,34	48
	3,0	10,00	3	2,8	10,00	19	2,9	3,00	40	2,8	100,00	118
	3,0	8,00	5	2,8	22,34	15	2,9	40,00	64	2,8	33,34	61
	3,0	2,67	8	2,9	4,67	9	2,9	33,34	101	2,9	53,34	82
	3,1	20,00	27	3,0	66,67	44	3,0	66,67	85	3,0	13,34	63
Média	2,9	8,80a	14	2,7	14,77a	16	2,7	23,30a	60	2,7	31,34a	64

A = NÓ número 4 ou 5; B = NÓ número 8 ou 9; D = Diâmetro do colmo; VF = Número de Vasos Funcionais. Dentro de tratamento, as médias das posições A e B com letras iguais não diferem, estatisticamente.

C.V.(%) tratamento = 68,73; C.V.(%) posição = 70,74

Tabela 7. Efeitos da posição do nó do mesmo colmo e do armazenamento na vazão média de água e o número de vasos funcionais do xilema, em canas tratadas termicamente e inoculadas com caldo bruto (RS), cultivar 'CP51-22'.

Determinação de vazão	Vazão média de 10 colmos/tratamento em ml/100' à pressão de vácuo de 30 mm Hg											
	Caldo Bruto (RS)						Tratamento térmico					
	A			B			A			B		
	D cm	Vazão	VF	D cm	Vazão	VF	D cm	Vazão	VF	D cm	Vazão	VF
Após colheita	2,5	1,34	16	2,3	2,00	12	2,5	3,34	45	2,3	5,34	35
	2,5	1,34	7	2,3	3,34	5	2,5	1,34	5	2,3	5,34	37
	2,7	1,34	3	2,5	6,67	35	2,7	1,34	5	2,5	6,67	28
	2,9	1,34	5	2,8	10,00	11	2,9	3,34	59	2,8	6,67	63
	3,0	2,00	8	2,7	6,00	10	3,0	2,00	10	2,9	4,00	28
	3,0	10,00	10	3,0	6,67	8	3,1	5,34	25	3,0	12,00	72
	3,1	2,00	5	3,0	4,67	6	3,4	6,67	38	3,0	4,34	30
	3,4	1,34	5	3,2	3,34	10	3,4	3,34	52	3,2	5,34	72
	3,5	6,67	5	3,3	10,00	13	3,5	16,67	96	3,3	6,67	38
	3,5	1,34	5	3,4	2,00	6	3,5	1,34	20	3,4	15,34	62
Média	3,0	2,87a	7	2,9	5,47b	12	3,1	4,47a	36	2,9	7,37b	49
120 horas após colheita	2,7	6,67	5	2,6	4,00	6	3,0	2,00	7	2,9	4,67	15
	2,8	3,34	3	2,7	4,67	6	3,0	2,00	13	2,9	7,34	9
	3,0	1,34	3	2,8	5,34	5	3,1	2,00	8	2,8	4,87	13
	3,0	3,34	2	2,8	3,34	4	3,1	2,00	10	2,9	6,67	21
	3,0	0,67	2	2,8	0,67	5	3,1	7,34	17	3,0	5,34	15
	3,0	1,34	3	2,9	5,34	5	3,1	6,67	15	3,0	0,67	10
	3,1	1,34	9	2,9	4,00	4	3,3	6,67	13	3,1	2,67	12
	3,2	2,00	3	3,0	3,34	13	3,4	10,00	12	3,2	9,34	9
	3,3	1,34	1	3,0	5,34	4	3,4	6,67	15	3,3	13,34	22
	3,3	4,67	3	3,1	5,34	4	3,5	2,67	9	3,3	12,00	20
Média	3,0	2,60a	3	2,9	4,14a	6	3,2	4,80a	12	3,1	6,67a	15

A = NÓ número 4 ou 5; B = NÓ número 8 ou 9; D = Diâmetro do colmo; VF = Número de Vasos Funcionais. Dentro de tratamentos, as médias das posições A e B com letras iguais não diferem, estatisticamente.

C.V.(%)_{tratamento} = 82,10 ;

C.V.(%)_{posição} = 47,61

Nas Tabelas 6 e 7, a análise de variância dos dados revelou que os tratamentos diferiram, significativamente, aos níveis 1% e 5%, pelo Teste "F", respectivamente, para as cultivares 'CB45-3' e 'CP51-22', isto sem levar em consideração as posições dos nós no colmo. Por outro lado, as posições diferiram entre si ao nível de 1%, dentro do tratamento térmico na determinação após colheita, para a cultivar 'CB45-3'. Com relação a cultivar 'CP51-22', houve diferenças significativas entre as posições nos dois tratamentos para as determinações de vazão, efetuadas após colheita.

Observa-se também pelas Tabelas 6 e 7, que a vazão de água aumentou da posição A para B nas duas cultivares e diminuiu, quando os colmos foram armazenados. A análise de correlação entre o número de vasos funcionais do xilema e a vazão revelou diferenças estatísticas, ao nível de 1%, pelo Teste "F".

Com relação ao diâmetro do colmo, os dados apresentados nas Tabelas 6 e 7 mostram que a vazão independe do diâmetro considerado no colmo.

5.1.6. Distribuição do RS dentro de touceira de cana-de-açúcar

A Tabela 8, mostra as variações de vazão de água verificadas dentro da mesma touceira, em duas cultivares de cana, que foram tratadas termicamente e inoculadas com RS.

Tabela 8. Variação de vazão de água em colmos dentro de touceiras de cana-de-açúcar, tratadas termicamente e inoculadas com caldo bruto (RS).

Cultivares	colmos	Vazão de contaminantes, por colmos, da mesma touceira, à pressão de vácuo de 30 mm Hg			
		Caldo bruto (RS)		Tratada	
		ml/100'	Contami- nantes	ml/100'	Contami- nantes
'IAC52/326'	1	13,34		13,34	B,F
	2	2,00	F	23,34	
	3	5,34	B,F	100,05	B,F
	4	5,34		66,67	B,F
	5	20,01		112,06	
	6	3,34	F	88,04	
	7	5,34		106,72	F
	8	6,67	F	33,34	B,F
'CP45-184'	1	53,34		126,72	B,F
	2	40,03		173,43	
	3	33,35	B,F	160,08	B
	4	3,34	B	100,05	
	5	53,34		166,75	
	6	73,37		26,68	B,F
	7	60,03		173,42	
	8	33,35	F	120,06	F

B = Broca (*Diatraea saccharalis*) ; F = *Fusarium moniliforme*

Verificam-se que os resultados de determinação de vazão de água, dentro de touceira, variaram bruscamente em ambos os tratamentos das duas cultivares, devido às presenças de Broca e *Fusarium*, conforme observado na Tabela 8.

5.2. Isolamentos de contaminantes dos vasos do xilema

A Tabela 9 refere-se aos resultados de isolamento de *Fusarium moniliforme*, em tres cultivares de cana-de-açúcar, submetidas aos diferentes tratamentos.

Tabela 9. Frequência de *F. moniliforme* em colmos de cana-de-açúcar, tratados termicamente e inoculados com caldo bruto (RS) e escaldadura das folhas.

Cultivares inoculadas	Tratamento do colmo de cana-de-açúcar	Número total de colmos/ número de colmos isolados	% colmos com <i>Fusarium</i>
'NA56-79'	Tratamento térmico	10/8	80,00
'IAC52/326'	Caldo bruto	30/13	43,34
'IAC52/326'	Escaldadura	30/17	56,17
'IAC52/326'	Tratamento térmico	30/16	56,34
'CO740'	Caldo bruto	30/17	56,67
'CO740'	Escaldadura	30/15	50,00
'CO740'	Tratamento térmico	30/18	60,00

- Média do isolamento, efetuada em tres posições do colmo de cana-de-açúcar.

Verifica-se pela Tabela 9, que a presença de *Fusarium* nos

colmos de cana-de-açúcar é bastante elevada, independente do tratamento considerado.

Os resultados de determinação de vazão de água, em colmos de cana inoculados com cultura pura de *X. albilineans*, não diferiram do tratamento térmico, isto é, entre as repetições os resultados variaram muito: ora a vazão média era maior nos colmos inoculados, ora a vazão era maior nos colmos tratados termicamente. O isolamento e, conseqüente identificação da bactéria, através de serologia, utilizando o método do anel modificado por MASUDA (*dados não publicados*), apresentaram indícios de precipitação em micropipetas sem, contudo, oferecer segurança na determinação da presença dessa bactéria.

5.3. Resultados de aplicação do método de vazão de água, em colmos, para avaliar a suscetibilidade das cultivares de cana-de-açúcar ao RS

5.3.1. Evolução da infestação de RS em cana-planta e 1ª. soca

A Tabela 10 mostra os resultados de vazão média em cana-planta e cana soca das cultivares 'IAC52/326' e 'CO740', submetidas ao tratamento térmico e inoculadas com RS.

Pela Tabela 10, verificam-se que as cultivares comportaram-se diferentemente, com relação à idade, pois enquanto que na cultivar 'IAC 52/326', a vazão média diminuiu no 2º corte, na 'CO740', a vazão aumentou . A análise de variância mostrou diferenças significativas, ao nível de 1%, pelo Teste "F", entre os tratamentos no 2º corte, apenas para a cultivar 'IAC 52/326'.

Tabela 10. Avaliação da vazão média em dois cortes de canas, tratadas termicamente e inoculadas com caldo bruto (RS).

Cortes	Repetições	Vazão média de 12 colmos/tratamento em ml/100', à pressão média de vácuo de 30 mm Hg			
		Cultivares			
		'IAC 52/326'		'CO740'	
		Caldo bruto	Tratado	Caldo bruto	Tratado
1ª	1	32,40	40,00	68,10	67,60
	2	37,20	41,40	86,30	68,21
	3	16,00	42,00	54,20	60,19
Média		28,54a	41,13a	69,54a	65,34a
2ª	1	8,04	38,84	62,68	113,36
	2	7,00	40,34	85,70	55,68
	3	6,13	16,77	108,71	79,36
Média		7,05a	31,98b	85,69a	82,80a

C.V.(%) = 34,88

- Dentro de cultivar, as médias com letras iguais não diferem, estatisticamente.

5.3.2. Avaliação da vazão de água, em colmos de cana-de-açúcar tratados termicamente e inoculados com RS

A Tabela 11 mostra a vazão média de água, em colmos tratados termicamente e inoculados com RS, correspondentes a tres cultivares de cana-de-açúcar.

Tabela 11. Avaliação da vazão média em colmos de cana-de-açúcar, tratados termicamente e inoculados com caldo bruto (RS).

Repetições	Vazão média de 16 colmos/tratamento em ml/100', à pressão de vácuo de 30 mm Hg					
	Cultivares					
	'IAC52/326'		'CP45-184'		'C0740'	
	Caldo bruto	Tratado	Caldo bruto	Tratado	Caldo bruto	Tratado
1	15,87	54,54	28,62	110,34	69,53	68,66
2	28,58	41,13	34,88	141,74	85,69	82,80
3	7,05	31,98	51,97	133,39	88,71	93,36
4	7,84	60,30	52,50	157,00	85,70	79,36
5	23,90	47,95	42,52	112,27	55,68	62,68
Média	16,65a	47,18b	42,09a	130,95b	77,06a	77,37a

C.V.(%) = 20,41

- Dentro de cultivar, as médias com letras iguais não diferem, estatisticamente.

A análise de variância dos dados apresentados, na Tabela 11, acusou diferenças significativas, ao nível de 1%, pelo Teste "F", entre os tratamentos para as cultivares 'IAC52/326' e 'CP45-184', enquanto o mesmo não ocorreu para a cultivar 'C0740'.

As Tabelas 12 e 13, mostram os dados referentes às determinações de vazão média de água de cinco (5) cultivares de cana-de-açúcar, provenientes do experimento instalado a partir de mudas de viveiros secundários, com 20 meses de idade, que foram submetidas ao tratamento térmico e inoculadas com RS.

Tabela 12. Avaliação da vazão média em colmos de cana-de-açúcar, tratados termicamente e inoculados com caldo bruto (RS).

Cultivares	Tratamento	Vazão média de 16 colmos/tratamento , 24 horas após a colheita, em ml/100' a pressão de vácuo de 30 mm Hg				Média
		Repetições				
		1	2	3	4	
'NA56-79'	Caldo bruto	3,29	4,00	3,17	6,64	4,27a
	T. térmico	7,25	7,54	5,75	11,50	8,01b
'IAC52/326'	Caldo bruto	12,29	3,58	3,50	5,75	6,28a
	T. térmico	16,45	6,21	9,33	15,15	11,78b
'CB47-355'	Caldo bruto	18,17	4,58	4,46	4,46	7,91a
	T. térmico	22,21	3,62	5,25	3,63	8,58a
'CB41-14'	Caldo bruto	18,54	5,10	4,50	2,91	7,76a
	T. térmico	13,88	12,87	13,17	4,33	11,06a
'CB41-76'	Caldo bruto	12,15	3,79	3,37	2,92	5,56a
	T. térmico	12,15	4,24	8,17	6,67	7,80a

- Dentro de cultivar, as médias com letras iguais não diferem, estatisticamente.

C.V.(%) = 30,68

Tabela 13. Avaliação da vazão média em colmos de cana-de-açúcar, tratados termicamente e inoculados com caldo bruto (PS).

Cultivares	Tratamento	Vazão média de 16 colmos/tratamento, 24 horas após a colheita, em ml/100'				Média
		à pressão de vácuo de 30 mm Hg				
		Repetições				
		1	2	3	4	
'NA56-79'	Caldo bruto	3,92	3,29	2,04	3,29	3,13a
	T. térmico	20,71	5,79	6,63	4,83	9,49b
'IAC52/326'	Caldo bruto	2,67	3,46	2,29	1,00	2,35a
	T. térmico	4,67	6,04	5,33	2,37	4,60a
'C0740'	Caldo bruto	8,21	9,17	6,87	10,83	8,77a
	T. térmico	6,22	12,42	6,63	10,46	8,93a
'CB45-3'	Caldo bruto	4,21	4,25	4,71	3,04	4,05a
	T. térmico	9,00	4,58	5,88	7,46	6,73a
'CB41-76'	Caldo bruto	1,62	2,29	1,83	1,79	1,88a
	T. térmico	5,46	5,11	4,21	2,33	4,27a

- Dentro de cultivar, as médias com letras iguais não diferem, estatisticamente.

C.V. (%) = 46,07.

DMS = 7

Pelas Tabelas 12 e 13, verificam-se que as cultivares tiveram comportamentos semelhantes com relação aos tratamentos à que foram submetidas, isto é, a vazão de água foi sempre maior no tratamento térmico. A análise de variância da Tabela 12 acusou, pelo Teste "F", diferenças significativas, aos níveis de 5% e 1%, entre os tratamentos, somente para as cultivares 'NA56-79' e 'IAC52/326', respectivamente. Por outro lado, pela Tabela 13, as diferenças foram significativas, ao nível de 1% entre os tratamentos, somente para a cultivar 'NA56-79'.

5.4. Medidas dos diâmetros do lume dos vasos do xilema de colmos de cana-de-açúcar

A Tabela 14, mostra as médias estimadas da medida dos diâmetros do lume de 600 vasos do xilema por cultivar, através do Intervalo de Confiança apresentado para duas cultivares de cana-de-açúcar.

Tabela 14. Médias estimadas e Amplitude do Intervalo de Confiança de duas cultivares de cana-de-açúcar.

Cultivares	Média do diâmetro da luz dos vasos e Intervalo de Confiança das médias
'IAC52/326'	96,55 μ $\pm$ 0,77
'NA56-79'	96,89 μ $\pm$ 0,72

Pela Tabela 14, observam-se que as médias dos diâmetros da luz dos vasos do xilema foram muito próximas entre si. Por outro lado, verifica-se também que a Amplitude do Intervalo de Confiança da cultivar 'IAC 52/326' foi, praticamente, a mesma da cultivar 'NA56-79'.

6. DISCUSSÃO

Inicialmente, serão discutidos os resultados referentes às determinações de vazão de água, considerando a influência de cada fator, isoladamente, ou em conjunto em seguida, os resultados alcançados com a aplicação do método de vazão para avaliar o RS em cultivares de cana-de-açúcar.

Em todos os fatores testados, tais como: pressão de vácuo, sentido do colmo, localização dos nós no colmo, diâmetro do colmo, armazenamento do colmo, outras doenças vasculares, colmos brocados, idade do colmo e distribuição da doença dentro de touceira, a vazão de água foi sempre determinada e comparada entre colmos de cana-de-açúcar, tratados termicamente (sadios) e inoculados com caldo bruto (doentes).

6.1. Fatores que interferem no método de avaliação do RS

Para estudar o efeito da pressão de vácuo, no método de vazão de água, tomamos como referência a pressão inicial de vácuo de 30 mm

Hg, pois menores pressões não deram vazão para algumas cultivares testadas.

Verificam-se através da Tabela 1, que houveram notórias diferenças de vazão entre o caldo bruto e o tratamento térmico, quando se aplicou uma pressão de vácuo de 30 mm Hg para as duas cultivares, que são considiredas altamente suscetíveis ao RS. As alterações nos feixes vasculares da região nodal do colmo de cana-de-açúcar ou devido à presença física do agente causal ou à reação da planta, através da emissão de tiloses ou liberação de substâncias gomosas, obstruindo a passagem de água nos vasos condutores, foi confirmada pela sintomologia bem evidente na região nodal dos colmos inoculados com RS. Com a aplicação de uma pressão de vácuo igual ou maior do que 70 mm Hg, a vazão aumentou, mas a diferença entre os tratamentos diminuiu, indicando, provavelmente, que a pressão interferiu no funcionamento dos vasos condutores. Por outro lado, esses resultados indicam que, se determinássemos a vazão em cultivares menos suscetíveis ao RS, a aplicação dessa alta pressão não acusaria diferença entre os tratamentos, devido à queda de precisão no método.

Portanto, a partir dos resultados da Tabela 1, a melhor diferença de vazão se verificou com a aplicação da pressão de vácuo de 30 mm Hg, coincidindo com aquela utilizada por *TEAKLE et alii*, 1975, no estudo da possível correlação de resistência de cana-de-açúcar ao RS com anatomia vascular.

Pela análise dos dados apresentados na Tabela 2, verifica-se que, dentro do mesmo colmo, o sentido considerado não interfere nas determinações de vazão, ao passo que, em colmos diferentes, a vazão foi menor no sentido inverso ao da subida da seiva inorgânica no colmo. Essa indicação

nos mostra que a vazão é sempre maior no sentido normal do colmo e que ela decresce com o tempo de determinação. Portanto, diminuindo o tempo gasto para as análises individuais, podemos analisar maior número de amostras, no mesmo período de tempo, e aumentarmos a precisão do método, diminuindo o período de armazenamento que interfere nas determinações, como veremos mais adiante. Esse decréscimo de vazão, com o tempo, está de acordo com as observações verificadas por *TEAKLE et alii* (1975).

Com relação à vazão dentro do mesmo colmo, os resultados apresentados nas Tabelas 3 e 4 indicam que existe uma forte tendência em aumentar a vazão de água, partindo-se da base para o ápice do colmo. Essa maior ou menor diferença de vazão, entre as diferentes posições tomadas no colmo, deve, provavelmente, estar na dependência da cultivar, da idade e maturação do colmo e da distribuição da doença RS, no colmo. *TANIMOTO* (1964) verificou através do exame histológico de cortes, com micrótomo da secção nodal de colmos de cana-de-açúcar, que o número de feixes fibro-vasculares é o mesmo dentro do colmo, independentemente, do nó considerado. Por outro lado, *ARTSCHWAGER* (1925), *CORNELISON e COOPER* (1941) in *DILLEWIJN* (1952) citaram que a deposição de compostos semelhantes à lignina, nas paredes interna e externa dos feixes fibro-vasculares, está em proporção direta com a idade e tamanho dos feixes. Isto explica porque a vazão é menor na base do colmo, onde ocorre maior deposição dos compostos, diminuindo o diâmetro do lume dos vasos do xilema.

Portanto, como a vazão é variável dentro do colmo e, baseado em observações de diversos autores, tais como *HUGHES e STEINDL* (1955), de que a doença, normalmente, é encontrada nos nós mais maduros do colmo, fixa

mos, para as determinações de vazão, o nó número 4 ou 5 da base do colmo, estando essa flexibilidade na dependência da presença ou não da broca da cana-de-açúcar.

Pelos resultados citados na Tabela 5 e, de acordo com a análise de variância, verifica-se que o armazenamento de colmos de cana-de-açúcar pode constituir-se num importante fator de interferência no método de vazão, uma vez que ele conduz à uma queda brusca na vazão de água, dificultando a avaliação das cultivares ao RS. Essa queda de vazão deve ser devido à interferência que ocorre no equilíbrio hídrico das células vegetais. No entanto, essa interferência está ainda, na dependência do período e das condições de armazenamento e da cultivar testada, uma vez que o armazenamento por 24 horas, diminuiu a diferença entre os tratamentos, embora continuasse a ser significativa nas duas cultivares testadas, que são consideradas altamente suscetíveis ao RS. Segundo *EGAN et alii* (1977), a deterioração das cultivares, logo após a colheita, é função de diversos fatores, entre os quais destacam-se: tipo de infecção microbiana, tempo de armazenamento, condições climáticas e cultivar utilizada. Portanto, torna-se necessário fazer as determinações de vazão das amostras, logo após a colheita, para evitar o efeito do armazenamento, nos resultados de avaliação das cultivares ao RS.

De acordo com os dados apresentados nas Tabelas 6 e 7, observa-se que a vazão independe do diâmetro do colmo. Segundo *TANIMOTO* (1964), o diâmetro do colmo de cana-de-açúcar é uma característica varietal, que depende de inúmeros fatores culturais e ambientais. Esse autor concluiu que, em dez clones investigados, o número de feixes foi, essencialmente, o mesmo

em cada clone. Por outro lado, observa-se que a variação no diâmetro e o número de colmos por touceira, foi o mesmo em ambos os tratamentos, para as duas cultivares testadas, indicando que a presença de RS nem sempre provoca a queda de perfilhamento e diminuição no diâmetro dos colmos. Portanto, a sintomatologia externa, como meio de diagnose, como foi enfatizada, nem sempre é válida.

A utilização do método da tinta nanquim para colorir os vasos do xilema, responsáveis pela condução de água, trouxeram excelentes informações. Primeiramente, mostrou que existe uma correlação positiva entre a vazão e o número de vasos funcionais, mesmo em determinações de 120 horas após colheita. Por outro lado, pode constituir-se numa prova a mais, de que o RS obstruiu os vasos funcionais, diminuindo a vazão dentro do colmo. Além disso, verifica-se, através desse método auxiliar, que o número de vasos funcionais variou dentro do colmo, confirmando a teoria da deposição de compostos nas paredes dos vasos, diminuindo o diâmetro do lume, de modo a dificultar a passagem de água, através dos colmos, conforme mostram as Tabelas 6 e 7. Essa correlação positiva concordou com os resultados obtidos no estudo sobre a natureza da resistência da cana-de-açúcar à Podridão Vermelha por *ATKINSON (1938)*, ao RS por *TEAKLE et alii (1975)* e em tomate à Murcha de *Fusarium*, por *SAALTINK e DIMOND (1964)*.

Apesar dos dados apresentados nas Tabelas 6 e 7 mostrarem a correlação positiva entre a vazão e o número de vasos funcionais, sugeriu-se que o método auxiliar da tinta nanquim devesse ser repetido com outras cultivares, devido à análise de variância mostrar um coeficiente de variação muito alto, em decorrência talvez da imprecisão nos resultados.

Além da presença de contaminantes como a broca e, principalmente, o *Fusarium*, citados na Tabela 8, outros fatores podem ser mencionados como responsáveis pela variação brusca de vazão de água dentro de touceiras, tais como: idade e maturação do colmo; distribuição irregular de microorganismos, no colmo; outras doenças vasculares; fatores intrínsecos da planta; tipos de solo; fatores culturais e ambientais e cultivares de cana-de-açúcar. Porém, entre todos esses fatores mencionados, a presença de *Fusarium*, idade e maturação do colmo, e distribuição irregular de microorganismos, são, provavelmente, os mais importantes e responsáveis pela variação, desde que a determinação seja conduzida logo após a colheita.

Os resultados observados nas Tabelas 8 e 9, indicam que a presença de *Fusarium* nos colmos é constante, independente da cultivar e do tratamento considerado.

Com relação à Escaldadura das Folhas, os resultados obtidos, mas não publicados, de determinação da vazão e isolamento, indicam que, devido ao tratamento térmico não controlar totalmente a Escaldadura das Fô-lhas, provavelmente, este não tenha servido como testemunha, sugerindo, a necessidade de um estudo mais apurado quanto à eficiência do método de vazão, para avaliar a resistência das cultivares de cana-de-açúcar à essa doença.

6.2. Aplicação do método de vazão de água para avaliação do RS

Conforme observam-se pelos resultados, as comparações de vazão são sempre efetuadas entre os tratamentos: colmos tratados termicamente

contra o RS (sadios) e inoculados com RS através do caldo bruto (doentes) , sempre dentro da mesma cultivar de cana-de-açúcar.

As Tabelas 10, 11, 12 e 13 referem-se à aplicação do método de vazão de água, para avaliar as cultivares, com relação ao RS.

A Tabela 10 mostra que o comportamento diferencial, verificado para as cultivares 'IAC52/326' e 'CO740', através da vazão de água, deve-se ao grau de suscetibilidade ao RS. Verificou-se a evolução da doença do 1º corte para o 2º corte, somente para a cultivar 'IAC52/326', que foi confirmada pelo exame de sintomas internos no tratamento caldo bruto. O tratamento térmico dessa cultivar mostrou algum indício de sintoma interno, explícando a ocorrência de reinfestações do RS, principalmente, nas cultivares mais suscetíveis, como é esse caso. Apesar do coeficiente de variação ser alto, os resultados obtidos confirmaram o comportamento dessas cultivares verificado na prática.

Os resultados obtidos na Tabela 11 indicam que as cultivares 'IAC52/326' e 'CP45-184' podem ser consideradas altamente suscetíveis e a cultivar 'CO740', como intermediária ao RS, na escala de notas. A sintomatologia interna confirmou os resultados alcançados na vazão e, também, o comportamento observado na prática.

Pelas Tabelas 12 e 13, observa-se que sempre a vazão média do tratamento térmico foi maior do que a do caldo bruto para cada cultivar. Algumas cultivares mostraram diferenças marcantes de vazão entre os tratamentos, enquanto que em outras, a diferença foi pequena ou, praticamente, não houve diferença entre os tratamentos, indicando menor grau de suscetibilidada

de ao RS. Contudo, a determinação da vazão 24 horas após colheita, interferiu nos resultados, pois a análise de variância acusou diferenças significativas, apenas para as cultivares 'IAC52/326' e 'NA56-79'. Conforme era esperado, a cultivar 'IAC52/326' mostrou ser suscetível ao RS mais uma vez, confirmado pela sintomatologia interna bem visível. Por outro lado, a cultivar 'NA56-79', que vem se expandindo, rapidamente, no Estado de São Paulo, ocupando, atualmente, de 17 a 20% da área de plantio da cana-de-açúcar, em nenhum levantamento tem sido considerada suscetível ao RS. Apesar de não apresentar sintomatologia interna apreciável e ser responsável por uma elevada produtividade, acredita ser a cultivar 'NA56-79' suscetível ao RS. Isto significa que essa cultivar poderia alcançar uma maior produção por unidade de área, caso fosse evitada a presença evolutiva de infestação do RS.

Ainda com relação às Tabelas 12 e 13, outro fator responsável pela ausência de diferenças significativas entre os tratamentos para algumas cultivares, que são consideradas suscetíveis ao RS, seja talvez o coeficiente de variação alto, obtido na análise de variância. Um maior número de repetições nos experimentos, poderia ser uma maneira de aumentar a precisão do método.

Os resultados de determinação de vazão indicam que um ou mais mecanismos podem ser responsáveis pelo comportamento diferente das cultivares, com relação à presença do RS. Baseado na observação de que a passagem de água, através dos colmos, dá-se pelos vasos do xilema e que a doença é de natureza vascular, mediram-se os diâmetros do lume dos vasos dos cultivares 'IAC52/326' e 'NA56-79'. Os resultados da Tabela 14, mostram não

haver diferenças entre os diâmetros do lume dos vasos das duas cultivares . Como os resultados de vazão para essas duas cultivares foram muito semelhantes, consideram-se que, tiveram o mesmo comportamento diante do RS. A escolha, provavelmente, não foi adequada para efetuar esse tipo de análise . Portanto, sugerem-se novos testes de vazão, com outras cultivares de comportamentos extremos aos resultados obtidos com às determinações de vazão, a fim de verificar se a anatomia vascular está ou não envolvida na resistência ao RS.

7. CONCLUSÕES

Dos resultados obtidos, as seguintes conclusões foram inferidas:

1. Há correlação entre a diferença de vazão de água em colmos sadios e doentes de cana-de-açúcar e o grau de suscetibilidade ao Raquitismo da Soqueira;
2. Excetuando-se o diâmetro do colmo, os fatores: armazenamento, pressão de vácuo, sentido do colmo, localização dos nós no colmo, tempo de determinação, outras doenças vasculares, colmos brocados, idade dos colmos e a distribuição do RS dentro de touceira, interferem na determinação da vazão de água;
3. Acreditam-se que os fatores: tipos de solo, regime pluviométrico, tratos culturais e podridões de raízes, devem interferir no método de vazão de água;
4. A vazão de água em colmos de cana-de-açúcar é diretamente

proporcional ao número de vasos funcionais do xilema;

5. O RS tem uma distribuição desuniforme dentro da touceira de cana-de-açúcar e a intensidade de ataque aumenta com a idade da cultura;

6. A cultivar 'NA56-79' não apresentou sintomas internos apreciáveis, porém mostrou ser bastante suscetível ao RS, pelo método de vazão de água;

7. Os resultados indicam ser possível avaliar a suscetibilidade das cultivares ao RS, pela determinação de vazão de água e, esta pode constituir-se num método rápido, econômico e eficiente de seleção de plantas resistentes ao RS e de outras doenças vasculares da cana-de-açúcar.

8. SUMMARY

The control of ratoon stunting disease (RSD) has been unsatisfactory, mainly to the fact that the identification of RSD through unspecific symptom is questionable. The roguing used with success to control other sugarcane diseases is impossible to apply without a specific external symptom. The development of resistant varieties is difficult since an efficient and quick method of screening is not available.

As an attempt to solve the problem the method of measuring the water flux on sugarcane stalks was developed. Water was passed through healthy and diseased sugarcane cuttings. The RSD effect on water flux was measured in commercial and differential varieties for RSD. The effect of several factors on water flux was measured on healthy and diseased cuttings under constant vacuum.

The results indicate, that excepting the stalk diameter, the factors as storage, vacuum pressure, node direction, position of node in stalks, stalks injured by *Diatraea saccharalis* and other vascular diseases

interfered on water flux evaluation.

The statistical analyses of water flux data indicated that in varieties tolerant to RSD, the drop of water flux between healthy and diseased cuttings is small, while on susceptible varieties the opposite was observed.

The occurrence of correlation between drop of water flux, RSD symptoms in nodes and smaller number of functional vascular bundles was observed.

From results and discussion, the conclusion that the determination of water flux in healthy and diseased stalks can become an efficient, safe, fast and cheap method of screening plants resistant to RSD and to the other vascular diseases of sugarcane was inferred.

9. LITERATURA CITADA

ABBOTT, E.V. e C.G. HUGHES, 1961. Red rot. In: MARTIN, J.P., E.V. ABBOTT e C.G. HUGHES, eds. *Sugarcane Diseases of World*. Amsterdam, Elsevier, v. 1, p. 263-282.

ABBOTT, E.V., N. ZUMMO e R.L. TIPPETT, 1967. Methods of testing sugarcane varieties for disease resistance at the varieties susceptible. Proceedings of the 12th Congress. International Society of Sugar Cane Technologists, Puerto Rico, 1965, p. 1138-1142.

ARTSCHWAGER, E., 1925. Anatomy of the vegetative organs of sugarcane. *Journal of Agricultural Research*, 30(3): 197-221.

ARTSCHWAGER, E., 1960. Sieve tube lignification in sugarcane and its relation to the ratoon stunting disease. Proceedings of the 10th Congress. International Society of Sugar Cane Technologists, Honolulu, 1959, p. 1077-1083.

ATKINSON, R.E., 1938. On nature of resistance of sugarcane to red rot.

Proceedings of the 6th Congress. International Society of Sugar Cane Technologists, Baton Rouge, p. 684-692.

BAILEY, R.A., 1976. Some observations on the bacterium associated with ratoon stunting disease of sugarcane. *Proceedings of the South African Sugar Technologists' Association*, Durban, p. 60-64.

BAILEY, R.A., 1977. The systemic distribution and relative occurrence of bacteria in sugarcane varieties affected by ratoon Stuting disease. *Proceedings of the South African Sugar Technologists' Association*, Durban, p. 55-56.

BARNETT, H.L. e B.B. HUNTER, 1972. *Illustrated Genera of Imperfect Fungi*. 3a. ed. Minneapolis, Burgess; 241 p.

BOZICEVICH, J.H., H.A. SCOTT e M.M. VICENT, 1963. The bentonite flocculation teste for detection of plant viruses and tetration of antibody. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*; New York, 114:750-754.

CAMPBELL, D.H., J.S. GARVEY, N.E. CREMER e D.H. SUSSDORF, 1970. *Methods in Immunology*. 2 ed. New York, Benjamin, 454 p.

CARVALHO, P.C.T., 1963. As viroses da cana-de-açúcar. In: *Pragas e Doenças da Cana-de-açúcar*. Piracicaba, ESALQ/Dep. de Fitopatologia e Entomologia, p. 75-90.

- CHEN, C.T., S.M. LEE e M.J. CHEN, 1975. Small coryneform bacteria in ratoon stunted sugarcane. *Sugarcane Pathologists Newsletter*, Sydney (13/14):6-8.
- CHO, Y.S., R.D. WILCOXSON e F.I. FROSHEISER, 1973. Differences in anatomy, plant extrats, and movement of bacteria in plants of bacterial wilt resistant and susceptible varieties of Alfalfa. *Phytopathology*, Lancaster, 63:760-765.
- CORNELISON, A.H. e H.F. COOPER, 1941. Further studies in nitrogen nutrition. The application of nitrogen test. *Hawaiian Planters' Records*, Honolulu, 45: 155-178.
- DAMANN, K.E. Jr. e K.S. DERRICK, 1976. Bacterium associated with ratoon stunting disease in Louisiana. *Sugarcane Pathologists Newsletter* Sidney (15/16)-20:22.
- DAMANN, K.E. Jr., K.S. DERRICK, A.G. GILLASPIE Jr., B.F. FONTENOT e J. KAO, 1977. Detection of the RSD-associated bacterium by serologically specific electron microscopy. Proceedings of the 16th Congress. International Society of Sugar Cane Technologists, São Paulo. (no prelo).
- DANTAS, B., 1956. Plano quadrienal para o estudo das principais doenças e pragas da cana-de-açúcar em Pernambuco. Recife, 58p. (Publicação 2, Comissão de Combate às Pragas da Cana-de-Açúcar no Estado de Pernambuco).
- DILLEWITJN, C.V., 1952. *Botany of Sugarcane*. Waltham, Mass., *Chronica Botanica*, v.1, p. 1-23.

- DIMOND, A.E., 1955. Pathogenesis in the wilt diseases. *Annual Review of Plant Physiology*, Palo Alto, 6:329-350.
- EGAN, B.T., L.K. KIRBY e A.G. NOBLE, 1977. A review of recent developments concerning the biodeterioration of sugarcane. Proceedings of the 16th Congress. International Society of Sugar Cane Technologists, São Paulo, v.1, p. 321-326.
- ELGERSMA, D.M., 1970. Length and diameter of xylem vessels as factors in resistance of elms to *C. ulmi*. *Netherlands Journal of Plant Pathology*, Wageningen, 76:179-182.
- FORBES, I.L. e K.C. LING, 1960. Particles associated with the ratoon stunting disease of sugarcane. *Sugar Journal*, New Orleans, 23(2):15.
- GALLI, F., H. TOKESHI, P.C.T. CARVALHO, E. BALMER, H. KIMATI, C.O.N. CARDOSO e C.L. SALGADO, 1968. *Manual de Fitopatologia*; Doenças das plantas e seu controle. São Paulo, Ed. Agronômica Ceres, 640 p.
- GILLASPIE Jr., A.G., J.E. IRVINE e R.L. STEERE, 1966. Ratoon stunting disease virus assay technique and partial purification. *Phytopathology*, Lancaster, 56:1426-1427.
- GILLASPIE Jr., A.G., 1970. Evidence that ratoon stunting disease of sugarcane is caused by virus and not mycoplasma. *Phytopathology*, Lancaster, 60:1448-1450.
- GILLASPIE Jr., A.G., 1971. Ratoon stunting disease virus: problems in purification. *American Society of Sugar Cane Technologists*, Baton Rouge, 1:52-56.

- GILLASPIE Jr., A.G., R.E. DAVIS e J.F. WORLEY, 1973. Diagnosis of ratoon stunting disease based on the presence of a specific microorganism. *Plant Disease Reporter*, Washington, 57(12):987-990.
- GILLASPIE Jr., A.G., R.E. DAVIS e J.F. WORLEY, 1976a. Nature of the bacterium associated with ratoon stunting disease of sugarcane. *Sugarcane Pathologists Newsletter*, Sydney (15/16):11-15.
- GILLASPIE Jr., A.G., G. FLAX e H. KOIKE, 1976b. Relationship between numbers of diagnostic bacteria and injury by ratoon stunting disease in sugarcane. *Plant Disease Reporter*, Washington, 60(7):573-575.
- GILLASPIE Jr., A.G., 1977. Ratoon stunting disease of sugarcane: serology. *Phytopathology*, Lancaster, 68:529-532.
- HUGHES, C.G. e D.R.L. STEINDL, 1955. Ratoon stunting disease of sugarcane. *Technical Communication. Queensland Bureau of Sugar Experiment Stations*, Brisbane, n. 2, 54 p.
- HUGHES, C.G., 1956. Disease investigations: Ratoon stunting disease. *Annual Report. Queensland Bureau of Sugar Experiment Stations*, Brisbane, n. 56, p. 81-84.
- HUGHES, C.G. e D.R.L. STEINDL, 1956. Some further developments in the study of ratoon stunting disease in Queensland. *Proceedings of the 9th Congress. International Society of Sugar Cane Technologists*, New Delhi, p. 1012-1022.

HUGHES, C.G., 1960. Disease investigations: Ratoon stunting disease.

Annual Report. Queensland Bureau of Sugar Experiment Stations, Brisbane, n. 60, p.82-83.

IRVINE, J.E., 1975. Factors affecting the expression of juvenile symptoms of the ratoon stunting disease. *Proceedings of the American Society of Sugarcane Technologists*, Baton Rouge, p. 108-113.

JONES, F.R., 1934. Testing alfalfa for resistance to bacterial wilt. *Journal of Agricultural Research*, Washington, 48:1085-1098.

KAMIUNTEN, H. e S. WAKIMOTO, 1976. Coryneform bacteria found in xylem of the ratoon stunting diseased sugarcane. *Annals of the Phytopathological Society of Japan*, Tokyo, 42(4):500-503.

KHURANA, S.M.P., 1972. Causal organisms of RSD. *Sugarcane Pathologists Newsletter*, Sydney (8):15.

LUDWING, R.A., 1952. Studies on the physiology of hadromy cotyledony wilting in the tomato plant. *Technical Bulletin. Mac-Donald College. McGill University*, Montreal, n. 20, 38p.

MARAMOROSCH, K., B. PLAVSIC-BANJAC, J. BIRD e L.J. LIU, 1973. Electron microscopy of ratoon stunted sugarcane: Microorganisms in xylem. *Phytopathologische Zeitschrift*, Berlin, 77:270-273.

MATSUOKA, S., 1971a. Virus do raquitismo da soqueira. In: COSTA, A.S. , coord., *Virologia*. Piracicaba, Dep. Fitopatologia-ESALQ, v. 1, p.130-135.

- MATSUOKA, S., 1971b. Elephant-grass, an indicator plant for ratoon stunting virus of sugarcane. *Plant Protection Bulletin FAO*, Rome, 9(5): 110-115.
- MATSUOKA, S., 1971c. Incidência do vírus do raquitismo da soqueira em canas provenientes de material propagativo tratado termicamente. *Revista da Sociedade Brasileira de Fitopatologia*, Mossoró, 4:63-64.
- MATSUOKA, S., 1972a. Ratoon stunting disease diagnosis with elephant-grass as an indicator plant. *Sugarcane Pathologists Newsletter*, Sydney(8):10-11.
- MATSUOKA, S., 1972b. Raquitismo da soqueira da cana-de-açúcar: diagnose da moléstia e estudos sobre o seu agente causal. Piracicaba, ESALQ/USP, 77p. (Tese de Doutorado).
- MATSUOKA, S., 1975. Disseminação e controle do raquitismo da soqueira da cana-de-açúcar. *Summa Phytopathologica*, Piracicaba, 1(4):245-257.
- PELTIER, G.L. e F.R. SCHROEDER, 1932. The nature of resistance in alfalfa to wilt (*Aplanobacter insidiosum* L. Mc.). *Research Bulletin Nebraska Agricultural Experimental Station*, Lincoln, nº 63, 28 p.
- PLAVSIC-BANJAC, B. e K. MARAMOROSCH, 1972. Electron microscopy of the xylem of ratoon stunted sugarcane. *Phytopathology*, Lancaster, 62:498-499.
- RICAUD, C., 1974. Problems in the diagnosis of ratoon stunting disease. Proceedings of the 15th Congress. International Society of Sugar Cane Technologists, Durban, p.241-248.

- RICAUD, C., S. SULLIVAN e J.C. AUTREY, 1976.* Presence of the RSD-associated bacterium in Mauritius. *Sugarcane Pathologists Newsletter*, Sydney, (17):37-39.
- ROSSLER, L.A., 1974.* The effects of ratoon stunting disease on three sugarcane varieties under different irrigation regimes. Proceedings of the 15th Congress. International Society of Sugar Cane Technologists, Durban, p.250-257.
- SAALTING, G.J. e A.E. DIMOND, 1964.* Nature of plugging material in xylem and its relation to rate of water flow in *Fusarium*-infected tomato stems. *Phytopatology*, Lancaster, 54: 1137-1140.
- SCHEXNAYDER, C.A., 1956.* The effect of stunting disease of sugarcane on yields of cane and sugar in Louisiana, and the use of heat treatment for control. *Sugar Bulletin*, New Orleans, 34(22):349-355.
- SCHEXNAYDER, C.A., 1960.* The use of a sugarcane "test plant" as a means of detecting the presence of ratoon stunting disease in sugarcane. Proceedings of the 10th Congress. International Society of Sugar Cane Technologists, Honolulu, 1959, p.1068-1072.
- SILVA, W.M., 1976.* Termoterapia em gemas isoladas assegura o controle do raquitismo. *Boletim Técnico da Copersucar*, Piracicaba, 76 p.
- SINGH, G.R., 1969.* An indicator sugarcane variety for ratoon stunting disease. *Current Science*, Bangalore, 38(9):221-222.

- STEIB, R.J. e D.M. TANTERA, 1970. Studies to determine the effect of tetracycline antibiotic on the ratoon stunting disease (RSD) of sugarcane. *Sugar Bulletin*, New Orleans, 48(17):217-219.
- STEIB, R.J. e S.J.P. CHILTON, 1972. Losses caused by ratoon stunting disease and need for hot air treatment. *Sugar Bulletin*, New Orleans, 50(19):8-11.
- STEIB, R.J. e O.M. CIFUENTES, 1976. Control of RSD of sugarcane by use of aerated steam. *Sugar Journal*, New Orleans, 39(2):20-23.
- STEINDL, D.R.L., 1957. Host range of the sugarcane ratoon stunting virus. *Journal of the Australian Institute of Agricultural Science*, Sydney, 23: 238.
- STEINDL, D.R.L., 1961. Ratoon stunting disease. In: MARTIN, J.P., E.V. ABBOTT e C.G. HUGHES, eds. *Sugarcane Diseases of the World*. Amsterdam, Elsevier, v.1, p. 433-459.
- STEINDL, D.R.L. e D.S. TEAKLE, 1975. Recent developments in the identification of ratoon stunting disease. Brisbane Bureau of Sugar Experimental Stations, p.101-104.
- STEINDL, D.R.L., 1976a. The use of phase contrast microscopy in the identification of ratoon stunting disease. Brisbane, Bureau of Sugar Experimental Stations, p.71-72.
- STEINDL, D.R.L., 1976b. Pathology research developments: New method of identifying ratoon stunting disease. *Cane Growers' Quarterly Bulletin*, Brisbane, 44:130-131.

- TANIMOTO, T., 1964. Microtome-slice projections for histological examination of sugarcane. *Hawaiian Planters' Records*, Honolulu, 57(2): 119-132.
- TEAKLE, D.S., P.M. SMITH e D.R.L. STEINDL, 1973. Association of a small coryneform bacterium with the ratoon stunting disease of sugarcane. *Australian Journal of Agricultural Research*, Melbourne, 24:869-874.
- TEAKLE, D.S., 1974. The causal agent of sugarcane ratoon stunting disease (RSD). Proceedings of the 15th Congress. International Society of Sugar Cane Technologists, Durban, p.225-233.
- TEAKLE, D.S., P.M. SMITH e D.R.L. STEINDL, 1975. Ratoon stunting disease of sugarcane: Possible correlation of resistance with vascular anatomy. *Phytopathology*, Lancaster, 65(2):138-141.
- THOMPSON, G.M., 1960. Cane diseases: Ratoon stunting disease. *Cane Growers' Quarterly Bulletin*, Brisbane, 16:79-95.
- TOKESHI, H., A. SANGUINO e F. AKIBA, 1974. *X. albilineans*, provável agente causal de raquitismo da soqueira e escaldadura de cana-de-açúcar. *Brasil Açucareiro*, Rio de Janeiro, 84(6):28-40.
- TUITE, J., 1969. *Plant Pathological Methods: Fungi and Bacteria*. Minneapolis, Burgess, 239 p.
- VEIGA, F.M., 1956. Notas sobre o raquitismo das socas em Campos. *Brasil Açucareiro*, Rio de Janeiro, 47:81-83.

WAGGONER, P.E. e A.E. DIMOND, 1954. Reduction in waterflow by mycelium in vessels. *American Journal of Botany*, Lancaster, 41:637-640.

WAGGONER, P.E. e A.E. DIMOND, 1955. Production and role of extracellular pectic enzymes of *Fusarium oxysporium* f. *lycopersici*. *Phitopathology*, Lancaster, 45:79-87.

WISMER, C.A. e R. URATA, 1967. Ratoon Stunting disease. *Annual Report. Hawaiian Sugar Planters' Association*, Honolulu, p.37.

WORLEY, J.F., e A.G. GILLASPIE Jr., 1975. Electron microscopy "in situ" of the bacterium associated with ratoon stunting disease in Sudan-grass. *Phytopathology*, Lancaster, 65:287-295.

APENDICE

BASE

VISTA GERAL

VISTA EM
CORTE

VISTA TOPO

PINO CENTRAL

VISTA EM CORTE

ESCALA 1:2

APÊNDICE 1. MOLDE DE AÇO PARA FABRICAÇÃO DE LUVAS DE BORRACHA EM DIÂMETROS VARIÁVEIS

APÊNDICE 2 . PINO CENTRAL EM DIÂMETROS VARIÁVEIS DO MOLDE DE BORRACHAS .

ESCALA 1:4

APÊNDICE 4. MEDIDOR DE VAZÃO DE ÁGUA EM COLMOS DE CANA-DE-AÇÚCAR

VISTA LATERAL

ESCALA 1:10

APÊNDICE 5. MEDIDOR DE VAZÃO DE ÁGUA EM COLMOS DE
CANA-DE-AÇÚCAR

VISTA LATERAL

VISTA SUPERIOR

ESCALA 1:2